

MORFOLOGIA DOS OVÁRIOS DE *PLECOSTOMUS COMMERSIONII* (VALENCIENNES, 1840) OSTEICHTHYES-LORICARIIDAE: DESENVOLVIMENTO DOS OVÓCITOS E ESCALA DE MATURIDADE¹

ANGELO ANTONIO AGOSTINHO, MASSUKA Y. NARAHARA e
HELOISA M. GODINHO

(Com 8 figuras no texto)

O cascudo *Plecostomus commersonii* pertence à família Loricariidae e tem distribuição natural restrita à América do Sul (Gery, 1969). Na presente investigação são analisados o desenvolvimento dos ovócitos e as alterações morfológicas cíclicas dos ovários desta espécie. Com base em tais análises é proposta uma escala de maturidade. Nenhum estudo desta natureza é conhecido para qualquer espécie entre os Loricariidae. Para outras famílias de peixes de água doce do Brasil salientamos as investigações conduzidas por Schubart (1947), Godinho *et al.* (1974) e Paula-Souza (1978). As informações até agora publicadas a respeito da reprodução de *P. commersonii* estão restritas a breves comentários no trabalho de levantamento da ictiofauna argentina realizado por Ringuélet *et al.* (1967).

Agradecimentos - Os alunos são gratos aos professores Dr. Jayme de Loyola e Silva e Maria de Lourdes Zanardini de Camargo, da Universidade Federal do Paraná, pelas sugestões apresentadas durante a execução deste trabalho, e à Companhia Paranaense de Energia Elétrica, especialmente a Luiz Carlos Freitas, médico-veterinário do setor de Ecologia, pelo auxílio na captura dos exemplares aqui utilizados.

MATERIAL E MÉTODOS

Os 58 exemplares de *Plecostomus commersonii* utilizados no presente estudo, foram captu-

rados, quinzenalmente, de março de 1978 a fevereiro de 1979, na Represa Capivari-Cachoeira, Bacia Leste, Estado do Paraná, nas imediações das coordenadas 25°07' Lat.S e 48°44' Long.WG.

De cada peixe foram registrados comprimento total em centímetros, peso total e o peso dos ovários em centigramas, além das características macroscópicas. Visando a análise histológica, os ovários foram fixados em líquido de Bouin, incluídos em parafina, cortados transversalmente em seções de 7µm de espessura, e estas, submetidas ao tratamento de rotina para a coloração hematoxilina-eosina e tricrômio de Mallory. As dificuldades para a obtenção de seções histológicas, decorrentes da abundante reserva vitelínica em óvulos maduros, foram satisfatoriamente superadas pelo pincelamento da peça, após cada corte, com solução de celoidina a 2% em mistura álcool-éter a 50% (Davis, 1977).

RESULTADOS

Morfologia. Os ovários são órgãos pares, saciformes e ocupam posição dorsal na cavidade abdominal, prendendo-se à linha sagital-mediana por curto mesovário. São unidos em suas porções caudais e abrem-se por oviduto único e muito curto no seio urogenital. A análise histológica mostra que estes são revestidos externamente pelo mesotélio peritoneal, abaixo do qual observa-se a túnica albugínea que é constituída por tecido conjuntivo, músculo liso e vasos sanguíneos. O tecido conjun-

¹ Recebido em 20 de outubro de 1980.
Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR e
Instituto de Pesca - S.A.A. - SP.

tivo emite curtos septos em direção ao lume ovariano nos quais se prendem os ovócitos que, dependendo do grau de maturação das gônadas, apresentam-se em diferentes fases de desenvolvimento.

As gônadas masculinas e femininas são perfeitamente discerníveis a olho desarmado em todos os estádios de desenvolvimento.

Desenvolvimento dos ovócitos. O desenvolvimento dos ovócitos pode ser dividido em seis fases distintas.

