

## OVOGÉNESIS DEL YAMÚ *Brycon siebenthalae* (TELEOSTEI: CHARACIDAE), EN CAUTIVERIO

OVOGENESE IN YAMÚ, *Brycon siebenthalae* (TELEOSTEI: CHARACIDAE), IN CAPTIVITY

José Alfredo Arias<sup>1,2</sup>, Evoy Zaniboni-Filho<sup>3</sup>, Sandra Clemencia Pardo-Carrasco<sup>1,4</sup>, Walter Vásquez-Torres<sup>1,5</sup>

### Resumen

Mensualmente, durante dos ciclos reproductivos consecutivos fueron colectados y estudiados ovarios de yamú *Brycon siebenthalae* en cautiverio, con el propósito de relacionar los cambios morfométricos y microscópicos y proponer la escala de maduración.

El ovario fue un órgano sacular del tipo cistovario con ovogénesis sincrónica por grupos y desove total. Se diferenció en un ciclo anual de cinco fases de desarrollo de los ovocitos agrupados en dos grandes etapas: en la primera (de crecimiento primario o previtelogénico), hubo aumento del tamaño del núcleo, proliferación de nucléolos, visualización del corpúsculo de Balbiani, aparición de las envolturas de recubrimiento y aumento lento del tamaño celular. Los ovocitos en esta etapa se presentaron a lo largo de todo el ciclo y constituyeron el lote de reserva (ovocitos cromatina nucléolo y ovocitos perinucleolares). En la segunda etapa (de crecimiento secundario o vitelogénico), hubo engrosamiento de las envolturas foliculares y aumento rápido del tamaño celular por depósito de vitelo. Los ovocitos reclutados para esta etapa (del lote de reserva), constituyeron el lote de maduración y fueron los que ovularon en la siguiente reproducción (ovocitos alvéolo cortical, ovocitos vitelogénicos y ovocitos maduros). Se reconoció una fase de atresia folicular. La escala de maduración se definió en cuatro estadios: inmaduro o reposo, maduración, maduro y regresión o desovado.

*Palabras clave:* *Brycon siebenthalae*, desarrollo ovocitario, escala de maduración, ovario, yamú.

### Abstract

Monthly, during two serial reproductive cycles, were collected and studied ovaries of yamú *Brycon siebenthalae*, with the purpose of relate the morphological changes and microscopic changes and suggest the maturation scale.

The ovary is an organ saccate of the type cistovarie with synchronous oogenesis for groups and spawn total. With an annual cycle of five phases of development of the oocytes, contained in two stages: in the first (of primary growth or previtellogenetic), the nuclear-to-cytoplasm ratio decreases, multiple nucleoli appear, visualization of the corpuscle of Balbiani and appearance of the covers membranes (theca, granulose and zone pellucid). The oocytes in this stage were presented along the whole cycle and they constituted the reservation lot (oocyte chromatin nucleoli and oocyte perinucleolari). In the second stage (of secondary growth or vitellogenic), there are engrossments the membranes follicular and quick increase of the cellular size for yolk vesicles deposit. The oocytes recruited for this stage (of the reservation lot), constitute the maturation lot and they are those that ovulated in the following reproduction (oocyte cortical alveoli, oocyte vitellogenic and mature oocyte). A phase of atresic oocyte is recognized. The maturation scale is defined in four stadiums: immature or spent, maturation, mature and regression o spawned.

*Key words:* *Brycon siebenthalae*, development oocytes, maturation scale, ovary, yamú.

Recibido: noviembre de 2003; aceptado para publicación: junio de 2004.

<sup>1</sup> Instituto de Acuicultura (IALL), Universidad de los Llanos. A. A. 2430, Villavicencio (Meta), Colombia.

<sup>2</sup> Correspondencia: Correo electrónico: <jarias@villavicencio.cetcol.net.co>.

<sup>3</sup> Departamento de Acuicultura, Universidad Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil. Correo electrónico: <zaniboni@cca.ufsc.br>.

<sup>4</sup> Correo electrónico: <iall@villavicencio.cetcol.net.co>.

<sup>5</sup> Correo electrónico: <wvasquez@etell.net.co>.

## INTRODUCCIÓN

El conocimiento sobre los cambios en el ovario durante el ciclo reproductivo en especies reofílicas para piscicultura, es de gran importancia para la comprensión del desarrollo y la reproducción inducida. *Brycon siebenthalae* es una especie con grandes potenciales para cultivo por su rápido crecimiento, aceptación de raciones preparadas y excelentes carnes, pero con pocos estudios sobre los aspectos básicos de la biología reproductiva de las hembras (Arias, 1995; Useche *et al.*, 1993). Algunos trabajos sobre el desarrollo de los ovarios de especies de bryconidos han sido efectuados (Ganeco, 2000; Romagosa, 1998; Zaiden, 2000; Zaniboni-Filho, 1985; Zaniboni-Filho y Resende, 1988). En este trabajo se estudia la ovogénesis en cautiverio durante dos ciclos reproductivos consecutivos a partir del primer año de vida, considerando que la primera maduración gonadal se presenta para el segundo año de vida en las hembras de la especie. Se reconocen y describen las diferentes fases celulares e igualmente se propone una escala de desarrollo ovárico estudiando los diferentes tipos celulares germinativos, el índice gonadosomático y la frecuencia de estadios de desarrollo de las gónadas por meses.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En la Estación Piscícola de la Universidad de los Llanos, Meta (Colombia), localizada en el municipio de Villavicencio (4° 05' N y 73° 37' O), fueron mantenidos en confinamiento en dos estanques en tierra 500 ejemplares de yamú a densidad de 300 g de peso vivo/m<sup>2</sup>. Una vez al día, seis días/semana, fueron alimentados con el equivalente del 3% de la biomasa con una ración comercial para peces de 30% de proteína bruta y 3.000 kcal/g de energía bruta. Después del primer año de vida, en la primera semana de cada mes durante dos años consecutivos, fueron capturados, pesados, medidos y sacrificados diez ejemplares (total de hembras = 118). Mediante incisión abdominal fueron expuestos los ovarios y evaluados *in situ* microscópicamente. Se consideró los siguientes factores: forma, proporción en relación con la cavidad visceral, color e irrigación sanguínea, para posteriormente extraídos y pesados individualmente. Dos porciones de la región media de cada ovario fueron inmediatamente fijadas. Una

en solución de Bouin durante doce horas, transferida a alcohol isopropílico y sometida a tratamiento histológico de rutina para coloración de hematoxilina-eosina (Vazzoler, 1996). Otra en glutaraldehído al 2,5% (buffer cacodilato de sodio 0,1 M, pH 7,2) y posteriormente fue sometida a tratamiento rutinario para microscopía electrónica de transmisión (MET), (posfijación en tetróxido de osmio al 1%, por 2 horas a 4 °C, deshidratación en concentraciones crecientes de etanol cada 25 minutos, inclusión epon, contraste acetato de uranilo y citrato de plomo). Los exámenes de los micropreparados consideraron la presencia, aparición y modificación de estructuras celulares así como el diámetro de los ovocitos y la proporción del núcleo y el citoplasma. Fue establecida la escala de maduración ovárica conjugando los resultados histológicos con el índice gonadosomático (IGS) siendo  $IGS = Po/Pt * 100$  (donde Po = Peso del ovario y Pt = Peso total) (Nikolsky, 1963), y la frecuencia porcentual por mes de los estadios de desarrollo gonadal propuestos. Los resultados son reportados como promedio  $\pm$  error estándar.

