

GLICOCONJUGADOS DEL OVARIO DE *Genypterus blacodes* Y SU IMPORTANCIA EN LA BIOLOGÍA REPRODUCTIVA

GLYCOCONJUGATES OF THE OVARY OF *Genypterus blacodes* AND ITS IMPORTANCE IN THE REPRODUCTIVE BIOLOGY

Stefanía COHEN^{1,2}; Roberto O FREIJO³; Gladys M PETCOFF³; Enrique L PORTIANSKY^{2,4}; Claudio G BARBEITO^{2,5}; Gustavo J MACCHI^{1,2,6}; Alcira ODÍAZ¹

¹Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, CONICET, Universidad Nacional de Mar del Plata. ²Comisión de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina. ³Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata. ⁴Instituto de Patología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. ⁵Laboratorio de Histología y Embriología Descriptiva, Experimental y Comparada, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. ⁶Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN.

El abadejo manchado *Genypterus blacodes* es un ofidiforme de amplia distribución que habita aguas desde los 22° 35' S (Río de Janeiro, Brasil) hasta aproximadamente los 43° 00' S (Argentina). Esta especie es uno de los recursos pesqueros demersales más importantes del Mar Argentino, principalmente por su gran tamaño y su carne de calidad. Los ovarios de *G. blacodes* presentan una forma alargada y están suspendidos de la pared dorsal por el mesovario. Cuando los peces están en condición reproductiva, las crestas ovígeras contienen ovocitos en distintos estadios: previtelogénicos, en crecimiento primario y vitelogénicos. Una capa simple de epitelio tapiza las crestas ovígeras, y las células epiteliales varían en forma y altura a lo largo del ciclo gonadal. Este epitelio, en la mayoría de los teleósteos, está involucrado en la formación del fluido ovárico. El ovario del abadejo manchado tiene la particularidad de secretar una abundante cantidad de glicoconjugados no sólo a nivel del epitelio de sus crestas, sino también en las distintas estructuras ovocitarias. El objetivo de la presente investigación es realizar una revisión bibliográfica del ovario de *G. blacodes* en relación a la síntesis de glicoconjugados y su importancia fisiológica en la biología reproductiva de esta especie.

Palabras claves: *Genypterus blacodes*, ovario, estrategias reproductivas, glicoconjugados.

ABSTRACT.

The pink cuskeel, *Genypterus blacodes*, is a widely distributed ophidiiform inhabiting waters from 22° 35' S (Rio de Janeiro, Brazil) to about 43° 00' S (Argentina). This species is one of the most valuable demersal fish resources in the Argentine Sea, mainly due its large size and flesh quality. The ovaries of *G. blacodes* present an elongated shape and are suspended by mesenteries from the dorsal body wall. When fish are in reproductive condition, the lamellae contain oocytes at different developmental stages: previtellogenetic, primary growth and vitellogenic oocytes. A single-layer flat epithelium lines the lamellae, and the epithelial cells present variations in size and morphology depending on the gonad maturity stage. In most teleost fishes this epithelium is involved in the formation of ovarian fluid. Particularly, the ovary of *G. blacodes* secretes large quantities of glycoconjugates, not only at the epithelium of the lamellae, but also in different oocyte structures. The aim of this research is to review literature of the ovary of *G. blacodes* in relation to the synthesis of glycoconjugates and their importance in the reproductive biology of this species.

Keywords: *Genypterus blacodes*, ovary, reproductive strategies, glycoconjugates.

Recibido abril 24, 2015 - Aceptado diciembre 16, 2015

INTRODUCCIÓN

El abadejo manchado *Genypterus blacodes* (Schneider, 1801) (Pisces, Ophidiidae) habita las aguas a ambos márgenes del continente sudamericano, donde constituye uno de los recursos pesqueros demersales más importantes desde el punto de vista comercial (1). En el océano Pacífico se lo encuentra en latitudes mayores de 29° 55' S (Coquimbo), mientras que en el Atlántico se observa principalmente al sur de los 34° 00' S, en la zona de plataforma intermedia y externa, mayormente a profundidades entre 50 y 250 m (2). Se trata de una especie con un mecanismo de desove de tipo parcial asincrónico, caracterizado por una baja fecundidad por camadas y alta frecuencia reproductiva (3). En aguas de Argentina, la talla de primera madurez de las hembras fue estimada en 70,5 cm de longitud total (LT), que corresponde a ejemplares con una edad aproximada de 4,5 años (4); para las poblaciones de abadejo de Chile, este mismo parámetro fue estimado en 85-90 cm LT (5).

En la región atlántica, la actividad reproductiva ocurre durante el verano, desde diciembre hasta mediados de marzo, principalmente en el área nor-patagónica entre 45° y 47° S (3). Se sugiere que existen dos áreas de cría principales, una asociada a la región nor-patagónica, con mayores abundancias de larvas en verano, y otra al norte de los 42° S, que cobra mayor importancia durante los meses de otoño (2).

