

Desarrollo de los ovocitos de la piraña *Pygocentrus nattereri* Kner 1860 (Pisces, Characidae)

Ruberval A. Lopes*, Miguel A. Sala*, Heid S. Leme dos Santos**, Alfredo Nuti-Sobrinho* y Odete V. Paula-Lopes*

* Departamento de Estomatología (Patología). Faculdade Odontologia de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, 14050 Ribeirão Preto-SP-Brasil.

** Departamento de Morfología e Fisiología Animal, Faculdade Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, UNESP, Jaboticabal-SP-Brasil.

(Rec. 6-III-1989. Acep. 3-VIII-1990)

Abstract: The ovary of the piranha *Pygocentrus nattereri* is typically teleostean, with a wall and developing oocytes. The development of oocytes has been divided into eight cytological stages: chromatin-nucleolus stage, early and advanced perinucleolar stages, yolk vesicle stage, vitellogenesis I, II and III, mature oocyte stage. The spawning is partial and occurs during a long period.

Key words: embryology, tropical fishes, morphology.

La *Pygocentrus nattereri* es una de las especies de pirañas más peligrosas. Habita en Perú, Bolivia, y los ríos Paraguay, Paraná, San Francisco, Miranda y de la Plata, así como en la cuenca amazónica.

Se alimenta de peces, moluscos, insectos, crustáceos, espermofitas y algas. Sus nombres vulgares son: piraña, piraña-roja, palometa de río y coicoa.

El ovario de los teleósteos ha sido estudiado desde mediados del siglo XIX (Zuckerman 1962). En peces marinos y de agua dulce brasileños ha sido estudiado en varias especies (revisión en Lopes *et al.* 1984).

Considerando que el estudio del proceso reproductivo en peces es fundamental para el conocimiento de su biología, se hizo este trabajo procurando verificar el ritmo de desarrollo de los ovocitos de *P. nattereri*, desde el punto de vista histológico.

MATERIAL Y METODOS

Se pescó *Pygocentrus nattereri* en 1984, con anzuelo, en los ríos Paraná y Miranda,

Municipio de Corumbá, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. Los 204 animales fueron sacrificados inmediatamente, siendo cuidadosamente extirpados y analizados macroscópicamente ambos ovarios. Posteriormente fueron fijados en Bouin durante 24 horas, deshidratados e incluidos en parafina. Los cortes de 7 micrómetros de espesor fueron teñidos con hematoxilina y eosina y tricrómico de Masson.

RESULTADOS

Ovarios: ovarios pares y saculares, localizados en la región posterior de la cavidad corporal, dosalmente con relación a los intestinos y ventralmente a la vejiga natatoria, uniéndose a la línea sagital media por un mesovario corto. El mesovario recubre el ovario en toda su extensión y contiene la arteria ovárica que se ramifica repetidas veces dentro de la túnica albugínea. Los ovarios están unidos por medio de un oviducto corto y ancho en el seno urógenital.

El estroma ovárico está constituido de láminas ovulíferas alargadas, que se proyectan



Fig. 1: Ovario de la piraña *Pygocentrus nattereri*, con ovocitos en fase de cromatina-nucléolo (flecha). Hematoxilina y eosina (x500).

ventral y lateralmente a partir de la albugínea en dirección al centro del ovario. En estas láminas se encuentran ovocitos en diferentes fases de desarrollo.

El estroma ovárico contiene fibras colágenas, elásticas y de reticulina, las que son continuas desde la cápsula. Este estroma se torna enormemente distendido a medida en que los ovocitos aumentan de tamaño.

Ovocitos: En años sucesivos, lotes de ovocitos surgen a partir de oogonias residuales (por división mitótica), y permanecen por mucho tiempo en las láminas ovulíferas. Estas oogonias son pequeñas (6-7 μm), esferoidales, con citoplasma escaso, indistinto y ligeramente basófilo. El núcleo es grande y claro, mostrando un nucléolo único y grande (Fig. 1). Se encuentran predominantemente en el eje de las láminas, formando nidos de 5 a 7 células (Fig. 1). Durante el año, principalmente en el verano, las oogonias adquieren más citoplasma, aumentan de tamaño y se transforman en ovocitos. Esta fase inicial es conocida como cromatina-nucléolo.

