Inv. Pesq.
Tomo V, páginas 3 a 12. 1956

Algunos aspectos del desarrollo inicial del ovario de sardina (*Sardina pilchardus* Walb.)

por

J. DOS SANTOS PINTO (*) y BUENAVENTURA ANDREU (**)

Este trabajo es el primero de una serie en que hemos abordado varios aspectos histológicos del ovario de sardina con vistas a una más perfecta interpretación de sus cambios morfofisiológicos desde la aparición de los esbozos del mismo hasta su completa maduración sexual, así como de los cambios ulteriores conducentes a la recuperación del mismo después de la freza, que capacitará al ovario para una posible, o posibles, puestas secundarias dentro de la misma estación de freza. Con estas nuevas aportaciones pretendemos llenar algunas lagunas existentes en la literatura de la sardina como una continuación y revisión de las observaciones publicadas anteriormente por uno de nosotros (ANDREU, 1951).

En esta primera aportación nos ocuparemos solamente del desarrollo inicial del ovario y de los cambios experimentados por el mismo en las primeras etapas del crecimiento del pez, desde antes de la cromogénesis hasta la fase de reposo preliminar a la primera maduración sexual. Por lo tanto, estas observaciones se limitan exclusivamente a sardinas vírgenes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sardinitas de diferentes tallas, desde 14 mm de longitud total hasta cerca de 110 mm, capturadas en Vigo, Lisboa, Portimâo, Castellón y Banyuls-sur-Mer, fueron fijadas inicialmente en formol al 10 por 100, o disecadas y fijadas sus gónadas, según su talla.

Las inclusiones fueron hechas en parafina de 70°, lo que permitió obtener cortes topográficos satisfactorios.

(*) Investigador del Instituto de Biología Marítima de Lisboa.
(**) Investigador del Instituto de Investigaciones Pesqueras. Director del Laboratorio de Vigo.

A fin de evitar cualquier alteración en la delicada estructura de los ovarios se prescindió de la previa decalcificación del material en aquellos casos en que el avanzado estado de osificación de las vértebras lo hubiera aconsejado. En estos casos se separó la parte ósea mediante disección.

Los métodos de coloración se han limitado al hemalumen-eosina, a causa de que otros procedimientos ensayados no dieron la diferenciación necesaria.

LOCALIZACIÓN INICIAL DE LAS GÓNADAS Y SU DIFERENCIACIÓN

Sardinitas menores de 37 mm. — En las preparaciones correspondientes a sardinitas de talla entre 14 mm y 37 mm no fueron identificadas imágenes que pudiéramos interpretar como glándulas sexuales.

Sardinitas de 37 mm. — Los esbozos de gónadas encontrados en cortes transversales se presentan en forma de dos pequeños apéndices de aspecto mazudo, situados simétricamente a izquierda y derecha del límite inferior de la aorta abdominal y ligados al peritoneo por finos pedículos, separados entre sí unas 250 micras, como puede verse en la microfotografía I. Los pedículos están constituidos casi exclusivamente por la aproximación de la hoja peritoneal que envuelve las gónadas, presentando escasos elementos celulares, de núcleo alargado y débilmente coloreados. En este estadio no hemos encontrado indicios de vasos sanguíneos, así como tampoco células germinales sexualmente diferenciadas.

Sardinitas de 45 mm. — En este material aparecieron los primeros ovarios sexualmente diferenciados. Como puede verse en la figura 1, las

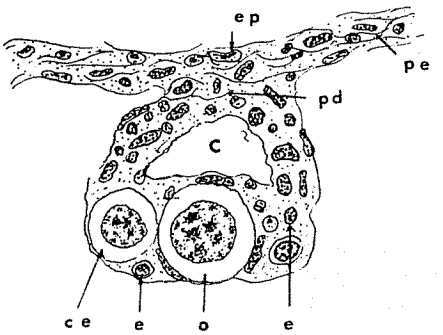


FIG. 1. — Corte transversal del ovario de una sardinita de 45 mm de longitud, al nivel del pedículo. *c*, cavidad del ovario; *ce*, ovocito joven todavía mal definido, con poca afinidad cromática; *e*, células epiteliales en el comienzo de su evolución hacia ovocitos; *ep*, células epiteliales; *o*, ovocitos jóvenes ya definidos; *pe*, peritoneo; *pd*, pedículo. (Dibujo esquemático hecho con cámara clara.)

secciones transversales de las gónadas ofrecen aspecto redondeado, con una pequeña cavidad central circunscrita por delgadas paredes, constituidas por células epiteliales de núcleo alargado y granuloso. En la parte inferior de las secciones del ovario pueden apreciarse ya dos células con características de ovocitos, la mayor de las cuales mide 34 micras de diámetro. En su proximidad existen algunas células de aspecto esferoidal que, juntamente con otras de contorno más irregular, pero con tendencia a la esfericidad, dispersas en la región superior del ovario primitivo, hemos interpretado como formas de transición entre las células epiteliales y las células sexuales. No se observaron vasos sanguíneos.

