

Morfología ovárica y foliculogénesis en *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758)

Pérez, D.¹; Olea, G.^{2,3,4}; Méndez, G.S.¹; Blanco, C.T.¹; F.Quintana, C.^{1,4}

¹Univ.Nac.Nordeste, Fac.Cs.Veterinarias, Cabral 2139, Corrientes, Argentina. ²Univ.Nac.Nordeste, Fac.Medicina, Corrientes, Argentina. ³Univ.Cat. Santa Fe, Reconquista, Argentina.

⁴Univ.Nac.Chaco Austral, Sáenz Peña, Chaco, Argentina.

E-mail: carofloresq@gmail.com.

Resumen

Pérez, D.; Olea, G.; Méndez, G.S.; Blanco, C.T.; F.Quintana, C.: Morfología ovárica y foliculogénesis en *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758). *Rev. Vet.* 33: 1, 11-16, 2022. El objetivo del presente trabajo fue el estudio de la morfología ovárica y la foliculogénesis de *Gymnotus carapo*, a fin de aportar información sobre su biología reproductiva, y que ésta sea de utilidad en el manejo de dicha especie como recurso pesquero. Se recolectaron 40 ejemplares hembras durante el periodo de febrero a diciembre del 2019 en ambientes naturales próximos a la Ciudad de Corrientes. Posteriormente a la captura fueron anestesiados con solución de lidocaína al 2% y sacrificados por sección medular. Los ovarios fueron aislados y fijados en formol al 10%; posteriormente fueron procesados para la técnica histológica convencional y coloreados con hematoxilina-eosina (H-E), tricrómica de Gomori y reacción histoquímica de PAS. Los preparados histológicos fueron analizados a través del microscopio óptico. Se pudo observar que la foliculogénesis en *G. carapo* es similar a la descrita para otros peces. El ovario y los ovocitos de *G. carapo* experimentan diferentes etapas de desarrollo: crecimiento primario, secundario, vitelogénesis y maduración durante el ciclo reproductivo, información que sienta base para estudios futuros sobre biología reproductiva. La información brindada en el presente trabajo es importante dado que aporta un estudio histológico detallado que describe la morfología ovárica y foliculogénesis en *G. carapo* y contribuye a la gestión y planificación de conservación de especies de importancia para el recurso pesquero.

Palabras clave: peces, reproducción, gametogénesis.

Abstract

Pérez, D.; Olea, G.; Méndez, G.S.; Blanco, C.T.; F.Quintana, C.: Ovarian morphology and folliculogenesis in *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758). *Rev. Vet.* 33: 1, 11-16, 2022. The objective of this work is to study the ovarian morphology and folliculogenesis of *Gymnotus carapo*, in order to provide information on its reproductive biology, and that this is useful in the management of this species as a fishing resource. 40 female specimens were collected during the period from February to December 2019 from natural environments near the City of Corrientes. After capture, they were anesthetized with 2% lidocaine solution and sacrificed by spinal section. The ovaries were isolated and fixed in 10% formalin; Later they were processed for the conventional histological technique and stained with hematoxylin-eosin (H-E), Gómori trichrome and PAS histochemical reaction. The histological preparations were analyzed through the light microscope. It was observed that the folliculogenesis in *G. carapo* is similar to that described for other fish. The ovary and oocytes of *G. carapo* undergo different stages of development: primary and secondary growth, vitellogenesis and maturation during the reproductive cycle, information that provides the basis for future studies on reproductive biology. The information provided in this work is important since it provides a detailed histological study that describes the ovarian morphology and folliculogenesis in *G. carapo* and contributes to the management and conservation planning of species that are of importance to the fishing resource.

Key words: fish, reproduction, gametogenesis.

INTRODUCCIÓN

El comportamiento de los peces es tan diverso como su morfología²³. Esta diversidad se ve también

reflejada en las diferentes estructuras gonadales, las estrategias reproductivas y los modos de cuidado parental encontrados en este grupo^{2,22}. A pesar de la gran variabilidad de estrategias reproductivas presentes, la

organización básica del ovario de los peces está notablemente conservada^{20, 25}.

En la gran mayoría de los Teleósteos, los ovarios son uniformes con forma sacular, ubicado longitudinal y dorsalmente a la cavidad celómica, unidos a la pared del cuerpo a través del mesovario^{8, 9}. La cavidad ovárica es continua con oviductos que se unen caudalmente y terminan en la papila urogenital^{7, 10}.

