

**MICROANATOMÍA DEL OVARIO DE *Atlantoraja platana* (GÜNTHER, 1880)
(CHONDRICHTHYES, RAJIDAE)**

**MICROANATOMY OF THE OVARY OF *Atlantoraja platana* (GÜNTHER, 1880)
(CHONDRICHTHYES, RAJIDAE)**

Ana Carolina MOYA^{1,2}; Elena Juana GALÍNDEZ^{1,2}; Edgardo DIGIACOMO^{3,4}

¹Laboratorio de Histología Animal, Departamento de Biología Bioquímica y Farmacia (DBByF), Universidad Nacional del Sur. Argentina.

²INBIOSUR-CONICET. ³Instituto de Biología Marina y Pesquera "Alte. Storni" (CONDROS). ⁴Universidad Nacional del Comahue.

RESUMEN

En este trabajo se analiza la estructura microanatómica ovárica de *Atlantoraja platana* con el objeto de establecer las bases morfofuncionales de la biología reproductiva de la especie. El material se obtuvo de muestreos del desembarque de la flota pesquera del golfo San Matías. Las hembras fueron clasificadas según su grado madurativo en: inmaduras, en maduración y maduras. En hembras inmaduras, el ovario es blanquecino y aplanado. Microscópicamente se observan ovogonias, folículos primordiales y primarios. En ejemplares en maduración se aprecian folículos translucidos y/o blanquecinos, de mayor tamaño. En el ovario de hembras maduras se observan a simple vista folículos grandes, amarillos y cargados de vitelo. En estos ejemplares coexisten folículos en distintos grados de desarrollo y cuerpos atrésicos. Este trabajo aporta la primera información sobre la citoarquitectura ovárica en la especie.

Palabras claves: microanatomía, ovario, *Atlantoraja platana*.

ABSTRACT

In this work, we analyze the microanatomy of the ovary of *Atlantoraja platana* in order to establish the morphofunctional basis of their reproductive biology. The material was obtained from samples of the fishing-fleet of San Matías Gulf. Females were classified according to their maturation degree as immature, maturing and mature. In immature females, the ovary is whitish and flattened. Microscopically, oogonia, primordial and primary follicles were observed. In maturing specimens translucent and/or whitish follicles, larger than immature ones are present. The ovary of mature females has large follicles with yellow yolk. In these specimens follicles in various stages of development and follicular atresia coexist. This is the first report about the microanatomy of the ovary in this fish.

Keywords: microanatomy, ovary, *Atlantoraja platana*.

Recibido noviembre 18, 2013 - Aceptado diciembre 06, 2013

* **Correspondencia de autor:** Ana Carolina Moya. Laboratorio de Histología Animal, DBByF, UNS. San Juan 670 (CP 8000), Bahía Blanca, Argentina. e-mail: acmoya_83@yahoo.com.ar

INTRODUCCIÓN

Los peces cartilaginosos se han convertido en un recurso cada vez más valioso para las pesquerías mundiales. Esto ha llevado a que algunas poblaciones disminuyeran su tamaño, incluso hasta el punto de extinción (1, 2). En Argentina, hasta 1990, las especies de batoideos formaban parte de la fauna acompañante de las capturas y eran descartadas por su bajo valor comercial (3, 4). Considerando que el manejo de pesquerías se basa, entre otros parámetros, en la historia de vida de cada especie, la comprensión de todos los parámetros biológicos es importante para determinar correctamente la productividad e inferir la vulnerabilidad de las poblaciones (5).

Los condriictios exhiben una gran diversidad de modos reproductivos, desde la oviparidad a la viviparidad, ya sea placentaria o no (6, 7). Si bien la oviparidad es el modo reproductivo de la mayoría de las rayas, quimeras y algunos tiburones, la viviparidad pareciera ser el modelo reproductivo plesiomórfico en los gnatostomados (7, 8). Por otra parte, estos peces presentan un crecimiento lento, una madurez tardía y un bajo número de crías. Todo esto conlleva a suponer que, bajo una intensa presión pesquera, la recuperación poblacional sea muy lenta (9).