El ritmo de desarrollo de los ovocitos consta de siete estadios: perinucleolar inicial y avanzado, vesícula vitelina, vitelogénesis I, II y III y óvulo maduro (Fig. 2 a 7). A medida que los ovocitos se desarrollan y sufren maduración,

ocurren varias alteraciones intra y extracelulares. A partir del estadio perinucleolar inicial, los ovocitos están envueltos por la membrana vitelina y por células del tejido conjuntivo, las cuales forman el estrato folicular.

El aumento de tamaño es la manifestación más obvia de la maduración. La oogonia crece gracias al aumento del núcleo y de la cantidad de citoplasma (Fig. 2 y 3). Luego del estadio de vesícula vitelina, el aumento de tamaño del ovocito se hace gracias a la deposición de los gránulos de vitelo (Fig. 4,5,6 y 7).

Núcleo: El núcleo sufre también modificaciones marcadas durante la maduración. En el estado cromatina-nucléolo es claro y oval, mostrando un nucléolo grande (Fig. 1); en el estadio perinucleolar inicial se presenta levemente basófilo (Fig.2). En el transcurso del desarrollo, el núcleo se hace más acidófilo, asume una posición central y presenta contorno irregular (Fig. 3, 4, 5 y 6).

A partir de un nucléolo único, en el estadio cromatina-nucléolo, y de 2 a 6, en el estadio perinucleolar inicial (Fig. 2), se produce un aumento significativo del número de nucléolos, pudiendo llegar a ser observados hasta 30 en un único corte de 7 micrometros.

El núcleo del óvulo maduro no completo todavía la meiosis.

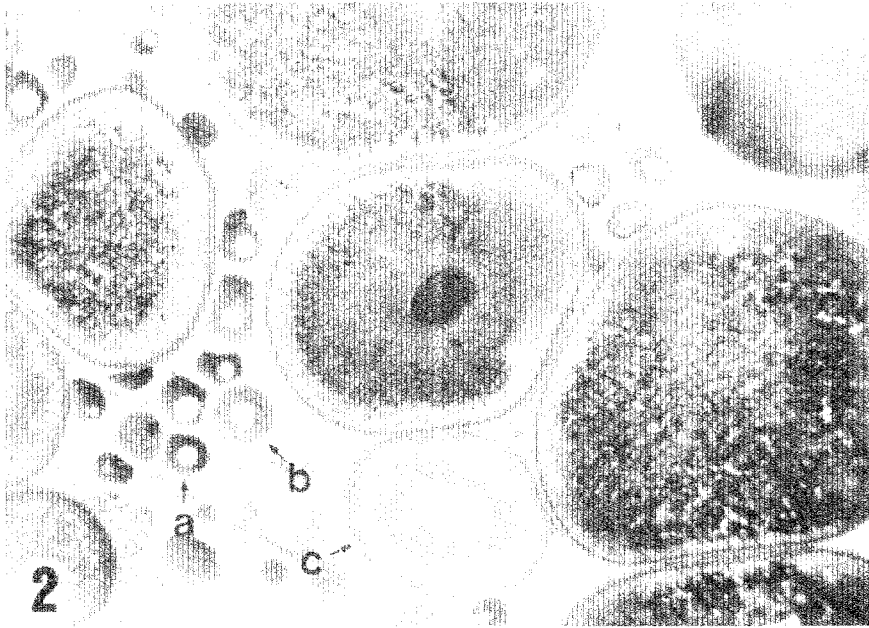


Fig.2: Ovocitos en las fases perinucleolar inicial (a), avanzada (b) y de vesícula vitelina (c). Hematoxilina y eosina (x 80).

