



Universitat de Girona

L'OVIPARISME EN LA FAMÍLIA SCORPAENIDAE (PISCES: SCORPAENIFORMES)

Maria SÀBAT BOFILL

ISBN: 84-689-5709-7

Dipòsit legal: GI-I479-2005

<http://hdl.handle.net/10803/7656>

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.



Tesi Doctoral

L'oviparisme en la família Scorpaenidae

(Pisces: Scorpaeniformes)

Memòria redactada per **Maria Sàbat Bofill**, inscrita al programa de doctorat de Biologia Ambiental del Departament de Ciències Ambientals, per a optar al grau de Doctora en Biologia per la Universitat de Girona.

El present treball s'ha realitzat a l'Àrea de Zoologia de la Universitat de Girona sota la codirecció de la Dra. Margarida Casadevall Masó i el Dra. Marta Muñoz Frigola.

Maria Sàbat Bofill

Vist-i-plau dels directors,

Dra. Margarida Casadevall Masó
Professora titular
Àrea de Zoologia
Departament de Ciències Ambientals
Universitat de Girona

Dra. Marta Muñoz Frigola
Professora titular
Àrea de Zoologia
Departament de Ciències Ambientals
Universitat de Girona

Girona, 2005

Als meus pares
i
a en Jordi

AGRAÏMENTS

Uf! No em puc creure que això ja s'hagi acabat!!! Semblava que no arribaria mai i ara ja estic escrivint els agraïments, un apartat, que si us he de dir la veritat, em fa una miqueta de por perquè no vull deixar-me a ningú. Aquest no és un treball que hagi realitzat sola, sinó que hi ha hagut molta gent que m'ha ajudat molt, ja sigui directa o indirectament: a la feina, a casa, fent el cafè, de festa... Sense aquestes persones estic segura que no ho hagués aconseguit, per tant prepareu-vos que serà llarg!

Primer de tot vull donar les gràcies sincerament a la Marta i a la Margarida, per confiar en mi quan em van proposar demanar la beca, i per continuar confiant en mi al llarg d'aquests cinc anys. Sempre m'han ajudat en tot el què han pogut, responent molt pacientment a totes preguntes i als molts dubtes que he tingut.

A en Toni (patró de la LUPI), als investigadors de l'IEO, a la Sandra i al meu pare (patró de la Xàvega), gràcies per proporcionar-me el material per realitzar aquest estudi. En especial a en Toni, per tenir la paciència al llarg de cada mes durant més de dos anys de triar i guardar les espècies que jo necessitava sense cobrar-nos mai res.

A l'àrea de Biologia cel·lular i també de Bioquímica, per deixar-me utilitzar diferents aparells i moltes vegades per haver-me ensenyat a manejar-los. En especial a l'Elena i a la Beth, per tenir la paciència d'ajudar-me en qüestions relacionades amb la histologia i la microscopia òptica; i a la Rosa, per haver-me ensenyat les tècniques d'immunohistoquímica que per a mi eren totalment desconegudes.

Una de les millors coses que he fet al llarg d'aquests quatre anys és marxar a Brasil. Allà vaig aprendre molt de microscopia electrònica, però també vaig aprendre que hi ha altres maneres de viure millors que la nostra, i un poble que t'obre les portes de casa seva sense amb prou feines conèixer-te. Estic molt agraïda a la Irani, per ajudar-me en tots aquests tres mesos que vaig estar allà i ensenyar-me bona part del que sé de microscopia electrònica, molt important per la meva tesi. Allà també vaig conèixer unes persones fantàstiques que em van fer sentir com a casa i a les que encara trobo a faltar. Moltes gràcies Ari, Fer, Ricardo, Rinaldo...que juntament amb la Irani em van fer sentir tan estimada en aquests mesos. Obrigada por tudo!

I ara que estem a l'estranger vull passar Argentina. Vull donar les gràcies a la Fabi, per respondre'm a totes les incomptables preguntes que li he fet per e-mail, i per

recolzar-me des de tant lluny. I també gràcies a la Silvina, amb qui he pogut estar menys temps del que m'hagués agradat, per compartir tan bones estones i tantes xerrades. M'encantaria poder estar més a prop teu!

Als companys de l'àrea de Zoologia, gràcies pel bon ambient que es respira i pel suport que m'heu donat en tot moment. Aquí també hi incloc a la Gemma Vila, qui, juntament amb en David, m'han ajudat directament amb l'elaboració de la tesi. Espero que no hàgiu agafat fòbia a les diapositives!

Aquests cinc anys no haguessin estat el mateix sense els esmorzars de dos quarts de deu, les estones del cafè amb gent de totes les àrees, les festes amb el grup les "coffe girls", i les estones passades amb la meva colla. A tota aquesta gent, gràcies pels bons moments.

Kp, Noe, Marc, Maria Rosa, Marta, Mar, Dani, Christian, Marga, Gemma, Elisabet, ... què dir de vosaltres?. Amb vosaltres es podria definir el que és l'amistat. Heu estat sempre disponibles, a tota hora, recolzant-me en els bons i mal moments, ajudant-me quan ho he necessitat (que últimament no ha estat poc!)... No sé com agrair-vos tot el que heu fet per mi. Com sempre dic, és un honor tenir-vos al meu costat.

Als meus pares, uff! Els hi hauria d'agrair tantes coses que no acabaria mai. Sobretot gràcies per donar-me tot allò que he necessitat, per l'amor que m'han demostrat en tot moment, i pels bons consells que sempre m'han donat. Tot el que sóc i tot el que he aconseguit us ho dec a vosaltres, gràcies de tot cor! A la meva germana, qui sempre em treu un somriure amb les seves bogeries, a la meva àvia i a la meva tia, gràcies per ser sempre al meu costat.

I, per acabar, vull donar les gràcies a en Jordi, senzillament per tot: per aguantar els meus nervis i el meu mal humor sense mai queixar-se, per donar-me ànims en tot moment, per escoltar-me, per fer-me riure quan més ho he necessitat, per distreure'm quan més capficada estava..., però sobretot per estimar-me de forma incondicional. És genial tenir-te al costat cada dia!

No vull acabar sense recordar al meu avi, qui ha estat molt important per mi i a qui encara ara trobo moltíssim a faltar. Tal com vaig dir a la meva tesina, m'hagués agradat molt poder compartir aquest moment amb tu.

A tots, MOLTES GRÀCIES!!!

ÍNDEX

1. Introducció general	3
1.1. Antecedents	6
2. Objectius del treball	11
3. Material i Mètodes	14
3.1. Material recol·lectat	16
3.1.1. Procedència dels exemplars	16
3.1.2. Exemplars utilitzats pels diferents anàlisis	18
3.2. Mètodes	20
3.2.1. Recol·lecció i fixació de les mostres.....	20
3.2.2. Caràcters morfomètrics i gravimètrics	21
3.2.3. Processament de les mostres	22
3.2.4. Anàlisis realitzades	29
4. Estructura ovàrica i oogènesi de <i>Scorpaena porcus</i>, <i>S. scrofa</i> i <i>S. elongata</i>	36
4.1. Introducció	38
4.2. Resultats	40
4.2.1. Estructura ovàrica.....	40
4.2.2. Oogènesi	50
4.3. Discussió	68
5. Estructura testicular i espermatogènesi de <i>S. porcus</i> i <i>S. scrofa</i>	72
5.1. Introducció	74
5.2. Resultats	78
5.2.1. Estructura testicular.....	78
5.2.2. Espermatogènesi	86
5.3. Discussió	119

6. Cicle anual i fecunditat de <i>S. porcus</i>, <i>S. scrofa</i>.....	125
6.1. Introducció	127
6.2. Resultats	129
6.3. Discussió	168
7. Discussió general.....	174
8. Conclusions	180
9. Bibliografia	184
10. Annex.....	202

1- INTRODUCCIÓ GENERAL

1. INTRODUCCIÓ GENERAL

La terminologia clàssica de la biologia de la reproducció distingeix entre oviparitat, ovoviviparitat i viviparitat. Aquesta classificació pot ser útil per descriure les adaptacions reproductives en una classe particular, però no és suficientment precisa per descriure la diversitat reproductiva de tots els grups taxonòmics. Per aquest motiu Wourms *et al.* (1988) van definir tres modes bàsics de reproducció dins l'oviparisme del grup dels teleostis: ovuliparitat, zigoparitat i embrioparitat, en funció de tres processos reproductius clau: alliberament dels oòcits per part de la femella, fertilització, i trencament o eclosió d'un embolcall accessori.

L'ovuliparitat és el tipus més simple d'oviparitat i consisteix en la deposició dels ous en el medi extern per part de la femella, on posteriorment seran fertilitzats i es desenvoluparan fins a l'eclosió o trencament d'un o més embolcalls accessoris. En les espècies zigòpares la fertilització ja és interna i els ous fertilitzats o ginogenèticament activats són alliberats després de ser retinguts en el tracte genital femení durant un curt període de temps. En l'embrioparitat la fertilització també és interna, però l'ou és retingut en el tracte genital femení fins a desenvolupar-se un embrió definitiu. Aquest serà alliberat en el medi extern, on es donarà el trencament de l'embolcall de l'ou. Finalment, el viviparisme es pot definir com el mode de reproducció on els oòcits són fertilitzats internament, i són retinguts i avancen en el seu desenvolupament en el tracte genital femení. L'eclosió coincideix o precedeix el part, i dóna com a resultat un peix de vida lliure.

La viviparitat dins la línia dels vertebrats va evolucionar en primer lloc en els peixos, i posteriorment també ho va fer en tots els altres grups de vertebrats, excepte en ocells. Els peixos, doncs, tenen la clau per entendre la viviparitat en vertebrats, i no només perquè van ser els primers vertebrats vivípars, sinó també perquè manifesten la més elevada diversitat de graus de desenvolupament de la relació embrió-mare (Wourms *et al.*, 1988). Dins els peixos, els teleostis presenten tot els tipus possibles de modes reproductius, convertint-se així en el grup de vertebrats que presenta més varietat de modes reproductius. Tot i que la major part són ovípars i només unes 510 espècies han estat descrites com a vivípare, són el segon grup, després dels mamífers, que tenen un major nombre d'espècies vivípare (Wourms i Lombardi, 1992).

Dins d'aquest context, l'estudi de grups de teleostis que presenten una gran varietat de modes de reproducció és especialment interessant per poder arribar a entendre les diferents estratègies que han evolucionat a partir de l'oviparisme ovulípar més simple. Un dels grups que presenta aquesta característica és l'ordre Scorpaeniformes i concretament, la família Scorpaenidae, ja que en el seu sí apareixen patrons de reproducció extremadament variats.

1.1. ANTECEDENTS

Els escorpènids o escòrpores són peixos marins i bentònics de mida mitjana, que mesuren de 5 a 40 cm. El seu cos és moderadament comprimit i robust, amb un gran cap proveït d'espines i expansions dèrmiques. Es troben a les aigües fredes, temperades i tropicals de tots els mars i, encara que la majoria són costaners, alguns viuen a profunditats de més de 2000 metres. Habiten en fons rocosos i alguers dels fons tous (Whitehead *et al.*, 1986), on representen la família més important de depredadors de la xarxa tròfica, almenys al Mediterrani (Bell i Harmelin-Vivien, 1982, 1983; Khoury, 1984, 1987). La seva dieta és carnívora: inclou petits peixos, crustacis, mol·luscs i altres invertebrats. Són animals solitaris i de costums bastant sedentaris. Es tracta d'espècies intensament pigmentades i críptiques, que presenten una distribució més o menys transversal de taques irregulars capaces de fer diversos efectes cromàtics; aquesta propietat, unida a l'habilitat de romandre immòbils, els fa difícilment localitzables. La majoria posseeixen glàndules de verí connectades amb els radis espinosos de les aletes (Matallanas, 1990). Els escorpènids es consideren comercialment importants al llarg de la conca mediterrània occidental. L'any 1985 varen ocupar, en pes, el segon lloc en el desembarcament de peixos a Toló i el vuitè i novè, respectivament, a Niça i Marsella (Campillo, 1986).

