

ENFOQUES CUANTITATIVOS PARA EL ESTUDIO DEL CICLO REPRODUCTOR EN INVERTEBRADOS Y PECES

MIGUEL SCHULDT

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas
y Técnicas (CONICET), Museo de La Plata
La Plata, Argentina

SYNOPSIS

In this paper, by means of a histoeological approach, the convenience of incorporating the stereological analysis of the maturing oocitary stocks in the study of the feminine gonads sexual cycles – mainly in species producing a large number of gametes – is shown. So the numerical and volumetric characteristics of each one of the oocitary stratum are determined, which allows the characterization of the sexual maturation stages by a diversity index.

Introducción

El desarrollo de la ecología ha puesto de manifiesto la importancia de la cuantificación para arribar a interpretaciones más acabadas del clásico concepto de estructura y función.

Considerando la práctica histológica en general, se evidencia una cierta renuencia hacia la adopción de criterios descriptivos no tradicionales. No obstante, en nuestro medio se perfila una tendencia al cambio, debido en buena medida a los trabajos de Christiansen *et al.*, quienes exponen de un modo claro las perspectivas de la histoeología en relación al progreso de las técnicas microstereológicas.

Surge en consecuencia la posibilidad de establecer relaciones precisas entre numerosidad y volumen de las poblaciones celulares que integran un tejido, lo cual no es desdeñable si se pretende una interpretación integral de su estructura y dinámica.

Un caso interesante para ser analizado lo constituye la gónada femenina de la mayoría de las especies de invertebrados y peces, especialmente aquellas donde la producción de un número elevado de gametas se ha constituido en estrategia dominante.

En general, un ovario está estructurado en tipos celulares que adquieren una complejidad acorde al grado de madurez que hubiere alcanzado la gónada. Este conjunto de estratos celulares sufre variaciones cíclicas, resultantes de la interacción entre factores del medio externo e internos al animal.

La armonización entre contingentes celulares del parénquima gonadal, asiento de sucesivas oleadas madurativas, implica establecer relaciones complejas que exigen ser objetivadas; cuestión que cobra importancia en la actualidad ante la contaminación creciente que afecta y amenaza a numerosos medios naturales, lo cual plantea la necesidad de contar con estimadores y parámetros de referencia, a fin de posibilitar comparaciones útiles y válidas de ciclos sexuales de animales en biotopos como los citados.

Consecuentemente, se puede considerar que para un ovario tipo, a lo largo del proceso de maduración sexual, se establecen una serie de situaciones de equilibrio entre stocks oocitarios, analizables en base a numerosidad y volumen de los citos integrantes; consideración que lleva implícito un criterio sucesional, en concordancia con el cual cada una de estas etapas puede ser caracterizada en términos de un índice de diversidad.

Con esta contribución se pretende brindar a modo de primera aproximación, la posibilidad de evaluar en base a criterios como los enunciados, el nivel organizativo que asume la estructura del ovario de *Illex argentinus* Castellanos (Cephalopoda, Ommastrephidae), y tendiente a una comprensión más dinámica de su mecánica.

Metodología empleada

Los cálculos se efectuaron mediante el ocular integrador a revolver de plaquitas reticuladas puntuales, elaborado por la casa C. Zeiss Oberkochen, determinándose la numerosidad y el volumen de los estratos oocitarios intragonadales con datos provenientes de la lectura de 20 (ovarios 0 a IV) y 10 (ovario V) campos microscópicos respectivamente.

Mediante la fórmula de Weibel & Gomez (1962) se calculó la densidad numérica de cada estrato, tras lo cual se halló el *efectivo oocitario standard* (número de ovocitos por centímetro cúbico de gónada fijada Schuldt (1976;1977)

El volumen de cada contingente oocitario surge de la proporción de puntos (PP o) que impacta en ellos.

El índice de diversidad utilizado: $c1/\log_e N$ – derivado de una de las denominadas expresiones simples, empleada en varios ejemplos por Margalef (1956), donde c constituye el número de tipos celulares y N la numerosidad de estos (Nota 1).

Por último es necesario hacer referencia a ciertos inconvenientes operativos que plantea el análisis estereométrico de estratos celulares cuando las tallas oocitarias entre los contingentes basales y terminales guardan relaciones de 1 a 40 veces su diámetro (caso de *I. argentinus*). La cuestión es analizada en Schuldt (en prensa), mediante un modelo circular hecho a semejanza de la estructura oocitaria intraovárica tipo y cuyas conclusiones avalan las determinaciones citadas aquí.