Atlantoraja platana es un miembro de la familia Rajidae, endémica del Atlántico sudoccidental. Se extiende desde los 20°S (Brasil) hasta los 42°S en el golfo San Matías (Argentina) (10, 11), donde es una de las especies más frecuentes en las capturas de la flota de arrastre (12). Es una especie ovípara, sus huevos están envueltos en una cápsula proteica muy resistente y el desarrollo embrionario ocurre dentro de la misma, fuera del cuerpo materno, ya que todos los nutrientes

que necesita el embrión se encuentran contenidos en el huevo, aportados por el saco vitelino del mismo (13, 14). En función de sus características de historia de vida y el nivel de explotación comercial, la IUCN la considera una especie "vulnerable" (15). El objetivo del presente trabajo es analizar la microanatomía ovárica de la raya platana a fin de completar el conocimiento de su biología reproductiva y contribuir con información básica necesaria que sirva de insumo para el desarrollo de planes de manejo pesquero de la especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con ejemplares provenientes del desembarque de la flota pesquera de San Antonio Oeste, obtenidos durante los meses de abril a diciembre de 2012. Las hembras fueron medidas y pesadas y se clasificaron según su estadio de madurez en inmaduras, en maduración y maduras, basándose en el estado macroscópico de sus gónadas (16). El aparato genital fue diseccionado y se realizaron observaciones sobre el grado de desarrollo de los ovarios, glándulas oviductales y úteros. Además, en caso de que hubiera, se registró la presencia de cápsulas en el útero. El ovario se fraccionó en pequeñas porciones que se fijaron en Bouin, el mismo fue preparado con agua de mar a los efectos del mantenimiento de la osmolaridad tisular. Las muestras se procesaron según técnicas histológicas de rutina. Se realizó una deshidratación en una serie de alcoholes de concentración creciente, las piezas se incluyeron en Paraplast® y se realizaron cortes de entre 4 y 5 μm los cuales se colorearon con Tricrómico de Masson y Hematoxilina-eosina, indistintamente. Las observaciones y fotografías se realizaron con un microscopio Olympus Camedia C-7070.

RESULTADOS

nivel macroscópico el sistema reproductor femenino de *A. platana* está localizado en la cavidad peritoneal suspendido de la pared dorsal por mesenterios de tejido conectivo. Se encuentra íntimamente asociado al órgano epigonal (Fig. 1).

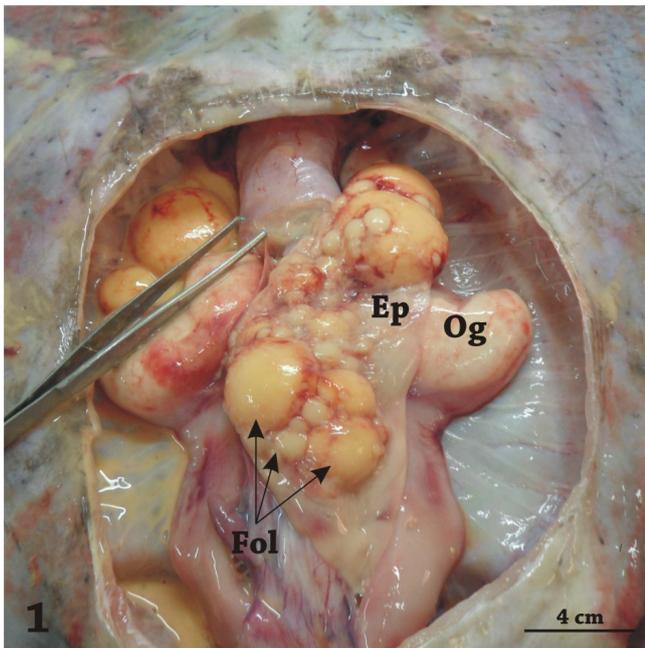


Figura 1. Vista general de la anatomía del sistema reproductor de una hembra madura.
Ep: órgano epigonal; Og: glándula oviductal; Fol: folículos.

A nivel microscópico, el ovario está tapizado por un epitelio cilíndrico simple ciliado que, al plegarse, adopta el aspecto de pseudoestratificado (Fig. 2). Por debajo de este epitelio se encuentra una túnica albugínea, de tejido conectivo denso irregular. En ovarios de ejemplares inmaduros, los folículos se ubican inmediatamente por debajo de la albugínea (Fig. 3), en tanto que en las hembras maduras, se internalizan y ocupan la mayor parte del parénquima, desplazando al tejido linfo-mieloide hacia la región caudal.