## RESULTADOS

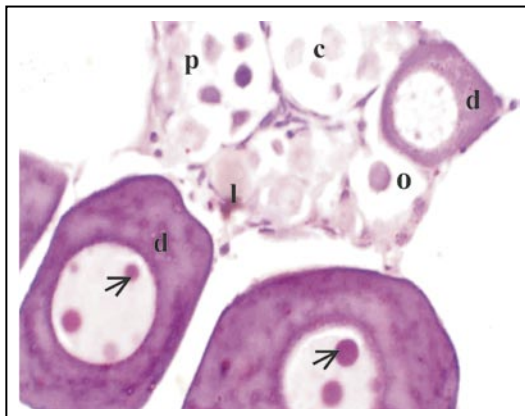
Los ovarios en número de dos, son órganos simétricos (90% de las veces), alargados y saculares. Ubicados dorsolateralmente en la cavidad abdominal de donde se fijan, por un pequeño mesovario, ventrolateral a la vejiga natatoria. Son libres en la parte anterior y caudalmente se unen en un corto oviducto que se abre al exterior por un poro genital posterior al ano. El volumen y color cambian a lo largo del ciclo reproductivo, desde comprimidos y rosáceos traslúcidos al inicio, hasta globosos y verde oliva al momento de la reproducción.

Internamente se encuentran revestidos por una capa delgada del epitelio peritoneal por fuera de la cual se encuentra una túnica albugínea de tejido conjuntivo denso y vascularizado. El epitelio y la albugínea se proyectan al interior en lámelas ovulíferas libres en el lumen obliterado de un cistovario. Las lámelas dispuestas al azar contienen los ovocitos con sus envolturas celulares en diferentes fases de maduración.

El estudio de los preparados histológicos del ciclo anual permitió diferenciar cinco fases de desarrollo

de los ovocitos agrupados en dos grandes etapas: en la primera (de crecimiento primario o previtelogénico), hay aumento del tamaño del núcleo, proliferación de nucléolos, visualización del corpúsculo de Balbiani, aparición de las envolturas de recubrimiento y aumento relativamente lento del tamaño celular. Los ovocitos en esta etapa se presentan a lo largo de todo el ciclo y constituyen el lote de reserva (fase de ovocitos cromatina nucléolo y fase de ovocitos perinucleolares). En la segunda etapa (de crecimiento secundario o vitelogénico), hay engrosamiento de las envolturas celulares y aumento rápido del tamaño celular por depósito de vitelo. Los ovocitos reclutados para esta etapa (del lote de reserva), constituyen el lote en maduración y son los que ovulan en la siguiente reproducción (fase de ovocitos alvéolo cortical, fase de ovocitos vitelogénicos y fase de ovocitos maduros).

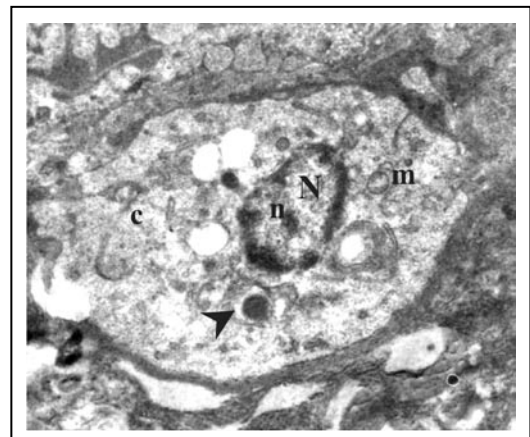
**Fase de cromatina nucléolo (fcn).** Son los ovocitos más pequeños diferenciados de las ovogonias hasta 20  $\mu\text{m}$  de diámetro ( $17 \pm 0,3 \mu\text{m}$ ). Se presentan agrupados en “nidios” de cuatro o más células en la periferia de la lámina ovulígera y con poca afinidad por los colorantes. El núcleo es redondo y ocupa cerca del 70% del tamaño celular, se presenta coloreado levemente y conteniendo un solo nucléolo descentrado. En esta fase se desarrolla la profase de



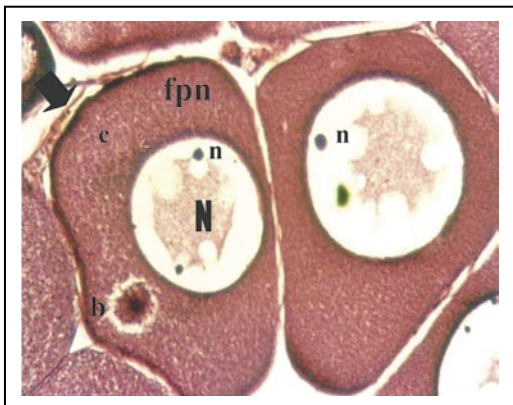
**Figura 1.** Fotomicrografía de nidios de ovocitos de *Brycon siebenthalae* en varios estados de la fase de cromatina nucléolo (fcn). Inicio de leptoteno (l) con los cromosomas expandidos en todo el núcleo. Inicio de cigoteno (c) con los cromosomas en los polos celulares. Paquiteno (p). Diploteno (d) en diferentes tamaños nucleares, distintas cantidades de nucléolos (flecha) e intensidad de basofilia citoplasmática. Ovogonia (o). HE. Objetivo: 100X

la primera división meiótica hasta diploteno y por lo mismo los núcleos se ven con distintas intensidades de coloración, dependiendo de la disposición y compactación de los cromosomas. El citoplasma escaso se tiñe levemente basófilo (figura 1). Al final de la fase se inicia la independización de cada ovocito y la formación de la capa folicular. En microscopía electrónica de transmisión (MET), las células y los núcleos se muestran ovales. El núcleo contiene uno a cuatro nucléolos. El citoplasma con mitocondrias asociadas a “nuages” forman el cemento mitocondrial (figura 2).

**Fase perinucleolar (fpn).** Los ovocitos se identifican como células independientes que alcanzan un tamaño hasta de 251  $\mu\text{m}$  de diámetro ( $144 \pm 10 \mu\text{m}$ ). El núcleo central disminuye proporcionalmente al aumento del volumen celular y se presenta más coloreado que en la fase anterior ocupando del 30 al 40% del tamaño celular. El número de los nucléolos aumenta tiñéndose intensamente y ubicándose en la periferia del núcleo. El citoplasma bien definido es basófilo y fuertemente teñido al inicio de la fase cuando se identifica próximo al núcleo el corpúsculo de Balbiani, también basófilo y redondo u oval (figura 3). Hacia la mitad de la fase el citoplasma se hace menos basófilo y el corpúsculo de Balbiani se desvanece. Con el aumento permanente de tamaño las células inicialmente redondas se deforman a ovales o angulares al tiempo que el número de nucléolos parece aumentar. Las envolturas ovocitarias se visualizan en esta fase.



**Figura 2.** Electromicrofotografía de transmisión de ovocito de *Brycon siebenthalae* en fase de cromatina nucléolo. Núcleo (N), nucléolo (n), citoplasma (c), mitocondria (m), nuages (punta de flecha). Aumento: 11.500X



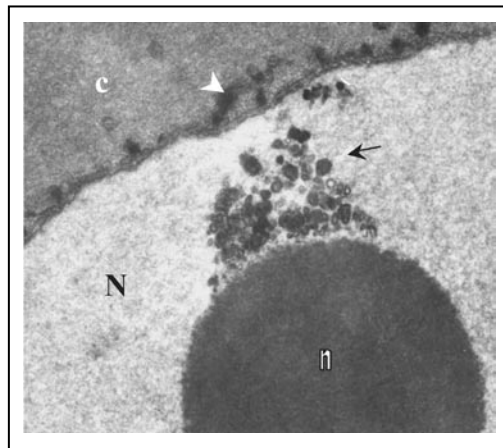
**Figura 3.** Fotomicrografía de ovocito de *Brycon siebenthalae* en fase perinucleolar (fpn), con corpúsculo de Balbiani (b) y capa folicular (flecha). Núcleo (N), nucléolo (n), citoplasma basófilo (c). HE. Objetivo: 40X

Al inicio es posible reconocer una sola envoltura de células alargadas de núcleos centrales y citoplasma basófilo que conforman la capa folicular. Luego, por fuera de ésta, se puede identificar la teca como una envoltura de tejido conjuntivo que contiene capilares. En el medio de estas dos se ubica una membrana basal. Al final de la fase entre la capa folicular y el ovocito surge una capa acelular acidófila, la zona pelúcida (figura 10). Ovocitos en esta fase de desarrollo son visibles durante todo el ciclo reproductivo y son las formas comunes del lote de reserva. En la fase perinucleolar los ovocitos son observados en MET como células redondeadas, de núcleo grande con muchos nucléolos periféricos. El citoplasma es ocupado por ribosomas y mitocondrias que rodean la membrana nuclear. Se pueden observar nucléolos vaciando sus productos al citoplasma a través de los poros de la membrana nuclear, esta última asociada a “nuages” (figura 4).

