

CAMBIOS ESTRUCTURALES DEL FOLICULO OVARICO DURANTE SU MADURACION EN EL PEJESAPO *SICYASES SANGUINEUS*, MULLER Y TROSCHEL 1843 (GOBIESOCIDAE: TELEOSTEI)

Humberto Cerisola\*

ABSTRACT. Structural changes of ovarian follicle during maturation in the clingfish *Sicyases sanguineus*, Muller and Troschell 1843 (Gobiesocidae: Teleostei).

The ovary structure of the clingfish *Sicyases sanguineus* is analyzed by using the light microscopy technique. The developing oocytes are classified in seven stages according to nucleus, cytoplasmic and egg envelopes characteristics. Oogonia are considered independently. At early stages of the maturation process, oocyte cytoplasm shows a diminution of the basophilia and clear vesicles with a glycoprotein component appear, forming the primary yolk. Deposition of lipoprotein components in spherical granules forms the secondary yolk. As maturation proceeds, oocyte nuclear content is mixed with the cytoplasm. The oocyte follicle layer is monostratified and is thicker at one pole. Long adhesive filaments are restricted to this pole. The rythm in maturation of the oocytes shows a partial synchronism. During follicle atresia, oocyte destruction occurs, follicles cells proliferate and also differentiate.

Key words: Structure, clingfish, ovary.

### INTRODUCCION

Los trabajos realizados en teleósteos que se refieren especialmente al oocito y a las envolturas del folículo ovárico

\* Laboratorio de Embriología, Instituto de Biología, Universidad Católica de Valparaíso. Casilla 4059, Valparaíso, Chile.

NOTA: Investigación financiada por la Dirección General de Investigación de la Universidad Católica de Valparaíso.

(Wourms 1976, Wourms & Sheldon 1976, Busson-Mabillot 1977, Laale 1980, Wallace & Selman 1981) nos han indicado la importancia de estas estructuras no solamente para obtener mayores datos sobre la reproducción de peces sino también para una mejor comprensión del problema de la diferenciación celular. Por otra parte, no hemos encontrado en la literatura algún estudio que se refiera al análisis de las estructuras ováricas del pejesapo que habita en nuestras costas, especie que consideramos de gran interés biológico. Este primer trabajo tiene el propósito de describir, mediante la microscopía de luz, los cambios celulares que experimenta el oocito y las diferentes capas celulares del folículo ovárico de *Sicyases sanguineus* en su proceso de maduración.

#### MATERIAL Y METODOS

Se recolectaron ejemplares hembras provenientes del área costera de Montemar (32°57'S y 71°32'W) durante un período de 18 meses. Después de muertos por decapitación se extirparon ambos ovarios y se procedió a su fijación para microscopía de luz. La técnica desarrollada fue la siguiente: Fijación en solución picro-formol-acética según Bouin durante 6 horas. Posteriormente lavado, deshidratación e inclusión en Paraplast-plus (Sherwood Med. Ind., USA). Los cortes de 7  $\mu$ m se tiñeron según los siguiente procedimientos: a) Métodos generales de tinción: Hematoxilina-Eosina, Tricrómico de Masson; b) Métodos especiales de tinción: Van-Gieson, Mallory, Orceína sintética, Azul Alcian, Sudán Black, Sudán III, Sulfato Azul de Nilo y la técnica de oxidación por Acido Peryódico-Shiff.

#### RESULTADOS

##### Anatomía del Ovario

Los ovarios son órganos pares, presentan una forma ovoídea alargada, con un extremo anterior romo y un extremo opuesto que se adelgaza formando un oviducto corto que converge con el del lado opuesto para desembocar juntos en un poro genital posteriormente al ano. Por lo general, ambos ovarios tienen igual

tamaño y están ubicados en la cavidad abdominal en una posición ventral al intestino. El tamaño y el peso de ellos está relacionado con el estado de maduración: en el estado maduro mide como promedio 6 a 8 cm de largo y tiene un peso que fluctúa entre 10 y 15 gr; en un estado inmaduro miden aproximadamente 1 a 5 cm de largo y tienen un peso que varía entre 1 a 5 gr. El color del ovario varía también según el estado de maduración de los oocitos; puede presentar un color naranja oscuro o morado cuando predominan los estados maduros o un color blanquecino pálido cuando están inmaduros. En estados intermedios de maduración la coloración varía entre los tonos mencionados.

Cada ovario está revestido por el peritoneo visceral que lo sujeta individualmente, el mesovario, fijándolo a lo largo de la superficie dorsal de la cavidad abdominal y le sirve también de soporte para el sistema vascular ovárico.

