

MICROSCOPIA CUANTITATIVA Y MADUREZ SEXUAL DE TRUCHA ARCO IRIS, *SALMO GAIRDNERII* RICHARDSON, 1836

Quantitative microscopy and sexual maturity of rainbow trout,
Salmo gairdnerii Richardson, 1836.

JOSE MORILLAS A y HUGO VALERIA L.*

RESUMEN

El presente trabajo entrega resultados de un ensayo de microestereología aplicada al estudio de madurez sexual y cambios histológicos en hembras de trucha arco iris (*Salmo gairdnerii* R.).

Se estableció cinco componentes histológicos, cuya presencia cuantitativa fue analizada en muestras de ovarios previamente catalogados según una escala de madurez empleada por piscicultores.

Se propone un esquema de los cambios histológicos, sobre la base de la información estereológica.

ABSTRACT

Results of microstereological methods, applied to the study of sex maturity and histological changes of females of rainbow trout (*Salmo gairdnerii* R.) are presented.

The quantitative presence of five histological items were analyzed on previously catalogued samples of ovaries with a maturity table used by fish culturists.

A scheme of histological changes based on stereological information is proposed.

Keywords: Histology, Quantitative Microscopy. Rainbow trout, Pisces Salmoniformes.

INTRODUCCION

Los numerosos métodos que se ha desarrollado para definir matemáticamente las relaciones entre parámetros tridimensionales y datos bidimensionales, se originaron cuando el geólogo francés Delesse, en 1847, encontró que los volúmenes de los componentes líticos eran proporcio-

*Laboratorio de Histología y Microscopía Electrónica, Departamento de Biología y Tecnología del Mar. Pontificia Universidad Católica de Chile, Sede Regional Talcahuano, Chile.

nales a la sección de sus áreas. Esta disciplina actualmente denominada estereología, ha sido aplicada exitosamente en una gran variedad de campos y con una difusión notable en Biología, Medicina, Geología, Metalurgia (Schaefer, 1970).

En Biología, ha sido posible efectuar con éxito análisis estereológicos de estructuras subcelulares (Mathieu y Messier, 1973; Weibel y Bolender, 1973; Rohr *et al.*, 1976; Díaz, 1977), y también efectuar comparaciones entre observaciones morfológicas cuantitativas y datos bioquímicos (Staübli, Hess y Weibel, 1969; Wibo *et al.*, 1971).

Existen antecedentes sobre estudios microestereológicos efectuados en animales marinos, con el fin de analizar su ciclo reproductivo (Schuldt, 1978), pero las investigaciones efectuadas en esta área son escasas.

En el presente trabajo, se entrega resultados de un ensayo de microestereología aplicada al conocimiento de la dinámica histológica de gónadas femeninas de trucha arco iris, *Salmo gairdnerii* R.

MATERIALES Y METODOS

Ovarios de trucha arco iris, *Salmo gairdnerii* R., procedentes de la piscicultura Polcura (37°18'S; 71°29'W), fueron catalogados por piscicultores de acuerdo a una escala visual de madurez de I a VI (Ledermann, com. pers., 1978) y fijados en formol al 10%. Se obtuvieron secciones histológicas de gónadas incluidas en parafina de los estadios I, II, III y IV.

El análisis estereológico se efectuó mediante el empleo de un retículo de 42 puntos (Weibel *et al.*, 1966).

Los componentes histológicos considerados fueron: tejido conjuntivo, oocitos inmaduros tipo 1, tipo 2, tipo 3 y oocitos maduros.

Sobre la base del análisis de 20 secciones de ovarios por cada estado de madurez, se calculó: porcentaje de cada componente ($\%_{oi}$), proporcionalidad de puntos de referencia sobre el componente (P_{Pr}), dispersión relativa (e_r), dispersión porcentual ($100_{.er}$). Para los cálculos señalados anteriormente se siguió en nomenclatura y fórmulas a Weibel *et al.*, (1966), Schaefer, *op. cit.*, y Gander (1970). Se aplicó el test de distribución χ^2 de Pearson (Sokal y Rohlf, 1979).

RESULTADOS

A. Descripción de los componentes considerados en los análisis estereológicos:

- a. Tejido conjuntivo: corresponde a un tejido conjuntivo laxo típico.
- b. Oocitos inmaduros tipo 1 (oocitos basófilos): poseen un diámetro que oscila entre 100 a 300 μm . Presentan citoplasma basófilo y homogéneo; núcleo vesiculoso y esférico; nucléolo único y central.