Tal com s'ha dit anteriorment, una de les particularitats més destacables de la família Scorpaenidae, constituïda per 56 gèneres amb aproximadament 388 espècies (Nelson, 1994), és la gran varietat de modes de reproducció que presenta. Conté espècies típicament ovulíparas de posta pelàgica (que són la majoria), espècies vivíparas, i el més interessant, espècies que presenten uns patrons reproductius que es podrien situar en diversos estadis intermedis entre els dos extrems citats. S'hi troben espècies vivíparas matrotrofes, com la major part d'espècies del gènere *Sebastes*: els seus embrions es desenvolupen a l'interior de l'embolcall de l'ou durant quasi tota la

gestació, i eclosionen alguns dies abans del part. En el gènere *Sebasticus* s'hi troben també espècies vivíparas, però a diferència de l'espècie anterior, realitzen el part immediatament després de l'eclosió dels ous (Wourms, 1991). Una altre espècie, *Helicolenus percoïdes*, presenta fertilització interna i, tot i que tot el desenvolupament embrionari es dona dins l'ovari de la femella, allibera els embrions dins una matriu gelatinosa (Wourms i Lombardi, 1992). D'aquest mateix gènere també cal destacar *Helicolenus dactylopterus*, una espècie zigòpara amb un cert grau d'embrioparitat: la fecundació és interna i les femelles són capaces d'emmagatzemar els espermatozoides durant llargs períodes de temps, en alguns casos fins a 11 mesos (Muñoz *et al.*, 1999; 2000; 2002a). L'emmagatzematge d'esperma té lloc en unes estructures criptals que semblen derivar de l'epiteli lamel·lar, i són probablement aquestes mateixes cèl·lules que conformen l'epiteli criptal que nodreixen els espermatozoides i els protegeix del sistema immunitari de la femella (Vila, 2004). Els embrions, en un estadi més o menys avançat són alliberats envoltats per una matriu gelatinosa, i és en el medi extern on s'acabarà el seu desenvolupament. I finalment, també hi ha gèneres amb fertilització externa i desenvolupament ovulípar, com *Scorpaena* i *Sebastolobus*. Wourms i Lombardi (1992) consideren que dins d'aquests dos gèneres es produeix un canvi de posta primitiva a especialitzada, ja que els ous són envoltats per una matriu gelatinosa (Wourms i Lombardi, 1992). Dins aquest context, aquests dos gèneres han estat poc estudiats, i concretament, dins el gènere *Scorpaena* l'única espècie que s'ha estudiat des d'aquest punt de vista és *Scorpaena notata* (Muñoz *et al.*, 2002b i 2002c). Segons aquests autors, l'estructura ovàrica d'aquesta espècie difereix de la majoria de teleostis en una sèrie de característiques més pròpies d'un ovuliparisme més especialitzat. Aquesta estructura sembla estar relacionada amb la producció de la matriu gelatinosa esmentada anteriorment, possiblement associada amb un procés d'aparellament mascle-femella que facilitaria la immediata fusió dels gàmetes. Així doncs, l'ovuliparisme del gènere *Scorpaena* semblaria que és un ovuliparisme especialitzat, i és precisament per aquesta raó que el nostre grup de recerca va decidir aprofundir en l'estudi de la biologia reproductiva de les diferents espècies d'aquest gènere, concretament de *S. porcus*, *S. scrofa* i *S. elongata*.

Una de les espècies més comunes d'aquesta família és l'anomenada escòrpora vera, o també escòrpora fosca (*Scorpaena porcus* Linné, 1758). Aquesta espècie té el cap gros amb uns ulls molt grossos i cobert d'espines, de les quals, les més característiques són les 2 preorbitàries (damunt les maxil·les) i les 2 o 3 suborbitàries. Com en la majoria de les escòrpores mostra clarament una depressió occipital. Un bon caràcter per a distingir aquesta espècie de les altres de semblants són les escates petites que recobreixen el seu cos, d'entre 65 i 70 a la línia lateral (Matallanas, 1990). La fórmula de les aletes és D XII-XIII+9-11, A III+5-6 i P 16-18 (Bauchot i Pras, 1993). La seva coloració és molt variable i normalment críptica (Corbera *et al.*, 1996). Sol tenir un color marronós o rosat, sovint amb una taca grisosa entre els radis espinosos 8 i 9 de l'aleta dorsal, i tres franges verticals a l'aleta caudal (Fisher *et al.*, 1987). La seva longitud màxima habitual és de 150 mm de longitud, tot i que pot arribar a 250 mm (Whitehead *et al.*, 1986).

És una espècie estrictament bentònica i litoral, de costums sedentaris i solitaris, que habita principalment en fons de roca i alguers, des de poca profunditat fins a 800 m (Whitehead *et al.*, 1986). S'alimenta de peixos petits bentònics (com gòbids, blènnids, tripterígids, etc.), crustacis i altres invertebrats (Matallanas, 1990).

Viu a tot el Mediterrani, incloent el mar Negre; i a l'Atlàntic oriental, des de Gran Bretanya fins al Marroc, les Açores i les Illes Canàries. Ocasionalment s'ha trobat al Senegal (Whitehead *et al.*, 1986). És objecte de pesca semi-industrial i artesanal. Es pesca amb nansa, tremall i palangres de fons (Fisher *et al.*, 1987).

La seva morfologia va ser descrita per Cadenat (1943) i Eschmeyer (1969). Existeixen alguns treballs relacionats amb el seu creixement (Kaim-Malka i Jacob, 1985; Bradai i Bouin, 1988), dieta (Harmelin-Vivien, 1989), i cariotip (Giles *et al.*, 1988). Pel que fa a la reproducció se n'ha descrit la morfologia de l'ou i la larva (Raffaëlle, 1888; Fage, 1918; Spartà, 1956), la talla de maduració, proporció sexual, època de posta i fecunditat (Bradai, 1991), i fins i tot, la dinàmica de lípids relacionada amb la maduració i posta (Shchepkin, 1971). Tot i això, no hi ha cap treball que descriu la seva estructura gonadal ni els processos d'oogènesi i espermatogènesi.

L'escòrpora cap-roja, cap-roig o polla (*Scorpaena scrofa* Linné, 1758) es diferencia de la resta d'escorpènids, entre altres caràcters, per la presència d'una sèrie d'apèndixs cutanis a la línia lateral, a la mandíbula i a la part inferior de l'opercle, i uns altres de menys desenvolupats al damunt dels ulls. Presenta 3 o 4 espines a l'os preorbitari i de

2 a 4 a l'os suborbitari. Recobert d'escates ctenoides, a la línia lateral se'n compten unes 45 (Matallanas, 1990). La numeració de radis de les aletes és D XI-XII+9-10, A III+5-6 i P 18-20 (Bauchot i Pras, 1993). La coloració és molt variable, des d'un color vermellós fosc a un rosat groguenc. Té abundants taques fosques i clares al llarg de cos i una taca negra a l'aleta dorsal, normalment entre el sisè i onzè radi espinós (Fisher *et al.*, 1987). Alguns exemplars pescats amb palangre de fons poden arribar a fer 500 mm de llargària, però la mida més comuna dels exemplars que apareixen als tremalls o als arts de ròsec és d'uns 300 mm (Matallanas, 1990).

El cap-roig és una espècie comuna als fons de roca, les graves coral·lines i les sorres fangoses entre 20 i 200 m de profunditat; els joves freqüenten especialment les àrees rocoses (Matallanas, 1990). És d'hàbits sedentaris i solitaris, i s'alimenta essencialment de peixos, mol·luscs i crustacis (Whitehead *et al.*, 1986).

És una espècie molt comuna al mar Mediterrani, a excepció del mar Negre. També ha estat registrada a l'Atlàntic oriental des del canal de la Mànega fins al Senegal, incloent les illes Açores, Madeira, les Canàries i les del Cap Verd (Matallanas, 1990). Es pesca de forma semi-industrial i artesanal amb tremall, arts de ròsec, nanses i palangres de fons (Fisher *et al.*, 1987).

Aquesta espècie també va ser descrita per Cadenat (1943) i Eschmeyer (1969). S'han realitzat els mateixos estudis de creixement (Kaim-Malka i Jacob, 1985; Bradai i Bouin, 1988) i dieta (Harmelin-Vivien, 1988), que en l'espècie anterior; ara bé, tot i que existeixen treballs que fan referència a la morfologia de l'ou i la larva (Spartà, 1956), i a la proporció sexual i període de reproducció (Bradai, 1991), es desconeixen la majoria d'aspectes relacionats amb la seva reproducció.

La tercera espècie que s'ha estudiat és l'escòrpora allargada (*Scorpaena elongata* Cadenat, 1943), una espècie que es confon freqüentment amb la *S. scrofa*. Realment són dues espècies molt semblants, però la *S. elongata* té el cap més allargat i amb la depressió occipital poc accentuada; l'ull també el té més gros i presenta 2 espines a l'os preorbitari i 3 o 4 al suborbitari. No presenta apèndix cutanis mandibulars, però en canvi, presenta grans apèndixs dèrmics a la regió suborbitària i opercular (Matallanas, 1990). El número d'escates ctenoides de la línia lateral és de 45 a 50 (Matallanas, *op. cit.*; Fisher *et al.*, 1987; Whitehead *et al.*, 1986). La fórmula de les aletes és D XII-8-10, A III-5, P 18-20 (Bauchot i Pras, 1993). La coloració és variable, freqüentment groc rosat amb el cap marronós. Sovint presenta a la part posterior de

l'aleta dorsal una taca marró, tot i que no és molt conspícua. Normalment fa uns 250 mm, tot i que pot arribar fins a una talla màxima de 500 mm (Whitehead *et al.*, 1986).

És una espècie que habita fons rocosos o arenosos de 150 a 600 m (Bauchot i Pras, 1993), i s'alimenta sobretot de peixos i crustacis (Matallanas, 1990; Whitehead *et al.*, 1986; Fisher *et al.*, 1987).

Es distribueix per la Mediterrània i l'Atlàntic oriental, des de Gibraltar fins a Senegal (Matallanas, 1990). Es pesca de forma artesanal al ròsec, amb tremall i també amb palangre de fons (Fisher *et al.*, 1987).

La *S. elongata*, descrita per Cadenat (1943), és l'espècie menys estudiada de les que es presenten en aquest treball. Només apareix en els treballs de Raffaele (1888), on s'indica la presència d'una massa mucosa que engloba la posta; i de Marinaro *et al.* (1972), on descriuen, amb poc detall, les dimensions dels oòcits que formen aquesta posta.

Tenint en compte les destacades peculiaritats en la biologia reproductiva d'aquest gènere i l'escassa informació que se'n té, la descripció detallada de l'estructura de les gònades i del procés de gametogènesi d'aquestes tres espècies, i en general de totes les espècies que presenten aquest tipus d'oviparisme especialitzat, pot representar un pas important per a entendre i interpretar com han evolucionat els modes reproductius en dels peixos.

2- OBJECTIUS DEL TREBALL

2. OBJECTIUS DEL TREBALL

El treball de recerca que es presenta s'emmarca dins la línia d'investigació del Grup de recerca de Biologia Animal: Ictiologia, de la Universitat de Girona, i forma part d'un projecte de recerca més ampli (PB98) que té per objectiu la caracterització de les modalitats de reproducció en escorpènids.

Els objectius principals d'aquest treball d'investigació són:

Estudiar la biologia de la reproducció de tres escorpènids, *Scorpaena porcus*, *S. scrofa* i *S. elongata*. S'ha escollit aquestes espècies perquè dins el gènere *Scorpaena* són les espècies més abundants a les nostres costes, tenen interès comercial, i es té molt poca informació de la seva biologia reproductiva. Es vol analitzar l'estructura gonadal, la gametogènesi, el cicle anual i la fecunditat d'aquestes tres espècies.

Aprofundir en el coneixement dels diferents graus d'especialització dins l'oviparisme. Es pretén fer èmfasi en aquells trets inusuals que difereixen del que s'ha descrit fins ara per la majoria de les espècies ovíparas de teleostis, i relacionar-los amb l'estratègia reproductiva de les espècies que els presenten (comportament reproductiu, aparellament dels individus, tipus de posta, etc.). L'estudi d'aquest mode de reproducció pretén aportar dades per aprofundir en l'anàlisi de l'evolució dels modes i estratègies de reproducció dins la família Scorpaenidae.

Cal comentar que la descripció de tots els aspectes de la biologia reproductiva que ens havíem proposat analitzar en un principi per les tres espècies, s'ha pogut dur a terme totalment en el cas de *S. porcus*. Les altres dues espècies, *S. scrofa* i *S. elongata*, es pesquen en menys freqüència que l'anterior, sobretot *S. elongata*, de manera que s'han obtingut menys exemplars i només d'alguns mesos. Tot i això, s'ha descrit tota l'estructura gonadal i la gametogènesi de *S. scrofa*, tant de mascles com de femelles, i s'ha aportat dades del seu cicle anual i fecunditat. En el cas de *S. elongata* s'ha pogut descriure la seva estructura ovàrica i el procés d'oogènesi.

3. MATERIAL I MÈTODES

3.1. MATERIAL RECOL·LECTAT

3.1.1. PROCEDÈNCIA DELS EXEMPLARS

Tal com s'observa a les taules 1 i 2, la majoria dels exemplars utilitzats per aquest estudi procedeixen de l'embarcació "LUPI", atracada al llarg de l'hivern al port de Sant Feliu i a l'estiu amarrada a Tossa.

Una altra part dels exemplars provenen de tres campanyes oceanogràfiques que realitza l'IEO (Institut Espanyol d'Oceanografia) per a l'avaluació dels recursos pesquers del Mediterrani. Aquestes tres campanyes es van realitzar amb el vaixell oceanogràfic "Cornide de Saavedra" el juny de 2000 (MEDITS_ES0005, IEO-Málaga, Espanya), i el maig de 2001 (MEDITS_ES0105 IEO-Málaga, Espanya), 2002 (MEDITS_ES0205 IEO-Málaga, Espanya), 2003 (MEDITS_ES0305 IEO-Málaga, Espanya) i 2004 (MEDITS_ES0405 IEO-Málaga, Espanya).

Cal comentar que l'espècie *Scorpaena scrofa* també s'ha obtingut d'una altra campanya, la campanya LANCO 0603, finançada per IEO/SGPM (Secretaria General de Pesca Marítima), duta a terme amb l'embarcació "Calypso" a la reserva marina de les Colombres.

Finalment, una part més petita del material recol·lectat procedeix del bot "Xàvega", amarrat a la platja del Port-Bo a Calella de Palafrugell, de l'embarcació "Na Foguera" de Mallorca, i de la peixateria "Peixos Sard" de Llançà.

Quan el material proporcionat no era suficient, es compraven exemplars a la llotja de Palamós. Malgrat que es vigilava que els exemplars fossin el més frescos possible, cal tenir en compte que en aquest cas existia un interval de temps més o menys llarg entre la captura i la fixació.