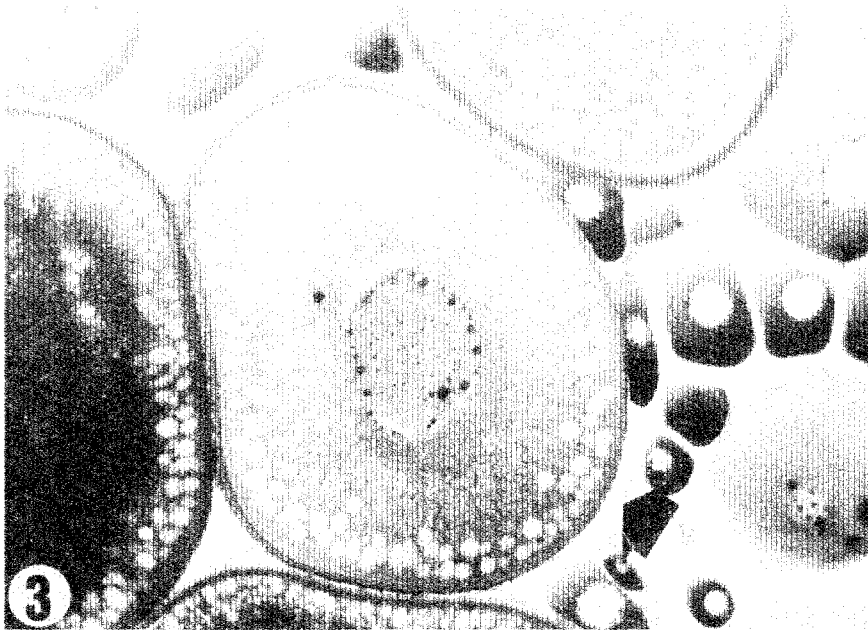


Fig. 3: Ovocito en fase de vesícula vitelina (flecha). Observar los numerosos nucléolos en el núcleo central. Hematoxilina y eosina (x 200).



Fig. 4: Ovocito en fase de vitelogénesis I (flecha). Hay deposición de gránulos de vitelo. Hematoxilina y eosina (x 200).

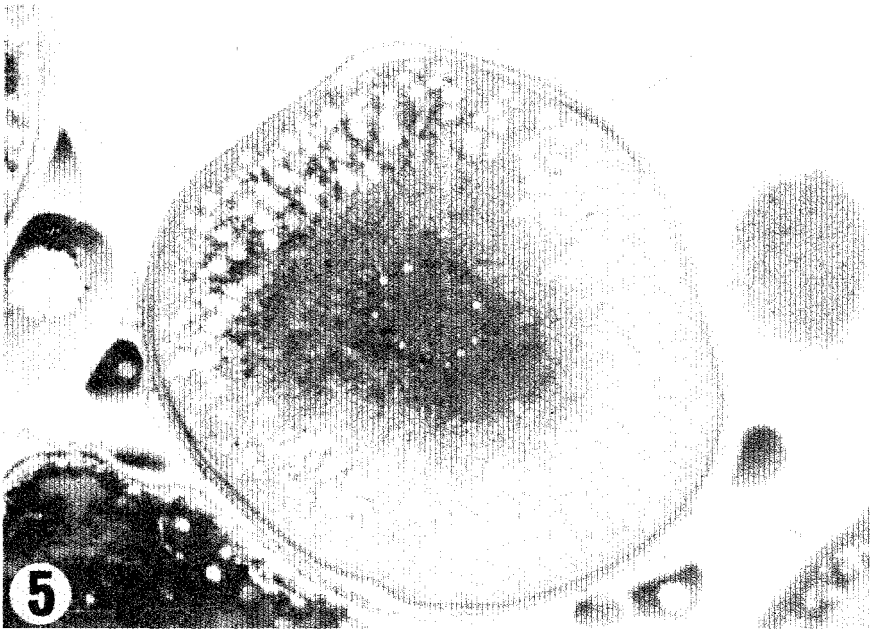


Fig. 5: Ovocito en fase de vitelogénesis II. Hay mayor concentración de gránulos de vitelo. Hematoxilina y eosina (x 200).