Las células madre de la línea germinal persisten toda la vida y se dividen continuamente dando lugar a las ovogonias que entran en la ovogénesis. La ovogénesis es el proceso por el cual las ovogonias se convierten en ovocitos capaces de ser fecundados. Por lo tanto no hay límite en el número de ovocitos que se pueden producir³¹.

Después de la diferenciación sexual y al comienzo de cada ciclo reproductivo, las células germinales se dividen varias veces por mitosis³⁰. Por lo tanto, se autorenewan y/o se diferencian en ovogonias, que se juntan en racimos o nidos. En los nidos entran en meiosis dando lugar a ovocitos que avanzan a la profase de la primera división y la misma se detiene en diploteno^{12, 13}.

Las células epiteliales prefoliculares que se originan en las laminillas ovígeras, envuelven al ovocito en diploteno aislándolo y sintetizando gradualmente la membrana basal. Posteriormente los ovocitos abandonan los nidos pero permanecen conectados al epitelio germinal^{12, 13, 16}. Desde el tejido conectivo circundante, las células pre-tecales se disponen alrededor del folículo en formación, sobre la membrana basal recién sintetizada, y dan lugar a tecas. Esto completa la formación del complejo folicular¹². Posteriormente comienza el desarrollo primario y secundario de dicho folículo.

El inicio y la terminación de la vitelogenénesis ocurren durante el crecimiento de los ovocitos secundarios. En el proceso, la vitelogenina, sintetizada y secretada por el hígado, llega a la superficie de los folículos en crecimiento a través de la circulación, y se difunde a través de la membrana basal que separa las células tecales de las células foliculares, a través de espacios intercelulares en el epitelio folicular^{10, 15}.

El conocimiento sobre la morfología ovárica y la foliculogénesis en peces está limitado a unas pocas especies utilizadas en investigación básica y/o biotecnología de acuicultura (por ejemplo: bagre, bacalao, anguila, lebistes, medaka, salmón, tilapia, trucha y pez cebra)²⁷. La morfología de las gónadas ha sido estudiada para identificar el ciclo anual reproductivo y la extensión de las estaciones de cría.

Gymnotus carapo es conocida vulgarmente como "morena". Está incluida en el orden Gymnotiformes y posee una amplia distribución que incluye las cuencas de los ríos Paraná, Paraguay, Uruguay y Río de la Plata¹. Es una especie de hábitos nocturnos que durante el día permanece debajo de camalotes u otra vegetación flotante⁴.

Estudios sobre la biología reproductiva de *Gymnotus* sp han sido abordados por diversos autores^{3, 6, 10, 17, 32}. Sin embargo, información detallada sobre los aspectos

histológicos del proceso de foliculogénesis durante todo el ciclo reproductivo, no están disponibles.

Por lo antes expuesto, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la morfología ovárica y la foliculogénesis de *Gymnotus carapo*, a partir del análisis morfológico e histoquímico, con el fin de aportar información sobre su biología reproductiva y su utilidad en el manejo de dicha especie como recurso pesquero.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

Los muestreos fueron realizados quincenalmente entre los meses de febrero y diciembre del 2019 en cuerpos de aguas lénticos en cercanías a la ciudad de Corrientes, 10 km en dirección NE (Paraje Perichón: 27° 26' 36.6" S 58° 45' 14.0" W). Fitogeográficamente, el sitio de muestreo se ubica en el Chaco Húmedo. El clima es subtropical o mesotermal⁵, con un gradiente de temperatura media anual que oscila de norte a sur entre los 21°C y 19.5°C, siendo enero el mes más cálido (media anual, 27°C) y julio el mes más frío (media anual, 14°C).

Metodología de captura y procesamiento del material

Se efectuó la captura manual de un total de 40 hembras de *Gymnotus carapo*. Para el sexado se siguió la metodología propuesta para este género²⁹. Los animales fueron trasladados al laboratorio en bolsas plásticas y posteriormente se procedió a la eutanasia de los ejemplares con sobredosis de lidocaína al 0,2%, siguiendo el protocolo establecido en la *Guía para la eutanasia animal* propuesta por la IACUC (The Institutional Animal Care and Use Committee) bajo las normas del comité de ética de la Facultad de Ciencias Veterinarias-UNNE.