Fase I – Cromatina-nucléolo: Nesta fase os ovócitos arranjam-se em “ninhos” presos às lamelas ovulíferas e são encontrados durante todo o ciclo reprodutivo. Seu núcleo é grande, pouco corável e circundado por delgada camada de citoplasma. Tem nucléolo basófilo, geralmente único, ocupando posição central. Fig. 1.

Fase II – Perinucleolar Inicial: Os ovócitos são geralmente angulares e estão presentes no ovário durante todo o ano. Os nucléolos são numerosos e periféricos. O citoplasma, muito aumentado,

é fortemente basófilo, e apresenta nas proximidades do núcleo uma estrutura vesicular, levemente corada pela hematoxilina e denominada *núcleo vitelínico*. Envolvendo cada ovócito, aparece uma delgada camada de células foliculares. Fig. 2.

Fase III – Perinucleolar avançada: Os ovócitos, maiores, perdem suas angulações. O núcleo, agora acidófilo, apresenta ainda numerosos nucléolos em sua periferia. O citoplasma é pouco basófilo. A camada folicular apresenta-se duplicada e aparece a zona radiata como uma camada acelular que se cora em róseo-translúcido pela hematoxilina-eosina. Figs. 3a e b.

Fase IV – Vesícula vitelínica: Os ovócitos com maior diâmetro, têm núcleo acidófilo de contorno sinuoso com numerosos nucléolos periféricos. As vesículas vitelínicas, estruturas com aspecto de vacúolos vazios, ocupam o terço cortical do citoplasma. A camada radiata aumenta em espessura e apresenta evidentes estriações radiais. A camada folicular granulosa, embora ainda com