Taula 1. Nombre total d'exemplars recol·lectats de *Scorpaena porcus*

	LUPI			MEDITS			XAVEGA			LLOTJA DE PALAMÓS			NA FOGUERA			TOTAL MENSUAL
	F	M	I	F	M	I	F	M	I	F	M	I	F	M	I	
Gener	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	7
Febrer	6	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
Març	6	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12
Abril	7	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
Maig	16	7	-	16	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	53
Juny	13	20	-	9	24	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	68
Juliol	9	32	-	-	-	-	2	5	1	1	-	-	-	-	-	50
Agost	3	1	-	-	-	-	1	1	-	4	1	-	-	-	-	11
Setembre	8	9	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	18
Octubre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	2
Novembre	2	-	-	-	-	-	-	-	-	6	1	-	3	-	-	12
Desembre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	2	-	-	-	-	5
Subtotal	72	82	0	25	38	0	5	7	1	15	10	0	3	0	0	
TOTAL	154			63			13			25			3			258

Taula 2. Número total d'exemplars recol·lectats de *Scorpaena scrofa*

	LUPI			MEDITS			XÀVEGA			LLOTJA DE PALAMÓS			PEIXATERIA LLANÇÀ			CALYPSO			TOTAL MENSUAL
	F	M	I	F	M	I	F	M	I	F	M	I	F	M	I	F	M	I	
Gener	3	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
Febrer	2	2	1	-	-	-	-	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	8
Març	4		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
Abril	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Maig	7	-	1	1	2	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	14
Juny	3	1	1	-	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	5	17	-	-	31
Juliol	6	3	2	-	-	-	-	-	1	3	-	-	2	4	-	-	-	-	21
Agost	6	-	1	-	-	-	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	10
Setembre	2	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
Octubre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Novembre	2	2	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	7
Desembre	2	5	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	11
Subtotal	37	16	10	1	5	1	1	0	1	10	9	0	2	4	0	5	17	0	
TOTAL	63			7			2			19			6			22			119

Taula 3. Número total d'exemplars recol·lectats de *Scorpaena elongata*.

	LUIPI			MEDITES			XAVEGA			LLOTJA PALAMÓS			MALLORCA			PEIXATERIA LLANÇÀ			TOTAL MENSUAL
	F	M	I	F	M	I	F	M	I	F	M	I	F	M	I	F	M	I	
Maig	-	-	1	17	8	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	33
Juny	-	-	-	3	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
Juliol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2
Novembre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	1	-	3
Desembre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	3
Subtotal	0	0	1	20	10	7	0	0	0	5	2	0	0	0	0	0	1	0	
TOTAL	1			37			0			7			0			1			46

3.1.2. EXEMPLARS UTILITZATS PELS DIFERENTS ANÀLISIS

ANÀLISI HISTOLÒGICA

Taula 4. Exemplars observats al microscopi òptic.

Espècie	mascles		femelles	
	N	rang de Ls (mm)	N	rang de Ls (mm)
<i>S. porcus</i>	57	90-215	42	92-218
<i>S. scrofa</i>	24	149-395	31	118-356
<i>S. elongata</i>	8	114-232	12	152-384

ANÀLISI ULTRAESTRUCTURAL

Taula 5. Exemplars processats per l'estudi al microscopi electrònic.

Espècie	mascles		femelles	
	N	rang de Ls (mm)	N	rang de Ls (mm)
<i>S. porcus</i>	6	123-185	4	116-202
<i>S. scrofa</i>	8	214-410	3	212-290

Del material processat es van escollir per a l'observació al microscopi electrònic de transmissió (TEM) 6 mascles i 2 femelles de *S. porcus*, i 5 mascles i 2 femelles de *S. scrofa*.

FECUNDITAT

Taula 6. Exemplars utilitzats per l'estudi de la fecunditat.

Espècie	femelles	
	N	rang de LS (mm)
<i>S. porcus</i>	12	104-199
<i>S. scrofa</i>	5	199-356

També es va fer el comptatge de dues postes de *Scorpaena porcus* obtingudes al juny del 2003 i al juliol de 2004.

3.2. MÈTODES

3.2.1. RECOL·LECCIÓ I FIXACIÓ DE LES MOSTRES

Tot i que el mostreig més intens es va fer entre els anys 2000-2002, s'ha continuat recol·lectant mostres fins a l'agost de 2004, amb més o menys freqüència segons la necessitat.

Taula 7. Característiques del mostreig:

Barca	Port	Art de pesca	Zona de pesca	Fondària	Patró
LUPI	Sant Feliu de Guíxols	tremall i nanses	Sant Feliu de Guíxols-Tossa de Mar	10-25m	Toni Macaia
Cornide de Saavedra	--	arrossegament	litoral mediterrani peninsular	10-800 m	Luis Gil de Sola (cap de campanya)
Xàvega	Calella de Palafrugell	tremall	Calella de Palafrugell	10-15 m	Josep Maria Sàbat
Calypso	St. Carles de la Ràpita	tremall	Illes Columbrets	35-65 m	Xavier Navarro
Na Foguera	Cala Ratjada	tremall	Badia de Cala Ratjada	28-30 m	Jaume Barceló

MORFOMETRIA I ANÀLISI HISTOLÒGICA

En el cas de l'embarcació "LUPI", el mostratge va ser de freqüència mensual entre el juny de 2000 i el desembre de 2002. A principis de mes es deixava a l'embarcació bidons amb formol al 10%. D'aquesta manera, quan es capturava un exemplar de les espècies objecte d'estudi el pescador l'introduïa immediatament en el bidó, quedant així ràpidament fixat. Al mes següent, quan s'anava a recollir el bidó ple de mostres, se'n deixava un altre de buit per les captures següents. Després d'aquest període, es van continuar aconseguint exemplars d'aquesta embarcació de forma més esporàdica per tal d'acabar d'aconseguir individus de tots els mesos.

En tots els altres casos la freqüència de mostreig era molt més variable, però el material també es formolitzava immediatament després de ser capturat.

Un cop fixats, els exemplars s'introduïen en bidons amb formol al 4% per a la seva conservació. S'han capturat exemplars fins a l'agost del 2004.

ANÀLISI ULTRAESTRUCTURAL

En aquest cas el mostreig es centrava sobretot en les èpoques de posta, per tal de poder trobar tots els estadis de desenvolupament de les cèl·lules germinals. El procediment va ser diferent que l'anterior perquè per observar al microscopi electrònic és imprescindible treballar amb material fresc. El pescador guardava els exemplars amb aigua de mar des que eren capturats fins que arribaven a port. En el port mateix es procedia a la dissecció dels individus i a la fixació de les gònades amb paraformaldehid (2%) i gluteraldehid (2,5%) en tampó cacodilat 0.1M.

3.2.2. CARÀCTERS MORFOMÈTRICS I GRAVIMÈTRICS

Cada exemplar es va marcar amb un codi que conté el nom de l'espècie, l'any, el mes i, per últim, un número identificatiu de l'individu. En primer lloc es va mesurar i pesar l'exemplar sencer, i a continuació es va procedir a la seva dissecció: es van separar les gònades, el fetge, l'estómac, i, en cas d'existir, el greix del voltant de les vísceres. Es tornava a pesar l'exemplar després d'eviscerar i s'emmagatzemava una altra vegada amb formol al 4%, correctament etiquetat. La determinació del sexe es va fer macroscòpicament, tot i que en els casos dubtosos s'analitzava una petita mostra de la gònada al microscopi òptic. Una vegada determinat el sexe de l'individu, es van pesar separatament les gònades, el greix i el fetge. Les gònades i el greix es van guardar, degudament marcats, amb alcohol de 70°. El mateix es va fer amb l'estómac per possibles futurs estudis d'alimentació.

Els caràcters morfomètrics i gravimètrics mesurats han estat els següents (entre parèntesi s'especifica l'eina utilitzada en cada cas):

- Longitud total (ictiòmetre): distància mínima en línia recta horitzontal, entre l'extrem més anterior del morro i l'extrem posterior de l'aleta caudal, presa amb precisió de mm.
- Longitud estàndard (ictiòmetre): distància mínima en línia recta horitzontal, entre el morro i l'extrem posterior de la columna vertebral, presa amb precisió de mm. Pels diferents anàlisis morfomètrics s'utilitza aquesta longitud i no la longitud total ja que és el paràmetre que s'usa en la majoria de la bibliografia existent, i, per tant, facilita les comparacions.

- Longitud pre-anal (ictiòmetre): distància horitzontal, entre el morro i el marge anterior de l'aleta anal, presa amb precisió de mm.
- Pes total (balança Sartorius 1103): pes total de l'exemplar abans de l'evisceració, amb una precisió de 0,1 g.
- Pes eviscerat (balança Sartorius 1103): pes de l'individu, un cop eviscerat, amb una precisió de 0,1 g.
- Pes de les gònades (balança Precisa 125A): pes de les gònades, pres amb una precisió de 0,1 mg.
- Pes del fetge: l'eina utilitzada i la precisió de mesura són les mateixes que en el cas anterior.

3.2.3. PROCESSAMENT DE LES MOSTRES

La metodologia del treball es basa en l'estudi macroscòpic, microscòpic i ultraestructural de les gònades de les dues espècies escollides. Es considera que l'anàlisi histològica del desenvolupament gonadal és el mètode més detallat a l'hora de determinar els patrons reproductius dels teleostis (Wallace i Selman, 1981; West, 1990), malgrat que també és el que requereix més temps.

MICROSCÒPIA ÒPTICA

Les mostres es van incloure tant en parafina com en 2-hidroxietil metacrilat o glicol metacrilat (GMA). Per una banda la parafina permet obtenir més informació de la mostra perquè permet utilitzar un major nombre de tincions diferents, i també realitzar estudis immunohistoquímics; per l'altra banda, amb l'hidroxietil metacrilat es poden fer uns talls més fins i més nítids, i per tant obtenir unes mesures més acurades i unes millors microfotografies. El processat de les mostres és diferent segons es vulgui incloure en parafina o en glicol metacrilat.

Parafina:

- a. Deshidratació.* Petits fragments de la part anterior, central i posterior de les gònades conservades amb alcohol 70°, es van deshidratar en la sèrie alcohòlica següent: alcohol 96° (2 canvis, el primer d'1,5 hores i el segon d'1 hora) i alcohol 100° (3 canvis d'1 hora cadascun).

Seguidament es van submergir en essència d'eucaliptol durant 12-24 hores.

- b. *Imbibició.* 2 canvis en xilol d'1 hora cadascun.
- c. *Inclusió.* es va utilitzar parafina pF 56-58°C Panreac (2 canvis, un de 5,5 hores i l'altre de 3 hores mínim). Posteriorment les mostres es van transferir en uns motlles de plàstic amb parafina fosa a 60°C i es van posar a refredar en un recipient amb gel per tal que la parafina es solidifiqués i es formessin els blocs.
- d. *Microtomia.* Els blocs es van seccionar mitjançant el micròtom de rotació Medin en gruixos d'entre 8 i 12 μ , depenent de l'estat de maduració de la gònada. Es van obtenir seccions transversals i longitudinals.

Glicol metacrilat (GMA):

- a. *Deshidratació.* La sèrie alcohòlica utilitzada per a la deshidratació dels fragments de gònada que es volien incloure en hidroxietil metacrilat va ser exactament la mateixa que en el cas del mètode de la parafina, amb un pas més al principi en alcohol de 80° (1 hora).
- b. *Inclusió.* Es va seguir el mètode d'inclusió per polimerització en fred, descrit per Bonet i Molinas (1983):

Solució infiltradora: 2-hidroxietil metacrilat (GMA) (monòmer), 80ml; 2-butoxiètanol (regulador), 8ml; i benzoil peròxid (polimeritzador), 0,5g.

Solució promotora: CARBOWAX, 8ml; i N-N dimetilanilina, 1ml

Les mostres es van transferir a la solució infiltradora (2 canvis de 12 hores cadascun). Seguidament es van disposar en recipients de plàstic (polietilè) d'1 ml de volum, orientant-les segons el pla en què es volia tallar, i s'hi va injectar una barreja de la solució infiltradora amb la promotora en proporció 42:1 (preparada en un bany de gel). Finalment es van col·locar els motlles a la nevera a 4°C per què es donés la polimerització.

- c. *Microtomia.* els blocs es van seccionar en un micròtom Autocut 1150 Reichert-Jung, obtenint talls de 5 μ m de gruix.

Mètode per congelació:

Una de les mostres de *S. scrofa* també es va incloure segons el mètode per congelació per tal de detectar la possible presència de lípids.

Les mostres fresques es van submergir durant 30 segons en el líquid d'immersió o transferència, metil butà, prèviament refredat amb N₂ líquid. Després les mostres congelades es van col·locar sobre un suport de metall, es van cobrir amb el medi d'inclusió de la casa Reichert-Jung i es van deixar dins el criòtom a -35°C per tal que es solidifiqués. Posteriorment es van tallar amb un criòtom Criocut-1800 Reichert-Jung a -35°C. Les seccions obtingudes, de 12 i 16 µm de gruix, es van recollir en portaobjectes prèviament banyats amb col·loidó i es van deixar assecar a temperatura ambient.