Fig. 6: Ovocito en fase de vitelogénesis III. Hay formación de los glóbulos de vitelo. Hematoxilina y eosina (x200).

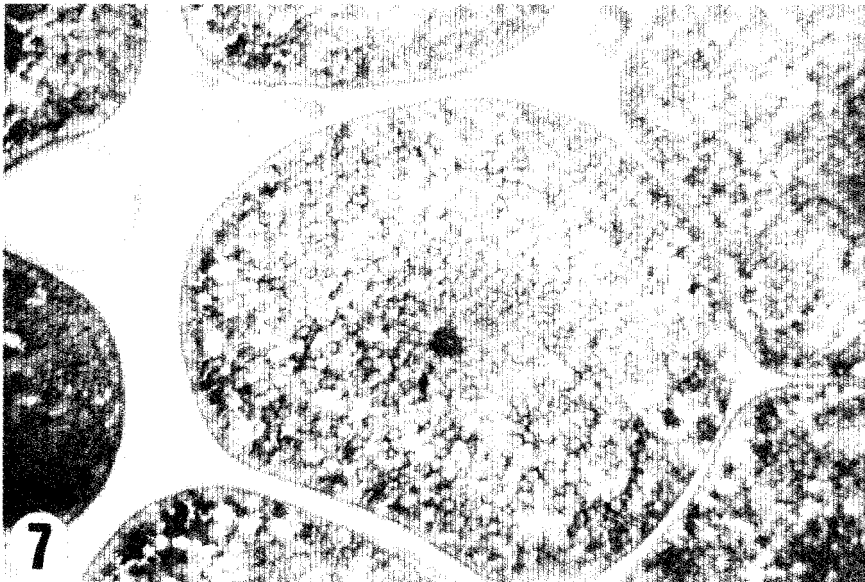


Fig. 7: Ovulo maduro. El núcleo es pequeño y central. Hematoxilina y eosina (x150).

Posteriormente, los cromosomas se hacen indistintos y la cromatina dá al núcleo un aspecto granular.

Citoplasma y deposición de vitelo: El citoplasma de la oogonia es escaso y levemen-

te basófilo (Fig. 1), más, a partir del estadio perinucleolar inicial se forma una zona indistinta, fuertemente basófila, en torno del núcleo (Fig. 2). En el estadio perinucleolar avanzado, el ovocito está grandemente aumentado y el

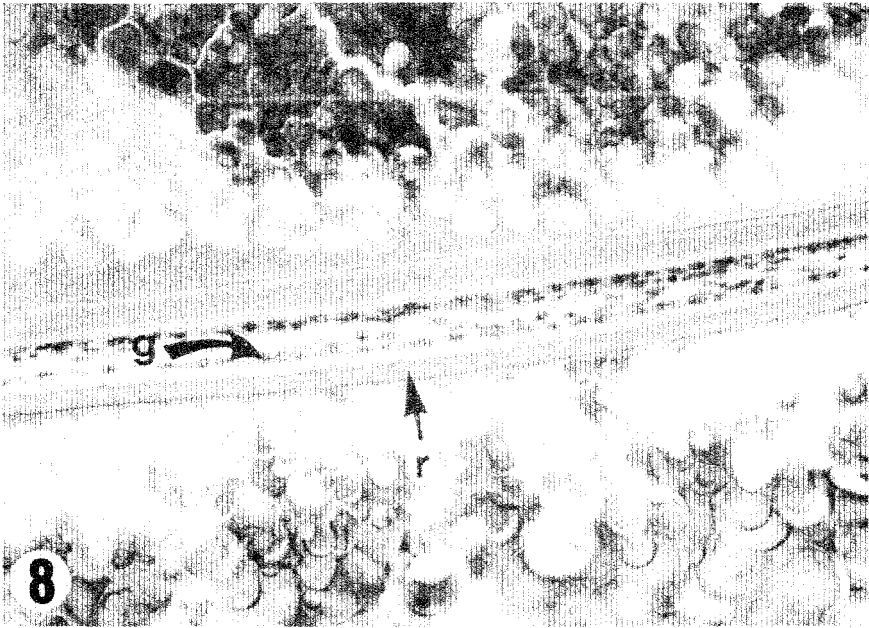


Fig. 8: Ovulo maduro. Hay estratos granuloso (g) y radiado (r). Hematoxilina y eosina (x500).