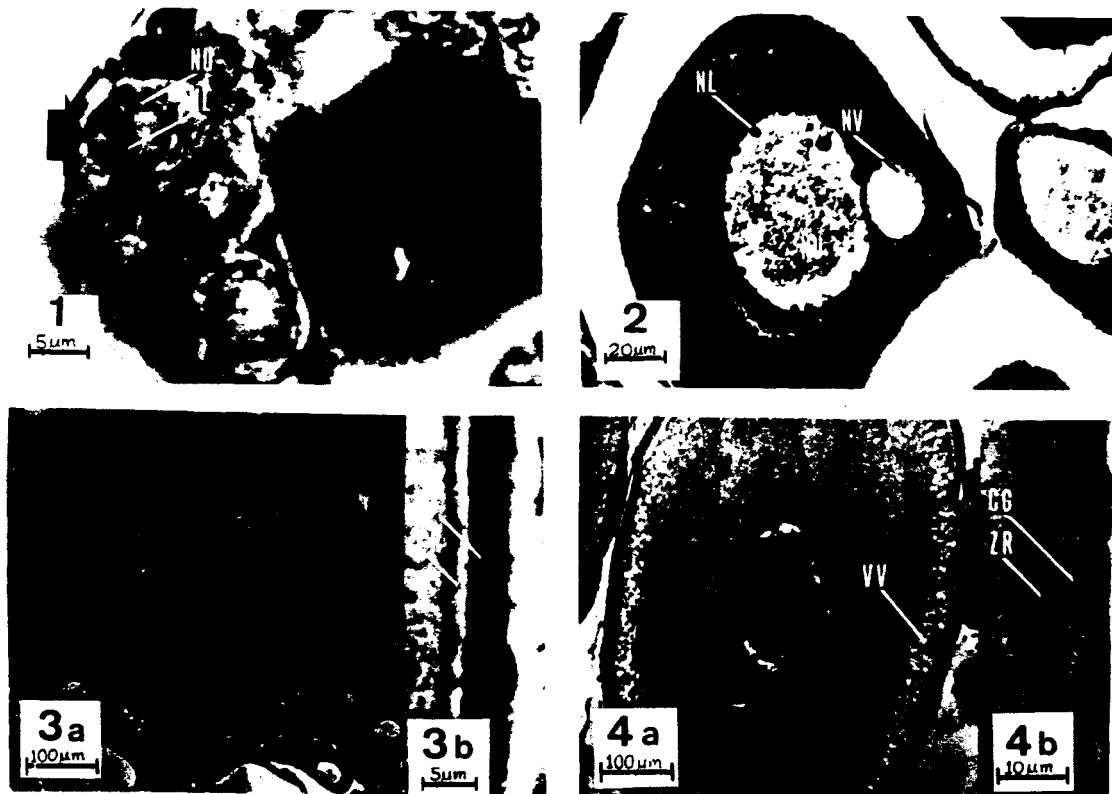


Fig. 1 – Ovócitos na fase I (cromatina-nucléolo); fig. 2 – Ovócito na fase II (perinucleolar inicial); fig. 3a – Ovócito na fase III (perinucleolar avançada); fig. 3b – Detalhe das camadas envoltórias de ovócitos na fase III; fig. 4a – Ovócito na fase IV (vesícula vitelínica); fig. 4b – Detalhe das camadas envoltórias de ovócitos na fase IV. Abrev. CF, camadas foliculares; CG, camada granulosa; NL, nucléolo; NU, núcleo; NV, núcleo vitelínico; VV, vesícula vitelínica; ZR, zona radiata.

aspecto pavimentoso, mostra-se mais alta e diferenciada. Figs. 4a e b.

Fase V – Vitelogênese: Nesta fase os ovócitos apresentam o núcleo central cujo contorno mostra numerosas e pequenas evaginações. No citoplasma periférico evidenciam-se depósitos de grânulos de vitelo que se coram em púrpura pela hematoxilina-eosina. A camada granulosa apresenta-se mais espessa e suas células variam de cubóides a cilíndricas com núcleo grande e fortemente basófilo. A camada radiata apresenta-se com aspecto e espessura similares à da fase anterior. Figs. 5a e b.

Fase VI – Óvulo maduro: O ovócito é notavelmente maior que na fase anterior. O núcleo é excêntrico, sem contorno nítido e os nucléolos são pouco evidentes. As vesículas vitelínicas também não são evidentes e os grânulos de vitelo ocupam toda a região citoplasmática. Estes são de grande diâmetro, exceto nas proximidades do núcleo. Fig. 6. A camada radiata é delgada, enquanto a camada granulosa apresenta células muito altas,

citoplasma granuloso e núcleo pequeno e apical. A granulação citoplasmática contribui para que os limites celulares sejam pouco distintos, dando a esta camada uma aparência sincicial. Figs. 7a e b. Os óvulos maduros, preservados em formalina, alcançam diâmetros de até 4,2 mm. A fresco, apresentam coloração amarelo-ouro, são translúcidos, e quando isolados mostram-se flácidos.

Escala de maturidade. Baseada nas observações macro e microscópicas das mudanças sofridas pelos ovários de *P. commersonii*, foi elaborada uma escala de maturidade para as fêmeas desta espécie.

Estádio I – Imaturo: Neste estágio os ovários restringem-se no máximo ao terço caudal da cavidade visceral, são incolores, transparentes e sem irrigação evidente. Os cortes histológicos mostram ovócitos nas fases I e II, que não são vistos macroscopicamente.

Estádio II – Início de maturação: Os ovários apresentam cor cinza esbranquiçada, são levemente