Sardinitas de 58 mm. — El ovario de estas sardinas no difiere, substancialmente, de los anteriormente descritos, pero, no obstante, muestra un número mucho más elevado de células de transición, en las que se observa una mayor variedad morfológica y dimensional. Este polimorfismo celular traduce mucho mejor la posibilidad de la evolución anterior-

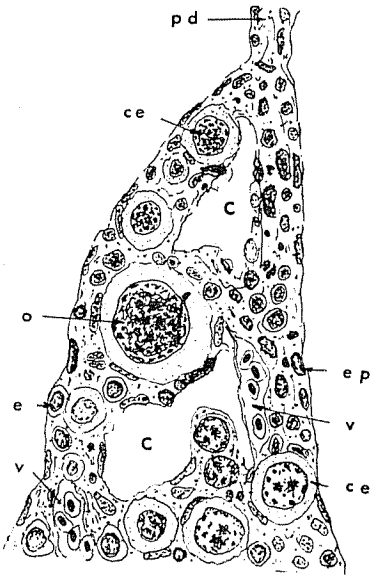


FIG. 2. — Corte transversal del ovario de una sardinita de 58 mm al nivel del pedículo (detalle de la microfotografía II). Leyenda como en la figura anterior. *v*, vaso sanguíneo. (Dibujo esquemático hecho con cámara clara.)

mente apuntada, de las células epiteliales hacia elementos sexuales: la cromatina, que inicialmente se dispone en los núcleos de las células epiteliales en gránulos dispersos, va condensándose, a medida que las células se van redondeando, en masas irregulares de forma variable, unidas por finas travéculas formando en conjunto un retículo irregular. Entre tanto,

el citoplasma se va individualizando progresivamente, pero se mantiene aún con pocas afinidades cromáticas. A medida que en estas células se va acentuando la forma esferoidal o poliédrica adquieren lentamente el aspecto, ya descrito por varios autores, de ovocitos jóvenes perfectamente definidos, en los cuales el citoplasma es fuertemente basófilo y el núcleo, débilmente coloreado, muestra en su periferia una corona de nucléolos de tamaño diverso y en número que puede llegar a 15 en los cortes observados. La primitiva luz del ovario aumenta de volumen, existiendo un espesamiento de las paredes y esbozándose la tendencia a la formación de septos ováricos. En estos cortes aparecen por primera vez vasos sanguíneos, de sección irregular y con un endotelio muy delgado. Véanse la figura 2 y la microfotografía II.

Sardinitas de 76 mm. — Los ovarios, en corte transversal, son redondos y presentan dorsalmente, junto al pedículo peritoneal, un vaso sanguíneo de calibre apreciable, orientado longitudinalmente, de donde parecen originarse otros más delgados orientados en sentido transversal, ya que en las secciones transversales del conjunto ellos se muestran cortados oblicua o longitudinalmente. Los repliegues del epitelio germinal han progresado y aparece ya el inicio de los futuros septos ováricos, con lo que la luz del ovario adopta un aspecto estrellado. Los ovocitos se encuentran formando uno o dos estratos sobre la túnica ovárica, apareciendo más condensados en los septos esbozados. Existe un número cada vez mayor de ovocitos ya bien definidos con diámetros de alrededor de 40 micras, acompañados todavía de numerosas celulas de transición. Véanse las microfotografías III y IV.

Sardinitas de 85 mm. — Las secciones transversales del ovario muestran, además de las características anteriormente descritas, una individualización bien marcada de los septos, como consecuencia de una mayor superficie del epitelio germinal repetidamente replegado. El número de ovocitos bien definidos ha aumentado considerablemente y en contrapartida ha disminuido el número de células de transición, como puede verse en las microfotografías V y VI.