Estudi histològic i histoquímic

Parafina. Les seccions obtingudes van ser desparafinades amb xilol (2 canvis de 15 min cadascun) i rehidratades amb una sèrie alcohòlica abans de procedir a la seva coloració. Es van utilitzar les tincions histològiques d'hematoxilina-oesina com a coloració general, la tricròmica de Mallory, i la tricròmica de Van Gieson per a la detecció de fibres de col·lagen. Les tincions histoquímiques emprades van ser la reacció de PAS (Àcid Periòdic-Schiff) per a la demostració de mucopolisacàrids neutres i la coloració de blau d'alcià a pH 2,5 i pH 1, pels mucopolisacàrids àcids carboxilats i mucopolisacàrids àcids sulfatats, respectivament (Kiernan, 1990).

GMA. La hidrofília del material GMA permet la utilització directa dels colorants en solució aquosa sense necessitat de desplastificar ni rehidratar (Bonet i Molinas, 1983). Les tincions utilitzades van ser blau de metilè-fuxina bàsica, blau de toluidina i blau alcià-PAS, que permet diferenciar els mucopolisacàrids neutres, PAS positius, dels mucopolisacàrids àcids, positius en la coloració en blau d'alcià (Bonet i Huguet, 1985). En alguns casos també es van tenyir amb hematoxilina-eosina i fast-green.

Mètode per congelació. Les seccions obtingudes al criòtom es van tenyir amb Negre Sudà B per determinar la presència o absència de lípids.

Estudi immunohistoquímic de proliferació cel·lular per PCNA ("Proliferating cell nuclear antigen")

Aquesta tècnica va ser utilitzada per la detecció de l'activitat de proliferació cel·lular durant les diferents etapes del cicle anual.

L'antigen nuclear de proliferació cel·lular (PCNA) és una proteïna nuclear no histònica altament conservada de 36 KDa, que forma part de la DNA polimerasa δ (Miyachi *et al.*, 1978; Tan *et al.*, 1986; Prelich *et al.*, 1987) i que té un paper clau en la replicació i reparació del DNA (Waga i Stillman, 1994). S'expressa en el nucli amb una expressió màxima en les fases S i G2 del cicle cel·lular (Hall *et al.*, 1990). La PCNA permet detectar cèl·lules en totes les fases actives del cicle cel·lular (Foley *et al.*, 1991) i per tant és més sensible que els mètodes tradicionals que són específics de la fase S (Ortego *et al.*, 1995).

Seccions de 5 μm de gruix inclosos en parafina, es van processar seguint el següent protocol:

- a. Desparafinat amb xilol (tres canvis de cinc minuts cadascun) i rehidratació en una sèrie alcohòlica decreixent: etanol 100% (2 canvis de 5 min cadascun), 95% i 70% (1 canvi de 3 min cadascun).
- b. Rentat en PBS (Tampó fosfat salí, tampó fosfat 10 mM, clorur sòdic 140 mM, pH 7,2) durant 5 min.
- c. Bloqueig de la peroxidasa endògena amb peròxid d'hidrogen (H_2O_2) al 3%, durant 10 min a temperatura ambient
- d. Rentat de les seccions en PBS, fent tres canvis de 5 min cadascun.
- e. Degut a l'emascament que generen els fixadors sobre els antígens, abans de realitzar la immunomarcació, es va procedir a recuperar-los amb un mètode de "retrival". Es van submergir els talls en una solució de citrat sòdic (1,47 g en 500 ml d'aigua milliQ a pH 6), i es va escalfar en un microones a 800 W de potència durant 9-10 minuts (ha de bullir uns dos minuts). Posteriorment es deixa refredar durant una mitja hora.
- f. Rentat en aigua milliQ.
- g. Bloqueig dels llocs inespecífics d'unió amb PBS amb 1% de sèrum de cabra ("normal serum") durant 15 minuts.

h. Incubació *overnight* de les seccions amb l'anticòs primari per PCNA (anticòs monoclonal de rata PC10 anti-PCNA; Chemicon international Inc., USA & Canada) en una dilució 1:200 en tampó PBS amb 1% de sèrum.

i. Rentat en PBS, tres canvis de cinc minuts.

A partir d'aquí, per la detecció de l'anticòs primari es va utilitzar un kit de detecció ("Immunoperoxidase Secondary Detection System") (Chemicon International, USA & Canada).

j. Incubació amb els anticossos secundaris de cabra contra l'anticòs de ratolí IgG i contra anticòs de conill IgG, diluït en PBS durant 10 min a temperatura ambient.

k. Rentats en TBS (tampó Tris salí) fent tres canvis de 5 minuts cadascun.

l. Incubar amb Estreptoavidina HRP diluïda amb tampó TBS a temperatura ambient durant 10 min.

m. Rentat en TBS, tres canvis de cinc minuts.

n. Revelat de les marques en una solució de 3,3' diaminobenzidine i peròxid d'hidrogen diluïts en TBS. Les seccions van ser revelades durant uns 10 minuts, sempre sota la observació constant en el microscopi òptic. La reacció es va parar rentant els talls en aigua milliQ.

o. Contrastat de les mostres en hematoxilina de Mayer durant 1 minut.

p. Rentat amb TBS.

q. Rentat amb aigua milliQ.

r. Muntatge amb Aquatex.

L'eficàcia de la tècnica es va comprovar mitjançant controls negatius que van ser tractats amb PBS amb 1% de sèrum, en comptes de l'anticòs primari.

Reactius:

Tampó PBS (10 mM de tampó fosfat i 140 mM de NaCl, a pH 7,2): es prepara una solució deu vegades concentrada (10x) barrejant 32,73 g de NaCl, 5,34 g Na_2HPO_4 i 1,555 g de NaH_2PO_4 en 400 ml d'aigua milliQ. Just abans de ser utilitzat es dilueix a una solució 1x.

Totes les seccions obtingudes, tant per inclusió en parafina, com en GMA, com pel mètode per congelació, van ser observades al microscopi òptic de camp clar Olympus Bx40. Per a les microfotografies es va utilitzar un pel·lícula de tungstè per a diapositiva en color 160 ASA.

MICROSCOPIA ELECTRÒNICA DE TRANSMISSIÓ

Pel processament de mostres per l'estudi ultraestructural, es va seguir el protocol descrit per Robards i Wilson (1993):

- a. *Fixació.* Les mostres fresques es van fixar, en el mateix moment d'obtenir-les, en una mixtura de paraformaldehid 2% - glutaraldehid 2,5% amb tampó cacodilat 0,1 M. Després de la fixació de 2 h a 4°C, es van fer dos rentats de 2 hores cadascun amb tampó cacodilat 0,1 M. Finalment es va deixar la mostra amb el tampó cacodilat tota la nit.
- b. *Post-fixació.* Aquesta es va realitzar en Osmi a l'1% en tampó cacodilat, a 4°C durant una hora. El rentat es va fer en tampó cacodilat 0,1 M.
- c. *Deshidratació.* Les mostres es van deshidratar seguint la sèrie acetònica següent:
 - Acetona 50° (1 canvi de 10min)
 - Acetona 70° (2 canvis de 10 min cadascun)
 - Acetona 90° (3 canvis de 10 min cadascun)
 - Acetona 96° (3 canvis de 10 min cadascun)
 - Acetona 100° (3 canvis de 10 min cadascun)
- d. *Imbibició i inclusió.* Les mostres es van incloure en resina SPURR, seguint la sèrie següent:
 - Spurr-acetona100° 1:3 (2 hores)
 - Spurr-acetona 100° 2:2 (2 hores)
 - Spurr-acetona 100° 3:2 (3-4 hores)
 - Spurr (2-5 hores)
 - Spurr (tota la nit)
 - Spurr (2 hores)A continuació les mostres es van transferir a uns motlles de silicona plens de resina Spurr tenint en compte la seva l'orientació. Es va deixar

polimeritzar la resina durant 48 hores a l'estufa a 60°C i entre 2-3 hores a fora l'estufa.

- e. *Piramidat*. El piremidotom que es va utilitzar va ser Leica Reichert ultratrim del servei de microscòpia de la UdG.
- f. *Obtenció de semifins*. Es van fer seccions d'1 µm de gruix amb l'ultramicrotòtom Reichert (Àustria) model OM U2 amb una ganiveta de vidre també del servei de microscòpia de la UdG. Posteriorment aquests talls es van tenyir amb blau de metilè, i es van observar al microscopi òptic Leica DMR-XA. Amb aquests talls es localitzaren les zones d'interès per ser observades al microscopi electrònic de transmissió.
- g. *Ultramicrotomia*. Un cop escollida la zona d'observació, es va tornar a piramidar i es van fer talls ultrafins d'entre 60-90 nm de gruix. Els blocs es van tallar amb el mateix ultramicrotòtom citat anteriorment, però amb la ganiveta de diamant Diatome 45.
- h. *Contratat*. Els talls ultrafins es van contrastar amb acetat d'uranil durant 30 minuts a les fosques i amb citrat de plom durant 10 minuts (Reynolds, 1963) en presència de NaOH. El NaOH es va utilitzar per captar el CO₂ atmosfèric i així evitar l'aparició de precipitats de carbonat de plom que es formen per la interacció del CO₂ i el citrat de plom.

Reactius:

Fixador: Barrejar 25 ml de paraformaldehid al 8%, 10 ml de gluteraldehid al 25% i 50 ml de tampó cacodilat 0,2 M a pH 7,4, i enrasar amb aigua destil·lada fins a 100 ml.

Tampó cacodilat 0,2 M i a pH 7,4: 2,14 g en 50 ml d'aigua destil·lada. Afegir-hi HCl fins arribar a pH 7,4

Acetat d'uranil 2% aquós: Afegir 0,1 g en 5 ml d'aigua destil·lada, i deixar dissoldre uns 30 min.

Citrat de plom (Reynolds, 1963): Afegir 1,33 g de Pb(NO₃)₂, 1,76 g de Na₃(C₆H₅O₇)·2H₂O en 30 ml d'aigua destil·lada. Agitar durant 30 minuts i posteriorment afegir-hi 8 ml de NaOH 1 N. Enrasar amb aigua destil·lada bullida fins a 50 ml.

Finalment, els talls es van examinar en un microscopi electrònic de transmissió Zeiss EM-910 del Servei de Microscòpia de la Universitat de Girona. Per a les microelectrografies es va utilitzar la pel·lícula Kodak Electron Microscope Film ref. 4489, especial per a microscòpia electrònica.

3.2.4. ANÀLISIS REALITZADES

ESTRUCTURA DE LA GÒNADA

Un cop obert el peix i just abans d'extreure completament la gònada, s'observava a ull nu la ubicació de la gònada dins la cavitat abdominal, i en relació als diferents òrgans. A continuació s'extreia totalment la gònada i s'analitzava la seva estructura general sota una lupa binocular. Per a poder descriure la seva organització interna, les mostres també van ser analitzades mitjançant el microscopi òptic.

GAMETOGÈNESI

Els estadis de desenvolupament de l'oòcit es van determinar seguint els criteris establerts per Selman i Wallace (1989) i West (1990); i pel que fa a les cèl·lules germinals masculines, els aplicats per Selman i Wallace (1986).

En el desenvolupament de l'oòcit distingim tres fases en funció dels seus trets morfològics. La fase de creixement primari que fa referència a l'oogònia i els estadis cromatina-nucleolar i perinucleolar; la fase de creixement secundari, que inclou l'estadi d'alvèols corticals i els estadis vitel·logènics, i finalment, la fase de maduració. La mesura dels diàmetres oocitaris es van realitzar mitjançant un sistema d'anàlisi d'imatges (Scion Image). La mida de les cèl·lules germinals femenines es va obtenir fent la mitjana entre els diàmetres màxim i mínim dels oòcits seccionats pel nucli. El quocient nucleoplasmàtic (NPR) es va calcular com $NPR = V_n / (V_c - V_n)$, on V_n és el volum del nucli i V_c el del citoplasma.

A l'espermatogènesi també distingim tres fases principals. La primera fase o espermatocitogènesi fa referència a la formació dels espermatòcits primaris a partir de les espermatogònies; la segona fase és aquella en què es dona la meiosi, formant-se els espermatòcits secundaris i les espermatides; i, a la darrera fase o espermiogènesi, es dona la transformació de les espermatides a espermatozoides. Els diàmetres

nuclears de les cèl·lules sexuals masculines es van mesurar a partir de les imatges obtingudes al microscopi electrònic.

CICLE ANUAL I FECUNDITAT

A l'hora d'estudiar a fons la biologia de la reproducció d'una espècie, cal també analitzar el seu cicle anual i la seva fecunditat.

Cicle anual de les gònades

Es van analitzar les fases de maduració de les gònades femenines i masculines al llarg del cicle reproductor de *S. porcus* i *S. scrofa*. Els ovaris es classifiquen en previtel·logènics, vitel·logènics i madurs o en posta, en funció del tipus d'òocit més desenvolupat que contenen (West, 1990). Per l'estadi de maduració dels testicles es va tenir en compte el criteri establert per Grier (1981), tot i que s'ha modificat lleugerament degut a l'especialitat de l'estructura del testicle d'aquesta espècie. Podem dividir el testicle en 5 estadis: proliferació d'espermatogònies, maduració inicial, maduració mitjana, maduració final i maduració funcional.