En la mayoría de los teleósteos, el aparato reproductor femenino está compuesto por dos ovarios de tipo sacular, localizados debajo de la vejiga natatoria, que se fusionan en el extremo posterior para formar el oviducto que se abre en el poro genital. Ambas gónadas se encuentran suspendidas de la pared dorsal, por una delgada membrana peritoneal llamada mesovario por donde penetran rostralmente los vasos sanguíneos,

ductos linfáticos y nervios (6).

El presente trabajo comprende una revisión bibliográfica del ovario del abadejo, su rol en la síntesis de glicoconjugados, su importancia en el proceso reproductivo y sus implicancias en la caracterización de la estrategia reproductiva de la especie. Nos basamos en una investigación conjunta de cooperación interinstitucional entre investigadores de CONICET, INIDEP, Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP y del Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC), FCEyN de la UNMDP.

Microanatomía del ovario de *Genypterus blacodes*

En las hembras de *G. blacodes* los ovarios están fusionados, conformando una estructura alargada en sentido longitudinal, recubierta por una túnica fibromuscular cuyo espesor se modifica según el estadio de madurez gonadal. Esta túnica forma una hendidura en la superficie ventral de la región caudal, y divide al ovario en dos lóbulos. En la porción anterolateral esta hendidura desaparece y es reemplazada por un rafe externo que se continúa a lo largo de la superficie dorsal (7).

De acuerdo con el tipo de ovulación que presentan los teleósteos, los ovarios pueden clasificarse en dos categorías: de tipo cistovárico cuando los ovocitos son liberados en el lumen del ovario, y de tipo gimnovárico cuando la ovulación tiene lugar en la cavidad general del cuerpo. Los ovarios de *G. blacodes* son del tipo cistovárico y consisten en órganos huecos dentro de los cuales se proyectan numerosas crestas de tejido conectivo hacia el lumen central (8). Las crestas contienen los folículos en distintos estadios de desarrollo y están cubiertas por un epitelio germinativo a partir del cual se desarrollan los ovocitos (Fig. 1). Este

epitelio es de tipo simple, formado por una sola capa de células epiteliales, y posee un único tipo celular cuya forma y altura varía a lo largo del ciclo gonadal (9, 10, 11). Durante el proceso de desarrollo ovárico, las células germinativas femeninas van pasando por distintos estadios, identificados como: oogonia; ovocito en crecimiento primario o previtelogénico; ovocito con alvéolos corticales o en maduración temprana; ovocito en estadio de vitelogénesis temprana; ovocito en estadio de vitelogénesis secundaria; y ovocito hidratado o maduración final (Figs. 1A, B y Fig. 2). Este último estadio comienza con la migración del núcleo, luego se produce la ruptura de la membrana nuclear, la hidratación citoplasmática y finalmente la ovulación (3, 12).

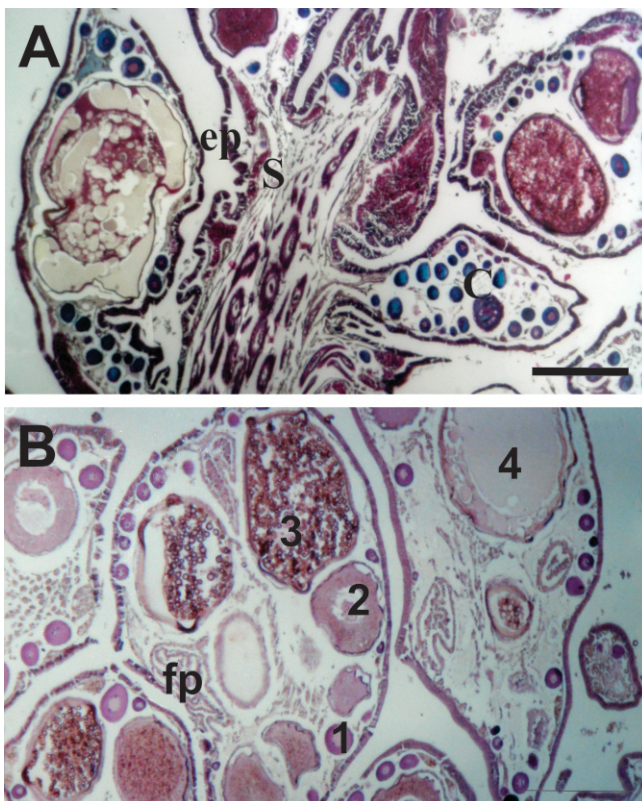


Figura 1. Histología del ovario de *G. blacodes*. (A) Tricrómico de Masson (B) Hematoxilina - Eosina. Escalas: 300 μ m. c, cresta ovígera; ep, epitelio germinativo; s, septo; fp, folículo postovulatorio; 1, ovocito previtelogénico; 2, ovocito en estadio de maduración temprana; 3, ovocito en estadio de vitelogénesis secundaria; 4, ovocito hidratado.

Además de dar origen a los ovocitos, el epitelio germinativo de las crestas ovígeras también participa en la formación del fluido ovárico en el que se encuentran sumergidos los ovocitos (8, 9, 13). Este líquido cumple distintas funciones tales como conservación de los ovocitos fértiles (13), facilitación del movimiento del esperma (14), lubricación en desove (15) y la formación de masas de huevos desovados (16). El fluido ovárico de *G. blacodes* es viscoso y, a diferencia de la mayoría de los teleósteos del Atlántico Sudoccidental, durante la época de puesta presenta grandes cantidades de mucus que llena el lumen ovárico (10, 11).

