

Descripción histológica de las fases de los folículos post-ovulatorios en ovarios de merluza común (*Merluccius hubbsi*)

Histological description of the post-ovulatory follicles phases in common hake ovaries (*Merluccius hubbsi*)

Alejandra M. Cornejo

Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia". División Ictiología.
Av. Angel Gallardo 470 - (1405) Buenos Aires, Argentina.
ictiologlp@muanbe.gov.ar

RESUMEN

En el presente trabajo se revisan aspectos microscópicos de los ovarios de la merluza común, (*Merluccius hubbsi*) (Marini, 1933). Se describen las características histológicas de las diferentes fases involutivas de los folículos post-ovulatorios (FPO) para esta especie. Se confirman investigaciones anteriores referidas a estadios de post-desove y fases de los FPO. Se encontraron similitudes morfológicas con los FPO de *Merluccius gayi*.

Palabras clave: ovocito, atresia, desove, ovario, reproducción, peces, Argentina.

ABSTRACT

In the present paper microscopic aspects of the ovary of common hake (*Merluccius hubbsi*) (Marini, 1933) are revised. The histological characteristics of the different involutives stages of post-ovulatory follicles (POF) for this species are described. Previous investigations about post spawning stages and POF phases can be confirmed. For the first time, morphological similarities with POF of *Merluccius gayi* are presented.

Key words: oocyte, atresia, spawning, ovary, reproduction, fishes, Argentine.

INTRODUCCION

Las primeras investigaciones sobre ovarios de *Merluccius hubbsi* en el Mar Argentino corresponden a Angelescu *et al.* (1958). Posteriormente Christiansen (1971) y Christiansen & Cousseau (1971) efectuaron observaciones histológicas relacionadas con el ciclo reproductivo y aspectos vinculados al mecanismo de desove de esta especie. De acuerdo a Olivieri & Christiansen (1987), las concentraciones reproductivas de *Merluccius hubbsi* se encuentran agrupadas en torno a épocas de invierno y verano en áreas de Plataforma Norte (uruguayo-bonaerense) y Plataforma Patagónica Central y Golfo de San Matías respectivamente. La localización temporal y geográfica de FPO y fenómenos atrésicos en *M. hubbsi* corresponden a un futuro trabajo.

Respecto a los folículos post-ovulatorios (FPO), el aspecto más importante de estas estructuras es que permiten verificar, ya sea por medios experimentales o por su incidencia en el ambiente natural, los tiempos y las fases de su involución. En la merluza común esta circunstancia posibilita llegar a un conocimiento sobre las frecuencias reproductivas a través del crecimiento de los ovocitos residuales en maduración, según lo señalaran Olivieri & Christiansen (1987) y Louge & Christiansen (1992). La confirmación de observaciones referidas a las transformaciones ováricas registradas en los procesos posteriores al desove constituye el objetivo de este trabajo.

MATERIALES Y METODOS

Los preparados histológicos se diagnosticaron según estadios de maduración establecidos en una escala de I a VII, sobre la base de estudios previos de Christiansen (1971). a) Estadios de maduración ovárica: I, ovocitos basófilos; II, ovocitos con vitelogénesis lipídica; III, ovocitos con vitelogénesis proteica incipiente; IV, ovocitos totalmente cargados de vitelo; V, traslación nuclear, homogeneización citoplásmica y formación de vacuola oleosa. b) Estadios de post-desove: VI, evacuación con destrucción de trama conectiva conectiva de las láminas y marcada movilización de células conjuntivas asociadas con focos hemorrágicos; VII, reconstitución de las láminas ováricas con permanencia de vacuidad estructural. Acontecido el desove, la estructura residual es el denominado folículo post-ovulatorio (FPO), que juntamente con los elementos ovocitarios residuales entran en diferentes etapas de reabsorción. A partir del estadio VI en ocasiones pueden desarrollarse estructuras derivadas de las células foliculares que adquieren aspecto parenquimatoso glandular. Se analizaron histológicamente 986 ovarios de ejemplares sexualmente maduros de *Merluccius hubbsi*. Los preparados histológicos fueron obtenidos en el Laboratorio de Histología de INIDEP (Mar del Plata), resultantes de fijaciones en formol al 10%, con posterior inclusión en parafina y coloración hematoxilina-eosina. El área del Mar Argentino considerada se extiende desde los 35° 30' LS hasta los 54° LS, a profundidades que van desde los 50 a 200 m. Las muestras obtenidas corresponden a las campañas comprendidas en los períodos octubre-noviembre 1978 y febrero-marzo 1979, y también a campañas comerciales y de investigación efectuadas en julio-agosto 1982; junio 1983 y mayo-junio 1984.