Análisis morfológico

Para el análisis macroscópico de los ovarios se procedió a la disección de los ejemplares y posterior observación bajo microscopio estereoscópico y aislamiento del sistema reproductor. Los ovarios fueron fijados en formol con pH 7,4 al 10%. Fueron observados y fotografiados bajo lupa estereoscópica.

Análisis histológico

Con los ovarios previamente fijados en formol al 10% con pH 7,4, se elaboraron preparados histológicos siguiendo la técnica convencional de deshidratación, inclusión en parafina y coloración. La deshidratación se realizó en concentraciones crecientes de alcohol etílico (70, 80, 96 y 100%), el aclaramiento se realizó con xilol. Se llevó a cabo la inclusión en xilol-parafina (50% y 50%) durante 12 h y 3 baños de parafina de 2 h cada uno. Finalmente se confeccionaron tacos orientando las muestras para la obtención de secciones transversales o longitudinales de 5 a 7 µ. Estas fueron obtenidas con micrótopo rotatorio tipo *Spencer* manual. Las muestras fueron coloreadas con Hematoxilina-Eosina (H-E) y Tricrómica de Gomori para la caracterización citológica e histológica general y la reacción histoquí-

mica de PAS-H (Periodic Acid-Schiff-Hematoxilina) para la detección de glicosaminoglicanos ácidos primariamente carboxilados¹⁹. Los preparados fueron observados y fotografiados con un sistema compuesto por un microscopio trinocular marca LEICA, modelo DME 500, perteneciente al Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura-UNNE.

RESULTADOS

Estructura ovárica

El ovario de *G. carapo* es un órgano alargado, impar y bilobulado hacia la región anterior. Dependiendo del estadio en el que se encuentre, se lo puede observar de color naranja con bordes irregulares por la presencia de los folículos vitelogénicos y con gran vascularización (Figura 1 A), mientras que si el estado en el que se lo observa es el de post-desove, el ovario se ve translúcido con pocos ovocitos atrésicos y grandes vasos (Figura 1 B).

Debido a la posición del poro urogenital, ubicado justo debajo de la cabeza, cerca de la abertura del opérculo, el ovario tiene su porción craneal en una posición posterior y el caudal está en una posición anterior, en relación con el cuerpo del animal.

Se encuentra envuelto por una cápsula de tejido conjuntivo, la túnica albugínea, la cual emite septos hacia el interior del ovario constituyendo las lamelas ovulíferas, que delimitan el lumen ovárico, el epitelio germinativo de las lamelas se encuentra constituido por células de la línea germinativa y por células somáticas (Figura 1 C).

Los ovarios se continúan con dos oviductos, los cuales son estructuras pares, que parten de cada lóbulo de la porción anterior del ovario (Figura 1 B). Los conductos están ubicados anteriormente en la cavidad celomática y conectan el órgano a la papila urogenital.

Foliculogénesis

Las ovogonias de *G. carapo* sufren varias mitosis, y las que no continúan el ciclo, se renuevan y permanecen como células madre (Figura 2 A). Las células que han sido reclutadas para la reproducción continúan dividiéndose por mitosis y forman nidos, que tienen células prefoliculares en su periferia (Figura 2 B). El nido puede estar compuesto por varios grupos de células germinales, que pueden estar en diferentes etapas de desarrollo.

Las ovogonias entran en la meiosis, originando los ovocitos. En la profase de la primera división meiótica (en paquitene), los cromosomas homólogos se emparejan seguidos de su condensación (Figura 2C), y luego los ovocitos entran en diplotene, entre el final del paquitene y al comienzo del diplotene los ovocitos comienzan a cubrirse por células epiteliales prefoliculares y dejan los nidos (Figura 2 D).

Los ovocitos diploténicos iniciales tienen un núcleo redondo y un citoplasma ligeramente basófilo

(Figura 2 E) debido al comienzo de la acumulación de ARN. Con la amplificación nucleolar el núcleo de los ovocitos comienza a contener múltiples nucléolos periféricos (Figura 2 F).

Antes del final de la formación del folículo, comienza el crecimiento primario. El folículo formado está constituido por el ovocito diploténico inicial rodeado por la zona radiada (en formación), células foliculares y membrana basal. Una vez que la teca está organizada, finaliza la formación del complejo folicular.