Las mucosustancias secretadas difieren entre especies y están constituidas aproximadamente por 95% de agua y 5% de mucinas, además de componentes menores como electrolitos (17).

Glicoconjugados

Los glicoconjugados (GCs) están formados por mono, oligo o polisacáridos unidos a lípidos o proteínas, constituyendo glicolípidos y glicoproteínas respectivamente.

Los GCs pueden ser tanto componentes de las membranas como complejos secretados hacia una región determinada o hacia la circulación y, en ocasiones, pueden existir GCs solubles que se localizan en el núcleo o en el citosol.

Las glicoproteínas son una clase de GCs constituidos por cadenas de oligosacáridos (glucanos) unidos de manera covalente a su estructura polipeptídica (18). Un tipo de glicoproteínas son las mucinas, que poseen un alto peso molecular y son las responsables de la viscosidad y las propiedades elásticas del mucus (19). Por otro lado, los glicolípidos son compuestos que siempre quedan anclados en las membranas (18).

Las cadenas de oligosacáridos de los GCs se clasifican en dos familias: las que poseen sacáridos N-ligados y las que poseen O-ligados. En los N-ligados hay una unión a asparagina, mientras que en los O-ligados la unión puede ser a distintos aminoácidos que posean grupos OH (11, 18, 19).

Glicoconjugados secretados por el ovario de *Gemypterus blacodes*

El abadejo manchado, *G. blacodes*, tiene la particularidad de secretar una abundante cantidad de GCs no sólo a nivel de las células de la piel, sino también en el tejido ovárico. En las células del epitelio secretor del ovario del abadejo se ha observado una gran diversidad de GCs que incluyen GCs con dioles vecinos oxidables, con ácido siálico, con o sin O-acil sustituciones, O-acil azúcares, y con grupos sulfatados y carboxilados (Figs. 2 y 3). Estas moléculas se encuentran principalmente en la zona apical de las células epiteliales, y en menor cantidad en la zona basal (10).

Sobre la base de estos resultados, Freijo *et al.* (10) establecieron que el epitelio de las crestas del ovario de *G. blacodes* cumple un rol secretor que se intensifica durante la madurez del ovario, sugiriendo que *G. blacodes* libera masas de huevos envueltos en mucus. Esta estrategia de puesta, descrita también para otras especies, permitiría no solo mayor protección ante eventos de predación sobre los huevos, sino que también favorecería la fertilización de los mismos a través del entrapamiento y concentración del esperma. Esto ha sido sugerido por ejemplo para el caso del pez león (*Pterois* sp.), que libera los huevos en una matriz gelatinosa y se caracteriza por una baja fecun-



Figura 2. Cresta ovígera del ovario de *G. blacodes*. Técnica de PAS. Escala: 100 μ m. ep, epitelio germinativo; 1, ovocito previtelogénico; 2, ovocito en estadio de maduración temprana; 3, ovocito en estadio de vitelogénesis secundaria.

dididad parcial al igual que *G. blacodes* (20).

Al examinar los patrones de glicosilación de los GCs en el epitelio de las crestas ovígeras del abadejo, Díaz *et al.* (11) observaron residuos de α -D-manosa, N-acetilglucosamina, N-acetilgalactosamina y fucosa en el glicocalix de estas células. Sin embargo, en el citoplasma apical existen grandes variaciones en la composición de GCs en comparación con la zona basal de las células. Sólo en la región apical se registran, en pequeñas cantidades, residuos de α -D-manosa, N-acetilglucosamina y N-acetilgalactosamina (Fig. 4). Por otra parte, los folículos presentes en el ovario de *G. blacodes* también secretan GCs a lo largo del ciclo ovárico (21). Varios autores han estudiado la composición química de los ovocitos de peces durante el ciclo reproductivo, analizando la localización histoquímica de GCs en distintas estructuras tales como citoplasma, alvéolos corticales, vitelo, zona radiata¹, granulosa y tecas (21, 22, 23, 24, 25). Estas investigaciones han sido de gran

¹Este artículo utiliza el término Zona radiata como sinónimo de Zona pelúcida en peces. El término Zona radiata se usó en peces tradicionalmente para referirse al equivalente de la Zona pelúcida o a su porción más externa. Actualmente algunos autores utilizan Zona pelúcida para referirse a la membrana glicoproteica que rodea el ovocito en todas las especies. Sin embargo se determinó utilizar el nombre más tradicional utilizado en peces: Zona Radiata.