citoplasma se muestra más acidófilo (Fig. 2). En el estadio vesícula vitelina aparecen las gotículas de vitelo primario en la periferia del ovocito (Fig. 2) que se dispersan centralmente comprimiendo el citoplasma basófilo (Fig. 3). Cuando aumenta el número de vesículas, una pequeña cantidad de vitelo secundario aparece en su interior. En el estadio de vitelogénesis I, la aparición de glóbulos pequeños francamente acidófilos entre las vesículas (Fig. 4), es indicativo de la deposición de vitelo secundario extravesicular. En el óvulo maduro esas vesículas no desaparecen (Fig. 7). Los glóbulos de vitelo ocupan todo el citoplasma con el desarrollo del ovocito (Fig. 5 y 6).

Envoltorio de los ovocitos: Concomitantemente a esas modificaciones, se forman en vuelta de los ovocitos, 3 estratos distintos, siendo dos celulares y el restante acelular.

En los últimos estadios de desarrollo el envoltorio de los ovocitos está constituido por una teca más externa de tejido conjuntivo, de la zona granulosa y de la zona radiada, dividida en dos capas (Fig. 8).

DISCUSION

Los ovarios de *P. nattereri* son de tipo cisto-ovárico, según los criterios de Hoar (1969), y

son similares a los descritos por Lopes *et al* (1984) en *Anchoviella lepidentostole*.

El desarrollo de los ovocitos de esta piraña puede ser dividido en tres estadios principales: estadio de crecimiento primario o previtelogénico, estadio de vitelogénesis y estadio de maduración.

El estadio previtelogénico se caracteriza por la división mitótica aumentada de las oogonias y comprende las fases de cromatina-nucléolo, perinucleolar inicial y avanzada, durante las cuales los ovocitos crecen continuamente y sus núcleos sufren marcadas alteraciones.

Se observa que los nucleolos se hacen más numerosos y se localizan en la periferia a medida que los ovocitos inmaduros se desarrollan. A pesar de la opinión de Eggert (1929), Narain (1937) y Chaudry (1951) de que los nucleolos no desempeñan ningún papel en la vitelogénesis, Hisaoka & Firlit (1962), Malone & Hisaoka (1963) y Malhotra (1963) sustentan que juegan uno importante. Combs (1969) admite que los nucleolos tienen actividad en la formación de vitelo y los clasifica como protovitelinicos, cuando no están en actividad, y euvitelinicos, cuando participan de la producción de vitelo.

El estadio de vitelogénesis comprende las fases de vesícula vitelina y de vitelogénesis I, II

y III, y es marcado por el apareamiento de las vesículas y glóbulos de vitelo.

Las vesículas de vitelo exhiben material glucoprotéico (Korfsmeier 1966, Khoo 1979, Lopes *et al* 1984) y los glóbulos de vitelo contienen lipoproteínas (Malone & Hisaoka 1963, Guraya 1965, Khoo 1979) y glucoproteínas (Lopes *et al* 1984).

En peces se conocen varios modos de formación del vitelo de proteína:

a) el vitelo sería formado en el citoplasma, sin ninguna relación con elementos allí existentes (Wallace 1903);

b) hay casos en que existiría transformación directa del material nuclear en vitelo de proteínas (Raven 1961);

c) los glóbulos de vitelo muchas veces surgen en contacto íntimo con las mitocondrias y con la substancia del núcleo vitelino (Yamamoto 1955, 1956, Guraya 1965).

Al tiempo que ocurre la vitelogénesis se observa el desarrollo de las envolturas del ovocito. Los ovocitos de *P. nattereri* presentan una envoltura constituida por tres estratos: la teca, la zona granulosa y la zona radiada o membrana vitelina. La teca es el estrato más externo, constituido por una fina capa de tejido conjuntivo. Nicholls & Maple (1972) concuerdan en que esa capa celular presenta características ultraestructurales de las células secretoras de esteroides.