RESULTADOS

ESTADIOS DE POST-DESOVE:

Acontecida la expulsión ovocitaria, profundas transformaciones ocurren en el parénquima ovárico. En las mismas se encuentran implicados los componentes de la granulosa, los elementos ovocitarios residuales y el tejido conjuntivo propio del ovario. Se registraron ejemplares en desove total, mientras que otros mantenían hacia el final de la puesta remanentes considerables de ovocitos en etapas incipientes y/o avanzadas de maduración.

En cuanto al ovario vacío en recuperación, se observó un conspicuo estado de vaciamiento y desorganización. Las láminas ovíferas, dilatadas anteriormente por los ovocitos maduros, presentaron espacios vacíos entre sí, resultando frecuentes los ovocitos atrésicos. Se observó también intensa vascularización y numerosas hemorragias, resultando ocupados los espacios libres por células linfocitarias y macrófagos. Las hembras desovadas fueron separadas en las siguientes categorías, siguiendo el criterio establecido por Christiansen (1971): Desovadas VII: Los ovarios se caracterizaron por su gran vacuidad estructural, presentando aspecto conjuntivo hemorrágico. La trama celular se presentó fuertemente movilizada y con las láminas ováricas desintegradas. Los grandes espacios se observaron ocupados por ovocitos en estadio II, los cuales formarían parte de la reserva destinada para la próxima puesta; corresponde al denominado estado de reversión gonadal (Figs. 1 y 2).

Desovadas III y IV: Anatómicamente los ovarios presentaron aspecto hemorrágico. En los ovarios de las desovadas IV se observó microscópicamente cierta movilización, formaciones foliculares aberrantes y espacios con presencia, en ocasiones, de restos sangüinolentos (Fig. 3).

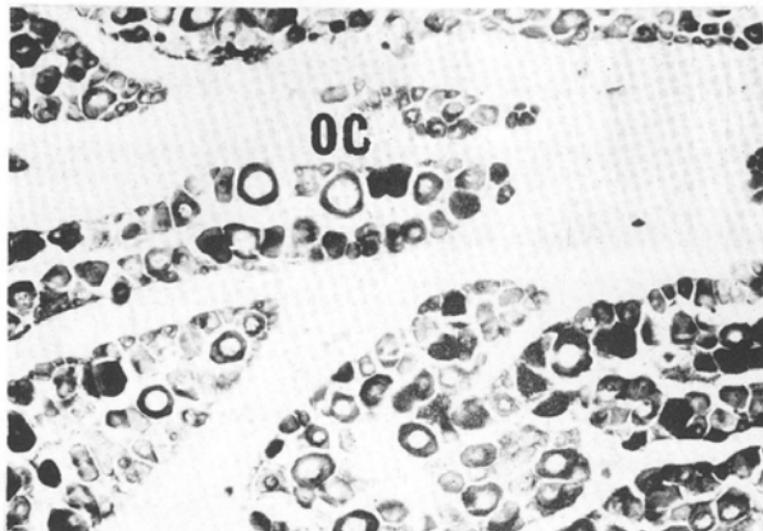


Figura 1. Imágenes de ovocito en crecimiento (OC) de la merluza común, *Merluccius hubbsi*. Aumento 20x.

Figure 1. Growth oocytes images (OC) of the common hake *Merluccius hubbsi*. Magnification of 20x.