### Microestructura

La cápsula ovárica (Fig. 1): Tiene un grosor aproximado de 100  $\mu\text{m}$  cuando el ovario se encuentra en un período inmaduro, en cambio, mide aproximadamente 300  $\mu\text{m}$  cuando está en maduración. Al corte histológico presenta en su parte superficial un mesotelio delgado. Por debajo del epitelio encontramos una capa delgada de tejido conjuntivo laxo. A continuación le sigue una capa de tejido conjuntivo-muscular de grosor variable. Las fibras conjuntivas y musculares se disponen entrelazadas irregularmente y entre estas fibras, en algunos sectores, pueden apreciarse los cortes transversales de finos capilares sanguíneos. En cuanto a la presencia de fibras elásticas en esta capa, solamente se encontraron en las paredes de los vasos sanguíneos. Por último, la parte de la cápsula ovárica más cercana a la cavidad del ovario presenta una delgada capa de tejido conjuntivo laxo y un epitelio simple, aplanado, que mira hacia la cavidad del ovario. En la parte ventral del órgano, la cápsula ovárica forma, por su cara interna, un tabique grueso que sigue una línea media antero-posterior (Fig. 2). Este tabique, a manera de un tronco central, se profundiza y se va adelgazando a medida que va emitiendo las laminillas ovígeras. La cápsula se hace más gruesa a medida que progresa la maduración, lo que nos indicaría su importancia en el proceso de la postura ovular.

Laminillas ovígeras (Figs. 1 y 3): Ofrecen numerosos pliegues y ramificaciones que van llenando la cavidad ovárica. El cuerpo de la laminilla está formado por tejido conjuntivo y escasas fibras musculares lisas. Están recubiertas por el epitelio germinativo ovárico en el cual se distinguen, cada cierto trecho, los folículos ováricos en diferentes estados de maduración.

Se consideran siete estados de maduración folicular y, en forma separada, las oogonias. La clasificación propuesta fue adoptada de las descripciones de Braekevelt y McMillan (1967) y de Cerisola et al. (1978).

Oogonias (Fig. 3): Miden aproximadamente 7 a 8  $\mu\text{m}$ ; se presentan agrupadas formando los "nidos ovígeros" en las laminillas. Poseen un núcleo que mide aproximadamente 6 a 7  $\mu\text{m}$ , esférico, de una tonalidad clara a la tinción, presentan regularmente un nucléolo que mide aproximadamente 2,9  $\mu\text{m}$ . El citoplasma es escaso y acidófilo, no se ve un límite celular neto. No se ven estructuras foliculares rodeando las oogonias.

Oocito I (Fig. 3): Mide aproximadamente 17 a 30  $\mu\text{m}$ . El núcleo es esférico y grande, mide 13 a 15  $\mu\text{m}$ . La cromatina se dispone regularmente en forma de filamentos gruesos y cortos. En cuanto a los nucléolos, se encuentran en poca cantidad, en número que varía entre 1 y 3 al corte histológico y miden aproximadamente 1-2  $\mu\text{m}$ . El citoplasma es fuertemente basófilo y dispuesto en forma homogénea. Se distingue bien el límite celular. Células aplanadas (futuras células foliculares) se encuentran en contacto con el oocito periféricamente pero aún no se distinguen las envolturas típicas del folículo.

Oocito II (Fig. 4): Mide aproximadamente 60 a 80  $\mu\text{m}$ . El núcleo es vesiculoso y mide aproximadamente 36  $\mu\text{m}$ , presenta una cromatina dispuesta en filamentos gruesos distribuidos regularmente y la presencia de varios nucléolos dispuestos generalmente en todo el núcleo pero, la mayoría de ellos, se encuentran en contacto con la envoltura nuclear. Los nucléolos miden 2,5 a 3  $\mu\text{m}$ . El citoplasma es basófilo y homogéneo y el límite citoplásmico está presente. En cuanto a las capas foliculares aún no se ven bien diferenciadas, solamente en algunos lugares se ven los núcleos de las células foliculares. En la región donde empieza a aparecer esta diferenciación de células ya se distingue una lámina basal.

Oocito III (Fig. 5): Mide aproximadamente 110 a 160  $\mu\text{m}$ .

Presenta un núcleo grande de aproximadamente 78  $\mu\text{m}$ . El material nuclear es homogéneo y presenta varios nucléolos que miden, aproximadamente, 4-5  $\mu\text{m}$  y se encuentran dispuestos principalmente en la periferia del núcleo, contactando, la mayoría de ellos, con la envoltura nuclear. El citoplasma es basófilo, con algunas áreas más claras, es decir, de menor intensidad basofílica. Inmediatamente por fuera del oocito se encuentra una zona pellucida muy delgada, mide aproximadamente 1,7  $\mu\text{m}$  a 2,0  $\mu\text{m}$ , siendo a veces difícil de visualizar. Por encima de la zona pellucida, especialmente en un hemisferio del oocito, se ven, aunque con dificultad, las microvellosidades superficiales del oocito, la mayoría agrupadas y de altura irregular. Respecto a las capas celulares del folículo, forman una envoltura completa, muy delgada, constituida principalmente por dos capas celulares: a) una capa interna, formada por células aplanadas y que corresponde a la futura capa folicular; y b) una capa externa, también formada por células aplanadas y que corresponden a las futuras células tecales. Entre ambas capas celulares se encuentra la lámina basal de las células foliculares. Con la microscopía de luz no se visualizan los extremos celulares de los epitelios descritos, solamente se ven los núcleos dispuestos en forma espaciada. Por fuera de las capas del folículo ya mencionadas se encuentran los fibroblastos de la laminilla ovígera.