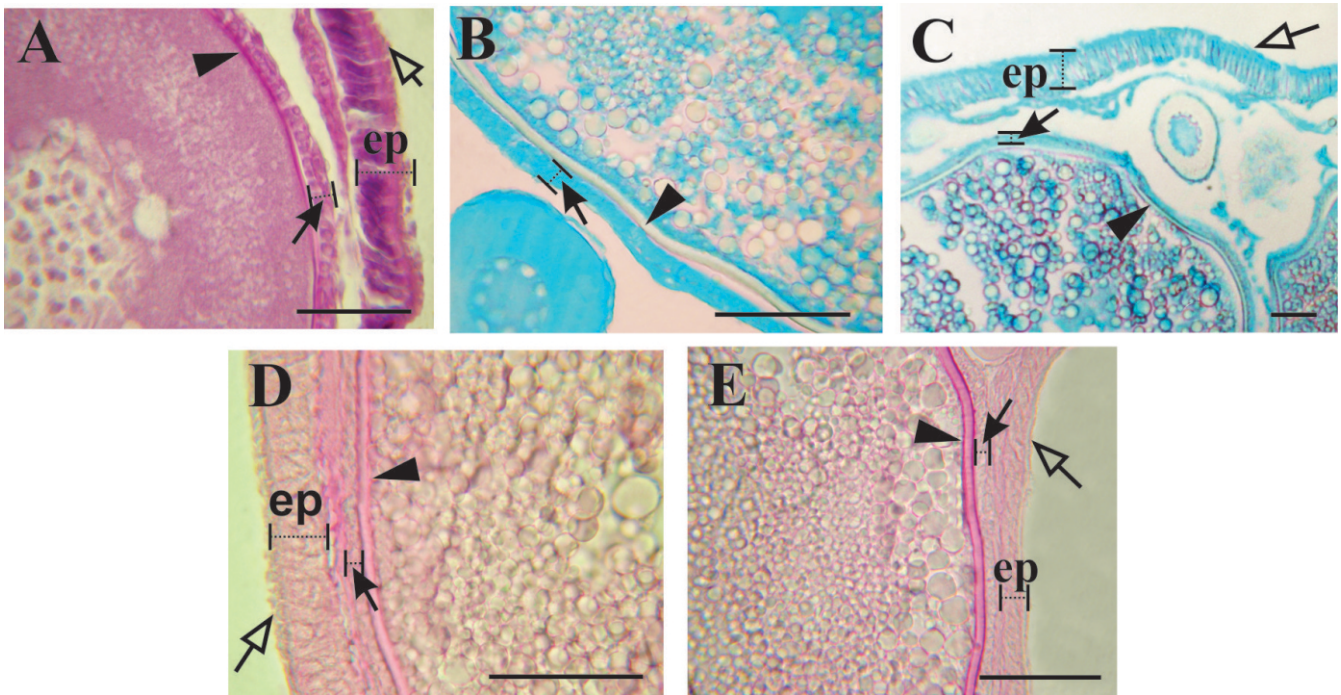


Figura 3. Caracterización histoquímica del ovario de *G. blacodes*. (A) PAS-H. (B) AB pH 2.5. (C) AB pH 1.0. (D) PA/Bh/KOH/PAS. (E) KOH/PA/Bh/PAS. Escalas: 50 μm . g, gránulos de vitelo; ep, epitelio germinativo; \blacktriangleright , zona radiata; \blacktriangleright , envoltura folicular; \rightarrow , cilios.

utilidad, no solo en cuanto a la descripción morfológica y funcional de los tejidos, sino también para la comprensión del proceso reproductivo de las especies.

En *G. blacodes*, durante la fase inicial de la vitelogenénesis ya comienzan a observarse pequeños gránulos de vitelo compuestos por GCs con dioles vecinos oxidables, sin distinguirse aún GCs ácidos, que empiezan a evidenciarse a medida que los folículos continúan su desarrollo. Los alvéolos corticales contienen GCs neutros y ácidos, al igual que la zona radiata, de naturaleza glicoproteica. Esta última estructura también presenta GCs con residuos de ácido siálico con O-acil sustituciones en C7, C8 y C9 y O-acil azúcares (Fig. 3). Además, la cubierta folicular de los ovocitos también contiene GCs neutros y ácidos (21).

Asimismo, los residuos de azúcares presentes en los GCs de las distintas estructuras ovocitarias fueron estudiados por Cohen *et al.* (21). La cubierta folicular

posee residuos de α -D-manosa, galactosa, fucosa y N-acetilgalactosamina; en los gránulos de vitelo se han observado residuos de D-manosa, D-glucosa, N-acetilglucosamina y ácido N-acetilneuramínico; los alvéolos corticales presentan residuos de N-acetilgalactosamina, galactosa y L-fucosa; la zona radiata exhibe residuos de N-acetilgalactosamina y L-fucosa; el citoplasma intergranular es rico en α -D-manosa, D-glucosa, N-acetilgalactosamina, N-acetilglucosamina y ácido N-acetilneuramínico (Fig. 4).