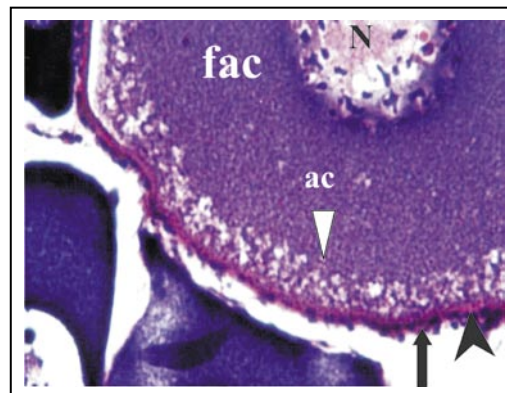
**Fase de alvéolo cortical (fac).** Los ovocitos aumentan de tamaño hasta 577  $\mu\text{m}$  de diámetro ( $436 \pm 15 \mu\text{m}$ ). El núcleo es cerca del 20% del tamaño celular y se torna irregular y más acidófilo manteniendo múltiples nucléolos periféricos. El citoplasma continúa basófilo pero aparece una zona periférica traslúcida de alvéolos corticales de diferentes tamaños que llegan a cubrir, en algunos ovocitos, hasta una sexta parte del citoplasma externo. Las envolturas ovocitarias, apenas visibles en la fase anterior, crecen y se hacen evidentes. La teca se identifica como una envoltura externa doble de tejido conjuntivo (figuras 5 y 6).

En esta fase se inicia la maduración de los ovocitos reclutados de la fase perinucleolar.

**Fase vitelagénica (fv).** El folículo ovocitario llega rápidamente hasta 914  $\mu\text{m}$  de diámetro ( $780 \pm 19 \mu\text{m}$ ). El núcleo ocupa del 10 al 20% del tamaño celular y permanece con la misma apariencia de la fase anterior. El citoplasma es más coloreado por efecto del depósito masivo de gránulos de vitelo eosinófilos (figura 6). Tales granos acidófilos inician su depósito en la periferia celular y en los estados más avanzados son de diferentes tamaños y formas hasta cubrir por completo el citoplasma (figura 7). Las envolturas ovocitarias se engruesan y se hacen conspicuas. La

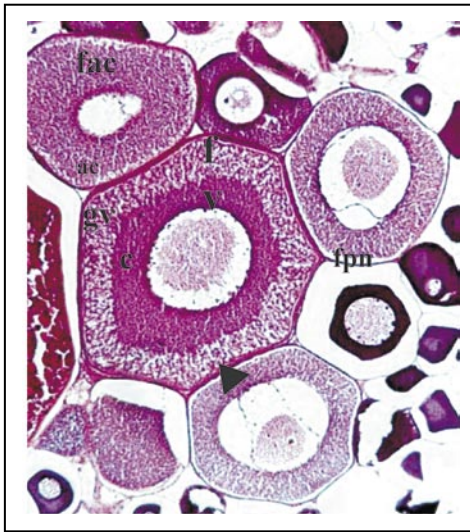


**Figura 4.** Electromicrofotografía de transmisión de ovocito de *Brycon siebenthalae* en fase perinucleolar. Detalle de partículas electrodensas migrando del nucléolo al citoplasma (flecha). Núcleo (N), nucléolo (n), citoplasma (c), nuages (punta de flecha blanca). Aumento: 9.800X



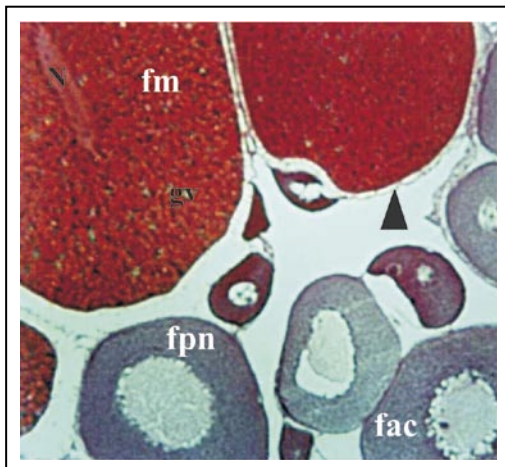
**Figura 5.** Fotomicrografía de ovocito de *Brycon siebenthalae* en fase de alvéolo cortical (fac). Núcleo (N), alvéolos corticales (ac), zona radiata (punta de flecha negra), capa folicular (flecha negra). HE. Objetivo: 40X





**Figura 6.** Fotomicrografía de ovocitos de *Brycon siebenthalae* en fase vitelogénica (fv). Citoplasma (c), gránulos de vitelo acidófilos (gv), alvéolos corticales (ac), zona radiata (punta de flecha negra). HE. Objetivo: 10X

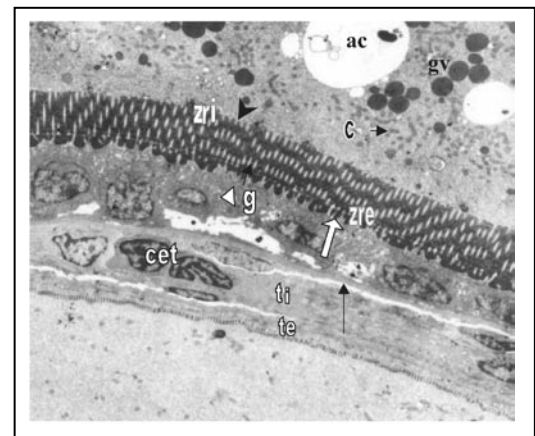
capa folicular se presenta con células cuadradas o columnares de núcleos basófilos alargados y citoplasma traslucido y granuloso (capa granulosa); la zona pelúcida se perfora en disposición espiralada (zona radiada). En MET la etapa de crecimiento secundario se caracteriza por presentar ovocitos grandes con núcleos centrales conteniendo varios nucléolos y citoplasmas con alvéolos corticales periféricos y granos de vitelo. Los alvéolos corticales se identifican como estructuras ovaladas claras finamente punteadas y contenidos por membranas; los granos de vitelo,



**Figura 7.** Fotomicrografía de ovocitos de *Brycon siebenthalae* en fase maduro (fm). Núcleo (N), gránulos de vitelo (gv), zona radiada (punta de flecha). HE. Objetivo: 10X

como estructuras electrodensas de diferentes tamaños. Alvéolos y gránulos en un ovoplasma repleto de mitocondrias y ribosomas (figura 8). Las envolturas foliculares se observan conformadas por: la teca doble, con células especiales de la teca en el estrato interno; un epitelio entre cúbico y plano conformando la capa granulosa y entre las dos una membrana basal (figura 8). Y la zona radiada acelular de tres capas. La capa externa de la zona radiada electrodensa con prolongaciones hacia la granulosa, la capa intermedia menos electrodensa y la capa interna con finísimos granos superficiales (figura 8).