Oocito IV (Fig. 6): Mide aproximadamente 240-300  $\mu\text{m}$ . El núcleo presenta un material acidófilo que consiste en filamentos finos dispuestos regularmente. Se encuentran varios nucléolos al corte histológico, en número muy variable, tienen un diámetro aproximado de 8,1  $\mu\text{m}$  y están generalmente adosados a la envoltura nuclear. El citoplasma es basófilo pero de menor intensidad tintorial que en los estados anteriores, presenta, en general, un aspecto espumoso. Este citoplasma presenta pequeñas vesículas dispuestas en forma irregular y espaciadas constituyendo el inicio del vitelo primario. Por fuera del límite celular se dispone una zona pellucida que mide aproximadamente 5,4  $\mu\text{m}$  de grosor y está dispuesta sobre toda la superficie del oocito. En seguida, hacia el exterior, en la superficie de la zona pellucida es posible ver, aunque con dificultad y solamente en algunas regiones, una delgada capa de microvellosidades correspondiente al extremo terminal de ellas. En la mayor parte del espacio comprendido entre la zona pellucida y las células foliculares (que son más superficiales) se dispone también lo que se denomina capa vellosa, formada fundamentalmente por filamentos gruesos (en adelante

filamentos adhesivos del huevo) dispuestos como un plexo irregular a lo largo de la superficie del oocito. A la microscopía de luz no se pueden ver mayores detalles de sus relaciones con las otras capas. Luego tenemos la capa de células foliculares con su lámina basal. Esta última presenta un mismo grosor en toda su extensión y separa las células foliculares de la capa de células tecales que son más externas. Los núcleos de las células foliculares son pequeños y ovoídeos, la cromatina es escasa y dispuesta principalmente en la periferia, también encontramos la presencia regular de un nucléolo. La capa tecal es muy delgada y regular en altura. Por fuera de la teca encontramos fibroblastos y capilares sanguíneos pertenecientes a la laminilla ovígera.

Oocito V (Fig. 7): Mide aproximadamente 460 a 520  $\mu\text{m}$ . El núcleo, de contornos muy irregulares, mide aproximadamente 115  $\mu\text{m}$ . La envoltura nuclear está presente en casi toda su extensión pero, en algunas zonas, se presenta difusa. El material nuclear, a manera de granulado fino, está dispuesto homogéneamente y, al corte histológico, se encuentran presente dos a siete nucléolos prominentes que miden aproximadamente 10  $\mu\text{m}$ . El citoplasma en general es débilmente basófilo, de tipo espumoso y con la presencia de gran cantidad de vesículas claras dispuestas regularmente salvo en la región perinuclear. En esta parte el citoplasma es denso, de mayor intensidad basofílica que el resto. Las vesículas mencionadas (en adelante vitelo primario) dan una reacción negativa con el Sudán Black y con el Sudán III (Spannhoff 1966) y también una reacción negativa con el Sulfato Azul de Nilo según Cain (Culling 1957), lo cual nos indica que en el vitelo primario hay una carencia de lípidos, en cambio tiene una reacción positiva con el Azul Alcian (Spannhoff 1966) lo que indicaría la presencia de mucopolisacáridos ácidos.

En el citoplasma de estos oocitos se distingue también la presencia de gránulos esféricos, eosinófilos, que se disponen entre las vesículas de vitelo primario. Aparecen en la región comprendida entre el citoplasma denso perinuclear y el citoplasma cortical constituyendo el inicio del vitelo secundario. Con el método de Sulfato Azul de Nilo según Cain se tiñen en forma específica indicando la presencia de ácidos grasos.

La zona pellucida (Figs. 8 y 9) tiene un aspecto estriado debido a la presencia de canalículos que la atraviesan. Tiene un grosor aproximado de 8,4  $\mu\text{m}$  y, en cuanto a su coloración, es posible diferenciar dos regiones; una interna que es ancha,

de tonalidad clara y otra externa, más delgada y de coloración más oscura. Por fuera de la zona pellucida encontramos la capa vellosa, formada por el conjunto de filamentos adhesivos. No se ven las microvellosidades en la superficie de la zona pellucida debido a que los filamentos adhesivos de la capa vellosa son muy abundantes. Por la misma razón tampoco es posible distinguir bien las extensiones de las células foliculares en la capa vellosa. Esta capa vellosa es más gruesa a nivel de la futura área de fijación del huevo al sustrato. Los filamentos adhesivos toman contacto con la zona pellucida en forma de gruesos tabiques paralelos y de poca altura, luego forman un plexo en plena capa vellosa.