Desarrollo folicular

En el crecimiento primario y la síntesis de componentes citoplasmáticos, los orgánulos membranosos en el ovocito son intensos, lo cual hace que éste tenga un

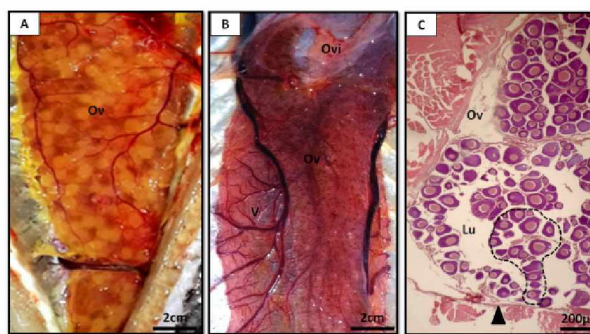


Figura 1: A) Detalle macroscópico del ovario maduro de *Gymnotus carapo*. B) Detalle macroscópico del ovario post-desove de *Gymnotus carapo*. C) Corte transversal del ovario con detalle del lumen y lamelas ovulíferas con el epitelio germinal (coloración: hematoxilina-eosina H-E). Referencias: punta de flecha: túnica albugínea. Ov: ovario. Ovi: oviducto. Líneas de puntos: epitelio germinal. Lu: lumen.

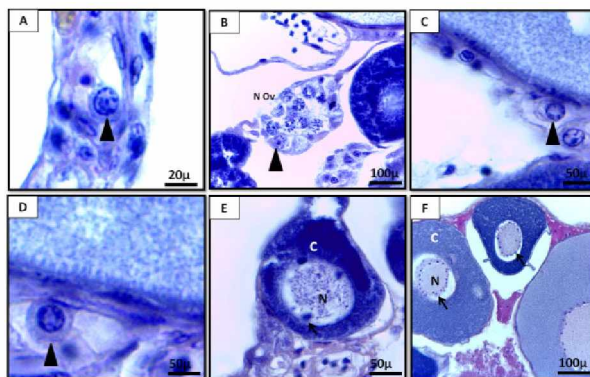


Figura 2: A) Corte transversal del ovario de *Gymnotus carapo* con detalle de un ovogonio (coloración: H-E). B) Detalle de los nidos germinales de ovogonias en el ovario de *Gymnotus carapo* (coloración: H-E). C) Detalle de ovocito en paquitene (coloración: H-E). D) Detalle de ovocito en diplotene (coloración: PAS-H). E) Detalle de folículo en crecimiento (coloración: H-E) F) Detalle de folículo con nucléolos peri nucleolares (coloración: H-E). Referencias: punta de flecha: ovocitos en distintas fases de la meiosis. N Ov: nido de ovogonias. N: núcleo. C: citoplasma. Flecha: nucléolos.

aumento significativo de volumen al final del proceso; también se hace visible el cuerpo de Balbiani (Figura 3A).

Poco a poco el citoplasma se vuelve más basófilo y los orgánulos se dispersan formando surcos por todo el citoplasma. El núcleo, que inicialmente tiene un contorno regular, se vuelve irregular y los alvéolos corticales comienzan su formación, lo cual caracteriza al ovocito en el estadio alvéolo-cortical (Figura 3B).

Al comienzo de la deposición de los alvéolos corticales en el ovocito, estos son dispersados por el citoplasma en vesículas más pequeñas, que con el desarrollo del ovocito se vuelven progresivamente más grandes y constituyen las grandes vesículas, que en esta etapa se ubican en el región cercana al núcleo (Figura 3 C).

Concomitante con el desarrollo folicular, se produce la deposición de la membrana basal, que se deposita en capas, y se espesa con el desarrollo del folículo, haciéndolo muy visible en microscopía óptica (Figura 3D). Las células foliculares forman una sola capa.

En crecimiento secundario, el ovocito tiene un núcleo de forma irregular y múltiples nucléolos ubicados por debajo de la envoltura nuclear (Figura 3D). Poco a poco el ovocito incorpora vitelogenina, producida por el hígado, que alcanza al ovocito por endocitosis. Las vesículas formadas se fusionan y forman gránulos de vitelo, que se tiñen fuertemente con PAS, para indicar la presencia de glicoproteínas (Figura 3E).