A més d'observar els canvis que pateixen les gònades al llarg de l'any també es van fer servir diversos **índexs relacionats amb la reproducció**, que aporten informació complementària al respecte:

a. Índex gonadosomàtic (IGS)

Aquest índex mesura el nivell d'activitat de les gònades al llarg de l'any, ja que presenta valors creixents lligats amb la maduració i valors màxims a l'època de posta. Es calcula en funció del pes eviscerat per tal d'evitar les desviacions que podrien produir en el seu valor el contingut digestiu, les reserves hepàtiques o les reserves lipídiques.

$$\text{IGS} = \text{pes gonadal} \times 100 / \text{pes eviscerat}$$

b. *Índex hepatosomàtic (IHS)*

Aquest índex avalua quantitativament les variacions en el pes del fetge, que reflecteixen el procés d'emmagatzematge i transferència de proteïnes i lípids associats amb l'esforç reproductiu (Crupkin *et al.*, 1988). Els seus valors màxims solen aparèixer abans de l'època de maduració. També es calcula en funció del pes eviscerat.

$$\text{IHS} = \text{pes del fetge} \times 100 / \text{pes eviscerat}$$

c. *Factor de condició (K)*

Aquest índex es considera un indicador de l'estat de nodriment de l'individu. La maduració gonadal requereix unes bones condicions fisiològiques i, a més, la posta sol produir una pèrdua de pes, fets que es poden constatar amb aquest índex. En aquest cas es calcula en funció del pes eviscerat i de la tercera potència de la longitud estàndard, en cm, ja que aquest paràmetre es considera proporcional al volum corporal.

$$K = \text{pes eviscerat} \times 100 / \text{longitud estàndard}^3$$

Es van calcular els valors mensuals de cadascun dels índexs, separant els dos sexes i els individus sexualment madurs de la població total, ja que aquests presenten una evolució dels índexs relacionats amb la reproducció molt més clara que no pas els individus encara immadurs.

Aquests índexs presenten diverses dificultats estadístiques, com per exemple, l'estimació esbiaixada del valor de la mitjana vertadera de la ràtio, o la tendència a amagar, en comptes d'aclarir, les relacions entre variables (Sokal i Rohlf, 1995). A més, assumeixen, moltes vegades de forma errònia, una relació lineal entre les dues variables involucrades en el càlcul de l'índex, i una independència de la variable longitud (García-Berthou i Moreno-Amich, 1993). Tot això fa que darrerament s'hagi considerat aquests índexs desaconsellables de d'un punt de vista estadístics, de manera que per poder observar si hi havia diferències significatives en les variacions mensuals del pes gonadal, pes del fetge i pes eviscerat, es va fer un una anàlisi de la covariància (ANCOVA), utilitzant la longitud estàndard com a covariable.

Abans, però, es va realitzar la transformació logarítmica de les dades per tal d'aconseguir una major homogeneïtat de les variàncies, una millor aproximació a la

Abans, però, es va realitzar la transformació logarítmica de les dades per tal d'aconseguir una major homogeneïtat de les variàncies, una millor aproximació a la distribució normal i la linealitat, tal i com apunten García-Berthou i Moreno-Amich (1993). L'anàlisi estadístic no es va realitzar amb els índex calculats perquè presenta varies Alguns dels supòsits per poder aplicar l'ANCOVA és la homogeneïtat de variàncies dels errors entre grups (homocedasticitat) i l'homogeneïtat de pendents entre les regressions per grup entre la variable i la covariable. Per comprovar el supòsit d'homocedasticitat es va utilitzar el contrast de Levene. En els casos que va sortir un resultat no significatiu, és a dir, que hi havia heterogeneïtat de variàncies, es va recórrer a dur a terme l'anàlisi de covariància amb un nivell de significació més baix ($\alpha = 0.01$) que l'usual ($\alpha = 0.05$), amb la qual cosa només es donen per bones diferències altament significatives en les mitjanes ajustades (Tabachnick i Fidell, 2001). La hipòtesi d'homogeneïtat de pendents s'ha comprovat amb un disseny preliminar de l'ANCOVA, on es tenen en compte tots els efectes principals més les diverses interaccions possibles entre els factors i entre els factors i la covariable. Si es dona el cas que l'efecte de les interaccions amb la covariable és no significatiu, es pot considerar que hi ha homogeneïtat de pendents.

Un cop es van comprovar aquests supòsits, es va procedir a realitzar un disseny final de l'ANCOVA, on es van incorporar només l'efecte dels factors i de les seves interaccions sobre el pes eviscerat, el pes de la gònada i el pes del fetge.

Per acabar de completar l'estudi també es va fer un anàlisi morfomètric i gravimètric de mascles i femelles, on es va calcular:

d. Variacions en longitud estàndard, longitud pre-anal i pes total entre mascles i femelles

Es van calcular els descriptors estadístics més comuns: mitjana i error estàndard de la mitjana, desviació típica i valors màxim i mínim. Es van considerar els sexes com a dues mostres separades per a poder comparar-los. L'anàlisi de la variància (ANOVA) permet comprovar si les dues mesures mostrals obtingudes per a cada caràcter corresponen a una població amb la mateixa mitjana paramètrica. En primer lloc es van transformar totes les mesures a logaritme pels motius citats anteriorment, i finalment es va realitzar el test F de Fisher per a saber si les variàncies eren iguals o diferents.

e. Proporció de sexes

Per tal de conèixer la distribució dels dos sexes en cada població es va calcular la "sex-ratio" (SR) de la població total. Es va analitzar si el resultat és significativament diferent d'1 mitjançant el test de la χ^2 (Zar, 1984).

$$SR = \text{nombre de mascles} / \text{nombre de femelles}$$

Totes les anàlisis estadístiques d'aquest apartat s'han dut a terme seguint els criteris detallats per Sokal i Rohlf (1995) amb el paquet de programes estadístics del SPSSx. El nivell de significació s'expressa en funció de:

- n.s. = diferències no significatives ($\geq 0,05$)
- * = diferències significatives ($< 0,05$)
- ** = diferències molt significatives ($\leq 0,001$)

Fecunditat

El càlcul de la fecunditat d'una espècie avalua la seva capacitat o potencial reproductor. En aquest treball, la fecunditat s'ha estimat mitjançant el mètode gravimètric (Burd i Howlett, 1974; Hunter *et al.*, 1985):

Un cop s'havien extret les gònades, de les femelles que es trobaven totalment madures, es pesaven l'ovari dret i l'esquerra per separat. Un d'ells es guardava per l'anàlisi histològic i de l'altre se'n prenen dues submostres corresponents aproximadament al 10% del seu pes total. La disgregació dels oòcits es va aconseguir introduint les diferents submostres en líquid de Gilson modificat per Simpson (1951), compost per 100 ml d'alcohol de 60°, 880 ml d'aigua destil·lada, 15 ml d'àcid nítric al 80%, 18 ml d'àcid acètic glacial i 20 g de clorur de mercuri. Els vials amb les submostres submergides amb aquest líquid van ser agitats periòdicament per facilitar la penetració del líquid en el teixit, i s'hi van mantenir el temps necessari fins a la disgregació total dels ous.

A continuació es va procedir a la separació dels oòcits per mides mitjançant una columna de vuit filtres en ordre decreixent, amb uns diàmetres de porus que oscil·laven entre 0,125 i 0,8 mm. Es va buidar la submostra sobre aquests filtres i es va sotmetre tota la columna a una dutxa suau sota l'aixeta, de manera que els ous baixaven fins a quedar aturats en el filtre corresponent al seu diàmetre. Un cop fet el filtratge, es va procedir al recompte dels ous retinguts a cada filtre a mesura que eren

aspirats per una pipeta acoblada a una bomba de buit, quedant després retinguts en un "quitasatos" (per la posterior recuperació, si calgués). Es repetia l'operació amb l'altre submostra, i al final es feia la mitjana dels valors obtinguts.

Malgrat que molts autors tan sols comptabilitzen els ous de diàmetre igual o superior al dels estadis vitel·logènics perquè consideren que són els que maduraran en un cicle reproductor (Macer, 1974), en les espècies d'estudi es van mirar a partir d'alvèols corticals, ja que els diàmetres dels porus dels filtres no permeten separar aquests oòcits dels vitel·logènics I.

La fecunditat individual o absoluta es refereix al nombre d'ous produïts per femella per any (Wootton, 1979) i es pot definir com el nombre d'oòcits madurs presents a l'ovari de la femella just abans de realitzar la posta (Bagenal, 1973 i 1978). Per calcular la fecunditat absoluta es va utilitzar la següent fórmula:

$$F = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{PG \cdot n_i}{b_i}$$

(N = número de submostres, Pg = pes total de les gònades, b_i = pes de la submostra, n_i = número d'oòcits madurs de la submostra)

La fecunditat absoluta sol augmentar en relació al pes i a la mida del peix, per tant, alhora de comparar fecunditats de diferents individus s'ha de calcular també la fecunditat relativa o nombre d'ous per unitat de pes eviscerat (Bagenal, 1978).

També es van estudiar les relacions entre les fecunditats, tant absoluta com relativa, amb la mida de l'exemplar, el pes eviscerat i el pes de la gònada. Per fer-ho es va utilitzar l'anàlisi de regressió lineal mitjançant la relació logarítmica $\log Y = \log a + b \cdot \log X$ calculada pel mètode dels mínims quadrats i que correspon a una funció exponencial del tipus $Y = a \cdot x^b$. Els nivells de significació són els mateixos que en l'apartat anterior.

$$F = a \cdot LS^b \quad \text{o} \quad \log F = \log a + b \cdot \log LS$$

$$F = a \cdot Pe^b \quad \text{o} \quad \log F = \log a + b \cdot \log Pe$$

$$F = a \cdot Pg^b \quad \text{o} \quad \log F = \log a + b \cdot \log Pg$$

(F = fecunditat, LS = longitud estàndard, Pe = pes eviscerat, Pg = pes de les gònades)

Finalment s'ha calculat la distribució per freqüències de diàmetre dels ous.

**4. ESTRUCTURA OVÀRICA I OOGÈNESI DE
*Scorpaena porcus, S. scrofa i S. elongata***

4.1. INTRODUCCIÓ

L'ovari dels teleostis normalment és parell i allargat, tot i que en algunes casos, sobretot en espècies vivíparas, les dues estructures es poden arribar a fusionar (Nagahama, 1983). En la major part dels vertebrats l'ovari és gimnovàric, és a dir, els ous són alliberats fora de la gònada, concretament a la cavitat peritoneal, i arriben a l'exterior a través dels oviductes (conductes de Müller), que posteriorment aniran a parar a la cloaca. En la majoria dels teleostis, en canvi, l'ovari és del tipus cistovàric: els oòcits madurs s'alliberen en el lumen del propi ovari i s'expulsen a través dels oviductes, que en aquest cas són la continuació posterior de la túnica ovàrica (Hoar, 1969, volum III).

La unitat bàsica de l'ovari és el fol·licle ovàric, que té una organització similar en tots els teleostis. Està format per un oòcit central envoltat per un embolcall acel·lular, l'embolcall vitel·lí, també conegut com zona radiata o corion. Aquest embolcall a la vegada també està envoltat per les cèl·lules fol·liculars: una capa interna formada per les cèl·lules de la granulosa, i una d'externa constituïda per les cèl·lules de la teca. Aquestes dues capes estan separades entre elles per la membrana basal.

Segons el patró de desenvolupament que segueixen els oòcits, els ovaris també es poden classificar en sincrònics, grup-sincrònics i asincrònics. El primer tipus correspon en aquells ovaris on tots els oòcits es desenvolupen i s'alliberen a la vegada, de manera que es solen trobar en espècies que fan una sola posta i llavors moren. Els ovaris grup-sincrònics, en canvi, presenten al mateix temps, com a mínim, dos grups de fol·licles en diferents etapes de desenvolupament. Aquest és el tipus més comú en tots els teleostis. I finalment, els asincrònics són aquells que tenen una població completament heterogènia de fol·licles en diferents estadis de desenvolupament, com per exemple l'ovari de *Fundulus heteroclitus* (Wallace i Selman, 1981; West, 1990).

El desenvolupament de l'oòcit al llarg del procés d'oogènesi ha estat revisat per diversos autors (Yamamoto i Onozato, 1965; Wallace i Selman, 1981; DeVlaming, 1983; Nagahama, 1983; Selman i Wallace, 1989; West, 1990, entre d'altres) i en tots els casos la terminologia que es fa servir per denominar els diferents estadis és força semblant. Aquesta classificació té en compte la mida dels oòcits, l'aparença del nucli i nuclèols, i el tipus i localització de les inclusions citoplasmàtiques. Així doncs, segons aquests trets, el procés d'oogènesi es pot dividir en: estadis cromatina-nucleolar i

perinucleolar, estadi d'alvèols corticals, tres estadis vitel·logènics, i finalment, l'estadi de maduració (Wallace i Selman 1981).

L'oogònia es divideix per mitosi i esdevé oòcit primari quan els cromosomes queden arrestats en l'estadi de diplotè de la primera profase meiòtica. L'estadi cromatina-nucleolar engloba des del leptotè fins a l'inici del paquitè, i és l'estadi on comença a aparèixer el cos de Balbiani i el nombre de nuclèols augmenta. Quan aquests nuclèols adopten una mida similar i migren cap a la perifèria del nucli, s'inicia l'estadi perinucleolar. En aquest estadi es pot observar per primera vegada l'estructura bàsica del fol·licle ovàric, ja que l'oòcit és envoltat per algunes cèl·lules fol·liculars. L'estadi d'alvèols corticals s'inicia amb l'aparició dels alvèols corticals a la perifèria del citoplasma, tot i que en algunes espècies ve marcat per l'aparició de les gotes lipídiques. A continuació, en la fase de vitel·logènesi, apareixen els grànuls de vitel, que van augmentant de mida i nombre fins a ocupar tot el citoplasma de l'oòcit. Finalment, a la fase de maduració, el nucli migra cap al pol animal de la cèl·lula i l'oòcit s'hidrata immediatament abans de ser ovulat.