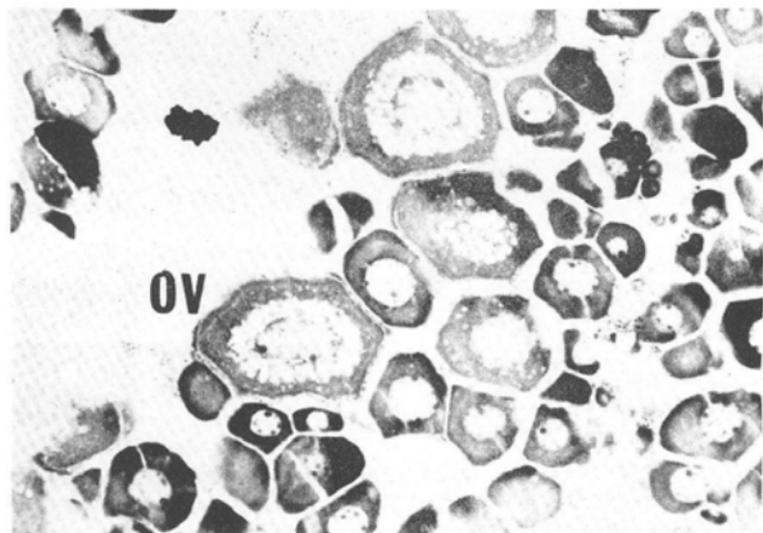


Figura 2. Detalle de ovocito en maduración en ovario de merluza común, *Merluccius hubbsi*. Aumento 20x.

Figure 2. Ripening oocyte detail in the ovary of common hake, *Merluccius hubbsi*. Magnification of 20x.

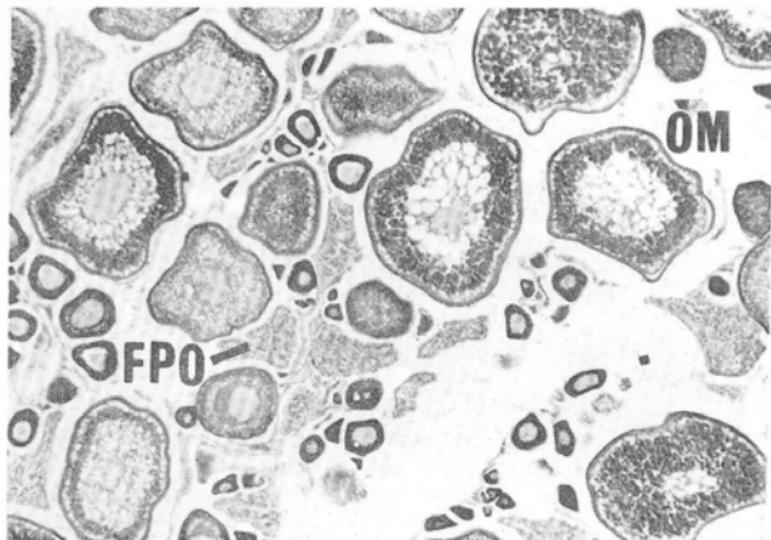


Figura 3. Aspecto típico del ovario de merluza común, *Merluccius hubbsi* en desove parcial. Se observa la presencia de folículos post-ovulatorios (FPO) y ovocitos en maduración. (OM). 20x.

Figure 3. Typical view of the common hake ovary, *Merluccius hubbsi* in partial spawning. Post-ovulatory follicles (FPO) and ripening oocytes (OM) are observed. 20x.

FOLICULOS POST-OVULATORIOS

En los ejemplares analizados, una vez acontecida la expulsión de los ovocitos maduros, se observó la permanencia en el ovario de *Merluccius hubbsi* ovocitos en crecimiento, y formaciones císticas plegadas, revestidas por el epitelio de la granulosa que asienta sobre las membranas tecales. Imágenes referidas a la sucesión de estos componentes pueden observarse en las fotomicrográficas de las Figuras 4 y 5. En ellas se aprecian las etapas involutivas que siguen a la expulsión del óvulo maduro. Esta circunstancia nos permite clasificar a los FPO según las diferentes etapas que culminan con su desaparición más o menos rápida, o bien su transformación en los componentes diferenciados ya descritos. Con referencia a los primeros, en su involución se corrobora la existencia de cuatro fases: Fase 1, representada por una formación epitelial neta. Los componentes celulares son norma-