La evolución ulterior del ovario hasta alcanzar el estado o fase de reposo (grado I de la escala internacional o fase alfa de la escala de maduración sexual de ANDREU) en sardinas todavía vírgenes que ya suelen aparecer en el producto de las pescas comerciales (10 a 12 cm de longitud total), se manifiesta en el sentido de una progresiva septación por sucesivos repliegues del epitelio germinal, que adquiere cada vez mayor superficie. Este proceso se ve favorecido por una intensa proliferación celular que eleva el número de ovocitos rápidamente. En las sardinas de esta talla es donde nos ha sido dado observar por primera vez abundantes mitosis no oogoniales que cesan posteriormente a medida que aumenta la talla del pez, como hemos podido observar en material histológico pro-

cedente de sardinas adultas. En este estadio de desarrollo el ovario aumenta de dimensiones, tanto en el sentido longitudinal como en el transversal. Las últimas fases del mismo fueron descritas ya por uno de nosotros (ANDREU, 1951, pág. 6) en lo que respecta a su morfología y características generales de los ovocitos. Hemos podido observar que, en material de estas características, las células epiteliales y de transmisión casi han desaparecido por completo : el ovario, pasada la fase de desarrollo inicial, entra en una fase de reposo de la cual saldrá solamente cuando los ovocitos entren en la primera fase de maduración, conducente a la primera puesta.

DISCUSIÓN

Las investigaciones realizadas por diversos autores desde finales del siglo pasado (WALDEYER, 1870 ; NUSSBAUN, 1880, y otros) condujeron a la conclusión de que las células germinales en los vertebrados procedían exclusivamente de las células del epitelio peritoneal o germinal y que las células germinales primordiales alcanzaban un desarrollo muy temprano antes de la diferenciación de los pliegues germinales. La teoría de la continuidad del plasma germinativo emitida por WEISMANN vino a establecer en la opinión de los científicos la neta separación celular en cuanto a su origen de una estirpe somática y otra germinal. De esta última derivarían necesariamente todas las células sexuales. La doctrina de WEISMANN permaneció sin discusión algún tiempo.

Tras la consideración de las investigaciones verificadas por WOODS (1902), BEAR (1902) y ALLEN (1911), BRAMBELL, en su libro *The development of sex in vertebrates*, páginas 78-80, publicado en 1930, considera que es virtualmente imposible llegar, en el terreno morfológico, a una conclusión definitiva acerca del último destino de las células germinales primordiales y, lo que es más importante, si derivan o no del epitelio peritoneal que cubre los repliegues germinales.

Las observaciones e interpretación que hemos dejado apuntadas en el capítulo anterior de este trabajo, en el sentido de atribuir a los elementos epiteliales ováricos de sardinitas jóvenes la posibilidad de evolucionar en sentido sexual, concuerdan perfectamente con los aspectos descritos por ESSENBERG (1923) en *Xiphophorus Helleri*.

Los ovocitos parecen tener su origen indudable en células epiteliales peritoneales. Estas células peritoneales pueden ser de estirpe germinal o somática. Si se demostrase el segundo caso, la teoría de WEISMANN no se podría generalizar a la sardina y, posiblemente, a otras especies de peces, con las consiguientes complicaciones en la interpretación de una serie de conceptos biológicos. Pero no es nuestro propósito adentrarnos en un cuerpo de doctrina que compete a campos más específicos de la investiga-

ción. Únicamente hemos querido dejar patente la posibilidad de una franca evolución de células epiteliales del ovario, inicialmente sin ninguna característica germinal, en células sexuales. Además hemos podido confirmar esta posibilidad en la observación de cortes de ovarios en las fases de recuperación posteriores a la puesta ; en éstos se ve aparecer una gran cantidad de ovocitos neoformados (con gran variedad de dimensiones) juntamente con una gran abundancia de elementos celulares de forma intermedia entre aquéllos y las células epiteliales. De esta cuestión, sin embargo, nos ocuparemos más ampliamente en un trabajo ulterior.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

En el presente trabajo se dan a conocer los resultados de observaciones hechas sobres ovarios de sardina procedentes de peces vírgenes desde 14 mm hasta 100-120 mm, talla en que ya pueden aparecer en las capturas comerciales.

La aparición de las gónadas como órganos individualizados fue comprobada solamente en formas juveniles de sardina de 37 mm o más de longitud total.

La diferenciación sexual ha sido observada en sardinitas de 45 mm, en plena fase de cromogénesis.

El ovario no completa su organización, con la luz del mismo enteramente ocupada por los repliegues que forman los septos, hasta que las sardinas adquieren 10 cm de longitud, a partir de cuyo momento el ovario queda en condiciones de iniciar los cambios conducentes a la primera maduración sexual ante los estímulos inherentes al ciclo madurativo.