Las células foliculares (Figs. 8 y 9) están dispuestas en monocapa, se ubican entre la capa vellosa y la lámina basal. Tienen una forma más o menos cúbica, siendo más bajas en la región opuesta del área de fijación del oocito. La parte más alta del epitelio folicular (Fig. 9) mide aproximadamente 50  $\mu\text{m}$  y la parte más baja 7  $\mu\text{m}$ . Los núcleos de estas células, de forma variada, son basófilos y en su interior se destaca la presencia de uno o dos nucléolos. El citoplasma es escaso en relación al núcleo. No es posible distinguir mediante la microscopía de luz una región de contacto de estas células con las microvellosidades o con la zona pellucida.

La lámina basal de la capa de células foliculares separa a éstas de las células tecales que son más superficiales. Estas últimas se encuentran también dispuestas en monocapa (Fig. 9), son aplanadas y alargadas. En algunos sectores de la capa tecal se puede observar la presencia de capilares sanguíneos.

Oocito VI (Fig. 10): Mide aproximadamente 800 a 950  $\mu\text{m}$ . Pierde su forma esférica y se presenta ligeramente achatado en los polos. El núcleo mide aproximadamente 200  $\mu\text{m}$ , sus bordes son muy irregulares, presenta un material granuloso fino, de carácter acidófilo que llena todo el núcleo. Se ven pocos nucléolos cercanos a la envoltura nuclear y tienen un tamaño aproximado de 8 a 13  $\mu\text{m}$ . La envoltura nuclear está generalmente presente, pero en algunos oocitos, ha comenzado el proceso de rompimiento del núcleo, por consiguiente, en algunas zonas se observa la carencia de una envoltura nuclear típica.

El citoplasma presenta una gran cantidad de vitelo de tipo secundario caracterizado por gránulos esféricos repartidos en todo el citoplasma, tienen un tamaño que varía entre 17 y 18  $\mu\text{m}$  y ofrecen una coloración rojiza con la técnica de coloración

corriente (Fig. 11). El citoplasma de tipo basófilo es escaso y está distribuido regularmente en todo el oocito, entre la membrana citoplásmica y la envoltura nuclear. Por otra parte, siempre están presentes las vesículas claras de vitelo primario, las que se presentan más voluminosas en la región perinuclear y son más pequeñas en la región cortical.

La zona pellucida es gruesa, mide 22  $\mu\text{m}$  aproximadamente, conserva su estriación fina transversal pero se pierden sus dos regiones tintoriales diferentes adquiriendo un aspecto más homogéneo en toda su altura. Por fuera de la zona pellucida se dispone la capa vellosa, formada principalmente por los filamentos adhesivos.

La capa de células foliculares está formada por un epitelio monoestratificado. Esta capa no es regular en su altura, presenta una parte más alta, de unos 70  $\mu\text{m}$  aproximadamente en la región que corresponde al área de fijación y, una parte más baja, en el polo opuesto, que mide aproximadamente 7  $\mu\text{m}$  (Fig. 12). Los núcleos son grandes en proporción a la célula, la cromatina es más abundante cerca de la envoltura nuclear y tienen generalmente un nucléolo.

Respecto a la capa vellosa (Fig. 12) en la región adelgazada de ésta, no se encuentran filamentos adhesivos. Estos van apareciendo a medida que nos acercamos a la parte ecuatorial del oocito, disponiéndose entre las células foliculares y van aumentando en longitud y en número hasta el área de fijación. En el presente estado de maduración los filamentos adhesivos de la capa vellosa dan una reacción positiva con el Azul Alcian, indicando un contenido rico en mucopolisacáridos ácidos, no así en los estados anteriores. Por otra parte, las extensiones de las células foliculares y la zona pellucida tienen una reacción negativa con esta misma tinción. En cuanto a las extensiones citoplásmicas de las células foliculares (Fig. 12), muestran una estrecha relación con los filamentos adhesivos pero es difícil visualizar bien sus límites o contactos entre ellos. En la parte gruesa de la capa vellosa (que indica la futura área de fijación) se destacan los núcleos de las células foliculares que se encuentran ahora en una posición cercana a la zona pellucida (Fig. 13).

Finalmente, por fuera de la lámina basal, encontramos las células tecaes que se disponen en forma de una capa de células delgadas y aplanadas siendo la altura de ellas muy regular en toda la extensión de este epitelio (Figs. 12 y 13).



Oocito VII (Fig. 14): Corresponde al oocito ovulado. Mide aproximadamente 1300 a 2000  $\mu\text{m}$ . Al estado fresco ofrece una coloración púrpura y, por transparencia, se visualizan en su interior varias gotas oleosas centrales. Es notorio en este estado la llamada área de fijación del huevo que es una región superficial blanquecina a manera de gorro y que corresponde a la capa vellosa muy engrosada en un hemisferio del oocito. Esta área de fijación es más gruesa que en el estado VI y se va reduciendo fuertemente en altura a medida que se acerca al ecuador del huevo y al polo opuesto. Está constituida por gruesos filamentos adhesivos cuya función es fijar el huevo al sustrato. Cerca de la zona pellucida los filamentos se disponen ordenadamente formando pequeñas bandas gruesas paralelas que se adhieren a la zona pellucida mediante un pedúnculo circular (Fig. 15). Más externamente se dispone una capa amorfa acelular a manera de una banda adhesiva con un alto contenido de mucopolisacáridos.