4.2. RESULTATS

L'estructura ovàrica i oogènesi de *S. porcus*, *S. scrofa* i *S. elongata* s'ha vist que és molt similar i, per tant, la descripció es farà de forma conjunta.

4.2.1. ESTRUCTURA OVÀRICA

Els ovaris són parells i estan situats a la part dorsal de la cavitat abdominal, sostinguts per teixit mesentèric (mesovari). Són del tipus cistovàric sacular descrit per Hoar (1969). La secció transversal dels ovaris immadurs és triangular, esdevenint cada vegada més arrodonida a mesura que va avançant el seu desenvolupament. Quan són madurs presenten tot una sèrie de replegaments, possiblement degut a la falta d'espai dins els sacs ovàrics. Els embolcalls de les gònades es perllonguen posteriorment formant un únic gonoducte que desemboca a l'exterior; en ovaris madurs, aquest gonoducte no és gaire apreciable per la mateixa raó d'espai esmentada anteriorment.

El raquis músculo-connectiu penetra dins l'ovari per la part apical i s'estén longitudinalment en el seu interior. D'aquest raquis en surten radialment les lamel·les ovàriques, cadascuna de les quals està suspesa del raquis mitjançant un tronc fibromuscular molt vascularitzat (Figs. 1a, 2a, 3a). En algunes èpoques de l'any a la paret del raquis i de les lamel·les hi apareixen alguns centres melanomacrofàgics, en ocasions PAS positius (Fig. 23a).

Les lamel·les ovàriques contenen oòcits en diferents estadis de maduració (com també cossos atrèsics i postovulatoris). A la seva base solen trobar-se les oogònies a partir de les quals es van desenvolupant els diferents estadis de maduració de l'oòcit, a la vegada que es van desplaçant cap a la perifèria del cordó, més proper al lumen. Així doncs, en ovaris madurs es pot veure clarament com aquests estadis es disposen ordenadament des del raquis fins al lumen (Figs. 1b, 2b, 3b). Cal destacar que a partir de la fase de creixement secundari s'observen els fol·licles ovàrics units al tronc fibromuscular mitjançant un peduncle ovàric molt vascularitzat (Figs. 1c, 2c, 3c). En l'època de posta els oòcits madurs són alliberats al lumen, que en aquest període conté gran quantitat de fluid ovàric de consistència gelatinosa. Aquest fluid engloba els oòcits madurs, i tot el conjunt és expulsat a l'exterior a través del gonoducte en el moment de la posta.

La paret ovàrica que recobreix l'ovari està constituïda per tres capes (Figs. 1d, 2d, 3d). La capa més externa està formada per un mesoteli. La capa mitjana és una capa muscular que al mateix temps es subdivideix en dues subcapes: una subcapa externa de musculatura circular més prima, i una subcapa interna de musculatura longitudinal més gruixuda. La capa més interna correspon a un epiteli cúbic simple, que durant els mesos de posta presenta projeccions citoplasmàtiques normalment PAS negatives (Figs. 24b, 28g).

LÀMINA 1

ESTRUCTURA OVÀRICA DE *S. porcus*

-
-
- a. Secció transversal de l'ovari que mostra el raquis músculo-conjuntiu i les lamel·les ovàriques, envoltats totalment pel lumen i per la paret ovàrica. Blau de metilè-fucsina bàsica. Barra = 400 µm.
 - b. Ordenació dels oòcits segons el seu estadi de desenvolupament des del raquis fins al lumen. Les fletxes mostren els peduncles d'alguns oòcits. Blau de toluïdina. Barra = 400 µm.
 - c. Peduncle d'un oòcit vitel·logènic III. Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
 - d. Paret ovàrica. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
-
-

Abreviatures:

e: epiteli

l: lamel·la ovàrica

lum: lumen

mc: musculatura circular

ml: musculatura longitudinal

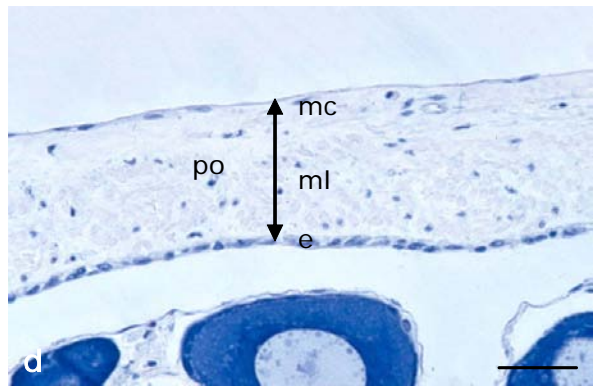
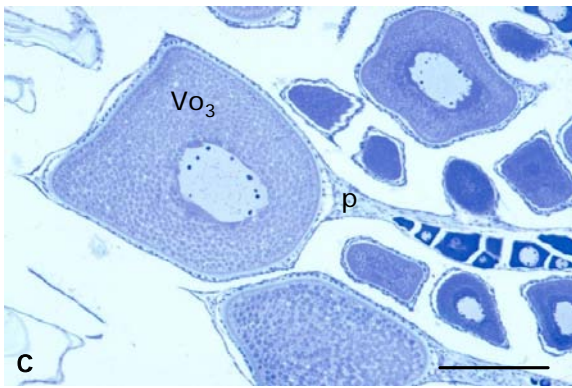
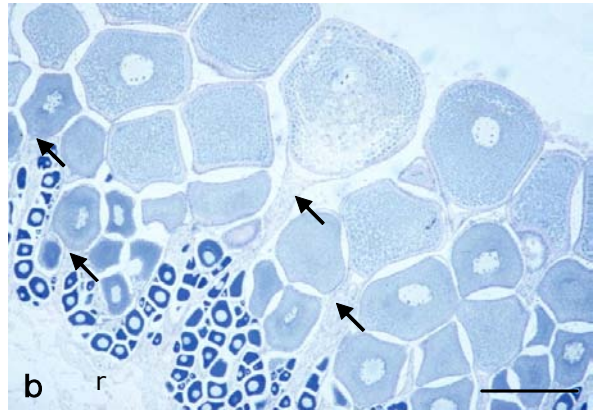
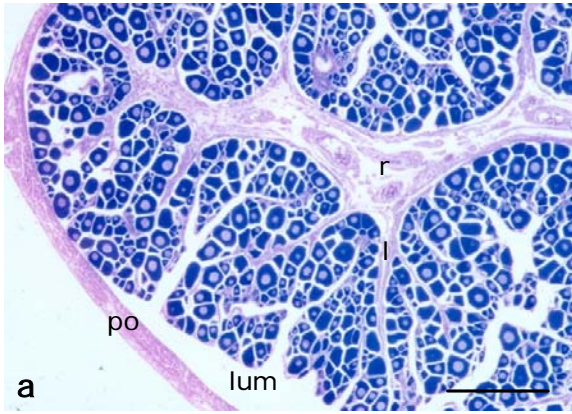
p: peduncle

po: paret ovàrica

r: raquis músculo-connectiu

Vo₃: oòcit vitel·logènic III

LÀMINA 1



LÀMINA 2

ESTRUCTURA OVÀRICA DE *S. scrofa*

-
-
- a. Secció transversal de l'ovari . Blau de toluïdina. Barra = 400 µm.
 - b. Ovari madur on s'observa l'ordenació dels oòcits de menys a més madur, des del raquis fins al lumen. Les fletxes indiquen els peduncles d'alguns oòcits. Blau de toluïdina. Barra = 400 µm.
 - c. Peduncle d'un oòcit vitel·logènic III. Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
 - d. Paret ovàrica . Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
-
-

Abreviatures:

e: epiteli

l: lamel·la ovàrica

lum: lumen

mc: musculatura circular

ml: musculatura longitudinal

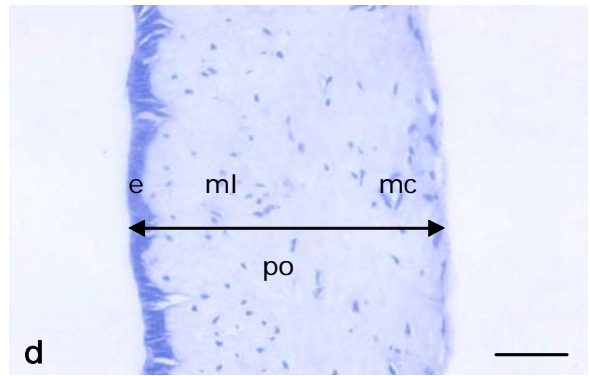
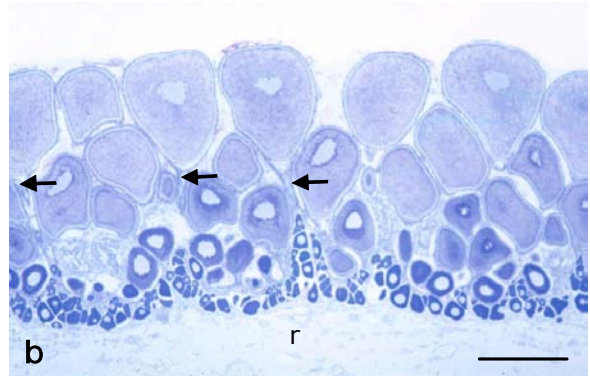
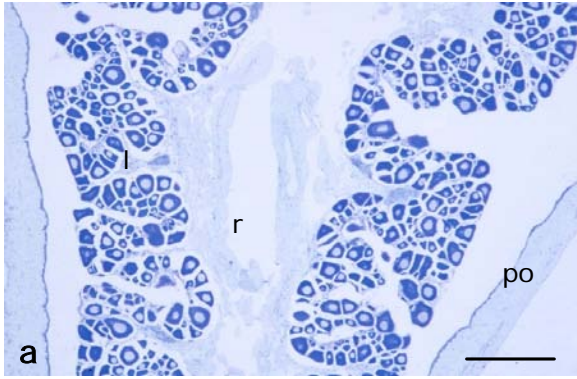
p: peduncle

po: paret ovàrica

r: raquis músculo-connectiu

Vo₃: oòcit vitel·logènic III

LÀMINA 2



LÀMINA 3

ESTRUCTURA OVÀRICA DE *S. elongata*

-
-
- a. Secció transversal de l'ovari. Blau de toluïdina. Barra = 400 µm.
 - b. Secció transversal d'un ovari madur, on s'observa per una banda els diferents oòcits ordenats segons el seu estadi de desenvolupament des del raquis fins al lumen; i per l'altra banda, els centres melanomacrofàgics PAS positius en el raquis. PAS. Barra = 400 µm.
 - c. peduncle d'un oòcit madur. Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
 - d. Paret ovàrica. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
-
-

Abreviatures:

cm: centre melanomacrofàgic

e: epiteli

l: lamel·la ovàrica

lum: lumen

mc: musculatura circular

ml: musculatura longitudinal

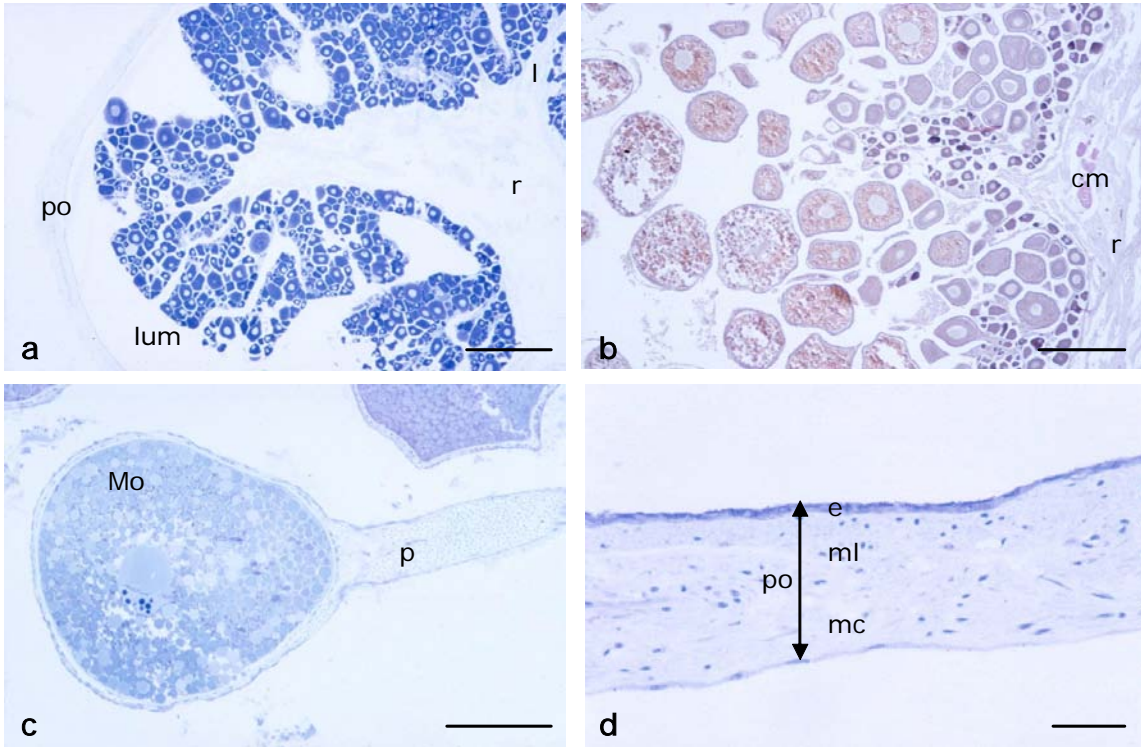
Mo: oòcit madur

p: peduncle

po: paret ovàrica

r: raquis músculo-connectiu

LÀMINA 3



4.2.2. OOGÈNESI

Fase de creixement primari

Oogònies: són cèl·lules petites i arrodonides amb un nucli esfèric i molt voluminós, amb un nuclèol prominent (Figs. 4a, 6a, 8ab). En *S.porcus* hi destaca força material "nuage" al voltant de l'embolcall nuclear, reticle endoplasmàtic llis i gran quantitat de mitocondris arrodonits de matriu molt laxa (Fig. 4b).