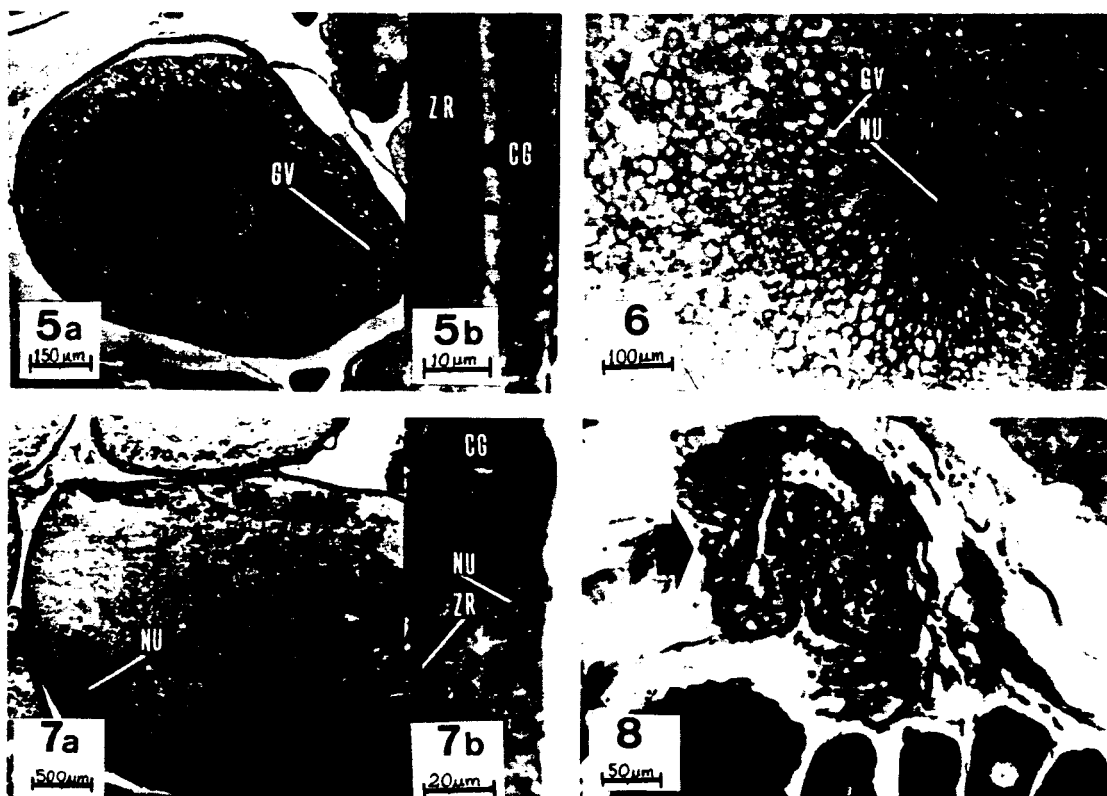


Fig. 5a – Ovócito na fase V (vitelogênese); fig. 5b – Detalhe das camadas envoltórias de ovócito na fase V; fig. 6 – Detalhe de ovócito na fase VI; fig. 7a – Ovócito na fase VI (óvulo maduro); fig. 7b – Detalhe das camadas envoltórias de ovócitos na fase VI; fig. 8 – Secção de ovário desovado mostrando o folículo vazio. Abrev. CG, camada granulosa; GV, grânulos de vitelo; NU, núcleo; ZR, zona radiata.

translúcidos e a vascularização não é ainda evidente. Ovócitos levemente opacos com centro hialínico são vistos a olho desarmado. A análise histológica revela ovócitos nas fases III e IV, além daquelas presentes no estágio anterior. A túnica ovariana apresenta-se espessa, especialmente naquelas fêmeas em pós-desova.

Estádio III – Maturação: Os ovários têm coloração variando de amarelo-claro a amarelo-gema e a vascularização é ainda pouco evidente. Além dos ovócitos levemente opacos do estágio anterior, a observação macroscópica revela ovócitos amarelos que passam a predominar em direção ao final deste estágio. A análise microscópica evidencia ovócitos na fase V, além das fases presentes anteriormente.

Estádio IV – Maturação avançada: Os ovários são amarelos e opacos, têm vascularização evidente e ocupam porção considerável da cavidade visceral. Neste estágio, os ovócitos amarelos têm diâmetro variado e em seus interstícios observam-se ovócitos levemente opacos já mencionados anteriormente. As observações microscópicas revelam ovócitos na fase V e alguns no início da fase VI, além daquelas nas fases pré-vitelogênicas.