les, formando un epitelio cilíndrico bajo que rodea nítidamente la luz central (Fig. 6). Fase 2, en que la formación epitelial presenta evidentes signos necrobióticos. Las células tienen imágenes picnóticas, propenden a emigrar invadiendo la luz central (Fig. 7). Los núcleos se presentan voluminosos y claramente visibles, en tanto se visualiza irregular la capa de células tecales. Fase 3: caracterizada por presentar imágenes desintegrativas; la estructura en cuestión se halla necrosada. La luz se encuentra en parte obliterada por la descamación celular (Fig. 8). Fase 4, que constituye la última etapa, netamente necrobiótica. Se observó la presencia de núcleos picnóticos. Acompaña a la lisis y desintegración finales de los FPO (Fig. 9). Los ovocitos residuales hallados se encontraron en estado de maduración avanzada o bien en proceso de vitelogénesis incipiente. Los primeros correspondían a las denominadas evacuaciones parciales (estadios VI-IV, o bien VI-III), y los



Figura 4. FPO recientes en diferentes fases de involución. FPO: folículo post-ovulatorio. 40x.

Figure 4. Early FPO in involutive phases different. POF: Post-ovullatory follicle. 40x.



Figura 5. Detalle de FPO y ovocitos en maduración (OM). 40x.

Figure 5. FPO detail and ripening oocytes (OM). 40x.

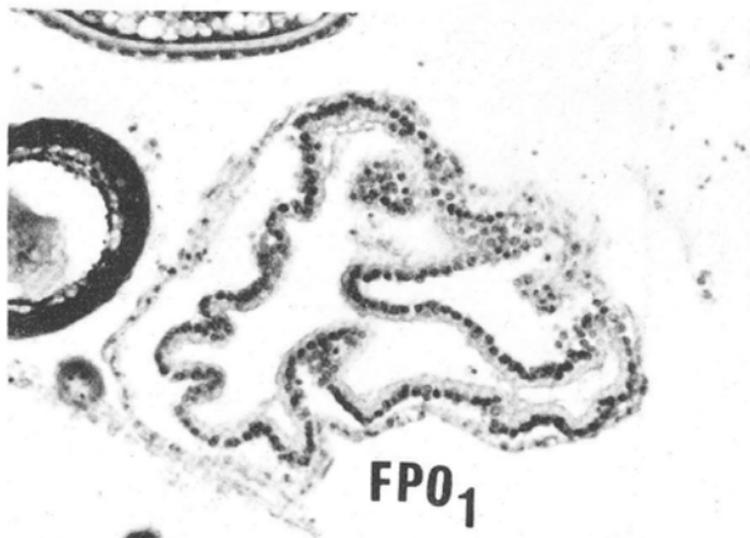


Figura 6. FPO en fase 1: se observa el epitelio de la granulosa sobre las membranas tecales, con importante luz en su interior. 75x.

Figure 6. Phase 1 of early FPO: the thecal membrane under granular epithelium with a very important light inside is observed. 75x.



Figura 7. FPO en fase 2, que se inicia con la transformación citoplasmática y desaparición de la luz folicular. 75x.

Figure 7. The beginning of phase 2 of POF is given by the cytoplasmatic transformation and follicular lighth disappearance. 75x.