Durante la foliculogénesis se identificaron las siguientes etapas de desarrollo: ovogonias, folículos

primordiales, folículos primarios, en desarrollo y en desarrollo avanzado.



Figura 2. Epitelio ovárico y túnica albugínea. Tricrómico de Masson.
Ep: Epitelio ovárico; Ta: Túnica albugínea.

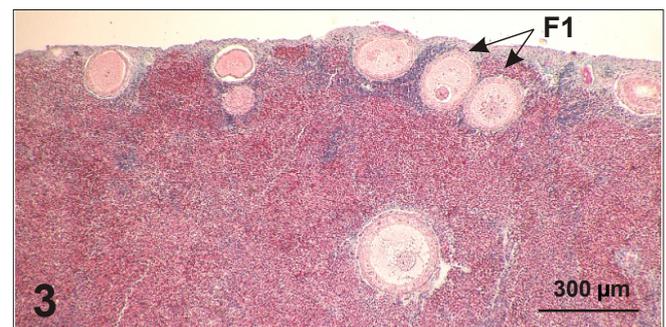


Figura 3. Baja magnificación del ovario de un ejemplar inmaduro. Se observan folículos primarios. Tricrómico de Masson.
F1: Folículos.

Las ovogonias se encontraron sólo en ejemplares inmaduros. Se ubican por debajo del epitelio germinativo y presentan el núcleo grande, esférico, eucromático de ubicación central (Fig. 4). A medida que los ovocitos aumentan su tamaño, las células foliculares planas se disponen alrededor, definiendo el folículo primordial (Fig. 5). En esta etapa se produce el inicio de la secreción de la zona pelúcida y por fuera sólo se observa tejido intersticial. A medida que la foliculogénesis avanza, los folículos primordiales atraviesan cambios que desembocan en la formación del folículo

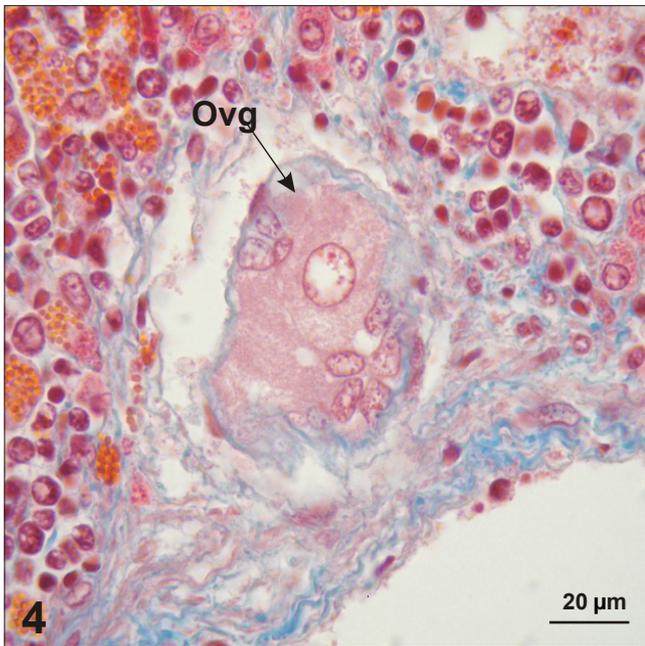


Figura 4. Vista de una ovogonia con alta magnificación. Tricrómico de Masson. Ovg: Ovogonia.