DISCUSIÓN y CONCLUSIONES

Las características histológicas de la ovogénesis del abadejo manchado *Genypterus blacodes* se asemejan a otras especies de teleósteos con fertilización externa (25, 26). La presencia de ovocitos en diferentes grados de maduración durante la fase de puesta sugiere que *G. blacodes* es un desovante parcial por camadas. Luego de

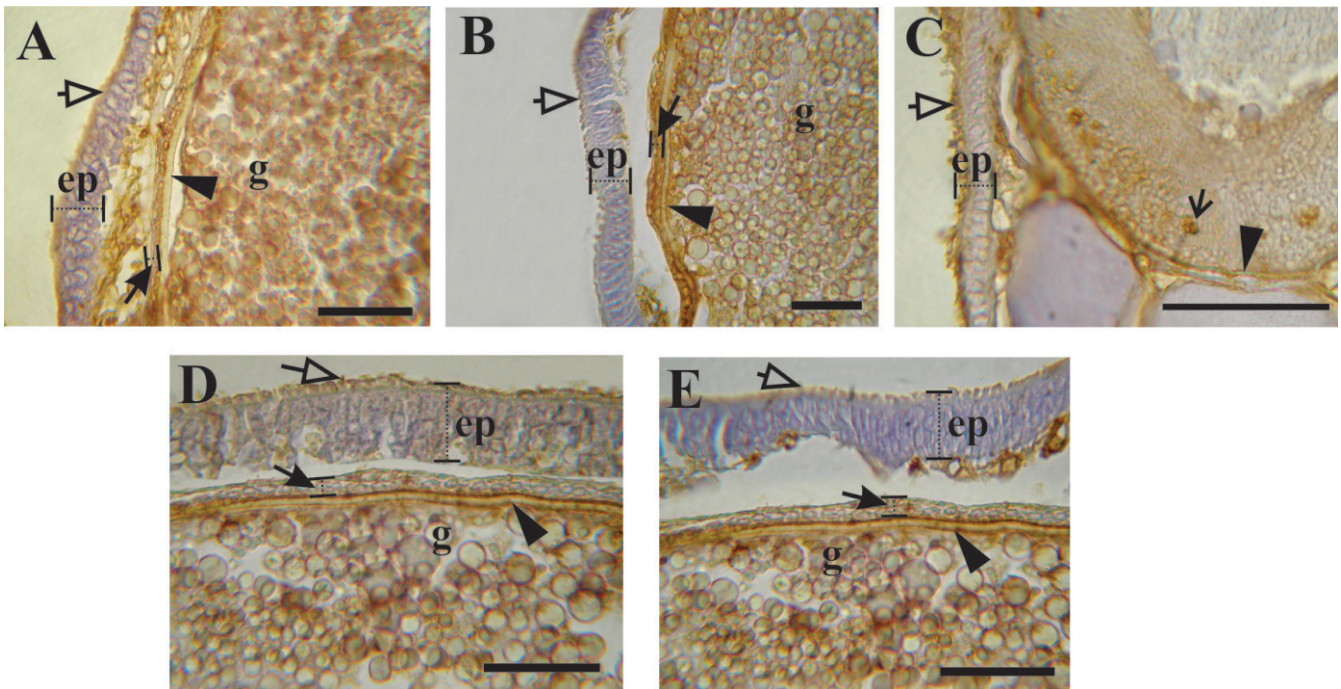


Figura 4. Caracterización lectinohistoquímica del ovario de *G. blacodes*. (A) DAB. (B) SBA (C) WGA. (D) PNA. (E) RCA-I. Escalas: 50 μ m. g, gránulos de vitelo; ep, epitelio germinativo; \blacktriangleright , zona radiata; \rightarrow , envoltura folicular; \rightarrow , cilios; \blacktriangleright , alvéolos corticales.

liberarse los componentes hidratados, un nuevo lote de ovocitos completa la maduración y es liberado rápidamente en una nueva puesta (3). Este mecanismo es similar en la mayoría de las especies que se capturan en el Mar Argentino, pero a diferencia del abadejo, el desove en estos casos suele ser de tipo sincrónico y más espaciado en el tiempo (27).

Durante el estadio de puesta, el ovario de *G. blacodes* posee abundante mucus en el lumen, lo cual sugiere que los huevos son liberados incluidos en masas gelatinosas. Esta estrategia es utilizada por otras especies de teleósteos (28, 29, 30) y es común también en especies que liberan huevos demersales o pelágicos.

El ovario de *G. blacodes* posee un epitelio luminal con actividad secretora (10). Este tipo de epitelio se caracteriza por sufrir cambios morfológicos estacionales asociados al ciclo ovárico (10, 28). En *G. blacodes*, a comienzos del ciclo, durante la época de reposo, el epitelio es de aspecto escamoso, mientras que durante la

época de puesta es de tipo columnar (10).

En la mayoría de los teleósteos, estas células epiteliales participan en la formación del fluido ovárico (9), que entre otras funciones, tiene efectos positivos sobre la viabilidad, motilidad y longevidad de los espermatozoides por lo tanto en el éxito de la fertilización y el resultado de la competencia de espermatozoides (14, 31, 32, 33, 34).