Algunos autores diferencian una teca interna y una teca externa (Beach 1959, Malhotra 1979).

Se piensa que la zona granulosa desempeña papel importante en la transferencia de proteínas de la sangre para el ovocito, durante la vitelogénesis (Hope, Humphres & Bourne 1964, Norrevang 1968). Sus células presentan evidencia de secreción de esteroides (Nicholls & Mapple 1972).

La formación exacta de la zona radiada es motivo de controversias. Aparece en la fase de vesícula vitelina en *P. nattereri*. Hurley & Fisher (1966), con microscopía electrónica, y Pollard (1972) con microscopio óptico, demostraron dos capas distintas: una zona radiada con estriaciones radiales y una zona pelúcida, externa, secretada por la folicular granulosa. Los estudios ultraestructurales realizados por Hurley & Fisher (1966) muestran que los canales de las zonas radiada y pelúcida establecerían un control directo entre el ooplasma y las células

de la capa granulosa, ya que ésta parece estar involucrada en una intensa actividad de síntesis, como evidencia su rico contenido en ribonucleoproteínas.

El estadio de maduración comprende la fase de óvulo maduro. El óvulo maduro presenta núcleo central de forma irregular, basófilo y circundado por los glóbulos de vitelo. Andreu & Santos Pinto (1957) y Naumov (1956) no encontraron núcleos en los ovocitos maduros. Andreu & Santos Pinto (1957) sugieren que tal estructura sufra deformaciones, ocupando los intersticios de los gránulos vitelinos. Lehri (1968) relata que en los ovocitos de *Claria batrachus*, con el progreso de la vitelogénesis, se verifica la reducción del volumen nuclear, su migración centrífuga, la desintegración de la carioteca y, finalmente, la del núcleo.

Ovocitos en las diferentes fases de desarrollo fueron observados en los ovarios de *P. nattereri*, lo que indicaría, para Fulton (1898) y Naumov (1956), que este pez es de desove parcelado.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Julio C. Garavello, de la "Universidad Federal de Sao Carlos", por la identificación de la especie.

RESUMEN

El ovario de la piraña *Pygocentrus nattereri* es típico de los teleosteos; está constituido por una pared y ovocitos en desarrollo. El desarrollo de éstos fue dividido en ocho fases citológicas: cromatina-nucléolo, perinucleolar inicial y avanzada, vesícula vitelina, vitelogénesis I, II y III, y óvulo maduro. El desove es parcial y ocurre durante un extenso período.

REFERENCIAS

- Andreu, B. & S. Santos Pinto. 1957. Histological and biometrical features of the ovary of the pilchard in ripening, spawning and recovering. Origin of oocytes. *Invest. Pesq.* 6: 3-38.
- Beach, A.W. 1959. Seasonal changes in the cytology of the ovary and of the pituitary gland of the gold fish. *Canad.J.Zool.* 37: 615-625.
- Chaudhry, H.S. 1951. Nucleolar activity in the oocytes of some marine teleostean fishes. *J.Roy.Micr. Soc. London* 71: 87-93.