Caracterización numérica y volumétrica de los estratos oocitarios del ovario de *Illex argentinus*.

Dinámica ovarica

En el ovario de *I. argentinus* se ha determinado la existencia de 7 tipos celulares, de los cuales los primeros 5 son oocitos previtelogenéticos, y los 2 restantes corresponden a citos en vitelogenénesis (Schuldt 1976;1977).

La Figura 1 permite observar la progresión del contingente oocitario, enmarcado en la escala de madurez de 6 puntos propuesta.

De la evolución numérica absoluta y relativa de los distintos estratos oocitarios, así como de las relaciones volumétricas de los mismos, se infiere la existencia de 4 entidades estructurales diferentes; cada entidad está signada por una secuencia de estratos definida. Las cotas cualitativas albergan una gama cuantitativa que permite establecer la posición de la gónada en el intervalo acotado.

El estadio 0 (*inmadurez virginal*) se acota superiormente basado en la presencia de oocitos del tipo 3.

Las variaciones cuantitativas posibles entre estratos que culminan con el tipo 4, caracterizan al ovario en *madurez incipiente* (1). El ciclo previtelogenético prácticamente se ha cerrado.

La existencia del último tipo celular previtelogenético, así como las primeras etapas de la vitelogenénesis, son propias de la *madurez media o intermedia* (2).

La progresiva vitelación de un stock oocitario que relega voluméticamente al resto de los estratos, es propio de la *madurez avanzada* (3).

La evolución del índice de diversidad celular concuerda con lo expuesto (Fig. 2). Los tramos entre punto y punto de la curva *idc* muestra la alternancia de secciones con pendiente pronunciada y moderada; correspondiendo estas últimas a los estadios I, II y IV, V. La Figura 2 pone de manifiesto además el efecto diversi-

Nota 1: no se pretende en este trabajo establecer la conveniencia de la expresión citada respecto de otras derivadas de la teoría de la información, ya que la empleada aquí no contempla la distribución individual de las células entre los tipos. Una discusión al respecto y vinculada a los resultados que se obtienen con la aplicación de índices de diversidad a taxocenosis de linnetos bonaerenses, plantean Schnack *et al.* (1977).

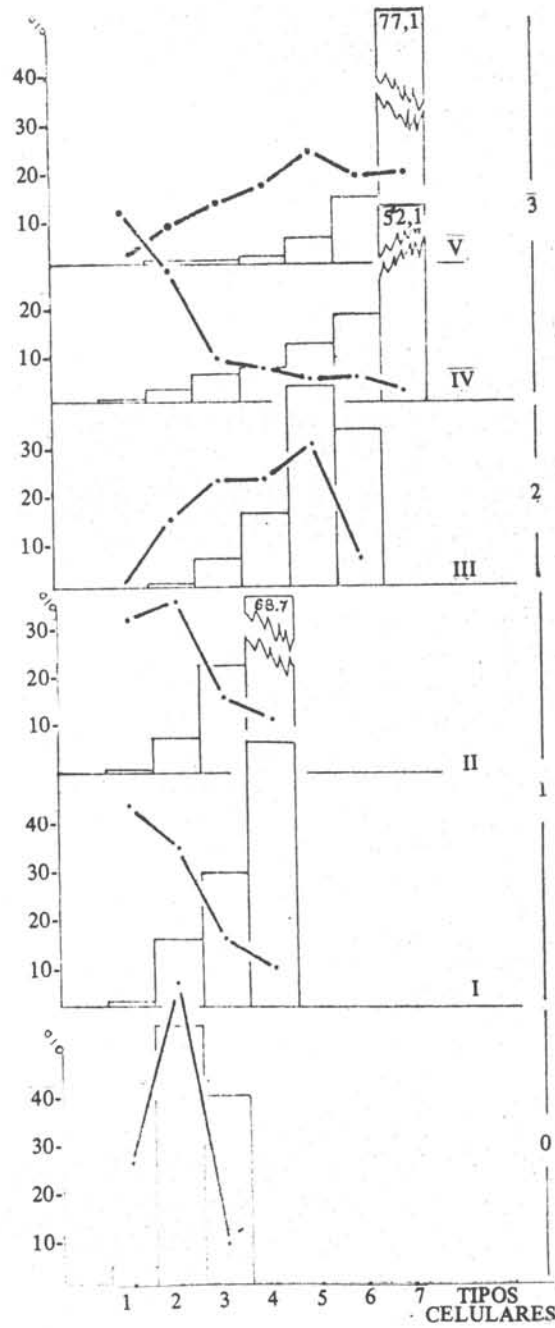


Fig. 1 - Relaciones numéricas y volumétricas relativas de los estratos oocitarios según el estadio de madurez del ovario.