El citoplasma apical de las células epiteliales contiene una mezcla de GCs con dioles vecinos oxidables, ácido siálico en distintas variantes de sustitución, azúcares neutros, y GCs carboxilados y sulfatados (10). Cada uno de estos tipos de GCs ha sido asociado a un papel funcional específico. Los GCs con dioles vecinos oxidables podrían participar en el control de la acidez de los principales GCs ácidos de la secreción mucosa (35, 36, 37). El ácido siálico ha sido relacionado con un rol primario de protección ya que actúa como receptor de bacterias ligándose fuertemente a ellas y previene de

este modo su adherencia a la superficie del epitelio (36). La presencia de ácido siálico no sustituido u O-acil sustituido en C7, C8 o C9, previene infecciones virales y bacterianas, evitando que los virus reconozcan sus receptores e impidiendo el ataque de la sialidasa bacteriana (35, 36, 38, 39). Los GCs con esterios sulfatados en el mucus de teleósteos funcionarían principalmente como lubricantes. La abundancia de grupos sulfato también ha sido relacionada con el aumento de la acidez de las secreciones, previniendo la colonización bacteriana. En peces de agua dulce se ha postulado que los GCs sulfatados impiden la proliferación de microorganismos patógenos cumpliendo una función de protección (35, 36, 39, 40).

Por otra parte, estudios realizados empleando técnicas de lectinohistoquímica proporcionaron información más detallada sobre localización específica de los residuos de azúcares en el epitelio de las crestas ovígeras y en los ovocitos del ovario de *G. blacodes* (11). Los oligosacáridos de las cadenas N- y O- de los GCs están involucrados en funciones tales como protección, señalización entre células y diferenciación celular. Por lo tanto, con el fin de dilucidar el posible papel funcional de los GCs, es fundamental conocer su composición de carbohidratos (19, 41, 42). El citoplasma de las células epiteliales del ovario de *G. blacodes* presenta una polaridad en cuanto a su composición de carbohidratos, típico de los epitelios con funciones secretoras (11). La heterogeneidad de GCs es mayor en la zona apical de las células conteniendo residuos de manosa, y en menor cantidad, de N-acetilglucosamina y N-acetilgalactosamina. El glicocálix de estas células presenta una alta diversidad de GCs, evidenciando residuos de manosa, fucosa, N-acetilglucosamina, ácido siálico, así como también O-glicanos con residuos de α -D-GalNAc,

β -D-GalNAc, β -D-Gal (β 1- \rightarrow 3), D-GalNAc y β -Gal. La fucosa, por ejemplo, es un componente común en las células mucosas de diversos teleósteos así como también de las microvellosidades de los epitelios secretoras (40). En particular, la α -L-fucosa cumple un rol muy importante en los procesos morfogenéticos de las membranas plasmáticas sometidos a una rápida rotación (43). Por otro lado, la principal función de la O-glicosilación es la capacidad de formación de gel (44).

Asimismo, al igual que en otras especies de teleósteos, durante el desarrollo de los ovocitos de *G. blacodes* se sintetizan grandes cantidades de GCs en las distintas estructuras ovocitarias tales como alvéolos corticales, gránulos de vitelo, envoltura folicular (22, 24). Estos componentes presentan una gran heterogeneidad en los residuos de azúcares de los GCs. Esta diversidad de residuos también se ha observado en especies como *Hoplostethus mediterraneus*, *Coelorhynchus coelorhynchus*, *Xiphias gladius*, entre otras (23, 24).

Diferentes roles se le han atribuido a los distintos GCs secretados por los ovocitos. Entre otras funciones, los GCs podrían estar involucrados en la unión de hormonas, transporte a través de la membrana de iones y metabolitos, endurecimiento del corion, unión de los espermatozoides a la superficie del huevo, y bloqueo de la polispermia luego de la fusión de núcleos (24). Por otro lado, en algunas especies la zona radiata externa cumple un rol fundamental en la adhesión de los huevos depositados al sustrato. En estos casos, los GCs de superficies se vuelven pegajosos al entrar en contacto con el agua y de este modo permiten que los huevos liberados se fijen al sustrato. Sin embargo, en otras especies de teleósteos la hembra produce una capa gelatinosa alrededor de los huevos liberados (45, 46). En el caso de *G. blacodes*, la hembra liberaría los huevos envueltos en una matriz

gelatinosa que le provee protección y favorece la fertilización de los huevos (10, 20).

En conclusión, las diferentes estructuras del ovario de *G. blacodes* producen GCs de distintos tipos, tanto estructurales como complejos secretados al exterior como es el caso del fluido ovárico. El epitelio de las crestas ovígeras de *G. blacodes* lleva a cabo un rol secretor, que se intensifica durante la madurez ovárica y que está