La zona pellucida se presenta muy gruesa, mide 22,5  $\mu\text{m}$  aproximadamente y a la tinción corriente aparece descolorida en su mayor parte. Su estriación no es tan clara como en los estados anteriores, se ven pequeños orificios apilados en la parte superficial de ella correspondientes a los canalículos cortados en diferentes direcciones.

El oocito VII no presenta núcleo celular. El material cromatínico disperso no pudo ser visualizado con los métodos empleados.

Al examinar el citoplasma se observa abundante cantidad de vitelo secundario distribuido en todas partes salvo en una delgada región cortical que se encuentra inmediatamente por debajo de la zona pellucida y que se presenta como citoplasma basófilo. Este último se presenta, además, distribuido irregularmente en el resto del citoplasma entre los gránulos de vitelo. También es posible distinguir pequeñas vesículas claras descritas como vitelo primario. En general, en el citoplasma predomina el material vitelino que se presenta en forma de gránulos esféricos o poligonales.

Atresia folicular: Se refiere a los folículos ováricos con oocitos maduros que no experimentaron ovulación y que van involucionando. El tamaño promedio de los folículos atrésicos es de 700  $\mu\text{m}$ . En cuanto a la forma, en los estados iniciales de la atresia, son semejantes a la de un folículo estado V de maduración pero, en estado de atresia avanzada, su forma es difícil de precisar.

En algunos ovarios los folículos atrésicos presentan procesos de desintegración oocitaria. Esto consiste en que el oocito muestra alteraciones nucleares y citoplásmicas, una zona pellucida fragmentada y un inicio de la proliferación de las células foliculares (Fig. 16).

En otros casos se observó un proceso de invasión de células foliculares. Esto consiste en hipertrofia de la capa de células foliculares o presencia de varias capas de estas células; además se presentan procesos de cariorexis, restos de filamentos adhesivos y restos de vitelo (Fig. 17). Las células foliculares poseen vesículas claras intracitoplásmicas y una regular cantidad de gránulos eosinófilos intravesiculares y extravesiculares. Las células tecales se mantienen en monocapa.

Finalmente, se observó la presencia de cuerpos epitelioides (Fig. 18). Estos consisten en cordones de células de tipo epitelial que, derivadas principalmente de las células foliculares, van llenando todo el folículo hasta formar un macizo celular de aspecto glandular. También se ven en él, restos de la lámina basal de las células foliculares y una probable hipertrofia en pequeño grado de las células tecales. Las células de los cordones epiteliales de la región cortical o de la región medular de los cuerpos epitelioides ofrecen características morfológicas semejantes.

Finos capilares sanguíneos se disponen en forma muy espaciada entre las células superficiales de los cuerpos epitelioides y también en la región en que contactan con la lamini-lla ovígera. No se ven vasos sanguíneos en el resto de los cuerpos epitelioides.

## DISCUSION

Los resultados de la presente investigación han permitido conocer la estructura ovárica del pejesapo *Sicyases sanguineus* y definir los diferentes estados de maduración oocitaria.

En cuanto al ritmo de maduración de los oocitos, Wallace & Selman (1981) estiman que la clasificación propuesta por Marza (1938) para ovarios de Teleósteos es la de más utilidad, distinguiéndose tres categorías: Sincrónico total, Sincrónico parcial y Asíncrónico. El ovario de *Sicyases sanguineus* corresponde al grupo de Sincronismo parcial, situación que es

la más común entre los Teleósteos. En efecto, presenta dos poblaciones de oocitos, una predominantemente homogénea de oocitos grandes y otra pequeña heterogénea. Respecto al incremento de oocitos, según esta misma clasificación, en el pejesapo puede realizarse: a) directamente de las oogonias; o b) de estados previtelogénicos (I, II, III, IV), puesto que oogonias y oocitos inmaduros se encuentran siempre presentes tanto en la etapa preovulatoria como postovulatoria. Aunque en el presente trabajo no se realizó un estudio sobre el ciclo reproductivo del pejesapo, se pudo detectar hembras ovulando durante todo el mes de julio, lo que indica un período de desove de larga duración.

El criterio para definir los diferentes estados de maduración oocitaria en Teleósteos varía según los diferentes autores. Algunos consideran las características nucleares, citoplásmicas y del vitelo (Braekevelt & McMillan 1967, Gotting 1967, Combs 1969, Guraya et al. 1975, Wourms 1976, Cerisola et al. 1978), otros los describen por tamaños (Hurley & Fisher 1966, Anderson 1967, Tsuneke & Gorbman 1977) o también por otras características generales que aparecen durante el crecimiento del oocito (Beach 1959, Wallace & Selman 1981). En el presente trabajo se consideraron los cambios principales citomorfológicos que muestran el oocito y las capas del folículo ovárico. Las oogonias se consideran como grupo aparte.