Estadi cromatina-nucleolar: el citoplasma és molt homogeni i fortament basòfil, queda molt tenyit amb blau de toluídina. El nucli és pàl·lid amb varis nuclèols força grans en el seu centre (Figs. 4c, 4d, 4e, 6a, 6b, 8b). En la fase inicial d'aquest estadi apareix clarament en posició juxtannuclear un cos dens, una estructura arrodonida i molt basòfila que forma part del Cos de Balbiani (Fig. 4c), separada del citoplasma mitjançant una franja estreta i no basòfila. També des d'un inici i al costat del nucli apareix la substància pal·lial, la part menys basòfila del cos de Balbiani, però de forma més difusa i no tan clara com el cos dens. Al llarg d'aquest estadi, el cos dens cada vegada es fa més difícil de detectar, mentre que la substància pal·lial es fa cada cop més palesa (Figs. 4d, 6b).

Estadi peri-nucleolar: els nombrosos nuclèols de diferent mida comencen a migrar cap a la perifèria del nucli. La substància pal·lial forma un anell al voltant del nucli, i el cos dens es sol situar a la part més externa d'aquest anell (Figs. 4e, 4f, 6c, 6d, 8c). Aquest anell perd el contacte amb el nucli i va creixent fins a ocupar bona part del citoplasma. Al final d'aquest estadi l'oòcit és envoltat per una capa senzilla i prima de cèl·lules fol·liculars que formen la granulosa.

Fase de creixement secundari

Estadi d'alvèols corticals: Aquest estadi es caracteritza per l'aparició de petits alvèols corticals PAS positius a la perifèria del citoplasma. Els nuclèols es mantenen a la perifèria del nucli i la substància pal·lial, que ocupa quasi tot el citoplasma, es comença a desintegrar i a barrejar-se amb el material citoplasmàtic, fins que finalment desapareix. El citoplasma esdevé heterogeni, més aviat granular i menys basòfil (Figs. 4g, 6e, 6g, 8d). L'oòcit és envoltat completament per les dues capes fol·liculars (granulosa i teca) i s'acaba formant totalment el fol·licle ovàric. En aquest estadi apareix la zona radiata, extremadament prima i PAS positiva al llarg de tota la fase de creixement secundari (Figs. 4h, 6f, 6g).

Estadi vitel·logènic I: en aquest estadi apareixen petits grànuls de vitel molt acidòfils a la perifèria del citoplasma, que mostren molta afinitat a l'eosina i a l'orange G (Figs. 5a, 7a, 8e). També a la perifèria del citoplasma es mantenen els alvèols corticals, tot i que són més difícils de detectar perquè queden amagats pels grànuls de vitel. El nucli perd la seva forma esfèrica ja que l'embolcall nuclear presenta ondulacions que es mantindran en els tres estadis vitel·logènics. La zona radiata es fa més evident, malgrat que té un gruix encara menor a 1 μm en *S. porcus*, aproximadament d'1 μm en *S. elongata*, i entre 2 i 3 μm en *S. scrofa*.

Estadi vitel·logènic II: els grànuls de vitel augmenten en nombre, mida i distribució. Al final d'aquest estadi acaben ocupant bona part del citoplasma (Figs. 5b, 7b, 8f). El gruix de la zona radiata augmenta lleugerament: entre 1 i 2 μm en *S. porcus*, aproximadament 2 μm en *S. elongata*, i entre 3 i 4 μm en *S. scrofa*. Amb la tinció de PAS-Schiff s'hi poden distingir varies capes al llarg dels dos últims estadis de vitel·logènesi i maduració. Les capes més externes són PAS positives.

Estadi vitel·logènic III: el citoplasma queda totalment recobert dels grànuls de vitel que han continuat fusionant-se entre sí i així han augmentat de mida (Figs. 5b, 7a, 7b, 9a). La zona radiata en aquest estadi pot arribar a mesurar aproximadament uns 3 μm en *S. porcus* i *S. elongata* (Figs. 5c, 9b), i uns 5 μm en *S. scrofa*. No s'han detectat gotes lipídiques en cap dels estadis de desenvolupament de l'oòcit.

Fase de maduració

L'inici de la maduració de l'oòcit el marca la migració del nucli (o vesícula germinal) cap al pol animal, juntament amb la migració dels nuclèols cap al seu centre (Figs. 5d, 7c, 9c, 9d). Els grànuls de vitel es continuen fusionant entre sí formant glòbuls molt voluminosos i la zona radiata arriba al seu gruix màxim: fins a 4 μm en *S. porcus* i *S. elongata* (Figs. 5e, 9e) i entre 7 i 8 μm en *S. scrofa* (Fig. 7d).

Al final d'aquest estadi els oòcits s'hidraten (Figs. 5f, 7e). Els glòbuls de vitel s'acaben fusionant tots entre sí i formen una massa homogènia. El nucli ja no és visible perquè l'embolcall nuclear es trenca i el seu contingut es barreja amb el citoplasma. A causa de l'augment de volum que experimenta l'oòcit, la granulosa, la teca i la zona radiata s'estrenyen i les cèl·lules fol·liculars queden allargades i aplanades. Els cossos hidratats adquireixen una forma molt irregular, per tant, el diàmetre de la cèl·lula és molt difícil de calcular i s'ha de considerar orientatiu. Aquest fet es veu agreujat per la desaparició del nucli i la consegüent pèrdua de la referència del pla equatorial de la cèl·lula que permetia saber el nivell de la secció estudiada.

Fol·licles postovulatoris

El fol·licle no s'allibera juntament amb l'oòcit a l'ovulació, sinó que es manté formant el fol·licle postovulatori (Figs. 5g, 7f). És una estructura que es replega sobre si mateixa i que conté material granular i basòfil en el lumen. A partir d'aquí comença a degenerar molt ràpidament, disminuint la seva mida i encongint-se cada cop més fins que desapareix.

Oòcits atrèsics

L'atrèsia és la degeneració a l'interior de l'ovari de fol·licles que per alguna raó no poden acabar el seu desenvolupament. Es pot donar en qualsevol estadi de l'oogènesi, tot i que és més fàcil d'observar en oòcits vitel·logènics. A l'inici de l'atrèsia (α) el nucli adquireix una forma irregular i una aparença granulosa fins que es desintegra (Figs. 5h, 7g, 9f). La zona radiata es trenca deixant penetrar les cèl·lules de la granulosa hipertrofiades en el lumen. Els grànuls de vitel apareixen de diferents mides i amb formes irregulars i acaben essent fagocitats per les cèl·lules de la granulosa, de la mateixa manera que passa amb el citoplasma. La teca, molt vascularitzada, no envaeix l'oòcit sinó que es manté com una capa molt fina que envolta tota l'estructura. En un estadi més avançat (β), apareixen gran quantitat de vacuoles i de vasos sanguinis (Figs. 5i, 7h, 9g). A partir d'aquest moment el fol·licle va disminuint gradualment de mida fins a ser reabsorbit del tot.

Cal comentar que en *S. elongata* no s'han pogut detectar ni cossos hidratats ni fol·licles postovulatoris. Aquesta espècie es pesca en molta menys freqüència que les altres dues, i, per tant, encara és més complicat aconseguir individus de talles suficients per a poder trobar-los madurs (s'ha vist que la talla de maduració d'aquesta espècie és a partir de, com a mínim, 244 mm). Això, juntament amb el fet que els cossos hidratats i els fol·licles postovulatoris es desenvolupen molt ràpidament i com a conseqüència són difícils d'observar, ha impossibilitat la seva detecció.

Taula 8. Evolució dels diàmetres nuclears i dels quocients nucleoplasmàtics al llarg de l'oogènesi. (n: número d'òcits mesurats; SE: error estàndard; NPR: coeficient nucleoplasmàtic)

Scorpaena porcus:

Estadis	n	Diàmetre ($\mu\text{m} \pm \text{SE}$)	NPR
Oogònia	30	10,72 \pm 0,89	0,38
Cromatina-nucleolar	30	30,61 \pm 2,40	0,16
Perinucleolar	30	77,57 \pm 2,64	0,16
Alvèols corticals	30	111,97 \pm 2,78	0,06
Vitel·logènic I	30	177,98 \pm 5,71	0,03
Vitel·logènic II	30	277,75 \pm 8,11	0,03
Vitel·logènic III	30	366,59 \pm 9,23	0,02
Migració nuclear	30	430,73 \pm 12,03	0,01
Hidratats	25	567,38 \pm 22,75	

Scorpaena scrofa:

Estadis	n	Diàmetre ($\mu\text{m} \pm \text{SE}$)	NPR
Oogònia	30	12,83 \pm 0,33	0,26
Cromatina-nucleolar	30	31,95 \pm 1,79	0,15
Perinucleolar	30	80,13 \pm 5,24	0,16
Alvèols corticals	30	152,97 \pm 6,33	0,10
Vitel·logènic I	30	219,33 \pm 5,67	0,06
Vitel·logènic II	30	295,39 \pm 9,09	0,03
Vitel·logènic III	28	441,47 \pm 14,29	0,01
Migració nuclear	13	494,83 \pm 8,22	0,01
Hidratats	30	591,44 \pm 26,69	

S. elongata:

Estadis	n	Diàmetre ($\mu\text{m} \pm \text{SE}$)	NPR
Oogònia	30	12,96 \pm 0,35	0,29
Cromatina-nucleolar	30	33,99 \pm 2,37	0,15
Perinucleolar	30	66,53 \pm 3,32	0,16
Alvèols corticals	16	121,06 \pm 3,80	0,12
Vitel·logènic I	9	163,23 \pm 9,15	0,09
Vitel·logènic II	12	219,83 \pm 16,03	0,05
Vitel·logènic III	27	310,15 \pm 20,49	0,03
Migració nuclear	13	446,19 \pm 23,72	0,003

LÀMINA 4

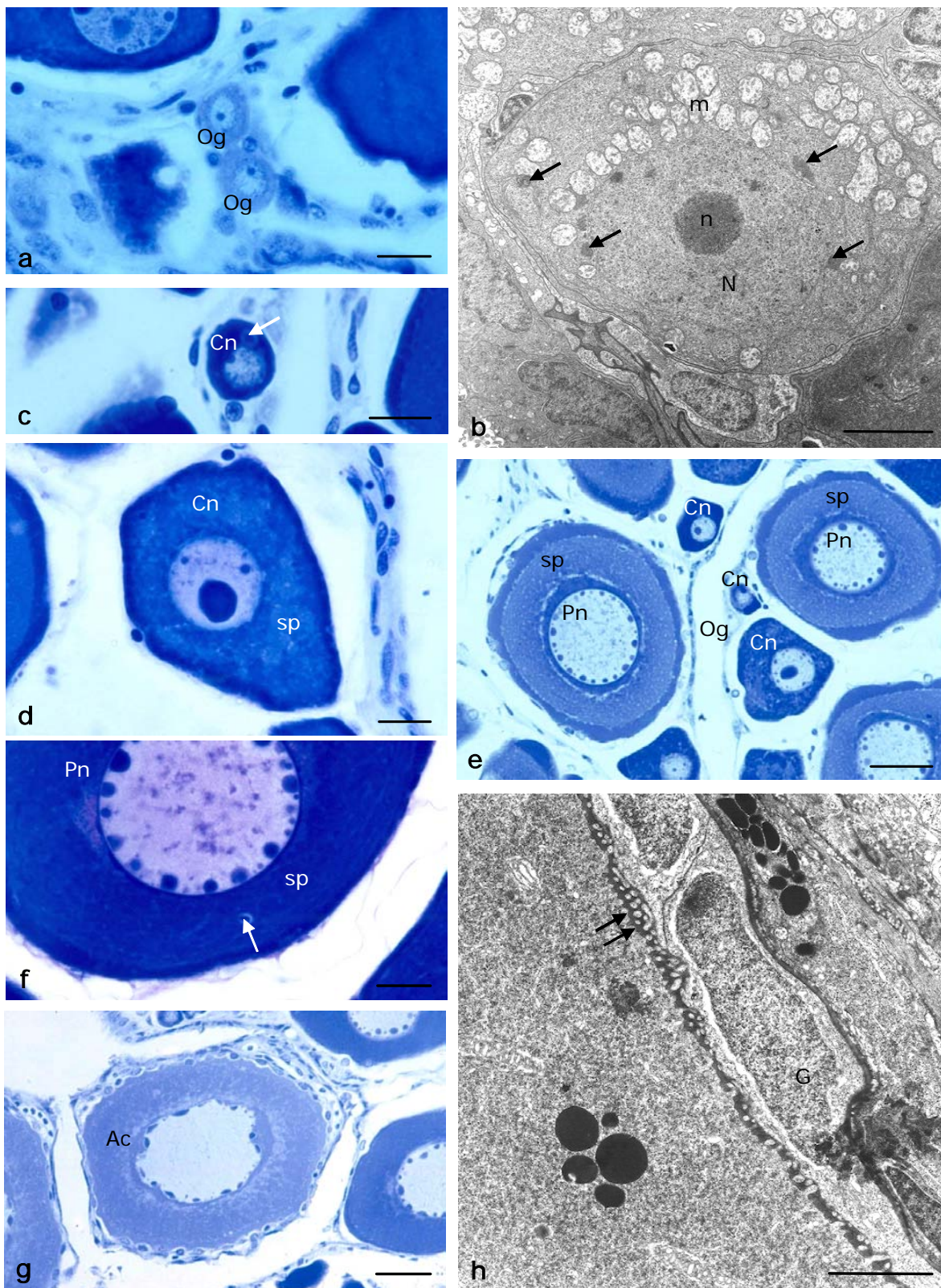
OOGÈNESI DE *S. porcus*

- a. Oogònies. Blau de toluïdina. Barra = 10 µm.
 - b. Detall al microscopi electrònic d'una oogònia. Les fletxes assenyalen el material "nuage". Barra = 3 µm.
 - c. Fase inicial d'un oòcit cromatina-nucleolar. Les fletxes mostren el cos dens del cos de Balbiani. Blau de toluïdina. Barra = 10 µm.
 - d. Oòcit cromatina-nucleolar en fase més avançada. Blau de toluïdina. Barra = 10 µm.
 - e. Oòcits en diferents estadis de la fase de creixement primari: oogònia, oòcits cromatina-nucleolars i oòcits peri-nucleolar. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
 - f. Detall del cos dens del cos de Balbiani d'un oòcit peri-nucleolar. Blau de metilè-fucsina bàsica. Barra = 10 µm.
 - g. Oòcit en estadi d'alvèols corticals. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
 - h. Detall al microscopi electrònic de transmissió de l'inici del procés de formació de la zona radiata en un oòcit en estadi d'alvèols corticals. Les fletxes indiquen la zona on s'està formant aquesta estructura. Barra = 2 µm.
-
-