**Fase de ovocito maduro (fm).** El ovocito llega a su máximo diámetro de  $1.118 \mu\text{m}$  ( $1.015 \pm 15 \mu\text{m}$ ). El núcleo central es tan sólo el 5% del tamaño celular, su contorno irregular se torna indefinido, menos acidófilo y conteniendo pocos nucléolos casi invisibles. Los granos de vitelo permanecen independientes, llenan todo el citoplasma y enmascaran los alvéolos corticales, desaparece la condición acidófila (figuras 7 y 10). La teca y la granulosa disminuyen sus grosores a finas capas de células alargadas. En la zona radiada las perforaciones se evidencian aún más dando apariencia estriada (corion). Algunos ovocitos



**Figura 8.** Electromicrofotografía de transmisión de ovocito de *Brycon siebenthalae* en fase vitelogénica. Citoplasma (c) con mitocondrias (flecha negra corta), rodeando alvéolos corticales (ac) y gránulos de vitelo electrodensos (gv). Se identifican las envolturas foliculares: teca externa (te), teca interna (ti) con células especiales de la teca (cet). Membrana basal (flecha negra larga). Capa granulosa (g), de células foliculares de núcleos grandes. Zona radiada acelular electrodensa de tres capas: capa externa (zre) con prolongaciones electrodensas en contacto con la capa granulosa (flecha blanca), la capa interna (zri) finamente granulada (punta de flecha negra). Aumento: 2.750X

en esta fase se muestran con el núcleo iniciando la migración hacia el polo animal de la ovocélula.

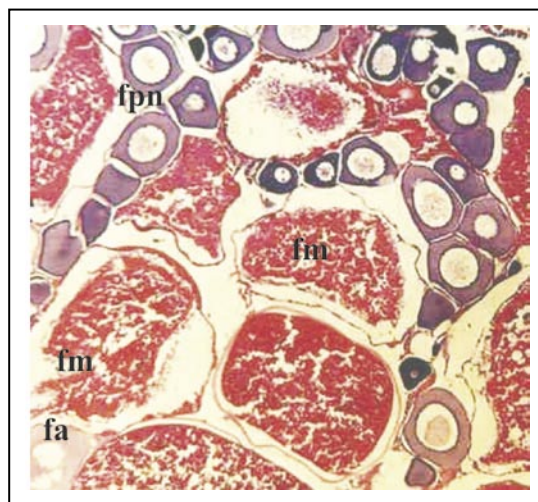
Los valores medios de los diámetros de los ovocitos para cada fase de desarrollo, con sus respectivas desviaciones estándares y valores mínimos y máximos se presentan en la figura 9.

**Fase de atresia folicular (fa).** Ovocitos en proceso de reabsorción son visibles durante la fase de maduración (1% de las láminas estudiadas), y más frecuentes en la fase de ovocito maduro (5% de las láminas estudiadas). Se observan de manera diferente dependiendo de la fase en que se hubo iniciado la atresia y del avance de la misma (figuras 10 y 11). Cuando la atresia folicular se presenta en ovocitos maduros, se inicia con la pérdida de la forma tanto de la ovocélula como de sus componentes, en especial del núcleo y los granos de vitelo. Más avanzada, la teca y el corion se observan fracturados y con surcos penetrando el citoplasma y éste conteniendo las células granulosas hipertrofiadas y macrófagos sanguíneos que fagocitan los granos de vitelo. En la atresia avanzada el ovocito se observa reducido, sin citoplasma y contenido por el corion aumentado. Al final de la atresia sólo queda una pequeña cicatriz (figura 11). En cautiverio los ovocitos maduros permanecen en esa fase hasta cuando son ovulados por efecto de los inductores hormonales y estrujados en las prácticas de desove. Cuando la inducción hormo-

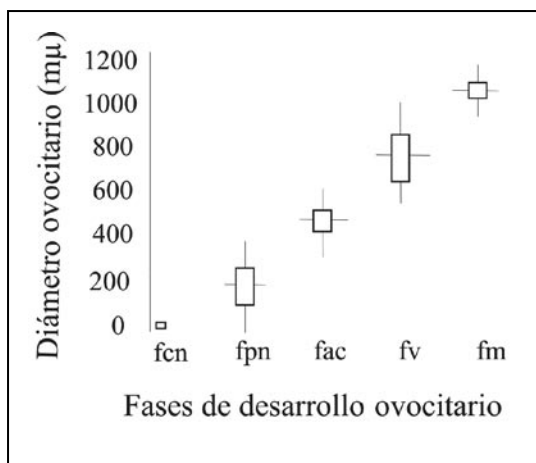
nal no es practicada el ovario entra en reabsorción y los ovocitos sufren masivamente el proceso degenerativo de atresia folicular.

**Escala de maduración.** La escala de maduración gonadal de las hembras en confinamiento puede ser establecida como se detalla a continuación:

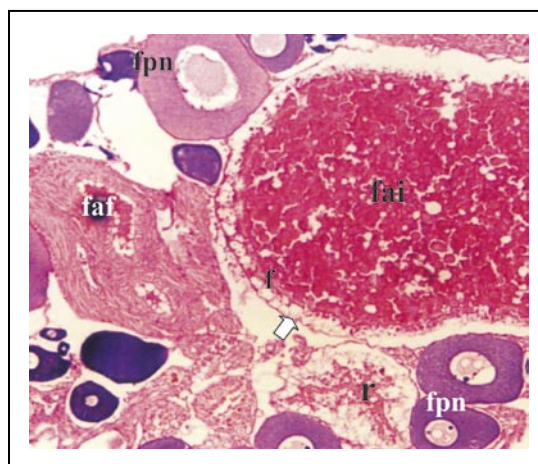
*Estadio inmaduro.* Los ovarios son filiformes, de incoloros a rosáceos transparentes y sin irrigación



**Figura 10.** Fotomicrografía de ovocitos de *Brycon siebenthalae* en estadio maduro. Ovocitos maduros (fm), ovocitos en fase perinucleolar (fpm) en los intersticios de los ovocitos maduros (lote de reserva). Ovocito en fase de atresia (fa). HE. Objetivo: 10X



**Figura 9.** Rango, promedio y error estándar del diámetro de los ovocitos de *Brycon siebenthalae* en las diferentes fases de desarrollo



**Figura 11.** Fotomicrografía de ovocitos de *Brycon siebenthalae* en estadio de regresión. Atresia inicial (fai), la zona radiada adelgazada y rota (flecha blanca), células foliculares hipertrofiadas dentro del ovocito (f). Atresia final (faf). Cicatriz de folículo regresado (r). HE. Objetivo: 10X

sanguínea visible. Con una longitud igual o menor que la mitad de la cavidad abdominal, difícilmente diferenciable de los testículos en el mismo estadio juvenil. Histológicamente es posible reconocer la arquitectura general del ovario que consiste en las lámelas ovulíferas soportando células de aproximadamente  $7\ \mu\text{m}$  (ovogonias) y algunos pocos nidos de ovocitos en fase de cromatina-nucléolo (figura 1). El estadio se puede identificar a partir de los ocho meses de vida y se registra con un IGS de  $0,23 \pm 0,07$ ,  $n = 12$ .

*Estadio de reposo.* Los ovarios son laminares, rosa-amarillentos traslúcidos y con irrigación sanguínea superficial. Se presentan con una longitud de  $2/3$  la cavidad abdominal. Histológicamente predominan los ovocitos perinucleolares de diferentes tamaños, con presencia de ovogonias y ovocitos en fase de cromatina nucleólo. El estadio se presenta de junio a diciembre y registra un IGS de  $0,3 \pm 0,1$ ,  $n = 16$ .

*Estadio en maduración.* Los ovarios foliados engruesan hasta globosos. El color cambia de amarillo oscuro pasando por el pardo oscuro hasta el verde olivo en la condición más avanzada. La irrigación sanguínea se hace evidente y aumenta de conformidad con el crecimiento del ovario. Histológicamente puede reconocerse dos grados de desarrollo del estadio, uno inicial con predominio de ovocitos perinucleolares (hasta  $200\ \mu\text{m}$  de diámetro) y presencia de algunos ovocitos alvéolo cortical en grados iniciales de desarrollo. Este subestadio se presenta entre julio y enero. Y un subestadio avanzado que se caracteriza por el predominio de ovocitos vitelogénicos de todos los tamaños. Este último se presenta entre diciembre y marzo. El IGS para la primera maduración fue de  $0,85 \pm 0,7$ ,  $n = 20$ , y para la segunda maduración de  $1,5 \pm 0,9$ ,  $n = 25$ .