En la denominación de las envolturas de oocito y de las capas celulares del folículo tampoco existe un criterio uniforme en los diferentes autores. La terminología utilizada en el presente trabajo corresponde en general a la utilizada por Waddington (1956), Hurley & Fisher (1966), Anderson (1967), Norrevang (1968) y Cerisola et al. (1978). Se ha denominado zona pellucida a la membrana del oocito que está inmediatamente por fuera de la membrana citoplásmica y que presenta una estriación regular debido a la presencia de finos canaliculos que la atraviesan. Otros autores han empleado el término zona radiata (Hurley & Fisher 1966) o envoltura primaria (Anderson 1967), es decir, formada por el mismo oocito. Respecto a esto último, aún no hay mucha claridad pero observaciones realizadas por Hurley & Fisher (1966), Wourms (1976) y Cerisola et al. (1978), indican que esta membrana se forma por la actividad del oocito. Aunque en los oocitos I y II fue difícil observar la zona pellucida mediante la microscopía de luz, se ha visto en otras especies, empleando la microscopía electrónica, el inicio de su formación entre las microvellosidades del oocito (Cerisola et al. 1978). El engrosamiento de la zona pellucida

es gradual hasta un estado VII aproximadamente, lo cual nos indica que las microvellosidades incluidas en los canalículos de la zona pellucida van creciendo para cumplir sus funciones a nivel del espacio interveloso.

Tanto las oogonias como los oocitos estados I y II se disponen siempre en los márgenes de las laminillas ovígeras y cercano a ellos se encuentran numerosos fibroblastos de la laminilla ovígera. A la microscopía de luz no se puede visualizar si hay o no un revestimiento celular ya diferenciado a manera de células foliculares. En el estado III pueden observarse las capas folicular y tecal, muy delgadas y separadas una de la otra por la lámina basal de la envoltura folicular.

En folículos de mayor tamaño las células foliculares se diferencian aún más ofreciendo el aspecto de un epitelio monoestratificado formado por células cúbicas y dispuesto entre la lámina basal y la capa vellosa. En cuanto a la forma de las células foliculares, llama la atención el hecho de que en el estado V muestran una variación en la altura, tienen una forma cúbica en la zona correspondiente a la futura área de fijación pero se hacen más bajas a medida que el epitelio folicular se aproxima al polo opuesto. También cabe destacar que en el estado VI estas células se alargan y hay un cambio de posición de sus núcleos, disponiéndose ahora en una posición cercana a la zona pellucida. Aunque las funciones de las células foliculares no están del todo dilucidadas, se considera que intervienen en la inducción de la maduración, en la formación del vitelo, en la formación de los filamentos adhesivos y en el proceso de la atresia folicular, de ahí que en el presente trabajo se le ha dado especial importancia en mostrar una secuencia coordinada de cambios que ocurren en el epitelio folicular y en el oocito.

En el estado V y en el estado VI, la capa vellosa, constituida principalmente por filamentos adhesivos, se va haciendo muy alta en la futura región de fijación del huevo y es más delgada en el polo opuesto, lo que nos revela también que ya está definida cierta organización del oocito para el desarrollo subsecuente. En el oocito estado VII las técnicas histoquímicas empleadas indicaron la presencia de mucopolisacáridos, especialmente en la banda de adhesión, lo que concuerda, en parte, con las observaciones de Busson-Mabillot (1977) en oocitos de *Cyclusoma nigrofasciata*.

La envoltura nuclear en el oocito VI se presenta incompleta en varios sectores, lo que nos indicaría el inicio del rompimiento del núcleo y la mezcla del contenido nuclear con el citoplasma, proceso que es importante que ocurra en esta etapa de la maduración. Además, la gran cantidad de nucléolos presentes durante los estados previtelogénicos y el acercamiento de ellos a la envoltura nuclear, nos están indicando su compromiso en una síntesis aumentada de material ribosomal durante este período.

La atresia folicular, en sus aspectos generales, es semejante a lo observado en otros Teleósteos marinos. El estudio realizado permitió describir variedades del proceso atrésico en cuanto a las modificaciones que experimentan los tejidos del folículo. En los ovarios examinados después del desove no se observó atresia en oocitos previtelogénicos. En la descripción de las transformaciones que experimentan los oocitos vitelogénicos hemos visto formaciones semejantes a las descritas por Christiansen (1971) en el ovario de merluza, de manera que estamos de acuerdo en emplear la terminología propuesta por este autor para explicar tanto los cambios involutivos del oocito como los procesos de proliferación y diferenciación celular ocurridos en la pared folicular. En cuanto a la formación de los cuerpos epitelioides, se ha visto que existe cierta similitud respecto a las características citoplásmicas de sus células y las correspondientes al cuerpo lúteo de mamíferos, en ambos casos el citoplasma se presenta claro y vacuolar pero, por otra parte, existen dos diferencias principales entre ambas formaciones y que se refieren a lo siguiente: a) en el cuerpo epitelioides no hay una invasión de las células tecales en forma de cordones hacia el interior del órgano, como es el caso de los cuerpos lúteos, y b) en los cuerpos epitelioides se encuentran vasos sanguíneos únicamente entre las células tecales transformadas y no invaden los cordones de células foliculares diferenciadas. Por consiguiente, aunque el cuerpo epitelioides no es una formación similar a la de un cuerpo lúteo de mamíferos, muestra algunas similitudes que indican una función endocrina importante. Braekevelt & McMillan (1967) y Guraya et al. (1975) le asignan características fagocíticas a las células foliculares en la atresia. En el presente estudio no se encontraron evidencias de un proceso de fagocitosis por parte de las células foliculares. Nuevas observaciones realizadas a nivel de microscopía electrónica se tratarán en un segundo trabajo.