Referencias: línea punteada: relación numérica
 Histograma: relación de volúmen.

TABLA I

ESTIMACION VOLUMETRICA RELATIVA DEL ESTRATO FOLICULAR ($P_{Pf} \cdot 100$). Estádios II, III, y IV. Valores que arroja el sobrepunteado del contingente no computado mediante la lectura de 10 campos con el ocular 10 X, placa integradora III (400/100/25 puntos).

Estadio	$P_f/P = P_{Pf}$	$(P_{Pnc} - P_{Pf} = P_{Pnc}) \cdot 100$
II	$472/4000 = 0,118$	$23,01 - 11,8 = 11,21$
III	$1387/4000 = 0,347$	$56,87 - 34,7 = 22,2$
IV	$877/4000 = 0,219$	$31,79 - 21,9 = 9,87$

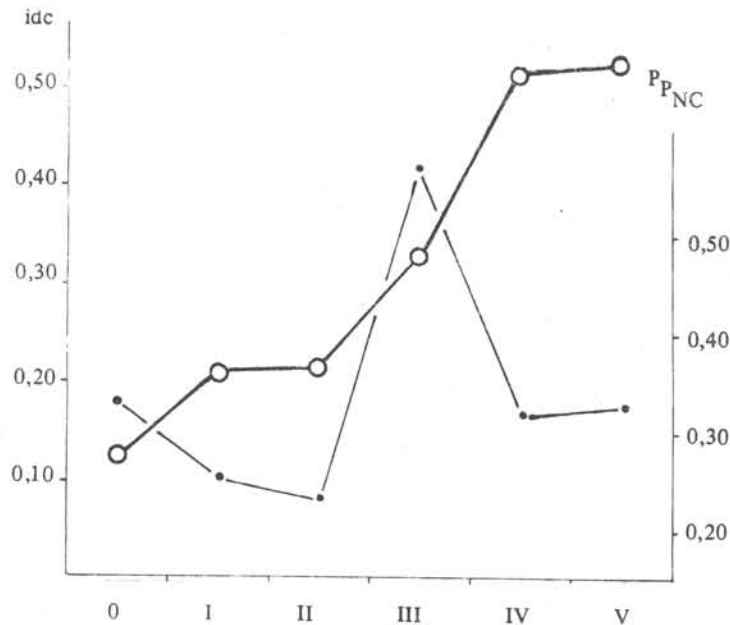


Fig. 2 - Evolución de la diversidad celular (idc) según el estadio de madurez.

Referencias: PpNc = proporción de puntos incidentes en el componente no computado.

ficante que acompaña a la vitelogenésis, permitiendo la curva Ppnc (proporción de puntos no computados, asignada a elementos goniales, foliculares, conjuntivos, musculares y vasculares) - asociada a la Tabla I - objetivar el incremento en número y volumen que experimentan las células foliculares.

El escalonamiento del contingente oocitario, que culmina con el estrato oval maduro en detrimento del volumen de los demás, vinculado a la progresión numérica de aquellos, induce a pensar en un *feed back* de los oocitos terminales sobre los estratos basales; determinando la alternancia entre los estadios IV y V. Oscilación que se encadenaría con la nivelación numérica y volumétrica relativa de los stocks oocitarios como acontece durante la madurez media.

Del punto de vista volumétrico la evolución de los ovocitos hasta completar su desarrollo, se ajusta a una mecánica unimodal. La distribución de las tallas oocitarias en un ovario maduro tiende a bimodal (Schuldt, 1977).

Si se asocian los hechos constatados con el dinamismo bascular que resulta de las variaciones en número que experimentan los estratos oocitarios, se prueba la existencia de oleadas madurativas. Surge así un modelo gonadal de gran estabilidad, consecuencia de la posibilidad de almacenar ovas en los ductos, y que contrasta con lo que acontece en ciertos moluscos bivalvos (Christiansen, 1971; Christiansen & Olivier; Schuldt, 1975).