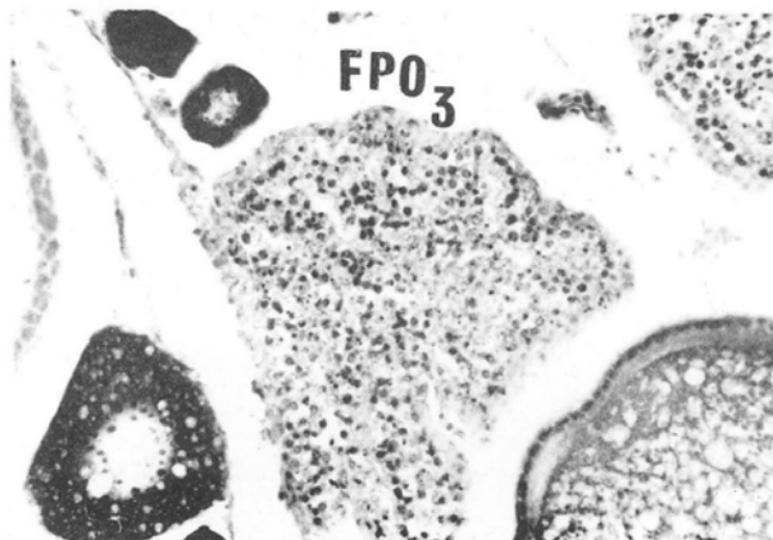


Figura 8. Fase 3: regresión final del FPO: la desintegración celular es muy clara. 75x.

Figure 8. Final regression of FPO, phase 3: the cellular desintegration is very clear. 75x.



Figura 9. Ultima etapa del FPO: fase 4. 75x.

Figure 9. Last FPO phase: stage 4. 75x.

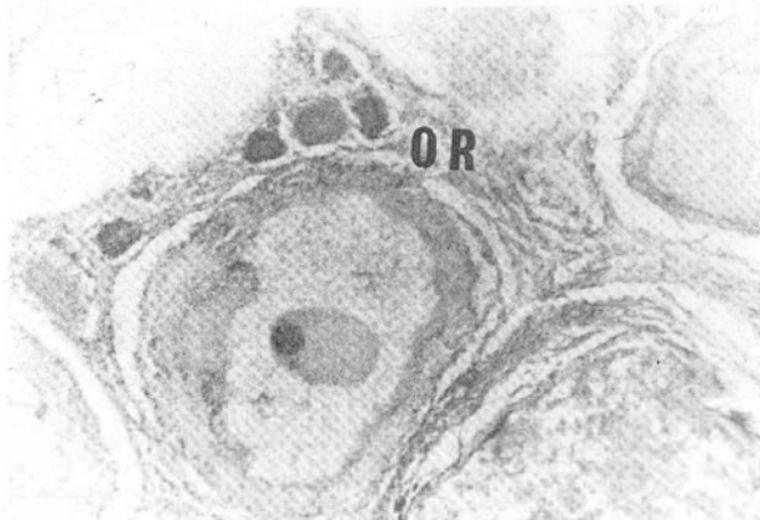


Figura 10. Ovocitos residuales (OR) presentes hacia el final del período de desove de la merluza común, *Merluccius hubbsi*. 40x.

Figure 10. Remaining oocytes (OR) to the end of spawning period of the common hake *Merluccius hubbsi*. magnification of 40x.

segundos a las evacuaciones totales, las cuales son luego sucedidas por los estados de reversión. Ligado al proceso de expulsión ovocitaria, se observó en el tejido conjuntivo ovárico la existencia de fenómenos hemorrágicos acompañados con posterioridad de movilizaciones linfáticas y reticulohistocitarias, con visualización de fenómenos de fagocitosis. Hacia el final de la época de puesta, cumplida ya la serie de desoves parciales, los componentes ovocitarios analizados en maduración avanzada presentaron características necrobióticas, resultando finalmente reabsorbidos (Fig. 10).

DISCUSION

En el estudio de ovarios de la familia Merlucciidae son conocidas las clásicas descripciones de Hickling (1935), Andreu (1956) para *Merluccius merluccius*, y de Sauskan & Serebriakov (1968) para *Merluccius*

bilinearis. Hickling & Rutenberg (1936) citan a *Merluccius merluccius* como una especie con desove continuo. Para *Merluccius gayi* De Buen (1958) señala la posibilidad de un desove múltiple, en concordancia con Balbontín & Fischer (1981) y Goldberg (1985). En cuanto a *Merluccius hubbsi*, el primer trabajo de este tipo en Argentina fue el de Angelescu *et al.* (1958), en el cual se presenta una interesante correlación entre observaciones macro y microscópicas de las gónadas en función de una escala de madurez sexual. Según estos investigadores, en el estadio correspondiente a la post-evacuación, los ovarios de la merluza común pierden su turgencia, se vuelven flácidos y aplanados; su coloración es anaranjado violáceo y presentan longitud visiblemente reducida. En el aspecto microscópico, la pared presenta un aspecto hemorrágico y los septos ováricos contienen ovocitos pequeños adheridos entre sí. En