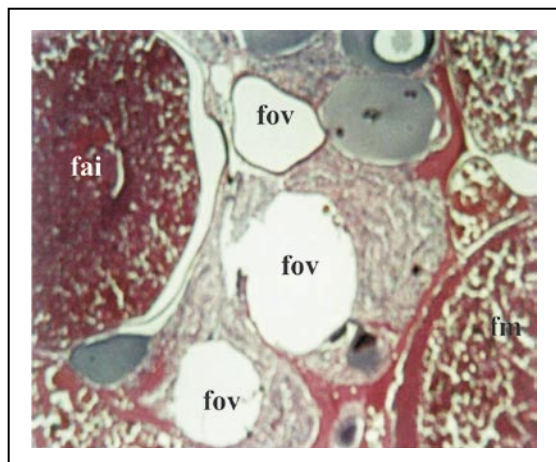
*Estadio maduro.* Para este estadio los ovarios están completamente desarrollados y ocupan al menos el 80% de la cavidad abdominal. Son de color verde oliva, verde azulado o verde grisáceo y se presentan muy irrigados y aparentemente lobulados en la región caudal. Predominan los ovocitos maduros de aspecto poliédrico (visibles al ojo desnudo). En los cortes histológicos, en los intersticios entre los ovocitos maduros, se pueden identificar ovocitos

previtelogénicos principalmente perinucleolares (lote de reserva) (figura 10). El estadio se registra en abril y mayo para la primera reproducción (en 1999), con un IGS  $13,03 \pm 1,95$ ,  $n = 8$ , y entre marzo y mayo (en 2000), para la segunda reproducción con un IGS de  $9,80 \pm 0,69$ ,  $n = 10$ . Dos estadios diferentes pueden presentarse después que las hembras llegan a la madurez, dependiendo de si son o no inducidas a la ovulación y el desove.

*Estadio de regresión.* Cuando los animales no son inducidos ni desovados sufren, después de un tiempo de permanecer “en espera”, el proceso de atresia folicular masiva. La regresión en yamú es un proceso rápido de quince a veinte días. Se caracteriza por la disminución del tamaño del ovario y la pérdida de color, el cual pasa de los tonos verdes al pardo oscuro, acompañado por una disminución sustancial de la irrigación sanguínea y degeneración de los vasos sanguíneos los cuales se muestran con grandes coágulos y blanquecinos. En cortes histológicos el inicio del estadio se presenta con predominio de ovocitos en atresia folicular en diferentes grados de regresión (figura 11). Simultáneamente al avance del proceso degenerativo empieza el predominio de ovocitos en cromatina nucleólo y perinucleolares. La desaparición de los folículos en regresión marca el inicio del estadio de reposo. El estadio de regresión comienza a finales de abril y hembras en regresión tardía pueden ser halladas a mediados de junio. El IGS para la primera regresión fue de  $1,25 \pm 0,44$ ,  $n = 7$ , y para la segunda de  $3,31 \pm 1,17$ ,  $n = 9$ .

*Estadio desovado.* Es el estadio en el cual los animales reproducidos por inducción pasan por un tiempo de recuperación especialmente rápido (quince días en promedio). Es caracterizado por una reducción casi total del ovario el cual se presenta vacío, flácido, sanguinolento y con áreas de apariencia necrótica. Histológicamente predominan los folículos vacíos con algunos pocos ovocitos maduros o en atresia folicular, todo en una matriz desorganizada (figura 12). El cálculo que se pudiese hacer del IGS para este estadio a más de mostrar relaciones inexplicables no tiene sentido biológico. La figura 13 presenta la curva de maduración para hembras de yamú obtenida mediante el cálculo de los valores medios mensuales de los IGS y las frecuencia porcentual de estadios de desarrollo gonadal por meses.





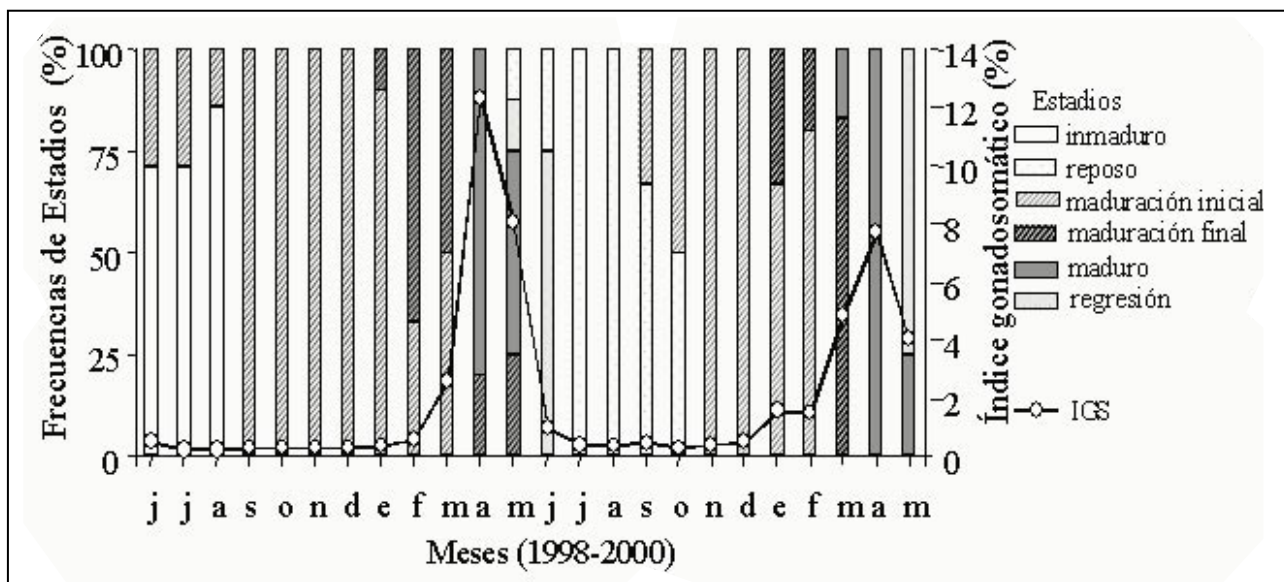
**Figura 12.** Fotomicrografía de corte transversal de ovario de *Brycon siebenthalae* en el estadio de desovado. Folículo vacío (fov). Folículo en fase de atresia inicial (fai). HE. Objetivo: 40X

**DISCUSIÓN**

La morfología de la maduración del ovario de yamú es semejante a la descrita para otros teleósteos tropicales, como: *Pimelodus maculatus* (Godinho et al., 1974), *Rhamdia hilarii* (Narahara, 1983), *Geophagus brasiliensis* (Barbieri et al., 1981), *Plecostomus comersonii* (Agostinho et al., 1982), *Semaprochilodus* sp. (Chaves y Vazzoler, 1984), *Astyanax bimaculatus* (Andrade et al., 1985), *Prochilodus escrofa*

(Alexandrino et al., 1985) y *Piaractus brachypomus* (Vásquez y Zacarías, 1996). Y similar tanto por la secuencia, como por la estructura a lo largo del proceso y la condición de cistovario (*sensu* Hoar, 1969), a la de otros brycónidos, como: *Brycon cephalus* (Romagosa, 1998; Soares, 1989; Zaniboni-Filho, 1985; Zaniboni-Filho y Resende, 1988); *Brycon hilari* (Zaiden, 2000); *Brycon orbignyianus* (Ganeco, 2000); y *Brycon siebenthalae* (Arias, 1995; Useche et al., 1993).