- c. Oocitos inmaduros tipo 2 (con vitelogénesis lipídica incipiente): poseen un diámetro que oscila entre 300 a 500 μ m. Citoplasma basófilo y vacuolado; núcleo vesiculoso con nucléolos múltiples y periféricos.
- d. Oocitos inmaduros tipo 3 (con vitelogénesis lipídica y proteica): Presentan un diámetro que oscila entre 600 a 1.500 μ m. Citoplasma eosinófilo, granuloso y vacuolado; los límites nucleares son a veces imprecisos.
- e. Oocitos maduros: Su diámetro oscila entre 1600 a 3000 μ m. Poseen granos vitelinos voluminosos; no se distingue zona nuclear con facilidad. Poseen zona *pelucida*.

B. Análisis de microestereología:

El análisis estereológico de las secciones gonádicas, entregó resultados de proporcionalidad de componentes para cada estado de madurez (Tabla I).

Los valores de proporcionalidad de los componentes, al ser representados conjuntamente en un gráfico, indican la composición cuantitativa de las gónadas en cada estado de madurez analizado (Fig. 1). La distribución χ^2 de Pearson (Sokal y Rohlf, *op. cit.*) de las proporciones del componente tejido conjuntivo versus el resto de los componentes, dio valores de P que entre los estados I y II no fue significativo, entre I y III $P < 0.05$, entre I y IV, II y III, II y IV, III y IV el valor de $P < 0.001$.

La proporción de oocitos inmaduros tipos 1 y 2 con respecto al resto de los componentes histológicos en cada estado de madurez, entregó los siguientes valores de P: entre I y II no significativo, entre I y III, I y IV, II y III, II y IV, III y IV $P < 0.001$.

TABLA I

Proporcionalidad de puntos de referencia sobre cada ítem y su dispersión porcentual en cuatro estados de madurez.

Item o Componente	Estado de Madurez Visual			
	I	II	III	IV
Tejido Conjuntivo	0.3045 \pm 5.4%	0.3312 \pm 4.2%	0.2211 \pm 8.2%	0.1219 \pm 14.8%
Oocitos Inmaduros Tipo 1	0.2804 \pm 5.7%	0.2463 \pm 5.2%	0.0211 \pm 29.8%	0.0
Oocitos Inmaduros Tipo 2	0.4149 \pm 4.2%	0.4223 \pm 3.5%	0.0330 \pm 15.6%	0.0274 \pm 32.8%
Oocitos Inmaduros Tipo 3	0.0	0.0	0.0153 \pm 35.0%	0.0182 \pm 36.9%
Oocitos Maduros	0.0	0.0	0.6692 \pm 3.0%	0.8323 \pm 2.4%

DISCUSION Y CONCLUSIONES

La histología ovárica de *Salmo gairdnerii* R., se ajusta a las descripciones para otras especies de teleósteos (Andreu, 1951; Christiansen, 1971). La estructura de los diversos tipos de oocitos es similar a los antecedentes de otras especies, salvo diferencias en los rangos de dimensiones.

Los resultados de los análisis estereológicos, permiten conocer las proporciones de los componentes en cada estado visual de madurez (Tabla I). A consecuencia de lo anterior, es posible comparar la composición cuantitativa de las gónadas en los distintos estados de madurez y detectar variaciones de la proporción de un componente determinado durante la maduración gonádica (Fig. 1).