Con la creciente acumulación de vitelo, el ovocito aumenta de tamaño y los alvéolos corticales recién for-

mados se mueven a una posición más periférica (Figura 3 F). Durante el período de vitelogénesis, los polisacáridos ácidos y neutros se producen e incorporan en los alvéolos (Figura 4 A). La monocapa de células foliculares cambia de plana a cúbica (Figura 4 B). Alrededor del folículo, en una distribución discontinua, es posible observar la presencia de células de la teca (Figura 4 B).

En la etapa de maduración, los ovocitos muestran el citoplasma lleno de yema con gránulos y alvéolos corticales de diferentes tamaños (Figura 4C). Las células de la capa folicular toman una forma columnar con un núcleo redondo en la base y numerosos vesículas en el citoplasma. Las células de la capa de la teca muestran la misma forma, y se destaca de la capa folicular por la membrana basal.

Otro tipo de folículos que pueden observarse en el ovario son los folículos atrésicos y cuerpos residuales con lipofucsina, los cuales son comunes en los ovarios post-desove (Figura 4 D).

DISCUSIÓN

El estudio de la ovogénesis en peces es un paso básico para mejorar la comprensión de las siguientes fases del desarrollo, como lo referente al hecho que los ovocitos pueden entrar en crecimiento primario y continuar el proceso. La descripción de la foliculogénesis en *G. carapo* permite una comprensión detallada del proceso inicial de ovogénesis, como la proliferación mitótica de estas células, dando lugar a nidos y racimos de ovogonias, así como ovocitos en desarrollo de la profase hasta alcanzar la fase de diplotene, que implica la formación de folículos ováricos.

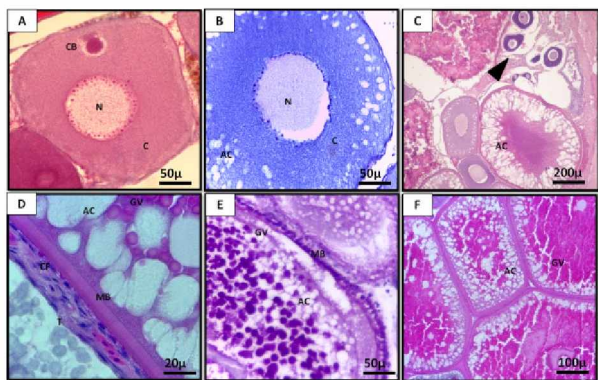


Figura 3: A) Detalle de folículo pre-vitelogénico en crecimiento, presencia del cuerpo de Balbiani (Coloración H-E). B) Detalle de folículo en crecimiento primario con alvéolos corticales (Coloración H-E). C) Corte transversal del ovario de *Gymnotus carapo* con folículos en distintas fases del crecimiento, con tamaños variables de los alvéolos corticales (Coloración: H-E). D) Detalle de la membrana basal y células foliculares y tecales del folículo (Coloración: H-E). E) Detalle de los alvéolos corticales del folículo en crecimiento (Coloración: PAS-H-E). F) Detalle de los folículos con la presencia de los alvéolos corticales de gran tamaño y periféricos (Coloración: H-E). Referencias: punta de flecha folículos pre-vitelogénicos. N: núcleo. C: citoplasma. CB: cuerpo de Balbiani. MB: membrana basal. CF: células foliculares. T: células tecales. AC: alvéolos corticales. GV: gránulos de vitelo.

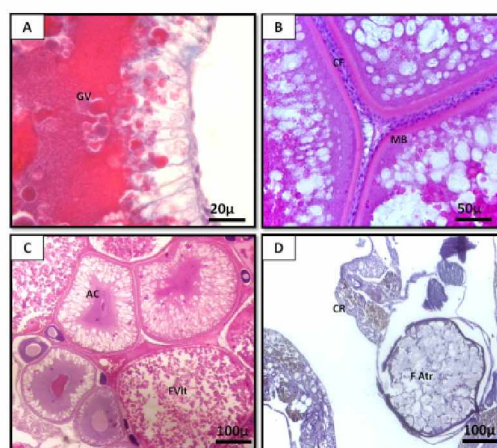


Figura 4: A) Detalle de los alveolos corticales en folículos en crecimiento secundario de *Gymnotus carapo* (Coloración: tricrómica de Gómori). B) Detalle de los folículos en crecimiento secundario y células foliculares y tecales (Coloración: H-E). C) Detalle de los folículos en fase de vitelogénesis (Coloración: H-E). D) Detalle de folículos atrésicos y cuerpos residuales. Referencias: GV: gránulos de vitelo. MB: membrana basal. CF: células foliculares. AC: alveolos corticales. Fvit: folículos vitelogénicos. FAtr: folículo atrésico. CR: cuerpos residuales