En la literatura es común encontrar diversos términos y subdivisiones (generalmente numeradas), para nombrar las diversas fases y estadios de desarrollo de los ovarios en peces (Carrillo y Zanuy, 1993; Chaves y Vazzoler, 1984), pero lo esencial es posible reconocerlo en los diferentes trabajos, y es así como se ha descrito para peces reofilicos tropicales una escala de maduración gonadal cíclica de un año que se inicia con ovarios pequeños (estadio de reposo), se continua con un período en el cual los ovarios crecen permanentemente y acumulan vitelo (estadio de maduración) y concluye con un estadio de completo desarrollo (estadio maduro) (Chaves y Vazzoler, 1984; Junquera, 1996). En cuanto al desarrollo de los ovocitos muchos autores han coincidido con que la ovogénesis se adelanta en dos grandes etapas. La





primera de crecimiento primario agrupa los ovocitos del lote de reserva. La segunda de crecimiento secundario agrupa los ovocitos en maduración (Agostinho *et al.*, 1982, 1987; Alexandrino *et al.*, 1985; Azevedo *et al.*, 1988; Barbieri y Barbieri, 1985; Barbieri *et al.*, 1981; Carrillo y Zanuy, 1993; Chaves y Vazzoler, 1984; Forbeg, 1982; Godinho *et al.*, 1974; Guraya, 1994, 1986; Narahara, 1983; Romagosa, 1998; Vazzoler, 1996; Wallace y Selman, 1981; Zaiden, 2000; Zaniboni-Filho y Resende, 1988).

Las células madres en los ovarios de yamú son las ovogonias (figura 1), presentes en todos los estadios de desarrollo y de  $7 \pm 0,4 \mu\text{m}$  de diámetro. En ellas el núcleo es central, teñido fuertemente y ocupa cerca del 90% del diámetro celular como lo describieron Chaves y Vazzoler (1984). El citoplasma muy escaso sin afinidad por los colorantes, similar a lo descrito por Cruz-Höfling y Cruz-Landim (1990), y Romagosa (1998). En este trabajo se reconocen como células diferentes pero no se incluyen en ninguna de las fases del desarrollo ovocitario por considerárseles las células precursoras que proliferan por mitosis rápidas y dar origen al ciclo ovocitario, siguiendo a Agostinho *et al.* (1987), Robb (1982), Wallace y Selman (1981), y Vásquez y Zacarías (1996).

La fase de cromatina nucléolo se presenta preferentemente en los estadios reposo, desovado y regresión, coincidiendo con lo reportado por Agostinho *et al.* (1982) y Godinho *et al.* (1974). La coloración del citoplasma en esta fase se debe según Cruz-Höfling y Cruz-Landim (1990), al hecho del inicio de la gran actividad de síntesis que se refleja en el aumento de ribosomas.

La fase perinucleolar es una fase de desarrollo visible durante todo el ciclo reproductivo y es la forma de crecimiento primario más común del lote de reserva, como lo anotaron Alexandrino *et al.* (1985), Andrade *et al.* (1985), Chaves y Vazzoler (1984), Forbeg (1982), Guraya (1994), Junquera, (1996), Vazzoler (1996), Wallace y Selman (1981) y, Zaniboni-Filho y Resende (1988). El alto número de nucléolos periféricos que la caracteriza son al inicio grandes y al final se hacen pequeños como en *Brycon cephalus* (Romagosa, 1998). Los nucléolos son asociados con las necesidades permanentes de transcripción

de ARN y la actividad de síntesis proteica según lo propuesto por Nagahama (1983) y Suzuki (1992). Este último aseguró además, que en peces reofílicos sin cuidado parental, los nucléolos se observan como estructuras relativamente pequeñas de manera semejante a yamú.

La aparición del corpúsculo de Balbiani al inicio de la fase y su rápida disolución es similar ha como lo relato Bazzoli (1992) para las especies de *Brycon* por él estudiadas. Agostinho *et al.* (1982), Guraya (1986) y Yaron (1995), le atribuyen al corpúsculo de Balbiani funciones relacionadas con la producción y almacenamiento de vitelo, en tanto que Wallace y Selman (1981) le consideran un centro de formación de orgánulos celulares.

La visualización de las tres membranas envoltorias del ovocito anunciando el final de la fase perinucleolar, como es señalado en este trabajo, coincide con lo propuesto para *Plecostomus commersonii* y *Rhinelepis aspera* (Agostinho *et al.*, 1982, 1987), para *Piaractus mesopotamicus* y *Brycon cephalus* (Romagosa, 1991, 1998), y para *Brycon hilarii* (Zaiden, 2000). La capa interna de la teca incluye células “especiales de la teca” (figura 8), similar a como lo reseñó Nagahama (1983), las cuales son células productoras de hormonas como lo dedujo Romagosa (1998). La capa folicular (capa granulosa de Guraya, 1994), sería responsable de la producción de esteroides y dadas sus características de abundancia de mitocondrias, vesículas y gránulos, de la síntesis de proteínas para diferentes procesos de crecimiento tanto del ovocito como de las demás capas (Chaves y Vazzoler, 1984; Guraya, 1986; Nagahama, 1983). El engrosamiento de la zona pelúcida y su diferenciación a zona radiada, parece ser producto de la actividad de la capa folicular, como lo propuso Nagahama (1983).

Para otras muchas especies como para yamú, la etapa de crecimiento primario constituye la etapa de diferenciación de los ovocitos de reserva (Agostinho *et al.*, 1982; Chaves y Vazzoler, 1984; Godinho *et al.*, 1974; Narahara, 1983; Vásquez y Zacarías, 1996; Zaiden, 2000). Los ovocitos de reserva están presentes durante todo el ciclo reproductivo, lo que indica que si las condiciones ambientales lo permitieran,

se podría presentar más de una reproducción anual, como fue propuesto propuso por Forberg (1982) para *Mallotus villosus* y por Vásquez y Zacarías (1996) para *Piaractus brachyomus*. El hecho de que en el ovario de yamú existan simultáneamente dos lotes diferentes de ovocitos, uno en crecimiento primario (lote de reserva) y otro en crecimiento secundario (lote de desove) (figura 10), lo clasifica en los términos de Wallace y Selman (1981), como un ovario de desarrollo sincrónico por grupos y con desove total (Chaves y Vazzoler, 1984; Romagosa, 1998; Vásquez y Zacarías, 1996; Vazzoler, 1996; Zaniboni-Filho, 1985; Zaniboni-Filho y Resende, 1988).

En yamú, como en otras especies de bryconídeos y en muchas otras especies de teleósteos, la etapa de desarrollo secundario comienza con el depósito periférico en el citoplasma de alvéolos corticales (Carrillo y Zanuy, 1993; Chaves y Vazzoler, 1984; Robb, 1982; Romagosa, 1998; Zaiden, 2000; Zaniboni-Filho y Resende, 1988). La apariencia vacía de los alvéolos los hace similares a las estructuras descritas por Agostinho *et al.* (1982) y Guraya (1986), quienes aseguraron que los alvéolos corticales no contienen vitelo propiamente dicho sino mucopolisacáridos sintetizados por el propio ovocito (vitelo intravesicular de Agostinho *et al.*, 1987), lo que conduce al uso frecuente del conjunto de palabras vitelogénesis endógena, de muchos autores. La heterogeneidad en el tamaño de los alvéolos y el vaciamiento de éstos al espacio perivitelinico (función antipoliespermática al momento de la fertilización), fue observada y lo reseñaron Bazzoli (1992), Guraya (1986) y, Wallace y Selman (1981).

El rápido crecimiento de los ovocitos de yamú en la fase vitelogénica es debido al depósito masivo de gránulos de vitelo como en *Brycon orbignyanus* (Ganeco, 2000), importados por al ovoplasma desde las células de la membrana granulosa según lo explicaron Agostinho *et al.* (1987). Wallace y Selman (1981) encontraron que los gránulos de vitelo son sintetizados en el hígado a partir de lípidos movilizados desde las reservas grasas viscerales y musculares y transportados por la sangre hasta las células de la granulosa en forma de vitelogenina, éstas entonces se encargan de transferirlo al citoplasma del ovocito de la manera como lo propone Guraya (1986) (véase

figura 8). A diferencia de Narahara (1983) y Romagosa (1991, 1998), no ocurre en yamú depósito de cristales en los gránulos de vitelo al final de la fase. Los gránulos de vitelo se presentan de diferentes tamaños pero no se fusionan tal y como ocurre en *Brycon cephalus* (Romagosa, 1998) y *Brycon hilarii* (Zaiden, 2000).