Estádio V – Maduro: Os ovários ocupam quase toda a cavidade visceral. O grande volume dos ovários pode ser evidenciado externamente pela distensão que estes produzem no abdome de fêmeas em pré-desova. Seu peso pode alcançar até 17,56% do peso do peixe. O revestimento ovariano é delgado e a vascularização intensa. Pequenos ovócitos branco-cremosos podem ser observados entre os óvulos maduros. A análise histológica revela ovócitos VI ocupando quase toda a área da secção. Ovócitos nas fases I e II são também evidenciáveis.

Estádio VI – Desovado: Com a eliminação dos óvulos, os ovários reduzem notavelmente seu volume e peso. São flácidos, irregulares e a túnica ovariana é agora espessa. São sanguinolentos e mostram extensas áreas escuras, com aparência necrosada, intercalando áreas granulares. São vistos alguns óvulos grandes que não foram eliminados, ovócitos pequenos levemente opacos e ovócitos totalmente opacos. Ao exame microscópico observam-se numerosos folículos vazios, alguns em degeneração e ainda alguns na fase III e ovócitos nas fases I e II. Fig. 8.

DISCUSSÃO

Os ovários de *Plecostomus commersonii* são do tipo cistovariano na classificação de Hoar (1969), ou seja, o lume ovariano tem continuidade com o do oviduto.

Ovócitos na fase cromatina-nucléolo (fase I) são similares àqueles que muitos autores denominam ovogônias (Lehri, 1968; De Vlaming, 1972; Mackay, 1973).

A ocorrência da fase I em todos os estádios do desenvolvimento dos ovários de *P. commersonii*, constatação feita também em outras espécies (Naumov, 1959; De Vlaming, 1972; Godinho et al., 1974), associado aos fatos de se disporem em “ninhos” e serem freqüentes na pós-desova, levamos a crer que certo número de ovócitos maturam a cada ano a partir de um estoque residual, e que sua multiplicação deva ocorrer imediatamente após as posturas. Esta possibilidade é sugerida também por Mackay (1973). Não foram encontradas figuras mitóticas em ovócitos na fase I nos cortes histológicos que analisamos. Craig-Bennett (1930) e Mackay (1973) registraram-nas no período de pós-desova em outras espécies. O último pesquisador relata que, mesmo neste período, um pequeno número de tais divisões foram detectadas, e que isto sugere ser a transformação de ovogônia em ovócito um processo rápido.

O núcleo vitelínico, estrutura formada essencialmente por mitocôndrias e corpúsculos lipídicos (Balinski & Devis, 1963; Nayyar, 1964) é encontrado apenas nas fases de crescimento avitelogênico do ovócito, o que concorda com as observações de Yamamoto & Yamazaki (1961), Yamamoto & Yoshioka (1964) e Lehri (1968), em outras espécies. A desintegração do núcleo vitelínico e a sua migração centrífuga, leva alguns autores a relacioná-la, direta ou indiretamente, ao processo vitelogênico (Nayyar, 1964; Shahi et al., 1979). Balinski & Devis (1963), entretanto, relatam que o núcleo vitelínico não tem função na síntese protéica, e que este é apenas foco de multiplicação de mitocôndrias.

No desenvolvimento do ovócito da fase I para a fase perinucleolar constata-se o aumento no número de nucléolos e a tendência destes a ocuparem posições periféricas. Observações similares são feitas por De Vlaming (1972) e Pollard (1972). Alguns autores (Beach, 1959; Khanna & Pant, 1967; Pollard, 1972) sugerem que o aumento no

número de nucléolos seja decorrente da divisão ou fragmentação de nucléolo único presente em ovócitos na fase I, enquanto Yamamoto (1956) informa que os nucléolos periféricos são formados a partir da fusão de partículas minúsculas originadas dos cromossomos e localizadas na periferia do núcleo.