Para la mayoría de los *Teleosteos*, las gónadas están localizadas longitudinal y dorsalmente a la cavidad celomática, unida a la pared del cuerpo por el mesovario^{23, 28, 32}. La orientación de *Gymnotus carapo* en la cavidad celomática difiere del encontrado para la mayoría de *Teleosteos*, ya que se encuentra en una posición similar a la de los Pleuronectiformes (*Solea senegalensis*), que también tiene la papila urogenital en la región anterior¹¹. El patrón más comúnmente observado es incluso ovarios saculiformes ubicados longitudinal y dorsalmente a la cavidad celomática, adheridos a la pared corporal por el mesovario. A diferencia de los mamíferos, son cavidades con el compartimiento germinal en forma de laminilla que se proyectan desde la cápsula hacia la luz del órgano.

La cavidad ovárica es continua con los oviductos que se unen caudalmente y terminan en la papila urogenital^{7, 21}. Internamente ambos ovarios de *G. carapo* tienen las mismas características, son órganos cavitarios, cubiertos externamente por la túnica albugínea, que emiten tabiques en el órgano que constituye el soporte de las laminillas ovígeras.

Los diferentes tipos de ovogonias observados en el epitelio germinal de *G. carapo* también se observaron en otros grupos de peces, como Siluriformes *Pimelodus maculatus*²⁶ lo que demuestra que es una característica bien conservada en los peces.

En *G. carapo* el epitelio de la laminilla ovígera está formado por células epiteliales y ovogonias, que proliferan por mitosis. Cuando se describió el epitelio de la línea germinal femenina de *Centropomus undecimalis*, se observó que la producción ilimitada de ovocitos en las hembras de *Teleosteos* se debe a la constante proliferación de ovogonias situadas de manera discontinuas entre las células epiteliales de la laminilla ovárica^{13, 18}. Las ovogonias pueden evolucionar individualmente hacia la meiosis, o pueden entrar simultáneamente en la meiosis formando nidos de ovocitos^{13, 15, 16}.

Las ovogonias solas o en grupos nunca hacen contacto directo con células ováricas, es decir, siempre están rodeadas de células epiteliales. Cuando no están completamente envueltas, las ovogonias se asientan directamente sobre la membrana basal, y en proliferación forman agregados celulares por encima de la membrana basal. Las células derivadas del epitelio, emiten procesos citoplasmáticos que involucran e individualizan a las ovogonias, formando grupos más pequeños¹⁵.

Las células de la teca resultan de la diferenciación de las células mesenquimales presentes en el estroma^{13, 16}, que rodean el folículo excepto en la región que comparte con el epitelio¹⁶. En *Ilyodon whitei*, una especie vivípara perteneciente a la familia Goodeidae, es posible observar que en realidad los nidos de ovocitos y posteriormente los ovocitos individuales, permanecen conectados a la epitelio, con el que comparten una cierta extensión de la membrana basal¹⁶.

La participación de las células somáticas en la formación del folículo ovárico para diferenciarse en células foliculares fue descrita por primera vez como una

característica comúnmente observada en *Teleosteos*¹⁶. Esta condición también se describe para *G. carapo*. Lo que se pudo evidenciar en el presente trabajo es la forma como los ovocitos se aíslan tras el alargamiento de las células prefoliculares, proceso que comienza en la etapa tardía del paquitene.

El crecimiento primario en *G. carapo* comienza antes de la formación completa del folículo o antes de que el ovocito esté completamente rodeado por el complejo folicular. El mismo se inicia cuando la meiosis se detiene en diplotene²⁴. Durante el crecimiento primario de los ovocitos, se genera una síntesis intensa de ARN, resultando en una basofilia citoplasmática^{15, 33}.

En *G. carapo* el desarrollo de los ovocitos en sí se dividió en tres etapas: crecimiento primario, crecimiento secundario y maduración. Durante el desarrollo de los ovocitos perciformes, orden que ha sido referencia para determinar las etapas del desarrollo de los ovocitos en teleosteos, en el crecimiento primario ocurre la deposición de gotas de lípidos alrededor del núcleo, y en la maduración, las gotas de lípidos se fusionan en una sola gota, los gránulos de vitelo se fusionan y las proteínas de la yema se hidrolizan^{14, 15, 16, 24}.