La zona pelúcida se engrosa de manera importante en la fase vitelogénica. La imagen estriada que se observó se debe a perforaciones dispuestas en espiral (véase figura 8). Agostinho *et al.* (1982, 1987), Cruz-Landim y Cruz Höfling (1989), Guraya (1994), Narahara (1983), y Yaron (1995) coincidieron en afirmar que las perforaciones o canalículos de la zona radiada se ponen en contacto directo con la membrana del ovocito y sirven de canal de transporte de macromoléculas a través de prolongaciones citoplasmáticas, cuestión que se ilustra en este trabajo (véase figura 8). De otra parte el gran engrosamiento de la zona radiada se puede explicar en las observaciones de Bazzoli (1992) y Suzuki, (1992), los cuales proponen que ello tiene carácter adaptativo que garantizaría, en especies que se reproducen en el lecho del río, que los huevos sean protegidos de los choques mecánicos y de las turbulencias del agua.

Los ovocitos maduros son las células más grandes del ciclo ovocitario. Son macrocélulas similares a las descritas para otras especies (Azevedo *et al.*, 1988; Nagahama, 1983; Robb, 1982; Romagosa, 1998; Vásquez y Zacarías, 1996; Zaiden, 2000; Zaniboni-Filho y Resende, 1988). Algunos ovocitos maduros se pueden observar reiniciando la meiosis (los núcleos migrando hacia el polo animal de la ovocélula), coincidiendo con lo reportado por Zaiden (2000). A este respecto, la membrana nuclear puede llegar a romperse, pero no las envolturas foliculares las cuales sólo se desintegran si ocurre la ovulación (Carrillo y Zanuy, 1993; Guraya, 1986). Los ovocitos maduros permanecen en fase posviteligénica (“en espera”), hasta cuando son inducidos a la ovulación y estrujados en los procedimientos de reproducción artificial. Cuando lo anterior no ocurre, pasado un corto tiempo, entran masivamente en reabsorción. Los ovocitos ovulados llevan consigo el corion dejando en el ovario un espacio vacío recubierto por el epitelio folicular (véase figura 12), el cual se

desorganiza de manera inmediata, como lo observó Romagosa (1998) para *Brycon cephalus*.

La atresia folicular se presenta como un fenómeno similar a lo descrito por Andrade-Talmelli *et al.* (1994) y Nagahama (1983). En lo sustancial es un proceso de reabsorción y reutilización de nutrientes que implica mecanismos fagocitarios (véase figura 10), como lo proponen Agostinho *et al.* (1987). Se presenta en las fases finales del crecimiento secundario, en ovocitos maduros y masivamente en ovocitos no ovulados, similar a lo reportado por Andrade-Talmelli *et al.* (1994), Chaves y Vazzoler (1984), Robb (1982), Romagosa (1998), Vásquez y Zacarías (1996) y, Vizziano y Berois (1989). Para *Piaractus* sp., *Prochilodus* sp. y *Brycon* sp., la atresia folicular en las fases más avanzadas es del tipo hipertrófico (Andrade-Talmelli *et al.*, 1994; Romagosa, 1991, 1998; Vásquez y Zacarías, 1996; Zaiden, 2000; Zaniboni-Filho y Resende, 1988). El estadio de regresión es de atresia folicular masiva, se presenta en ejemplares no inducidos y se desenvuelve en un tiempo de veinte a veinticinco días, período un poco menor que lo reportado para *Brycon cephalus* por Romagosa (1998) y para *Brycon hilarii* por Zaiden (2000), de 30 días.

En estudios de peces reofilicos en ambientes naturales no se reporta el estadio de regresión, ello porque los animales en su medio natural generalmente se reproducen en su totalidad; en cambio es común el registro del estadio de recuperación descrito por Chaves y Vazzoler (1984) o desovado descrito por Arias (1995) y, Zaniboni-Filho y Resende (1988). El estadio de regresión es un proceso degenerativo de los ovarios que se presenta en hembras en confinamiento que no son inducidas a reproducción artificial, similar a como lo observaron Andrade-Talmelli *et al.* (1994) y Arias (1995), o en aquellas obtenidas del medio natural que son sometidos a condiciones de alto estrés en confinamiento (Arias 1995; Forbeg, 1982). De otra parte es normal la atresia folicular en las fases finales de maduración en animales del medio natural. Robb (1982) reporta para *Melanogrammus aeglefinus* hasta un 6% de ovocitos en reabsorción en la fase final de maduración, atribuyendo lo anterior a razones fisiológicas o de estrés ambiental. La atresia

folicular en animales cautivos es al parecer mayor y puede deberse a nutrición inadecuada, manejo deficiente y a estrés por cautiverio entre otras razones (Arias, 1995; Romagosa, 1998).

El período de reproducción ha sido comúnmente determinado para muchas especies de teleósteos a través del cálculo del valor del índice gonadosomático y de la frecuencia relativa de los estadios de maduración ovárica, como son utilizados en este estudio (véase figura 13) (Narahara, 1983; Romagosa, 1998; Zaiden, 2000). El estadio inmaduro corresponde a los ejemplares que inician el primer ciclo de maduración gonadal y a los que se les calculó el IGS menor que el calculado para el estadio de reposo en el segundo ciclo de maduración, similares observaciones son registradas por Narahara (1983) para *Rhandia hilarii*. Los mayores IGS coinciden con la mayor frecuencia relativa del estadio maduro en el mes de abril en los dos ciclos, comparable a lo que acontece para ejemplares del medio natural (Arias, 1995). Lo anterior indica que se mantiene la dependencia de las lluvias para la reproducción en las hembras criadas en confinamiento. El aumento de las lluvias conlleva cambios en la composición física y química de las aguas, factores que en conjunto disparan el proceso reproductivo en yamú y en muchas otras especies de peces (Arias y Vásquez, 1988; Goulding, 1980; Lowe-McConnell, 1999; Narahara, 1983; Vazzoler, 1996). Arias (1995) registro un IGS de 16 para hembras de yamú en estadio maduro en condiciones naturales, mayor que el hallado en este trabajo, situación similar para matrinxã fue encontrada por Zaniboni-Filho (1985). Las diferencias anteriores probablemente se expliquen en la migración reproductiva que en la naturaleza tienen estas especies. La migración reduce la grasa visceral lo cual genera mayor espacio abdominal y así mayor crecimiento gonadal y un mayor IGS en hembras silvestres, como lo sugieren Goulding (1980) y Lowe-McConnell (1999).

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de los Llanos y a Colciencias, por el apoyo financiero ofrecido para la realización de este estudio.