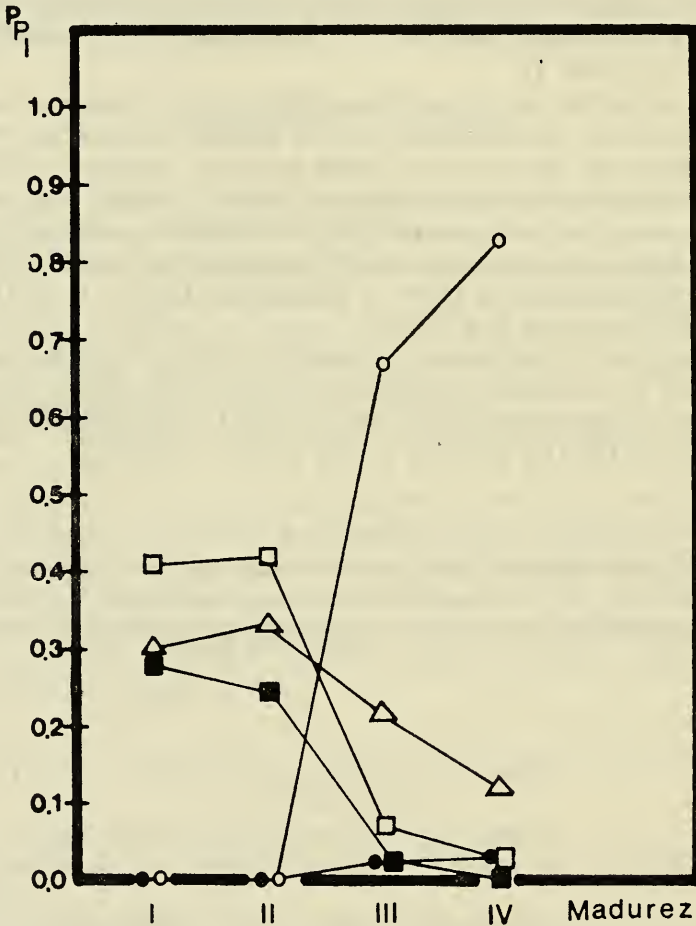


Fig. 1.

Fig. 1.- Composición cuantitativa de las gónadas en los estados de madurez analizados.

- | | |
|-----------------------|---------------------|
| △ = tejido conjuntivo | ○ = oocitos maduros |
| ■ = oocitos tipo 1 | ● = oocitos tipo 3 |
| □ = oocitos tipo 2 | |

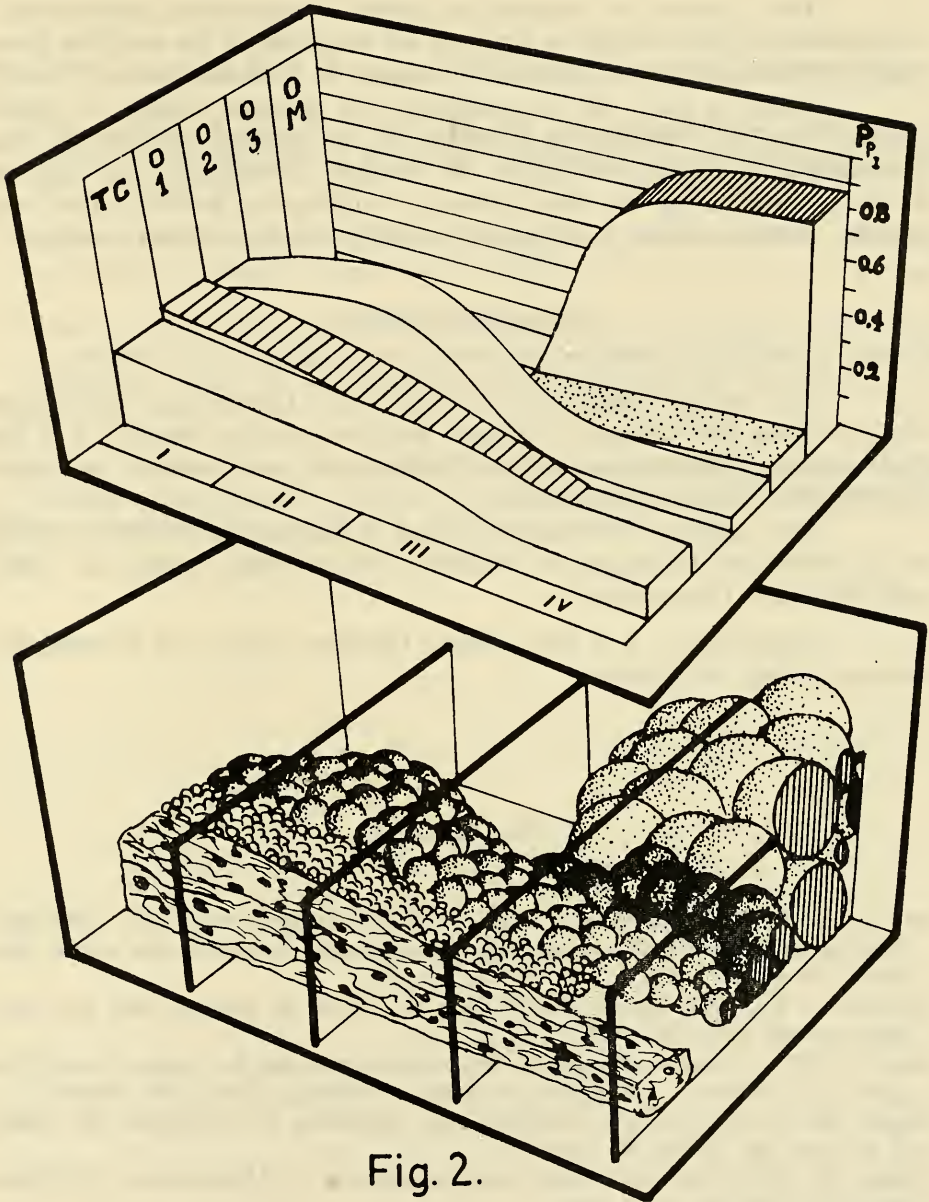


Fig. 2.