A diferencia de las especies de perciformes marinos, ninguna de las características mencionadas anteriormente fue observada en los ovocitos de *G. carapo*, excepto que hay una fusión de los gránulos parciales de vitelo que se producen durante la maduración.

Como se pudo evidenciar a partir de este análisis, el ovario y los ovocitos de *G. carapo* experimentan diferentes etapas de desarrollo: crecimiento primario, secundario, vitelogénesis y maduración durante el ciclo reproductivo, información que sienta base para estudios futuros sobre biología reproductiva.

La información brindada en el presente trabajo aporta un estudio histológico detallado que describe la morfología ovárica y foliculogénesis en *G. carapo* y contribuye a la gestión y planificación de conservación de especies que son de importancia para el recurso pesquero.

Agradecimientos. A la Secretaría General de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional del Nordeste (SGCyT-UNNE, PI 18B005).

REFERENCIAS

1. Almirón A et al. 2016. Peces, Gymnotiformes, Hypopomidae, Brachyhypopomus Mago-Leccia: First country record of three species of the genus, Argentina. *Check List* 6: 4, 572-575.
2. Amaral JS, Venturieri RL, Moreira RG. 2019. Gonadal steroids and energy availability during ovarian maturation stages of the Amazonian pirarucu *Arapaima gigas* (Teleostei: Osteoglossidae) in the wild. *Comp Biochem & Physiol Part A: Molec & Integrat Physiol* 230: 106-114.
3. Barbieri G, Barbieri MC. 1984. Crescimento de *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) na represa do Lobo (São Paulo), pelo método da distribuição da frequência de com-