## REFERENCIAS

- Agostinho AA, Barbieri MC, Agostinho CS, Barbieri C.** 1987. Biología reproductiva de *Rhinelepis aspera* (AGAZZIS, 1829) (TELEOSTEI: LORICARIIDAE) no rio Paranapanema. II. Estrutura dos ovários e estádios de maturação. *Rev Bras Biol* 47(3):319-328.
- Agostinho AA, Narahara MY, Godinho HM.** 1982. Morfologia dos ovários de *Plecostomus commersonii* (VALENCIENNES, 1840), (Osteichthyes: Loricariidae): desenvolvimento dos ovócitos e escala de maturidade. *Rev Brasil Biol* 42(1):71-77.
- Alexandrino AC, Phan MT, Pinheiro EFG.** 1985. Caracterização macroscópica e microscópica das gônadas do curimatá, *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881), durante o ciclo reprodutivo. *Bol Zool Univ S Paulo* 9:159-175.
- Andrade RD, Ribeiro SP, Godinho HP, Castro EFT.** 1985. Ciclo reprodutivo anual de lambaris (*Astyanax bimaculatus* L., 1758) em viveiros. *Arq Bras Med Vet Zootec* 37(5):435-447.
- Andrade-Talmelli EFA, Narahara MY, Romagosa E, Vazzoler EA.** 1994. Fases de degeneração ovocitaria em curimatá *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881), mantido em confinamento. *Rev UNIMAR* 16(3):83-96.
- Arias CJA.** 1995. Contribución al conocimiento biológico de los peces de los Llanos, yamú (*Brycon siebenthalae*) y sapuara (*Semaprochilodus laticeps* cf.), con fines de cultivo. Informe Final. Informe Final. Unillanos-Colciencias, Villavicencio, Colombia.
- Arias CJA, Vásquez TW.** 1988. Ampliación del conocimiento biológico de *Colossoma* sp. (Characidae), en ambientes naturales de la cuenca del río Meta. Informe Final. Informe Final. Unillanos-Colciencias, Villavicencio, Colombia.
- Azevedo CO, Barbieri MC, Barbieri G.** 1988. Ciclo reprodutivo de *Parodon tortuosus* (Eigenmann y Norris, 1900) do rio Passa-Cinco, Ipeúna-SP. II. Estádios de maturação do ovário. Época de reprodução. *Rev Bras Biol* 48(3):571-575.
- Barbieri MC, Barbieri G.** 1985. Reprodução de *Gymnotus carapo* (L., 1758) na Represa do Lobo (SP). Morfologia e histologia do ovário. Variação sazonal (Teleostei: Gymnotidae). *Rev Brasil Biol* 45(1/2):3-12.
- Barbieri MC, Barbieri G, Marins MA.** 1981. Sobre a anatomia e histologia de ovário de *Geophagus brasiliensis* (Quoy y Gaimard, 1824) na Represa do Lobo, Estado de São Paulo. *Rev Brasil Biol* 41(1):163-168.
- Bazzoli N.** 1992. *Dinâmica da Ovocênese em Peixes Teleósteos Neotrópicos de Água Doce*. Dissertação de Mestrado. UFMG, Belo Horizonte, Brasil.
- Carrillo M, Zanuy S.** 1993. Fisiología de la Reproducción de los Teleósteos. En: Castelló OF (ed.). *Acuicultura Marina, Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Universidad de Barcelona, España, pp. 123-166.
- Chaves PTC, Vazzoler AEA.** 1984. Aspectos biológicos de peixes amazônicos. II. Anatomia microscópica de ovários, Escala de Maturidade e Tipo de Desova das espécies do gênero *Semaprochilodus*. *Rev Bras Biol* 44(3):347-359.
- Cruz-Höfling MA, Cruz-Landim C.** 1990. The ultrastructure of developmental stages of the oocytes of *Astyanax bimaculatus* (Teleostei: Characidae). *Zool Jb Anat* 120:163-181.
- Cruz-Landim C, Cruz-Höfling MA.** 1989. Electron Microscopic studies on the development of the chorion of *Astyanax bimaculatus* (Teleostei: Characidae). *Zool J Anat* 119:241-249.
- Forberg K G.** 1982. A histological study of development of oocytes in capelin, *Mallotus villosus villosus* (Müller). *J Fish Biol* 20:143-154.
- Ganeco NL.** 2000. Morfologia dos Ovários da Piracanjuba *Brycon orbignyianus*, Mantida em Cativeiro: Análise Estrutural e Ultraestrutural. Dissertação de Mestrado. CAUNESP-UNESP, Jaboticabal, Brasil.
- Godinho HM, Ferri S, Medeiros LO, Barker JMB.** 1974. Morphological changes in the ovary of *Pimelodus maculatus* LACÉPÈDE, 1803 (PISCES: SILUROIDEI) related to the reproductive cycle. *Rev Bras Biol* 34:581-588.
- Goulding M.** 1980. *The Fishes and Forest, Exploration in Amazonian Natural History*. University of California Press, USA.
- Guraya SS.** 1994. Gonadal Development and Production of Gametes in Fish. *Proc Indian Nat Sci Acad B* 60 1:15-32.
- Guraya SS.** 1986. The Cell and Molecular Biology of Fish Oogenesis. En: Sauer HW (ed.). *Monograph Development Biology XVIII*, U.S.A.
- Hoar WS.** 1969. Reproduction. En: Hoar WS, Randall DJ. (eds.). *Fish Physiology*. Academic Press, London, pp. 1-72.
- Junquera S.** 1996. Histological assessment of the sexual maturity of the female long rough dab (*Hippoglossoides platessoides*) from the Western Barents Sea and Svalbard in summer. Council Meeting International Exploration Sea, 27 Sep.-4 Oct., 1996, Reykjavik, Iceland.
- Lowe-Mc Connell RH.** 1999. *Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais*. Univ. São Paulo, Brasil.
- Nagahama Y.** 1983. The functional morphology of teleost gonads. En: Hoar WS, Randall DJ, Donaldson EM (eds.). *Fish Physiology*. Academy Press, New York, vol. IX (A), pp. 223-275.
- Narahara MY.** 1983. Estrutura da população e reprodução de *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840), (Osteichthyes: Siluriformes: Pimelodidae). Tese de Doutorado. Inst. de Biociências/USP, São Paulo, Brasil.
- Robb AP.** 1982. Histological observations on the reproductive biology of the haddock, *Melanogrammus aeglefinus* (L.). *J Fish Biol* 20:397-408.
- Romagosa E.** 1991. Mudanças morfológicas (microscopia de luz e eletrônica) das gônadas de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) durante o ciclo reprodutivo e em condições de confinamento. Dissertação de Mestrado. UNESP Rio Claro, Brasil.
- Romagosa E.** 1998. Desenvolvimento gonadal (morfologia; ultra estrutura) e indução da reprodução do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em cativeiro Vale do Ribeira, São Paulo. Tese de Doutorado. USC, São Carlos, Brasil.
- Soares MCF.** 1989. Estudos preliminares do Cultivo do Matrinxã (*Brycon cephalus* Günther, 1869) (Teleostei: Characidae). Aclimação, Crescimento e Reprodução. Dissertação de Mestrado. UFB Salvador, Brasil.
- Suzuki HI.** 1992. Variações na Morfologia Ovariana e no Desenvolvimento do Folículo de Espécies de Peixes Teleósteos de Bacia do Rio Parana, no Trecho entre a Foz do Rio Paranapanema e a do Rio Iguaçú. Dissertação de Mestrado. UFP Curitiba, Brasil.
- Useche CP, Hurtado RH, Cala P.** 1993. Sobre la ecología de *Brycon siebenthalae* y *Milossoma duriventris* (Piscis: Characidae) en el río Cafre, Orinoquia. *Caldasia* 17:341-352.
- Vásquez TW, Zacarias SG.** 1996. Aspectos reproductivos en la cachama blanca, *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818) I. Histomorfología de los ovócitos durante la ovogénesis. *Rev ACOVEZ* 21(3):18-24.
- Vazzoler AEA.** 1996. *Biología da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Nupelia, Maringá-Brasil.
- Vizziano D, Berois N.** 1989. Histología del ovario de *Macrodon ancylodon* (Bloch y Schneider, 1801) (TELEOSTEI: SCIANENIDAE). Oogénesis, folículos post-ovulatorios, atresia. *Rev Bras Biol* 50(2):523-536.



- Wallace RA, Selman K.** 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Amer Zool* 21:325-343.
- Yaron Z.** 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture* 129:1-4, 49-73.
- Zaiden FS.** 2000. Morfologia gonadal e metabolismo energético da piraputanga *Brycon hilarii* (Cuvier e Valenciennes, 1849) (Pises: Characidae), em cativeiro, durante o ciclo reprodutivo anual. Tese de Doutorado. CAUNESP-UNESP, Jaboticabal, Brasil.
- Zaniboni-Filho E.** 1985. Biologia da reprodução do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei: Characidae). Dissertação de Mestrado. INPA/FUA, Manaus, Brasil.
- Zaniboni-Filho E, Resende EK.** 1988. Anatomia de gônadas, escala de maturidade e tipo de desova do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei: Characidae). *Rev Bras Biol* 48(4):833-844.