AGRADECIMIENTOS. Se agradece la valiosa colaboración de Edith Méndez W. por la confección de los preparados.

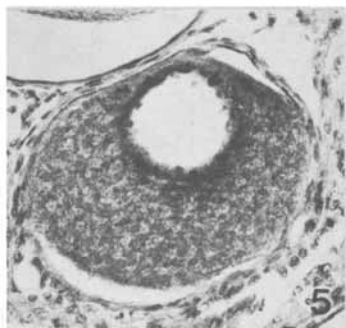
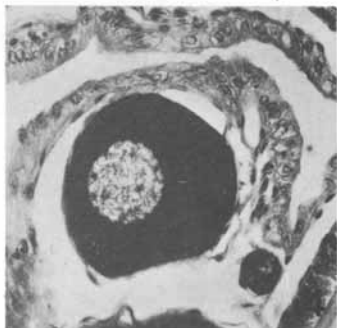
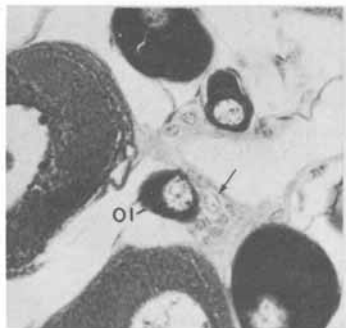
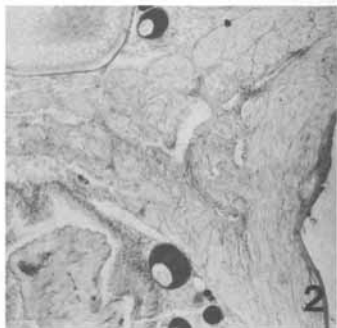
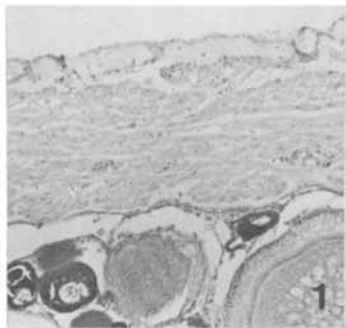
## LITERATURA CITADA

- Anderson, E. 1967. The formation of the primary envelope during oocyte differentiation in teleosts. *The J. of Cell Biol.* **35**: 193-212.
- Beach, A.W. 1959. Seasonal changes in the cytology of the ovary and of the pituitary gland of the goldfish. *Can. J. Zool.* **37**: 615-625.
- Braekevelt, C.R. & D.B. McMilland. 1967. Cyclic changes in ovary of the Brook stickleback *Eucalia incostans* (Kirtland). *J. Morph.* **123**: 373-396.
- Busson-Mabillot, S. 1977. Un type particulier de secretion exocrine celui de l'appareil adhésif de l'oeuf d'un poisson Téléostéen. *Biol. Cellulaire* **30**: 233-244.
- Cerisola, H.; Grisolia, F. & E. Méndez. 1978. Aspectos estructurales y ultraestructurales del ovario del pejerrey de una agua dulce *Basilichthys australis* Eigenmann. *An. Mus. Hist. Nat. Valpo.* **11**: 175-190.
- Christiansen, H.F. 1971. Descripción histológica del ciclo del ovario de merluza. *Bol. Inst. Biol. Mar., Mar del Plata*, **20**: 5-41.
- Combs, R.M. 1969. Embryogenesis, Histology and Organology of the ovary of *Brevoortia patronus*. *Gulf Res. Reports, Ocean Springs, Miss.* **2** (r): 333-436.
- Culling, C.F.A. 1957. *Handbook of histopathological technique*, Butterworth y Co. Ltd., London.
- Götting, K.J. 1967. Der Follikel und die peripheren strukturen der Teleosteer und Amphibien. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* **79**: 481-491.
- Guraya, S.S.; Kapur, R. & P.K. Saxena. 1975. Morphology ovarian changes during the reproductive cycle of the fish *Mystus tengara* (Ham). *Acta Anat.* **91**: 222-260.
- Hurley, D.A. & K.C. Fisher. 1966. The structure and development of the external membrane in young eggs of the brook trout *Salvelinus fontinalis* (Mitchell). *Can. J. Zool.* **44**: 173-189.
- Laele, H.W. 1980. The perivitelline space and egg envelopes of bony fishes: A review. *Copeia* **2**: 210-226.
- Marza, V.D. 1938. *Histophysiologie de l'ovogenese*. Hermann, París.