As vesículas vitelínicas aparecem em nossas observações como estruturas vacuolares vazias. Pollard (1972) sugere que o conteúdo de tais vesículas seja removido durante o tratamento a que se submete o material nas preparações histológicas de rotina. Yamamoto & Yamazaki (1961) e Lehari (1968) informam da natureza polissacarídica do vitelo nestas vesículas, tendo em vista a forte reação positiva que apresentam quando se emprega a técnica do PAS. Shahi *et al.* (1979) fazem constatação similar e informam do seu caráter sudanofóbico. Estas vesículas não são constatadas nas fases mais avançadas do desenvolvimento dos ovócitos de *P. commersonii*, com os corantes histológicos que foram utilizados. Em tais fases surge o vitelo intravesicular que mais tarde ocupa todo o ooplasma. Shahi *et al.* (1979) informam que este vitelo é de natureza protéica e lipoprotéica.

O óvulo maduro (fase VI) apresenta o núcleo na periferia do ooplasma, tem forma irregular, é basófilo e está circundado por fina granulação vitelínica. Yamamoto (1956) e De Vlaming (1972) registraram a migração do núcleo para o pólo animal que caracterizam como região excêntrica com grânulos de vitelo de menor diâmetro. Alguns autores têm registrado o desaparecimento do núcleo como estrutura organizada com o avanço da vitelogênese (Andreu & Santos Pinto, 1957; Naumov, 1959; Godinho *et al.*, 1974).

A zona radiata, também denominada de zona pelúcida, oolema ou mesmo membrana vitelínica, surge no final do crescimento avitelogênico, o que também é registrado por Dadzie (1968), Pollard (1972) e Davis (1977). Inicialmente, apresenta-se como camada delgada e homogênea corando-se em róseo pela hematoxilina-eosina, alcança espessura máxima e apresenta estriações radiais conspicuas nas fases IV (vesícula vitelínica) e V (vitelogênese), e torna-se novamente delgada na fase VI (maduro). Estas modificações são também observadas em ovócitos de *Tandanus tandanus* (Davis, 1977). Hurley & Fisher (1966) através de microscopia eletrônica, assinalam que os

canais radiais da camada radiata estabelecem um contacto direto entre o ooplasma e as células da granulosa, e que tais canais seriam caminhos para o transporte de macromoléculas desta camada para o interior do ovócito. Greenwood (1955) e Pollard (1972) relacionam a camada radiata à capacidade de adesão dos óvulos ao substrato.

Com o progresso da vitelogênese, as células da camada granulosa, inicialmente cubóides e com núcleo central, tornam-se altas, com núcleo excêntrico e citoplasma granuloso. Beach (1959), Davis (1977) mostram que, nas espécies investigadas, o alongamento das células da granulosa é acompanhado pelo desaparecimento das membranas plasmáticas, o que dá à camada um caráter sincicial nas fases mais desenvolvidas dos ovócitos. Em *P. commersonii*, a delimitação das células da granulosa nos ovócitos maduros, embora pouco evidente devido à forte granulação citoplasmática, é possível ser feita.

O processo de reabsorção de ovócitos ou atresia folicular, foi observado em ovócitos desde a fase de vesícula vitelínica, o que concorda com as observações feitas nas espécies estudadas por Mackay (1973) e Davis (1977). Lehari (1968), entretanto, sugere sua ocorrência em ovócitos imaturos, embora com menor frequência.

O sexo de exemplares imaturos de *P. commersonii* pode ser determinado a olho desarmado, mesmo naqueles de tamanho consideravelmente menor que o da primeira maturação. A determinação do sexo neste estágio é também possível em outros Siluriformes como *Pimelodus maculatus* (Godinho, 1972) e *Rhamdia branneri* (Paula-Souza, 1978). No estágio imaturo, os ovócitos não podem ser vistos macroscopicamente, e constata-se histologicamente o predomínio das fases I e II, presentes também nos demais estádios. Resultado similar é relatado por Godinho (1972) e Paula-Souza (1978) para as espécies que trabalharam.