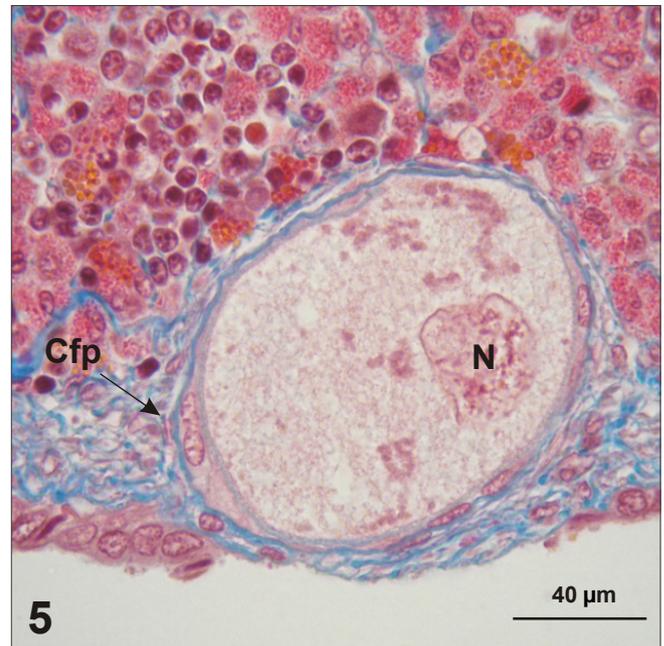


Figura 5. Detalle de un folículo primordial rodeado por células foliculares planas. Tricrómico de Masson. Cfp: células foliculares planas; N: núcleo.

primario. En esta etapa las células foliculares son de dos tipos diferentes. Por un lado se observan las clásicas células cúbicas y por el otro, alternadas entre las anteriores, se ven células globosas o polimorfas de núcleo grande y eucromático. Ambos tipos celulares forman un solo estrato. En el citoplasma ovocitario se observan cuerpos de Balbiani (Fig. 6). La zona pelúcida separa completamente el oocito de la capa folicular. Se observa como una franja, delgada, hialina y de bordes irregulares. Por fuera de la membrana basal folicular comienzan a diferenciarse las tecas.

En los folículos en desarrollo el epitelio folicular se estratifica y sigue presentando ambos tipos celulares, aunque las células cúbicas se tornan prismáticas. Las células globosas por su parte, emiten proyecciones citoplasmáticas en dirección al oolema. La zona pelúcida se torna más gruesa y homogénea. Las tecas se

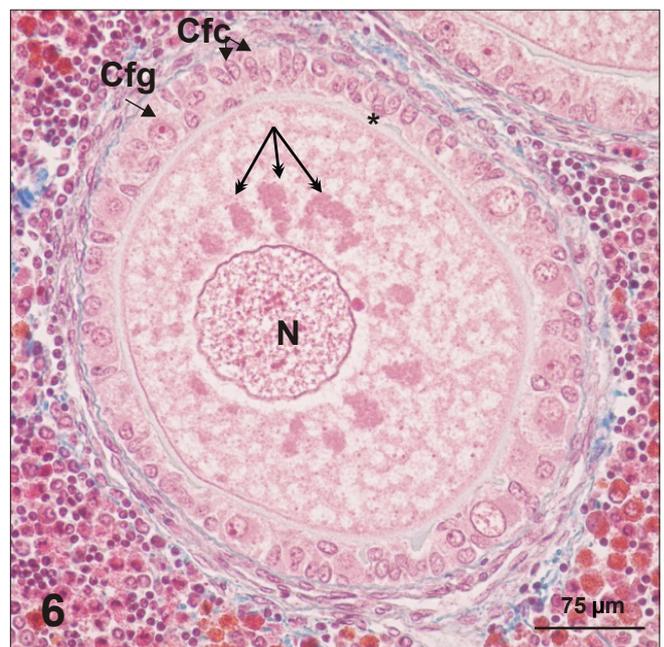


Figura 6. Alta magnificación de un folículo primario rodeado por células globosas y cúbicas. El Trío de flechas indica los cuerpos de Balbiani. Tricrómico de Masson. N: núcleo; Cfc: células cúbicas; Cfg: células globosas.

diferencian claramente en una envuelta interna vascularizada y una externa de células cúbicas, de apariencia secretora. Hacia el final de este período, comienza la acumulación vitelo (Fig. 7). En los folículos en desarrollo avanzado el epitelio folicular estratificado disminuye en altura, las células cilíndricas son abundantes y se encuentran hacia la membrana basal, en tanto que las células globosas se presentan en menor número y se distribuyen en los estratos medios y superficiales. La zona pelúcida se afina y la teca interna se estratifica y desarrolla senos vasculares (Fig. 8).