cambio, en el lumen se encuentran algunos ovocitos grandes y opacos, en vías de deformación y reabsorción (ovocitos residuales). Los resultados obtenidos corroboran estas observaciones. La familia Merlucciidae se caracteriza por presentar especies que desovarían una sola vez al año, como *Merluccius productus*, según Mac Gregor (1966) y Foucher & Beamish (1980), o varias, existiendo en este sentido citas sobre el comportamiento frecuencial de *Merluccius merluccius* señaladas por Hickling (1935); de *Merluccius gayi* de acuerdo con Hunter & Macewicz (1985), y de *Merluccius hubbsi* según Angelescu *et al.* (1958), Ciechowski (1967) y Christiansen & Cousseau (1971). Como prueba del desove, quedan en el ovario de esta última especie los denominados folículos post-ovulatorios vacíos. Los FPO fueron descritos por varios autores en diferentes especies de teleosteos: Hunter & Goldberg (1980) lo reportaron en *Engraulis mordax*; Alarcón *et al.* (1984) en *Sardinops sagax* y Fitzhugh *et al.* (1993) en *Pogonias cromis*, mencionando solo algunos. Los FPO hallados en *Engraulis mordax* fueron usados como indicadores de desove reciente por Hunter & Goldberg (1980), Hunter & Macewicz (1985a) y posteriormente por Alheit *et al.* (1984) en la misma especie. En el caso de la familia Merlucciidae, Hunter & Macewicz (1985) describieron los FPO en *M. gayi*, mientras que en *M. hubbsi* lo hicieron Olivieri & Christiansen (1987) y Louge & Christiansen (1992). Por otra parte, Hunter & Macewicz (1985a) resumen las siguientes similitudes morfológicas encontradas en FPO nuevos o recientes de diferentes especies: gran cantidad de pliegues en su estructura; lumen conteniendo material granuloso; una capa de células epiteliales de la granulosa revistiendo el lumen; células de la granulosa linealmente dispuestas de forma columnar o cuboidal conteniendo núcleos prominentes, y una capa tecal de tejido conectivo bien definida, con capilares sanguíneos. Según estos autores, los FPO en la merluza chilena (*Merluccius gayi*) presentan al momento del

desove, la capa de la granulosa dispuesta hacia el interior de la cubierta tecal, en tanto que el lumen contiene unos pocos gránulos. Esta descripción se asemeja a los resultados de Olivieri & Christiansen (1987) en *Merluccius hubbsi* del Mar Argentino y a los del presente trabajo. En etapas más avanzadas del FPO de *M. gayi* se describen células picnóticas de la granulosa dentro del lumen, en tanto las células de la granulosa contienen escasas vacuolas; la capa tecal se halla en contacto con el remanente de la capa de la granulosa; tal descripción resultaría homóloga a las fases 3 y 4 de *M. hubbsi* según lo indican los resultados obtenidos. La presencia de ovocitos atrésicos y su probable significado en el ovario de los peces ha sido muy discutido. Bretschneider & Duyvene de Wit (1947) afirman que cumplen una función endócrina, en tanto que Ball (1960) concluyen que la interrupción del crecimiento ovocitario y su posterior atresia es un fenómeno que posee causas diversas, tanto exógenas como endógenas. Yamamoto & Yamasaki (1961) postulan que la presencia de un gran número de células atrésicas es característica de ovarios de peces con desove de tipo parcelado. Louge & Christiansen (1992) señalan la ausencia de diferencias significativas entre los estados atrésicos de *Engraulis mordax* descritos por Hunter & Macewicz (1985a) y los de *Merluccius hubbsi*, estableciendo dos estados (inicial y avanzado) según el grado de involución de los ovocitos. Los resultados del presente trabajo se corresponden con las características señaladas por Louge & Christiansen (1992) para los ovocitos atrésicos. En relación a las diferentes fases de las células germinativas, la mayor discusión que se establece es con respecto a la identidad de las células más jóvenes observadas. Distintos autores discrepan sobre cuándo y donde ocurre la renovación de estas células, y sobre si ellas son ovogonias u ovocitos jóvenes. Hickling (1930) señala que en los ovarios de *Merluccius hubbsi* en recuperación, existen ovogonias, además de los ovocitos de reserva,