fuertemente ligado a la estrategia reproductiva de *G. blacodes*. Se sugiere que esta especie libera sus ovocitos envueltos en masas mucosas, y no individualmente como ocurre en la mayoría de los teleósteos marinos con desoves pelágicos. Esta característica les permitiría potenciar el mecanismo de fertilización de los huevos en un medio ambiente altamente dispersivo, como es el mar, y asegurar además una mayor supervivencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ehrlich MD (1998) Composición y abundancia de la fauna acompañante de merluza (*Merluccius hubbsi*) a través de datos de la flota comercial. INIDEP Inf Téc, 125, 24p.
- Cousseau MB, Perrota RG (2000) Peces marinos de Argentina. Biología, distribución, pesca. Publicaciones Especiales INIDEP, Mar del Plata, Argentina.
- Machinandiarena L, Villarino MF, Macchi GJ (1998) Descripción del estadio de desove del abadejo manchado *Genypterus blacodes* (Schneider, 1801) (Pisces, Ophidiidae) en el mar Argentino. Bol Inst Esp Oceanogr 14: 49-55.
- Cordo HD, Machinandiarena L, Macchi GJ, Villarino MF (2002) Talla de primera madurez del abadejo (*Genypterus blacodes*) en el Atlántico Sudoccidental. INIDEP Inf Téc 47, 5p.
- Baker LL, Wiff R, Quiroz JC, Flores A, Céspedes R, Barrientos MA, Ojeda V, Gatica C (2014) Reproductive ecology of the female pink cuskeel (*Genypterus blacodes*): evaluating differences between fishery management zones in the Chilean austral zone. Environ Biol Fish 97: 1083-1093.
- Macchi GJ, Díaz AO (2013) Aparato genital femenino en peces. En: Histología y Embriología Humana y Comparada (Parte 3), Nessi A et al. (eds) (eds) Inarbite, Buenos Aires, Argentina, pp. 250-256.
- Freijo R (2003) Determinación de glicoproteínas en epitelio germinal de *Genypterus blacodes* (abadejo manchado). Tesis de grado, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata.
- Macchi G, Díaz AO, Goldemberg AL (1998) Aparato genital femenino en los peces. En: Temas de Histología y Embriología Animal (Parte 3), Nessi A et al. (eds) Ed Inarbite, Buenos Aires, Argentina, pp. 199-206.
- Grier HJ (2000) Ovarian germinal epithelium and folliculogenesis in common snook, *Centropomus undecimalis* (Teleostei: Centropomidae). J Morphol 243: 265-281.
- Freijo RO, García AM, Portiansky EL, Barbeito CG, Macchi GJ, Díaz AO (2009) Morphological and histochemical characteristics of the epithelium of ovarian lamellae of *Genypterus blacodes* (Schneider, 1801). Fish Physiol Biochem 35 (3): 359-367.
- Díaz AO, Freijo RO, García AM, Portiansky EL, Barbeito CG, Macchi GJ (2012) Lectin histochemical aspects of the ovarian lamellae epithelium of *Genypterus blacodes* (Schneider, 1801). Pes Vet Bras 32(6): 547-552.
- Brown-Peterson N, Wyanskib DM, Saborido-Rey F, Macewicz BJ, Lowerre-Barbierie SK (2011) A Standardized Terminology for Describing Reproductive Development in Fishes. Mar Coast Fish Dynam Manag Ecosys S3(1): 52-70.
- Lahnsteiner F (2007) First results on a relation between ovarian fluid and egg proteins of *Salmo trutta* and egg quality. Aquacult Res 38: 131-139.
- Turner E, Montgomerie R (2002) Ovarian fluid enhances sperm movement in Arctic char. J Fish Biol 60 (6): 1570-1579.
- Munehara H (1989) Studies on the reproductive biology of the masked greenling, *Hexagrammos octogramus*. Ph.D. thesis, Hokkaido University.
- Mansour N, Lahnsteiner F, Patzner RA (2009) Ovarian fluid plays an essential role in attachment of Eurasian perch, *Perca fluviatilis* eggs. Theriogen 71: 586-593.
- Neutra MR, Forstner JF (1987) Gastrointestinal mucus - synthesis, secretion and function. In Physiology of the Gastrointestinal Tract, 2nd Edn) Johnson LR (eds) Raven, New York, pp. 975-1009.
- Gimeno EJ, Barbeito CG (2004) La glicobiología, una nueva dimensión para el estudio de la biología y la patología celular y tisular. Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria 58: 6-34.
- Parrillo F, Arias MP, Verini Supplizi A (2009) Glycoprofile of the different cell types present in the mucosa of the horse guttural pouches. Tissue Cell 41: 257-265.
- Morris Jr JA, Sullivan CV, Govoni JJ (2011) Oogenesis and spawn formation in the invasive lionfish, *Pterois miles* and *Pterois volitans*. Scien Mar 75 (1): 147-154.
- Cohen S, Petcoff GM, Freijo RO, Portiansky EL, Barbeito CG, Macchi GJ, Díaz AO (2015) Histochemical characterization of oocytes in the pink cuskeel (*Genypterus blacodes*). Zool Sci 32(4): 383-388.
- Sarasquete C, González de Canales ML, Piñuela C, Muñoz Cueto JA, Rendón C, Mañanós EL, Rodríguez Gómez FJ, Pascual E (2002) Histochemical characteristics of the vitellogenic oocytes of the bluefin tuna, *Thunnus thynnus* L. Cienc Mar 28(4): 419-431.