En el transcurso del desarrollo del ovario han sido identificados elementos netamente epiteliales que mediante progresivos cambios morfológicos y de afinidades cromáticas evolucionan hasta convertirse en ovocitos. Estas formas evolutivas, muy abundantes en las sardinas en fase de cromogénesis, son cada vez menos frecuentes, a medida que el ovario va adquiriendo la forma definitiva correspondiente al estado de reposo preliminar a la iniciación del primer ciclo sexual.

AGRADECIMIENTO

Nos complacemos en manifestar nuestro agradecimiento al Director del Instituto de Biología Marítima de Lisboa, Dr. A. de Magalhanes Ramalho, por todas las facilidades concedidas. Asimismo damos las gracias a don Antonio Feu por el material que nos facilitó del sur de Portugal (Portimâo), al Dr. Rodríguez-Roda y a don M. G. Larrañeta por los

envíos de sardinitas de las costas de Castellón y a don M. Ruivo por los alevines remitidos desde el Laboratorio «Arago», pescados en aguas de Banyuls-sur-Mer.

Instituto de Biología Marítima de Lisboa
y Laboratorio del Instituto de Investigaciones Pesqueras de Vigo, marzo de 1956.

SUMMARY

In this paper are reported some histological observations on ovaria of litle sardines from 14 mm to 120 mm of total length.

The authors have determined the first length at which the sexual glands became outlined within the celoma (37 mm) and when sexual diferentiation take place (45 mm). In sardines of 100 mm the ovaria is completely organized.

In the first increased stage of ovaria we have observed numerous transition cells that are interpreted as evolution forms from epithelial cells to sexual cells.

BIBLIOGRAFÍA

ALLEN, B. M. — 1911. The origin of sex-cells of *Amia* and *Lepidosteus*. *Joun. Morf.*, 22.

ANDREU, B. — 1951. Consideraciones sobre el comportamiento del ovario de sardina (*Sardina pilchardus* Walb) en relación con el proceso de maduración y de freza. *Bol. Inst. Esp. Ocean.*, 41: 16 pp.

BEARD, J. — 1902. Germ-cells of *Pristiurus*. *Anat. Anz.*, 21.

BRAMBELL, F. W. R. — 1930. The development of sex in vertebrates. *Text-books of Animal Biology*. Sidgwick & Jackson Ltd. Londres. 261 pp.

ESSENBERG, J. W. — 1923. Sex diferenciation in viviparous Teleost *Xiphophorus Helleri*. *Biol. Bull.*, 45: 46-97.

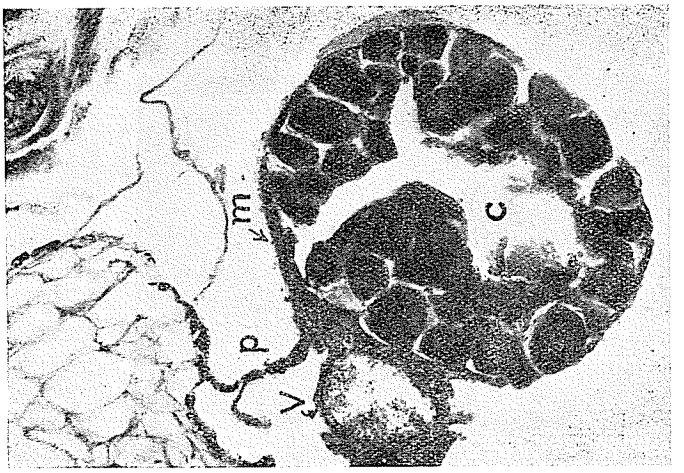
NUSSBAUN, M. — 1880. Zur differenzirung des Geschlechts in Thierreich. *Arch. f. Mikr. Anat.*, 18.

WALDEYER, W. — 1870. Eirstock und Ei. Leipzig. (Ref. BRAMBELL.)