Resultados y discusión

La caracterización precedente, permite extraer conclusiones acerca:

- del balance numérico y volumétrico de los stocks oocitarios, con lo cual se posibilitan interpretaciones integrales de la fecundidad;

- de la adecuación de las escalas de madurez elaboradas para cada especie de la dinámica ovárica en cuestión, con lo cual se objetiva la asignación del grado correspondiente a cada animal de la misma especie;

- de las variaciones de un ovario tipo, que resultan así correlacionables en términos de un índice de diversidad con estados funcionales, al permitir encuadrar jerárquicamente estadios y subestadios de la escala de madurez propuesta; y en consecuencia con otros ambientes - donde también habita la especie objeto de análisis - sometidos a gradientes ecológicos varios.

En base a lo expuesto, el concepto de diversidad, tal como se lo ha aplicado aquí, constituye una expresión sintética de la estructura celular de la gónada en su evolución, perfilándose como un potencial estimador de la estabilidad ovárica.

Referencias Bibliográficas

- CHRISTIANSEN, H.E. 1971. Reproducción, *In*: Olivier, S.R. *et al* - *Proyec. Desarr. Pesq./FAO, Ser. infmes téc., Publnes*, (27) : 37-47.
- 1977. Obtención de láminas histológicas como variante al método por congelación. *Physis C, B. Aires*, 36 (92) : 347-348.
- BRODSKY, S.R. & CABRERA, M.E. 1973a. Aplicación de una técnica histométrica en la determinación de la fecundidad en invertebrados marinos, *Physis A, B. Aires*, 32 (84) : 121-135.
- ; ----- & ----- 1973b. La microscopía aplicada con criterio poblacional en el estudio de las gónadas de los invertebrados e vertebrados marinos. *Physis A, B. Aires*, 32 (85) : 467-480.
- , CABRERA, M.E. & BRODSKY, S.R. 1972. Posibilidades de aplicación de una técnica estereométrica en la determinación de la fecundidad y en los cálculos de los procesos de reabsorción gamética en invertebrados marinos. *An. Soc. cient. argent.*, 194 : 279-298.
- & OLIVIER, S. R. 1971. Sobre el hermafroditismo de *Chlamys tehuelcha* D'Orb. *An. Soc. cient. argent.*, 191(3/4) : 115-127.
- & WEISS, G. 1974. Nuevo método para la determinación de la fecundidad en peces con técnicas estereométricas mediante cortes por congelación. Su comparación con otros métodos. *Physis A, B. Aires*, 33(87) : 453-458.
- & ----- 1976. Determinación de la fecundidad mediante la aplicación de técnica estereométrica. Control de examen de los componentes abalizados y rangos de variación en torno a valores promedio. *Semana de la Oceanografía, Mus. argent. Cienc. nat., Buenos Aires*, 8-10 noviembre.
- MARGALEF, R. 1956. Información y diversidad específica en las comunidades de organismos. *Investigación pesq.*, 3 : 99-106.
- SCHNACK, J.A.; DOMIZI, E.A.; ESTEVEZ, A.L. & SPINELLI, G.R. 1977. Diversidad específica en comunidades naturales. Análisis comparativo de métodos y su aplicación con referencia a la mesofauna de limnotopos bonaerenses. *Limnobiología*, 1 (5) : 141-152.
- SCHULDT, M. 1975. Consideraciones sobre la reproducción de los pelecípodos chiónidos en la Cholguera de Pta. Loma, Golfo Nuevo, Chubut. *Physis A, B. Aires*, 34 (88) : 137-146.

- 1976. Síntesis estructuro funcional de un órgano. La diversidad celular. Arch. Fund. Roux - Ocefa, 9:72-77.
- 1977. Contribución al conocimiento del ciclo sexual de *Illex argentinus* Cast. (Cephalopoda, Ommastrephidae). Tesis Doc. n° 358. La Plata, Fac. Cienc. nat. y Mus. La Plata.
- Un problema operativo en evaluaciones estereométricas con computos no automatizados. Physis, B. Aires. 37(93) : (en prensa).
- WEIBEL, E. R. & GOMEZ, D.N. 1962. A principle for counting tissue structures on random section. J. appl. Physiol., 17 : 343.