Se registraron cuerpos atrésicos. En los mismos se observa la infiltración de tejido conectivo denso, la paulatina desorganización de la capa folicular y la presencia de restos celulares. Hacia el final del proceso de atresia se aprecia claramente el incremento de la cantidad y densidad del tejido conectivo, adquiriendo el aspecto de una cicatriz (Fig. 9).

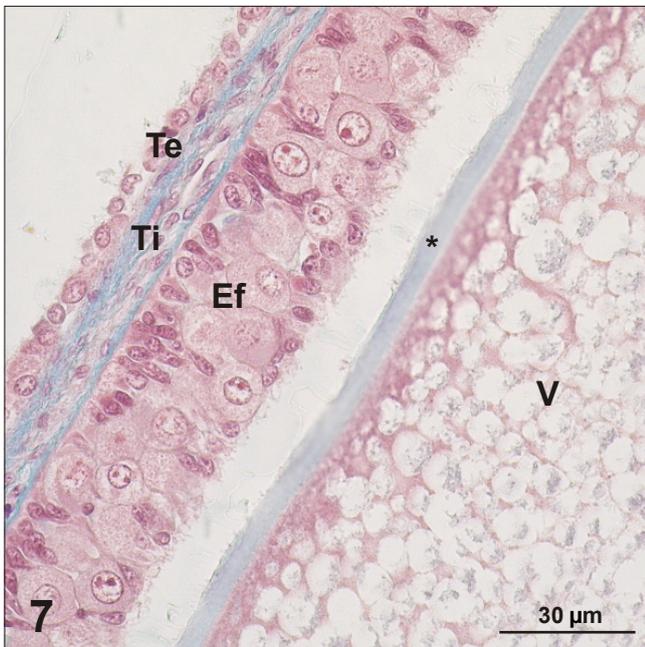


Figura 7. Folículo en desarrollo. Se aprecia el comienzo de la acumulación de vitelo. Tricrómico de Masson.
Te: teca externa; Ti: teca interna; Ef: epitelio folicular; V: vitelo;
*: zona pelúcida.

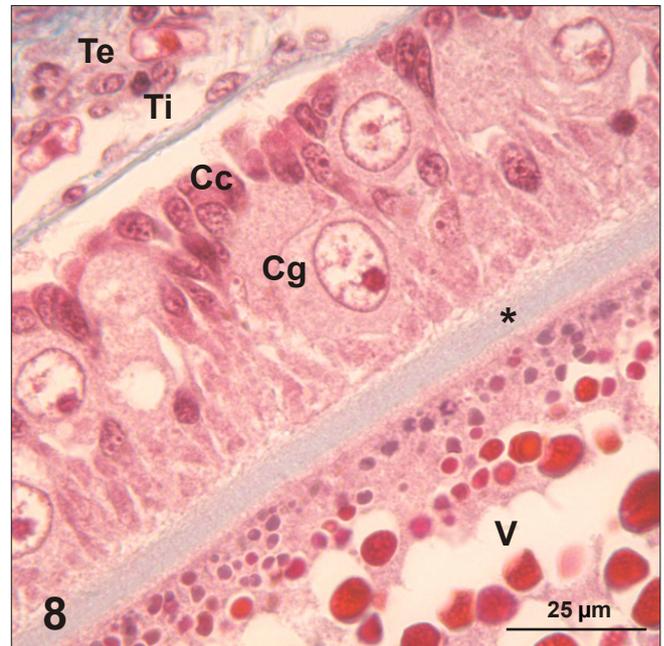


Figura 8. Detalle de la pared folicular en un folículo en desarrollo avanzado. El citoplasma se encuentra ocupado por placas de vitelo. Tricrómico de Masson.
Te: teca externa; Ti: teca interna; Cc: células cúbicas; Cg: células globosas; V: vitelo; *: zona pelúcida.