No estágio II (início de maturação) agrupamos os ovários de indivíduos que iniciam a primeira maturação e os desovados que se recuperam para um novo ciclo. O mesmo procedimento tem sido empregado em outras espécies por Bowers & Holliday (1961), Khanna & Pant (1967) e Davis (1977). Exemplares com ovários neste estágio foram registrados durante todo o ano, predominando durante a maior parte do ciclo reprodutivo. Isto sugere semelhança com o repouso descrito nas

escalas elaboradas para outras espécies por Lehri (1968) e Godinho (1972). Estes pesquisadores caracterizam histologicamente o repouso pela presença de apenas ovócitos nas fases I e II, e informam que, macroscopicamente, não é possível a visualização dos ovócitos. Em *P. commersonii*, entretanto, além dos ovócitos nas fases I e II, ocorrem também os das fases III (perinucleolar avançada) e IV (vesícula vitelínica), com fácil visualização macroscópica dos ovócitos.

A maturação (estádio III) é caracterizada histologicamente pelo surgimento do vitelo extravascular, e macroscopicamente, pela cor amarelada dos ovários. Esta caracterização confere com as descrições de Lehri (1968) e Pollard (1972) em outras espécies.

Os ovários maduros não apresentam ovócitos nas fases intermediárias entre o início de vitelogênese e o maduro. Isto sugere que individualmente a desova é total.

Os ovários desovados apresentam-se flácidos e sanguinolentos, com raros óvulos maduros residuais. Sua cor amarelo-avermelhada é perdida gradualmente em direção ao estágio II, fato este também observado no arenque e atribuído a processos de reabsorção por Naumov (1959).

RESUMO

Foram estudadas as mudanças macro e microscópicas dos ovários do cascudo *Plecostomus commersonii* durante seu ciclo reprodutivo. O processo de maturação dos ovócitos foi dividido em 6 fases: cromatina-nucléolo, perinucleolar inicial, perinucleolar avançada, vesícula vitelínica, vitelogênese e óvulo maduro. As mudanças morfológicas cíclicas verificadas nos ovários são descritas em 6 estádios: imaturo, início de maturação, maturação, maturação avançada, maduro e desovado.

SUMMARY

This study is concerned with macro and microscopic changes of the ovary of armoured catfish *Plecostomus commersonii* during your cycle reproductive. The oocytes maturation process is divided into six stages: chromatin-nucleolus, early perinucleolus, late perinucleolus, yolk vesicle, vitellogenous and egg ripe. The cyclical morphological changes of the ovaries

are described also in six stages: immature, early maturation, maturation, late maturation, mature and spent.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREU, B. & SANTOS PINTO, J., 1957, Características histológicas y biométricas del ovário de sardinha (*Sardina pilchardus* Walb.) en la maduración, puesta y recuperación. Origen de los ovócitos. *Notas Estud. Inst. Biol. Mar.*, 4(17):3-38.
- BALINSKI, B.I. & DEVIS, R.J., 1963, Origin and differentiations of cytoplasmic structures in the oocytes of *Xenopus laevis*. *Acta Embryol. Morphol. Exp.* 6:55-108.
- BEACH, A.W., 1959, Seasonal changes in the cytology of the ovary and of the pituitary gland of the goldfish. *Can. J. Zool.* 37:615-625.
- BOWERS, A.B. & HOLLIDAY, F.G.T., 1961, Histological changes in the gonad associated with the reproductive cycle of the herring, *Clupea harengus*, L. *Mar. Res.*, 5:3-16.
- CRAIG-BENNETT, M.A., 1930, The reproductive cycle of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, Linn.. *Phil. Trans. R. Soc.* 219:197-279.
- DADZIE, S., 1968, The structure of the chorion of the egg of the mouthbrooding cichlid fish, *Tilapia mossambica*. *J. Zool.* 154(2):161-163.
- DAVIS, T.L.O., 1977, Reproductive biology of the freshwater catfish *Tandanus tandanus* Mitchell, in the Gwydir river, Australia. I. Structure of the gonads. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, 28(2):159-169.
- De VLAMING, V.L., 1972, Reproductive cycling in the estuarine gobiid fish, *Gillichthys mirabilis*. *Copeia* 1972 (2):278-291.
- GERY, J., 1969, The freshwater fishes of South America. In: FITTKAW, E.J., *Biogeography and ecology in South America*, Amsterdã, Dr. W. Junk N.V. Publ. Hague ed., pp. 828-848.
- GODINHO, H.M. 1972, Contribuição ao estudo do ciclo reprodutivo do *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (Pisces, Siluroidei) associado a variações morfológicas do ovário e a fatores abióticos. Tese de doutoramento apresentada ao Departamento de Histologia e Embriologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.
- GODINHO, H.M., FERRI, S., MEDEIROS, L.O. & BARKER, J.M.B., 1974, Morphological changes in the ovary of *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (Pisces, Siluroidei) related to the reproductive cycle. *Rev. Bras. Biol.* 34(4):581-588.
- GREENWOOD, P.H., 1955, Reproduction in the catfish, *Clarias mossambicus* Peters. *Nature*, London, 176:516-518.
- HOAR, W.S., 1969, Reproduction. in: HOAR, W.S. & RANDALL, D.S. ed., *Fish physiology*. New York, Academic Press. v. 3, p. 1-72.
- HURLEY, D.A. & FISHER, K.C., 1966, The structure and development of the external membrane in young eggs of the brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill). *Can. J. Zool.* 44:173-190.
- KHANNA, S.S. & PANT, M.G., 1967, Seasonal changes in the ovary of a sisorid catfish, *Glyptosternum pectinopteron*. *Copeia* 1967 (1):83-88.
- LEHRI, G.K., 1968, Cyclical changes in the ovary of the