mientras que Andreu & Santos Pinto (1957), y posteriormente Christiansen (1971) indican su origen a partir del epitelio germinativo. Las observaciones efectuadas en este trabajo no posibilitan emitir una aseveración al respecto. Por otra parte, Hickling (1930) supone la existencia de un vasto número de ovocitos en reposo en las láminas ovígeras en ovarios maduros de *Merluccius productus*, en número suficiente como para mantener el stock de reserva en la vida media reproductiva de esta especie; de este modo, sugiere el autor, resultaría innecesaria una nueva producción de ovocitos. Con posterioridad, los trabajos de Foucher & Beamish (1980) en la misma especie, sostienen la posibilidad que el stock de reserva ovocitaria resulte suplementado por células producidas desde los folículos vacíos que quedan; las observaciones sobre el tiempo de ocurrencia de esta producción de ovocitos foliculares sugieren un proceso anual. En el caso de *M. hubbsi*, Olivieri & Christiansen (1987) señalan el crecimiento de las series ovocitarias vitelogénicas expresadas como función exponencial en relación con las cuatro fases involutivas de los FPO. En función de las observaciones efectuadas se con-

firman estas afirmaciones. Producido el desove, quedan las membranas de las células foliculares y ovocitos residuales en distintos grados de maduración. En *M. hubbsi* las transformaciones que acontecen sobre ovocitos y FPO son complejas y variadas, y se encuentran vinculadas a la talla y edad de los ejemplares, originando formaciones reaccionales y diferenciaciones de aspecto glandular, según Christiansen (1971); estas afirmaciones coinciden con nuestros resultados.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se desprenden las siguientes conclusiones: 1. Se corroboran las descripciones de autores anteriores referidas a la sucesión de etapas en el proceso de involución de los FPO de merluza común, *Merluccius hubbsi*, caracterizando a los mismos en 4 fases. 2. Se diagnostica escasa diferencia al comparar la morfología exhibida en las fases involutivas de los FPO de la merluza común, *Merluccius hubbsi*, y la merluza chilena, *Merluccius gayi*. 3. Se reafirma la importancia de los FPO en investigaciones relacionadas con las frecuencias reproductivas de la merluza común, *Merluccius hubbsi*.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi profundo agradecimiento al Dr. H.E. Christiansen por su invaluable conducción y apoyo, a la Sra. M. Arias por la realización de los cortes y al Sr. M. Scelzo por el revelado y copia de las fotomicrografías obtenidas.

LITERATURA CITADA

- Alarcón VH, SR Goldberg & J Alheit. 1984. Histología de folículos post-ovulatorios de la sardina (*Sardinops sagax*) del Perú. Boletín del Instituto del Mar de Perú 8:1-16.
- Alheit J, VH Alarcón & J Macewicz. 1984. Spawning frequency and sex ratio in the Peruvian anchovy, *Engraulis ringuens*. California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations Report 25:43-52.
- Andreu B. 1956. Observaciones sobre el ovario de merluza (*Merluccius merluccius*) y las características del mecanismo de la puesta. Investigación Pesquera 4:49-62.
- Andreu B & J dos Santos Pinto. 1957. Características histológicas y biométricas del ovario de sardina (*Sardina pilchardus*) en la maduración, puesta y recuperación. Origen de los ovocitos. Investigación Pesquera 6:3-38.
- Angelescu V, F Gneri & A Nani. 1958. La merluza del Mar Argentino (*Merluccius merluccius hubbsi*). Biología y Taxonomía. Servicio de Hidrografía Naval, Buenos Aires. Publicación H-1004:1-224.
- Balbonín F & W Fischer. 1981. Ciclo sexual y fecundidad de la merluza, *Merluccius gayi gayi*, en la costa de Chile. Revista de Biología Marina, Valparaíso 17:285-334.