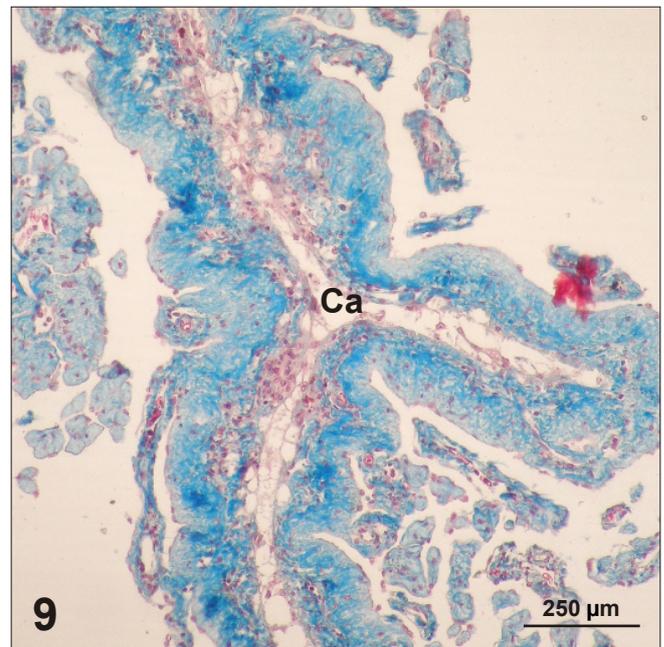


Figura 9. Cuerpo atrésico. Tricrómico de Masson.
Ca: cuerpo atrésico.

DISCUSIÓN

El ovario de los condriictios, como el de todos los vertebrados, cumple tres funciones principales: formación de gametas, transferencia y acumulación de vitelo y síntesis y secreción de hormonas (17). La asociación entre el ovario y el órgano epigonal está presente en todos los peces cartilaginosos. Esta última estructura es un órgano linfomieloide, exclusivo de condriictios y especializado en la producción de granulocitos y linfocitos (18). En la raya platana el tejido hemopoyético está presente en todas las etapas del desarrollo, aunque es proporcionalmente más escaso en ejemplares sexualmente maduros.

En *A. platana* la simetría ovárica, morfológica y funcional, concuerda en líneas generales con otras especies de Rájidos (19, 20). Ambos ovarios son funcionales. Esta característica no es común a todos los condriictios, ya que existen especies dónde sólo un ovario funcional (19, 21).

A nivel microscópico, el ovario está tapizado por un epitelio cilíndrico simple ciliado, cuyo aspecto se modifica en función de la distensión producida por el incremento en el número y tamaño de los folículos. Este tipo de revestimiento es común en otros Rajiformes como *Symterygia acuta* y *S. bonapartii* (22, 23), *Raja asterias* (24) y *Zearaja chilensis* (25), aunque puede variar ligeramente en cuanto a la altura de las células y presencia de cilios.

Las células germinativas primordiales se originan en el endodermo o mesodermo embrionarios y migran al cordón germinativo, donde dan origen a la ovogonias que se asocian con células somáticas prefoliculares (26). En *A. platana* se encontraron ovogonias sólo en ejemplares inmaduros y en escasa cantidad. Aparentemente, no existe ningún patrón específico ya que se han hallado

oogonias sólo en embriones o animales neonatos (27, 28), así como en ejemplares en maduración (23) e incluso en hembras gestantes (21). La presencia de oogonias sólo en ejemplares que aún no se encuentran comprometidos en la función reproductiva, podría asociarse a un bajo potencial reproductivo del recurso (27, 28).

Los ovarios de *A. platana* presentaron folículos, en todas las etapas madurativas de las hembras. En las sexualmente maduras, el ovario exhibe una amplia gama de estadios de desarrollo ovocitario, siendo los folículos vitelados los de mayor tamaño y complejidad estructural. La acumulación de vitelo y el aumento en la vascularización entre las tecas y el epitelio folicular son eventos comunes en otras especies (22, 23, 25). El incremento de los lechos vasculares se relaciona al transporte de precursores vitelínicos provenientes del hígado (29, 20).

La granulosa de *A. platana* se estratifica al inicio de la vitelogénesis y se mantiene en ese estado hasta la ovulación. Este patrón es, en línea general, común en los Rájidos (23, 25) y diferente del de los tiburones (30, 31). En cuanto a la composición celular, esta especie exhibe células globosas y cilíndricas en la granulosa, de forma similar a lo observado en *S. acuta*, *S. bonapartii* (22, 23) y *Z. chilensis* (25).