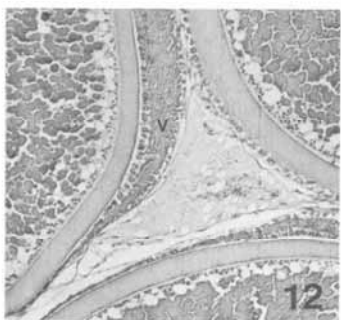
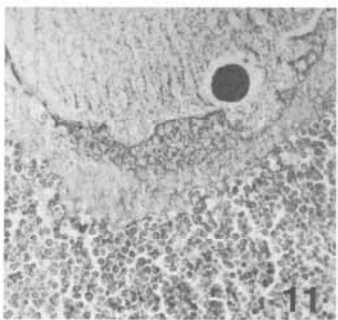
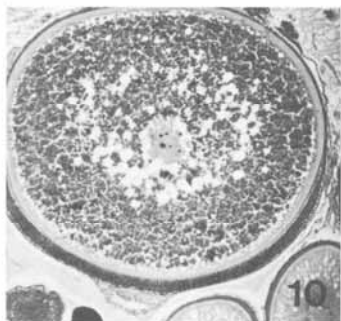
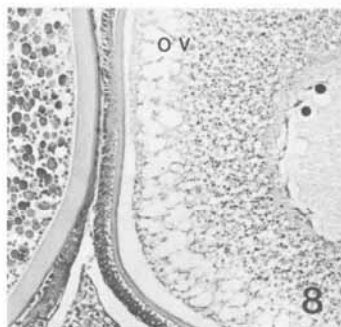
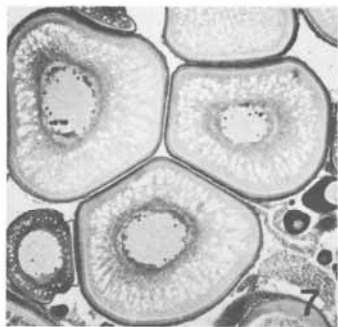
- Norrevang, A. 1968. Electron microscopic morphology of oogenesis. Int. Review of Cytol. **23**: 124-186.
- Spannhof, L. 1966. Histoquímica Práctica. Edit. Acribia, España.
- Tsuneki, K. & A. Gorbman. 1977. Ultrastructure of the ovary of the hagfish *Eptatretus stouti*. Acta Zool. (Stockh) **58**: 27-40.
- Waddington, C.H. 1956. The gametes. In: Principles of Embryology. George Allen and Unwin Ltd., London, p. 38.
- Wallace, R.A. & K. Selman. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. Amer. Zool. **21**: 325-343.
- Wourms, J.P. 1976. Annual fish oogenesis. I. Differentiation of the mature oocyte and formation of the primary envelope. Dev. Biol. **50**: 338-354.
- Wourms, J.P. & H. Sheldon. 1976. Annual fish oogenesis. II. Formation of the secondary egg envelope. Dev. Biol. **50**: 355-366.

- Fig. 1. Cápsula de un ovario en período de maduración. X 177.
- Fig. 2. Proyección de la cápsula hacia el interior del ovario en su parte ventral. X 77.
- Fig. 3. Laminillas ovígeras. Presencia de oogonias (flecha) y oocitos Estado I (OI). X 514.
- Fig. 4. Oocito Estado II. X 560.
- Fig. 5. Oocito Estado III. X 480.
- Fig. 6. Oocito Estado IV. Se indica la zona pellucida (flechas) y nucléolo (n). X 278.





- Fig. 7. Tres oocitos Estado V. X 75.
- Fig. 8. Oocito Estado V (OV). X 560.
- Fig. 9. Región cortical de oocito Estado V. Se indican: zona pellucida (P), células foliculares (f) y células tecaes (flecha). X 583.
- Fig. 10. Oocito Estado VI. X 200.
- Fig. 11. Oocito Estado VI. Se observa el núcleo con su nucléolo. El citoplasma muestra los gránulos de vitelo. X 75.
- Fig. 12. Región cortical de 3 oocitos Estado VI. Se muestra la variación en altura de la capa vellosa (V). X 183.



- Fig. 13. Región cortical de un oocito Estado VI. Se indican los núcleos de las células foliculares (flecha) y la zona pellucida (P). X 461.
- Fig. 14. Oocito entero Estado VII (ovulado). X 35.
- Fig. 15. Región cortical oocito Estado VII. Se ven los filamentos de la capa vellosa (V). X 128.
- Fig. 16. Folículo atrésico en proceso de "desintegración". X 176.
- Fig. 17. Folículo atrésico en proceso de "invasión de células foliculares" (flecha). X 184.
- Fig. 18. Folículo atrésico en estado de "cuerpo epitelioides". X 214.