23. Calabro C, Albanese MP, Bertuccio C, Licata A, Gentile (2008) Histological, histochemical and immunohistochemical study on the growing oocytes of the abyssal teleost *Hoplostethus mediterraneus* (V). *Folia Histochem Cytobiol* 46 (1):97-102.
24. Ortiz-Delgado JB, Porcelloni S, Fossi, Sarasquete C (2008) Histochemical characterisation of oocytes of the swordfish *Xiphias gladius*. *Sci Mar* 72 (3): 549-564.
25. Grier HJ (2012) Development of the follicle complex and oocyte staging in red drum, *Sciaenops ocellatus* Linnaeus, 1776 (Perciformes, Sciaenidae). *J Morphol* 273 (8): 801-829.
26. Sales NG, dos Santos SA, Arantes FP, Hojo RES, dos Santos JE (2012) Ovarian Structure and Oogenesis of Catfish *Pimelodella vittata* (Lütken, 1874) (Siluriformes, Heptapteridae). *Anat Histol Embryol* 42 (3): 213-219.
27. Macchi GJ (1998) Preliminary estimates of spawning frequency and batch fecundity of striped weakfish, *Cynoscion striatus*, in coastal waters off Buenos Aires province. *Fish Bull* 96: 375-381.
28. Yoneda M, Tokimura M, Fujita H, Takeshita N, Matsuyama M, Matsuura (1998) Reproductive cycle and sexual maturity of the anglerfish *Lophiomus setigerus* in the East China Sea with a note on specialized spermatogenesis. *J Fish Biol* 53: 164-178.
29. Erickson D, Pikitch E (1993) A histological description of shortspine thornyhead, *Sebastolopus alascanus*, ovaries: structures associated with the production of gelatinous egg masses. *Environ Biol Fish* 36: 273-282.
30. Muñoz M, Casadevall M, Bonet S (1999) Annual reproductive cycle of *Helicolenus dactylopterus dactylopterus* (Teleostei: Scorpaeniformes) with special reference to the ovaries sperm storage. *J Mar Biol Assoc UK* 79: 521-529.
31. Gasparini C, Evans JP (2013) Ovarian Fluid Mediates the Temporal Decline in Sperm Viability in a Fish with Sperm Storage. *PLoS One* 8 (5): e64431.
32. Lahnsteiner F (2002) The influence of ovarian fluid on the gamete physiology in the Salmonidae. *Fish Physiol Biochem* 27: 49-59.
33. Rosengrave P, Taylor H, Montgomerie R, Metcalf A, McBride K, Gemmill NJ (2009) Chemical composition of seminal and ovarian fluids of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and their effects on sperm motility traits. *Comp Biochem Physiol Part A: Mol Integr Physiol* 152 (1): 123-129.
34. Gasparini C, Andreatta G, Pilastro A (2012) Ovarian fluid of receptive females enhances sperm velocity. *Naturwissenschaften* 99 (5): 417-420.
35. Mittal AK, Ueda T, Fujimori O, Yamada K (1994a) Histochemical analysis of glycoproteins in the unicellular glands in the epidermis of an Indian freshwater fish *Mastacembelus pancalus* (Hamilton). *Histochem J* 26: 666-677.
36. Mittal AK, Ueda T, Fujimori O, Yamada K (1994b) Carbohydrates in the epidermal mucous cells of a freshwater fish *Mastacembelus pancalus* (Mastacembelidae, Pisces) as studied by electron-microscopic cytochemical methods. *Cell Tissue Res* 280: 531-539.
37. Díaz AO, García AM, Goldemberg AL (2005) Glycoconjugates in the branchial mucous cells of *Cynoscion guatucupa* (Cuvier, 1830) (Pisces: Sciaenidae). *Sci Mar* 69: 545-553.
38. Zimmer G, Reuter G, Schauer R (1992) Use of influenza C virus for detection of 9-O-acetylated sialic acids on immobilized glycoconjugates by esterase activity. *Eur J Biochem* 204: 209-215.
39. Díaz AO, García AM, Escalante AH, Goldemberg AL (2010) Glycoprotein histochemistry of the gills of *Odontesthes bonariensis* (Teleostei, Atherinopsidae). *J Fish Biol* 77: 1665-1673.
40. Díaz AO, García AM, Goldemberg AL (2008) Glycoconjugates in the mucosa of the digestive tract of *Cynoscion guatucupa*: A histochemical study. *Acta Histochem* 110: 76-85.
41. Sáez FG, Madrid JF, Alonso E, Hernández F (2001) Glycan composition of follicle (Sertoli) cells of the amphibian *Pleurideles waltl*: A lectin histochemical study. *J Anat* 198: 673-681.
42. Desantis S, Ventriglia G, Suban D, Deflorio M, Megalofonou P, Acone F, Zarrilli A, Palmieri G, De Metrio G (2006) Histochemical analysis of glycoconjugates in the domestic cat testis. *Histol Histopathol* 21: 11-22.
43. Marchetti L, Capacchietti M, Sabbieti MG, Accili D, Materazzi G, Menghi G (2006) Histology and carbohydrate histochemistry of the alimentary canal in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *J Fish Biol* 68: 1808-1821.
44. Pajak B, Danguy A (1993) Characterization of sugar moieties and oligosaccharide sequences in the distal intestinal epithelium of the rainbow trout by means of lectin histochemistry. *J Fish Biol* 43: 709-722.
45. Riehl R, Patzner RA (1998) Minireview: the modes of egg attachment in teleost fishes. *Ital J Zool (Modena)* 65: 415-420.
46. Patiño R, Sullivan CV (2002) Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. *Fish Physiol Biochem* 26: 57-70.