- Ball JN. 1960. Reproduction in female bony fishes. En: Jones, I.C. ed. Hormones in fishes. Symposium of Zoological Society, Londres, 1:105-136.
- Bretschneider LH & JJ Duyvene de Witt. 1947. Sexual endocrinology of non-mammalian vertebrates. Monographs on the progress of research in Holland during the war, Vol. II. Elsevier, Nueva York, 147 p.
- Christiansen HE. 1971. La reproducción de la merluza del Mar Argentino (*Merluccius hubbsi*). 1. Descripción histológica del ciclo del ovario de merluza. Boletín del Instituto de Biología Marina 20:1-43.
- Christiansen HE & MB Cousseau. 1971. La reproducción de la merluza del Mar Argentino (*Merluccius hubbsi*). 2. La reproducción de la merluza y su relación con otros aspectos biológicos de la especie. Boletín del Instituto de Biología Marina 20:44-74.
- Ciechowski JD. 1967. Carácter del desove y fecundidad de la merluza argentina (*Merluccius merluccius hubbsi*) del sector bonaerense. Boletín del Instituto de Biología Marina 13:1-30.
- De Buen F. 1958. Investigaciones sistemáticas y biológicas sobre merluza. Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción 33:107-124.
- Fitzhugh GR, BA Thompson & TG Snider. 1993. Ovarian development, fecundity and spawning frequency of black drum (*Pogonias cromis*) in Louisiana. Fishery Bulletin, U.S. 91:244-253.
- Foucher RP & RJ Beamish. 1980. Production of nonviable oocytes by Pacific hake (*Merluccius productus*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 37:41-48.
- Goldberg SR. 1985. Seasonal spawning cycle of merluza, *Merluccius gayi* (Merlucciidae) from Chile. Bulletin of Southern California Academy of Sciences 84:172-174.
- Hickling CF. 1930. Seasonal changes in the ovary of immature, *Merluccius merluccius* L. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 20:443-461.
- Hickling CF & E Rutenberg. 1936. The ovary as an indicator of the spawning period in fishes. Journal of the Marine Biological Association, U.K. 21:311-316.
- Hunter JR & SR Goldberg. 1980. Spawning incidence and batch fecundity in northern anchovy *Engraulis mordax*. Fishery Bulletin 77:641-652.
- Hunter JR & BJ Macewicz. 1985a. Rates of atresia in the ovary of captive and wild northern anchovy *Engraulis mordax*. Fishery Bulletin 83:49-136.
- Hunter JR & BJ Macewicz. 1985b. Measurement of spawning frequency in multiple spawning fishes. NOAA Technical Report, NMFS 36:79-94.
- Louge EB & HE Christiansen. 1992. Dinámica reproductiva de la merluza *Merluccius hubbsi* (Marini, 1933) durante su concentración estival de 1988 en la costa de Argentina. Biología Pesquera 21:3-14.
- Mac Gregor JS. 1966. Fecundity of the Pacific hake (*Merluccius productus*). California Fish and Game 52:11-116.
- Olivieri CE & HE Christiansen. 1987. Consideraciones preliminares sobre la frecuencia reproductiva de la merluza común (*Merluccius hubbsi*). Publicación de la Comisión Técnica Mixta del Frente Marítimo 3:67-72.
- Sauskan VI & VP Serebriakov. 1968. Reproduction and development of the silver hake (*Merluccius bilinearis*). Problems of Ichthyology, Transaction of the American Fishery Society. Washington 8:398-414.
- Yamamoto R & F Yamazaki. 1961. Rhythm of development in the oocyte of the goldfish, *Carasius auratus*. Bulletin of Faculty Fishery Hokkaido University 12:93-110.