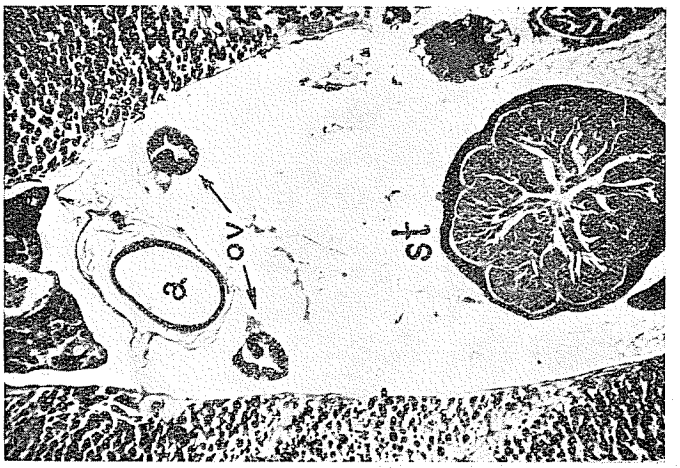
WOODS, F. A. — 1902. Origin and migration of the Germ-cells in *Acanthias*. *Amer. Journ. Anat.*, 1.

MICROFOT. II. — Corte transversal de una sardina de 58 mm mostrando uno de los ovarios (o) en el inicio de la diferenciación. ×75.

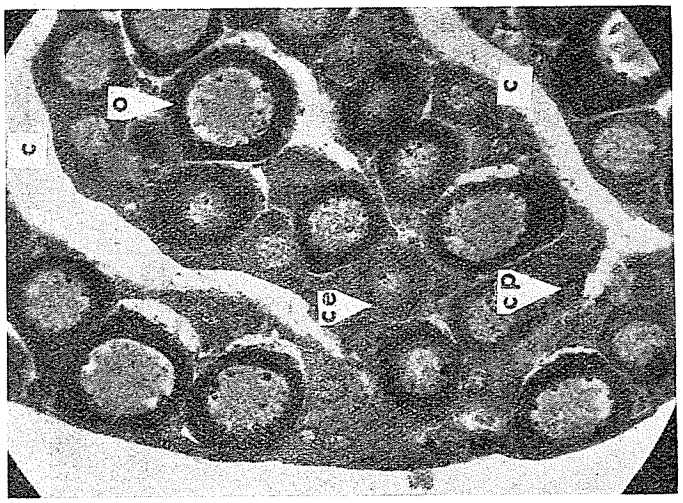
MICROFOT. I. — Sección transversal de un alevín de sardina de 37 mm mostrando los esbozos de las gónadas, todavía indiferenciadas (g). ×180.



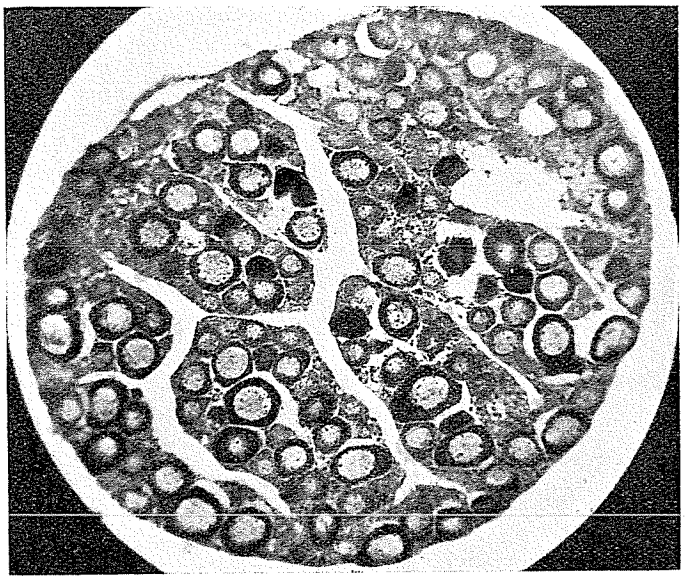
MICROFOT. IV. — Uno de los ovarios de la preparación correspondiente a la microfotografía anterior visto con mayor aumento. *c*, cavidad del ovario; *m*, túnica ovárica; *p*, pedículo peritoneal; *v*, vaso sanguíneo. ×180.



MICROFOT. III. — Corte transversal de una sardinita de 75 mm mostrando por debajo y a ambos lados de la aorta (*a*), los ovarios (*ov*) ya diferenciados, en el comienzo de su desarrollo. *st*, estómago. ×25.



MICROFOT. VI. — Detalle de la microfotografía anterior, en la que se ve la evolución de las células epiteliales en el proceso de su transformación en ovocitos. *c*, luz del ovario; *ce*, ovocito joven todavía con pocas afinidades cromáticas; *cp*, células epiteliales en el inicio de su evolución; *o*, ovocito bien definido semejante a los que se observan en los ovarios adultos en fase de reposo. ×550.



MICROFOT. V. — Corte transversal del ovario de una sardina de 85 mm.