Fig. 2.- Esquema que superpone la composición cuantitativa y la observación cualitativa de los ovarios de *Salmo gairdnerii* en cuatro estados de madurez.

La proporción de tejido conjuntivo disminuye significativamente ($P < 0.001$) a medida que es mayor el estado de madurez.

Al aplicar el test de chi-cuadrado a las proporciones de las formas más inmaduras de oocitos (tipos 1 y 2), versus el resto de los componentes en cada estado de madurez, se observó que la diversidad de esas proporciones es, estadísticamente significativa ($P < 0.001$).

Para ilustrar la comparación entre la observación cualitativa y la información cuantitativa, se propone un esquema de los cambios histológicos ováricos de *Salmo gairdnerii* durante la madurez sexual (Fig. 2).

Sobre la base de los resultados del presente ensayo, se puede concluir que las técnicas de microscopía cuantitativa representan una herramienta útil para cuantificar los cambios histológicos que ocurren en las gónadas de peces. Estas técnicas, optimizadas, servirían para emprender estudios sobre la biología reproductiva de recursos marinos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Prof. Juan Ledermann, quien hizo posible contar con material biológico para el presente estudio, y al Dr. Mario George-Nascimento, por sus indicaciones en el análisis estadístico y la revisión crítica del manuscrito.

Este trabajo fue financiado por el Proyecto INB-007-B (1978) de la División de Investigación, Pontificia Universidad Católica de Chile, Sede Regional Talcahuano.

Agradecemos a la Srta. María Cristina Durán por el esmerado mecanografiado del trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- Andreu, B., 1951. Consideraciones sobre el comportamiento del ovario de sardina (*Sardina pilchardus* Walb.) en relación con el proceso de maduración y freza. Bol. Españ. Ocean. 41: 1-16.
- Christiansen, H., 1971. Descripción del ciclo del ovario de merluza. Bol. Inst. Biol. Mar. Mar del Plata, 20: 1-25.
- Díaz, G., 1977. A simple stereological test system improving the surface density estimation of anisotropic subcellular structures. J. Submicr. Cytol., 9(4): 409-412.
- Delesse, M. A., 1847. Procédé mécanique pour déterminer la composition des roches. C. R. Acad. Sci. (Paris), 25: 544-545.
- Gander, R., 1970. Microestereología: Ejemplos prácticos. In. *Microskopion*. Wild Heerbrugg Ed., (18-19): 14-16. Suiza.
- Mathieu, O. & Messier, P. E., 1973. Principes et méthodes de la stéréologie tels qu'appliqués au domaine de l'ultrastructure cellulaire. Rev. Can. Biol., 31: 31-63.
- Rohr, H., Oberholzer, M., Bartsch, G. & M. Keller, 1976. Morphometry in experimental pathology: methods, baseline data, and applications. Int. Rev. Exp. Pathol., 15: 233-325.
- Schaefer, A., 1970. Bases matemáticas de la microestereología. In. *Microskopion*. Wild Heerbrugg Ed., (18-19): 3-13. Suiza.
- Schuldt, M., 1978. Enfoques cuantitativos para el estudio del ciclo reproductor en invertebrados y peces. Resumos V Simp. Latinoamer. Ocean. Biol. Sao Paulo, Brasil, 29-30.

Sokal, R. y F. Rohlf, 1979. *Biometría*. H. Blume Ed., Madrid, España. 832 pág.

Staübli, E., Hess, R. & E. R. Weibel, 1969. Correlated morphometric and biochemical studies on the liver cell. II. Effects of phenobarbital on rat hepatocytes. *J. Cell. Biol.*, 42(1): 92-112.

Weibel, E. R. & P. Bolender, 1973. Stereological techniques for electron microscopic morphometric cytology. *J. Cell. Biol.*, 30: 23-38.

Weibel, E. R., Kistler, S. & W. R. Scherle, 1966. Practical stereological methods for morphometry. *In*. Principles and Techniques of Electron Microscopy. Biological applications. Hayat, M. A., ed. Van Nostrand Reinhold Co., New York, vol. 3: 237-296.

Wibo, M., Amar-Costesec, A., Berthet, J. & H. Beaufay, 1971. Electron microscope examination of subcellular fractions. III. Quantitative analysis of the microsomal fractions isolated from rat liver. *J. Cell. Biol.*, 51: 52-71.