- catfish *Clarias batrachus* (Linn.). *Acta anat.* 69:105-124.
- MACKAY, N. J., 1973, The reproductive cycle of the firetail gudgeon, *Hypseleotris falii*. I. Seasonal histological changes in the ovary. *Aust. J. Zool.* 21 (1):53-66.
- NAUMOV, V.M., 1959, The ovogenesis and ecology of the sexual cycle of the murmansk herring *Clupea harengus harengus* L. *Spec. Rep. Fishery U. S. Fish Wildl. Serv.* 327:203-262.
- NAYYAR, R.P., 1964, The yolk nucleus of fish oocytes. *Quart. Jl. microsc. Sci.* 105 (3):353-358.
- PAULA-SOUZA, G., 1978, Reprodução de *Rhandia branneri* Haseman, 1922 (Pisces, Siluriformes) e suas relações com fatores abióticos, Dissertação de mestrado apresentada à Comissão de Pós-Graduação em Zoologia da Universidade Federal do Paraná.
- POLLARD, D.A., 1972, The biology of a landlocked form of the normally catadromous salmoniform fish *Galaxias maculatus* (Jenyns). III. Structure of the gonads. *Aust. J. mar. Freshwat. Res.* 23:17-38.
- RINGUELET, R.A., ARAMBURU, R.H. & ARAMBURU, A.A., 1967, *Los peces argentinos de agua dulce*. Comisión de investigación científica. La Plata. pp. 423-425.
- SCHUBART, O., 1947, A classificação dos estádios sexuais do curimatá. *Bol. Min. Agric.* 36:1-13.
- SHAHI, R.N.P., MISHRA, A.P. & SINGH, B.R., 1979, Studies on the formation of compound yolk in the developing oocytes of an air-breathing fish *Channa punctatus* (Bloch). *Cytologia* 44:397-408.
- YAMAMOTO, K., 1956, Studies on the formation of fish eggs. I. Annual cycle in the development of ovarian eggs in the flounder, *Liopsetta obscura*. *Jour. Fac. Sci. Hokkaido Univ.* 12 (3):362-373.
- YAMAMOTO, K. & YAMAZAKI, F., 1961, Rhythm of development in the oocyte of the gold-fish, *Carassius auratus*. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 12 (2):93-110.
- YAMAMOTO, K. & YOSHIOKA, H., 1964, Rhythm of development in the oocyte of medaka, *Oryzias latipes*. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 15 (1):5-19.