- primento (Pisces, Gymnotidae). *Rev Bras Biol* 44: 3, 239-246.
4. Casciotta JR, Almirón A, Bechara JA. 2005. *Peces del Iberá: hábitat y diversidad*. UNDP, Fundación Ecos, UNLP, UNNE, La Plata.
 5. Carnevali R. 1994. *Fitogeografía de la Provincia de Corrientes. Cartas, escalas 1: 500.000 y 1: 1.000.000*. Edit. Instit. Nacional de Tecnol. Agropecuaria, pag. 324.
 6. Cognato DP, Fialho CB. 2006. Reproductive biology of a population of *Gymnotus carapo* from southern Brazil. *Neotropical Ichthyology* 4: 3, 339-348.
 7. Connaughton MA, Aida K. 1998. *Female reproductive system*, Encyclopedia of Reproduction, Academic Press, San Diego, p. 193-205.
 8. Domínguez CO, Uribe MC. 2019. Ovarian structure, folliculogenesis and oogenesis of the annual killifish *Milnerichthys robustus* (Cyprinodontiformes: Cynolebiidae). *Journal Morphol* 280: 3, 316-328.
 9. Fernández PH, Norberg B, Izquierdo M, Hamre K. 2011. Effects of broodstock diet on eggs and larvae. In: *Larval Fish Nutrition* (J. Holt ed.), Wiley-Blackwell, John Wiley and Sons, Publisher, Hoboken, NJ, USA.
 10. França GF. 2010. Caracterização do epitélio germinativo das fêmeas e machos de *Gymnotus* sp e perfil hormonal durante o ciclo reprodutivo (Teleostei, Gymnotiformes). Universidade Estadual de Campinas. <https://doi.org/http://repositorio317604>.
 11. García LA et al. 2006. Testicular development and plasma sex steroid levels in cultured male Senegalese sole *Solea senegalensis*. *General & Comp Endocr* 147: 3, 343-351.
 12. Giora J, Fialho CB. 2009. Reproductive biology of weakly electric fish *Eigenmanni atrilineata* (López and Castello, 1966). *Braz Arch Biol & Technol* 52: 3, 617-628.
 13. Grier HJ. 2002. The germinal epithelium: its dual role in establishing male reproductive classes and understanding the basis for indeterminate egg production in female fishes. In R.L.Creswell (ed.). *Proceeding of the fifty-third annual gulf and caribbean fisheries institute* (Florida), 537-552.
 14. Grier HJ, Uribe MC, Lonostro FL, Mims SD, Parenti LR. 2016. Conserved form and function of the germinal epithelium through 500 million years of vertebrate evolution. *J Morphol* 277: 8, 1014-1044.
 15. Grier HJ, Neidig CL, Quagio GI. 2017. Development and fate of the postovulatory follicle complex, postovulatory follicle, and observations on folliculogenesis and oocyte atresia in ovulated common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792). *J Morphol* 278: 4, 547-562.
 16. Grier HJ, Uribe MC, Parenti LR, Larose CD. 2005. Fecundity, the germinal epithelium, and folliculogenesis in viviparous fishes. Edited by Uribe M.C. and Grier H.J., *Homestead*, Florida, New Life Publications, 191-216
 17. González AO, Roux JP, Sánchez S. 2001. Evaluación de algunos aspectos biológicos de morena (*Gymnotus carapo*, Linnaeus 1758). Morfología e histología de ovario. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*, Corrientes, UNNE, www.unne.edu.ar/cyt2001/4-Veterinarias/V-038.pdf.
 18. Hainfellner P et al. 2019. Reproductive cycle of the Amazonian planktivorous catfish *Hypophthalmus marginatus* (Siluriformes: Pimelodidae). *Aquaculture Research* 50: 11, 3382-3391.
 19. Kiernan JA. 2010. *General oversight stains for histology and histopathology*, Education guide, Special stains and H and E, pages 29-31.
 20. López HL, Menni RC, Donato M, Miquelarena AM. 2008. Biogeographical revision of Argentina (Andean and Neotropical Regions): an analysis using freshwater fishes. *Journal of Biogeography* 35: 9, 1564-1579.
 21. Nagahama Y. 1983. The functional morphology of teleost gonads. In: *Fish physiology*, Academic Press, vol. 9, p. 223-275.
 22. Nakatani K. 2001. *Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação*. *Freshwater fish eggs and larvae: development and identification manual*, 1st.ed. EDUEM: Maringá (Brazil).
 23. Nelson JS, Grande TC, Wilson MV. 2016. *Fishes of the World*. John Wiley & Sons, 600 pp Hoboken, New Jersey, Canadá.
 24. Patiño R, Sullivan CV. 2002. Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. *Fish Physiology & Biochemistry* 26: 1, 57-70.
 25. Penczak T, Agostinho AA, Okada EK. 1994. Fish diversity and community structure in two small tributaries of the Paraná River, Paraná State, Brazil. *Hydrobiologia* 294: 3, 243-251.
 26. Quagio GI, Grier H, Mazzoni TS, Nóbrega RH, Arruda JP. 2011. Activity of the ovarian germinal epithelium in the freshwater catfish, *Pimelodus maculatus* (Teleostei: Ostariophysi: Siluriformes): germline cysts, follicle formation and oocyte development. *Journal Morphology* 272: 11, 1290-1306.
 27. Schulz RW et al. 2010. Spermatogenesis in fish. *General & Comparative Endocrinology* 165: 3, 390-411.
 28. Taranger GL et al. 2010. Control of puberty in farmed fish. *General & Comparative Endocrinology* 165: 3, 483-515.
 29. Thomaz MA, Camargo AC, Anjos BL, Lanes CF. 2019. Abdominal puncture as a new method to determine sex in *tuviras* (*Gymnotus* sp). *Aquaculture Research* 50: 6, 1651-1657.
 30. Tokarz RR. 1978. An autoradiographic study of the effects of mammalian gonadotropins (follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone) and estradiol-17 β on [3H] thymidine labeling of surface epithelial cells, pre-follicular cells, and oogonia in the ovary of the lizard *Anolis carolinensis*. *General and Comparative Endocrinology* 35: 2, 179-188.
 31. Tyler CR, Sumpter JP. 1996. Oocyte growth and development in teleosts. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 6: 3, 287-318.
 32. Vergilio CS, Moreira RV, Carvalho CE, Melo EJ. 2013. Histopathological effects of mercury on male gonad and sperm of tropical fish *Gymnotus carapo* *in vitro*. In: E3S Web of Conferences. *EDP Sciences*, vol. 1, p. 12004.
 33. Wallace RA, Selman K. 1990. Ultrastructural aspects of oogenesis and oocyte growth in fish and amphibians. *Journal of Electron Microscopy Technique* 16: 3, 175-201.