Los cuerpos atrésicos resultan de la involución folicular en cualquier etapa de su desarrollo. En los condriictios la frecuencia de dicho proceso es alta (19). En los ejemplares analizados, se observaron cuerpos atrésicos en ejemplares tanto juveniles como maduros. La cuantificación de la atresia folicular es un dato clave cuando se busca evaluar la fecundidad de estas especies. En este trabajo preliminar, no se llevaron a cabo recuentos específicos, queda para investigaciones

posteriores la evaluación de los mismos.

Al igual que todos los peces cartilaginosos, los batoideos tienen características de historia de vida que los hacen muy vulnerables a la sobreexplotación. Considerando que en la plataforma argentina existen cada vez más indicios de la disminución de las poblaciones de rayas (1), es primordial y apremiante incrementar los estudios sobre la biología y ecología

reproductiva de estas especies, para así lograr una preservación del recurso.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la valiosa colaboración del personal de la planta pesquera Río Salado de San Antonio Oeste en la facilitación de los ejemplares muestreados. Trabajo subsidiado por SGCyT-UNS, PGI 24/B173.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baum J, Myers R, Kehler D, Worm B, Harley S, Doherty P (2003) Collapse and conservation of shark populations in the northwest Atlantic. *Sci* 299: 389-392.
2. Tamini LL, Chiaramonte GE, Perez JE, Cappozzo HL (2006) Batoids in a coastal trawl fishery of Argentina. *Fish Res* 77: 326-332.
3. Chiaramonte GE (1998) Shark fisheries in Argentina. *Mar freshwater Res*; 49: 747-752.
4. Cousseau B, Perrotta R (2000) Peces marinos de Argentina: Biología, distribución, pesca. INIDEP, Mar del Plata, Argentina. 167pp.
5. Kyne PM, Simpfendorfer CA (2007) A collation and summarization of available data on deepwater Chondrichthyans: biodiversity, life story and fisheries. Report of the IUCN SSC Shark Specialist group for Marine Conservation Biology Institute. 137 pp.
6. Compagno LJV (1990) Alternate life history styles of cartilaginous fishes in time and space. *Environ Biol Fishes* 28: 33-75.
7. Musick J, Ellis J (2005) Reproductive evolution of Chondrichthyans. En *Reproductive Biology and Phylogeny of chondrichthyes: Skates, rays and chimaeras*, Hamlett WC (ed) Science Publishers, Enfield USA. pp. 45-71.
8. Long J, Trinajstić K, Johanson Z (2009) Devonian arthrodire embryos and the origin of internal fertilization in vertebrates. *Nat* 457: 1124-1127.
9. Hoenig JM, Gruber SH (1990) Life-story patterns in the elasmobranchs: implications for fisheries management. En: *Elasmobranch as living resources: advances in the biology, ecology, systematic and the status of the fisheries*, Pratt HL, Gruber SH, Taniuchi T (eds) NOAA Tech. Rep. NMFS, USA, pp. 1-16.
10. Sadowsky V, Manni RC (1974) Sobre *Raja platana* Günther (1880) (Chondrichthyes, Rajidae) *PHYSIS* Sec. 33 86: 23-32.
11. Casarini LM (2006) Dinâmica populacional de raias demersais dos gêneros *Atlantoraja* e *Rioraja*. (Elasmobranchii, Rajidae) da costa Sudeste e Sul do Brasil. Tesis doctoral. Instituto Oceanográfico da Universidade de Sao Paulo. Sao Paulo.
12. Perier MR, Coller NM, Di Giacomo EE, Estalles ML (2007) Estado biológico de las especies de condrictios del Golfo San Matías. Serie Documento Técnico 01/07, CONDROS, Instituto de Biología Marina y Pesquera "Almirante Storni".
13. Cousseau MB, Figueroa DE, Díaz de Astarloa JM, Mabragaña E, Lucifora LO (2007) Rayas, chuchos y otros batoideos del atlántico sudoccidental (34S-55S). INIDEP, Mar del Plata, Argentina.
14. Coller NM (2012). Biología, ecología y explotación de la raya platana *Atlantoraja platana* (Günther, 1880), (Chondrichthyes, Rajidae), del golfo San Matías. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo Universidad Nacional de la Plata. La Plata.
15. IUCN 2013. 2013 IUCN red list of threatened species. <http://www.iucnredlist.org/amazing-species> [Consulta: 29-10-2013]
16. Stehmann MFW (2002) Proposal of maturity stages scale for oviparous and viviparous cartilaginous fishes (Pisces, Chondrichthyes). *Arch Fish and Mar Res* 50 (1): 23-48.
17. Walker T (2005) Reproduction in fisheries science. En: *Reproductive Biology and phylogeny of Chondrichthyes. Sharks, Batoids and Chimeras*. Hamlett WC (ed). INC. Enfield, NH, USA, pp. 81-127.
18. Galíndez EJ, Aggio MC (2002) The granulopoietic organs of the narrow smooth hound *Mustelus schmitti* (Chondrichthyes, Triakidae). A light and electron microscopic study. *Rev Chil Anat* 20 (1): 49-54.