- Combs, R.M. 1969. Embryogenesis, histology and organology of the ovary of *Brevoortia patronus*. Gulf Res.Rep. 2: 333-428.
- Eggert, B. 1929. Entwicklung und Bau der Eier von *Salarius flavoumbrinus*, Rupp. Zool.Anz. 83: 241-252.
- Fulton, T.W. 1898. On the growth and maturation of the ovarian eggs of teleostean fishes. Sixteenth Ann.Rep.Fish Noard.Sct.Gen.Rep. 88-124.
- Godoy, M.P. 1975. Peixes do Brasil (Subordem Characoidei), bacia do Rio Mogi Guaçu. Ed. Franciscana. Piracicaba. v.2, 178 p.
- Guraya, S.S. 1965. A comparative histochemical study of fish (*Channa marulins*) and amphibian (*Bufo stomaticus*) oogenesis. Z.Zellforsch. 65: 662-700.
- Hisaoka, K.K. & G.F. Firlit, 1962. The localization of nucleic acids during oogenesis in the zebrafish. Amer.J.Anat. 110: 203-216.
- Hoar, W.S. 1969. Reproduction. In W.S. Hoar & D.J. Randalls (eds.). Fish Physiology. Academic Press. New York.
- Hope, J., A.A. Hemphres Jr. & G.H. Bourne. 1964. Ultrastructure studies on developing oocytes of salamander, *Triturus viridescens*. J.Ultrastruct.Res. 10: 547-556.
- Hurley, D.A. & K.C. Fisher. 1966. The structure and development of the external membrane in young eggs of the trout *Salvelinus fontinalis* (Mitchcu). Can.J.Zool. 44: 173-190.
- Khoo, K.H. 1979. The histochemistry and endocrine control of vitellogenesis in gold fish ovaries. Can.J.Zool. 57: 617-626.
- Korfmeier, K.H. 1966. Zur Genese der Dottersystems in der Oocyte von *Brachydanio rerio*. Autoradiographische Untersuchungen. Z.Zellforsch. 71: 283-296.
- Lehri, G.K. 1968. Cyclical changes in the ovary of the catfish *Clarias batrachus* (Linn.) Acta Anat. 69: 105-124.
- Lopes, R.A., H.S. Leme Dos Santos, M.G.D. Contrera, O.L. Santos & G. Maia Campos. 1984. Ritmo de desenvolvimento dos ovócitos da manjuba *Anchoviella lepidentostole* Fowler (1911) (Pisces: Engraulidae) do litoral sul do Estado de Sao Paulo, Brasil. Memoria Museu do Mar, Série Zool., 3: 1-36.
- Maihotra, Y.R. 1963. On the nucleolar extrusions in the developing oocytes of the Kashmir fish. *Schizothorax niger* (Heckel), from Dal Lake in Kashmir. Jap.J. Ichthyol. 17: 110-116.
- Malone, T.a. & K.K. Kisaoka. 1963. A histochemical study of the formation of deutoplasmic components in developing oocytes of the zebrafish, *Brachydanio rerio*. J.Morphol. 112: 61-75.
- Naumov, V. 1956. The oogenesis and ecology of the sexual cycle of the murmansk herring *Clupea harengus harengus* L. Rep. Fishery U.S.Fish Wilde. Serv. 327: 203-262.
- Nicholls, T.J. & C. Maple. 1972. Ultrastructure observations on possible sites of steroid biosynthesis on the ovarian follicular epithelium of two species of cichlid fish, *Cichlasoma microfasciatum* and *Haplochromis multicolor*. Z.Zellforsch. 128: 317-335.
- Norrevang, A. 1968. Electron microscopic morphology of oogenesis. Int.Rev.Cytol. 23: 157-164.
- Pollard, D.A. 1972. The biology of a landlocked form of the normally catadromous salmoniform fish *Galaxias maculatus* (Jenyn) III. Structure of the gonads. Aust.J.Mar.Freshwater Res. 23: 17-38.
- Raven, C.P. 1961. Oogenesis, the storage of developmental informations. Pergamon Press. London.
- Wallace, W. 1903. Observations on ovarian ova and follicles in certain Teleostean and Elasmobranch fishes. Quart.J.Micr.Sci. 47: 161-215.
- Yamamoto, K. 1955. Studies on the formation of fish eggs. VI. The chemical nature and the origin of the yolk vesicle in the oocyte of the smelt. *Hypomismus japonicus*. Annot.Zool.Japan. 28: 233.
- Yamamoto, K. 1956. Studies on the formation of fish eggs. VII. The fate of the yolk vesicle in the oocytes of the herring *Clupea pallasii* during vitellogenesis. Annot.Zool.Japan. 29:21.
- Zuckerman, J. 1963. The ovary. Academic Press. New York. 2 vol.