19. Hamlett WC, Koob TJ (1999) Female reproductive system. En: Sharks, skates and rays: the biology of elasmobranchs fishes. Hamlett WC (ed). The John Hopkins Univ. Press, Baltimore, USA. pp. 398-443.
20. Serra-Pereira B, Figueiredo I, Gordo LS (2011) Application of a new reproductive terminology for teleosts to the maturation process of oviparous elasmobranchs-the case-study of the thornback ray, *Raja clavata*. Mar Coastfish Dyn Manag Ecosyst Sci 3: 160-175.
21. Galíndez EJ, Piscicelli JM, Wehitt A, Fuentes S, Díaz Andrade MC, Estecondo S (2010) Desarrollo y microanatomía del ovario de *Mustelus schmitti* (Chondrichthyes, Triakidae) a través de su ciclo reproductivo. Cs Morfol 12: 7-17.
22. Díaz Andrade MC, Galíndez EJ, Estecondo S (2007) The ovary of the bignose fanskate *Sympterygia acuta* Garman, 1877 (Chondrichthyes, Rajidae) in the Bahía Blanca estuary, Argentina: morphology and reproductive features. Br J Biol 69: 405-413.
23. Díaz Andrade MC, Galíndez EJ, López Cazorla A, Estecondo S (2011) Ovarian folliculogenesis in the smallnose fanskate *Sympterygia bonapartii* (Müller & Henle, 1841) (Chondrichthyes, Rajidae). Int J Morphol 29: 174-181.
24. Barone M, De Ranieri S, Fabiani O, Pirone A, Serena F (2007) Gametogenesis and maturity stages scale of *Raja asterias* Delaroche, 1809 (Chondrichthyes, Rajidae) from the South Ligurian Sea. Hidrobiol 580: 245-254.
25. Wehitt A (2013) Aspectos histológicos y citológicos del ovario de *Zearaja chilensis* (Guichenot, 1848). Tesina de grado. Dpto. BByF. UNS. Bahía Blanca.
26. Matova N, Cooley L (2001) Comparative aspects of animal oogenesis. Develop Biol 10: 1-30.
27. Koob TJ, Callard IP (1991) Reproduction in female elasmobranchs. En: Comparative physiology, Kinne, RKH. (ed). Karger, Basel, Switzerland. pp. 155-209.
28. Prisco M, Ricchiari L, Andreuccetti P (2001) An ultrastructural study of germ cells during ovarian differentiation in *Torpedo marmorata*. Anat Rec 263: 239-247.
29. Andreuccetti P, Iodice M, Prisco M, Gualtieri R (1999) Intercellular bridges between granulosa cells and the oocyte in the elasmobranch *Raja asterias*. Anat Rec 255: 180-187.
30. Storrie M, Walker T, Laurenson L, Hamlett W (2009) Gestational morphogenesis of the uterine epithelium of the gummy shark (*Mustelus antarticus*). J Morphol 270: 319-369.
31. Guraya SS (1978) Maturation of the follicular wall of nonmammalian vertebrates. En: The vertebrate ovary comparative biology and evolution, Jones RE (ed). Plenum. Press. London, England. pp. 261-329.