Abreviatures:

Ac: oòcit en estadi d'alvèols corticals	n: nuclèol
Cn: oòcit cromatina-nucleolar	Og: oogònia
G: granulosa	Pn: oòcit peri-nucleolar
m: mitocondri	sp: substància pal·lial
N: nucli	

LÀMINA 4



LÀMINA 5

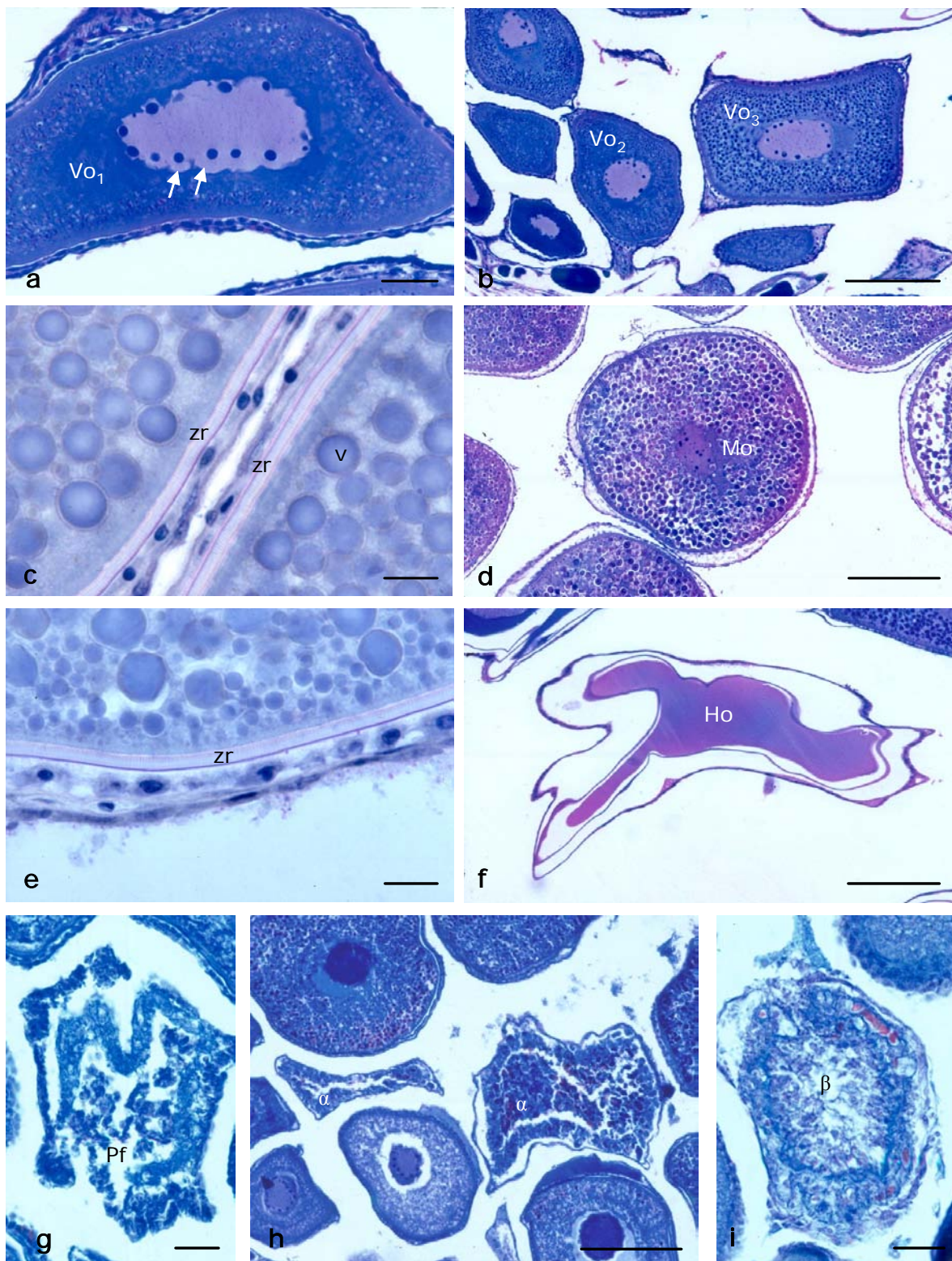
OOGÈNESI DE *S. porcus*

-
-
- a. Oòcit vitel·logènic I. Les fletxes mostren les ondulacions de l'embolcall nuclear. Blau de metilè-fucsina bàsica. Barra = 30 µm.
 - b. Oòcits en estadi vitel·logènic I i II. Barra = 200 µm.
 - c. Detall de les zones radiates de dos oòcits vitel·logènics III. PAS. Barra = 10 µm.
 - d. Oòcit madur a l'inici de l'etapa de migració nuclear. Blau de metilè-fucsina bàsica. Barra = 200 µm.
 - e. Detall de la zona radiata d'un oòcit madur. PAS. Barra = 10 µm.
 - f. Oòcit hidratat. Blau de metilè-fucsina bàsica. Barra = 200 µm.
 - g. Fol·licle postovulatori. Mallory. Barra = 30 µm.
 - h. Estadi alfa-atrèsic. Mallory. Barra = 200 µm.
 - i. Estadi beta-atrèsic. Mallory. Barra = 30 µm.
-
-

Abreviatures.

Ho: oòcit hidratat	Vo ₂ : oòcit vitel·logènic II
Mo: oòcit amb nucli migrador	Vo ₃ : oòcit vitel·logènic III
Pf: fol·licle postovulatori	zr: zona radiata
v: grànuls de vitel	α: estadi d'alfa-atrèsia
Vo ₁ : oòcit vitel·logènic I	β: estadi de beta-atrèsia

LÀMINA 5



LÀMINA 6

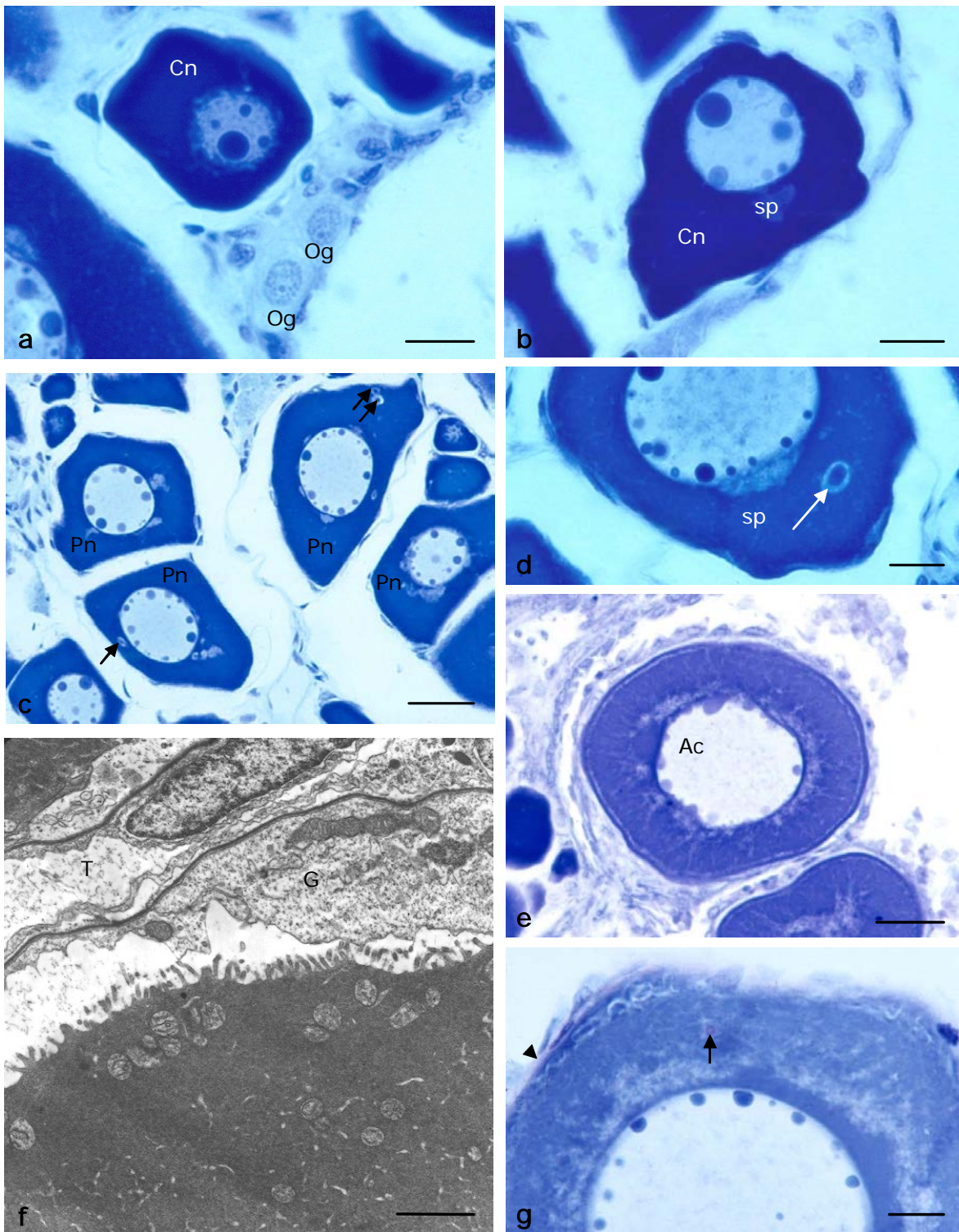
OOGÈNESI DE *S. scrofa*

-
-
- a. Oogònies i oòcit cromatina-nucleolar. Blau de toluïdina. Barra = 10 µm.
 - b. Oòcit cromatina-nucleolar. Blau de toluïdina. Barra = 10 µm.
 - c. Varis oòcits peri-nucleolars. Les fletxes mostren el cos dens del cos de Balbiani. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
 - d. Detall del cos de Balbiani d'un oòcit peri-nucleolar. La fletxa indica el cos dens del cos de Balbiani. Blau de toluïdina. Barra = 10 µm.
 - e. Oòcit en estadi d'alvèols corticals. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
 - f. Detall al microscopi electrònic de transmissió de l'inici del procés de formació de la zona radiata en un oòcit en estadi d'alvèols corticals. Barra = 2 µm.
 - g. Detall d'un oòcit en estadi d'alvèols corticals. La punta de fletxa indica la zona radiata i la fletxa un alvèol cortical, en tots dos casos PAS positius. PAS. Barra = 10 µm.
-
-

Abreviatures:

Ac: oòcit en estadi d'alvèols corticals	Pn: oòcit peri-nucleolar
Cn: oòcit cromatina-nucleolar	sp: substància pal·liol
G: granulosa	T: teca
Og: oogònia	

LÀMINA 6



LÀMINA 7

OOGÈNESI DE *S. scrofa*

-
-
- a. Oòcit vitel·logènic I i III. Blau de metilè-fucsina bàsica. Barra = 200 µm.
 - b. Oòcits en estadi vitel·logènic II i III. Barra = 200 µm.
 - c. Oòcit madur en l'etapa de migració nuclear. Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
 - d. Detall de la zona radiata d'un oòcit madur. PAS. Barra = 10 µm.
 - e. Oòcit hidratat. Blau de toluïdina. Barra = 400 µm.
 - f. Fol·licle postovulatori. Blau de toluïdina. Barra = 400 µm.
 - g. Estadi alfa-atrèsic. PAS. Barra = 30 µm.
 - h. Estadi beta-atrèsic. Mallory. Barra = 30 µm.
-
-

Abreviatures:

Ho: oòcit hidratat

Mo: oòcit amb nucli migrador

N: nucli

Pf: fol·licle postovulatori

Vo₁: oòcit vitel·logènic I

Vo₂: oòcit vitel·logènic II

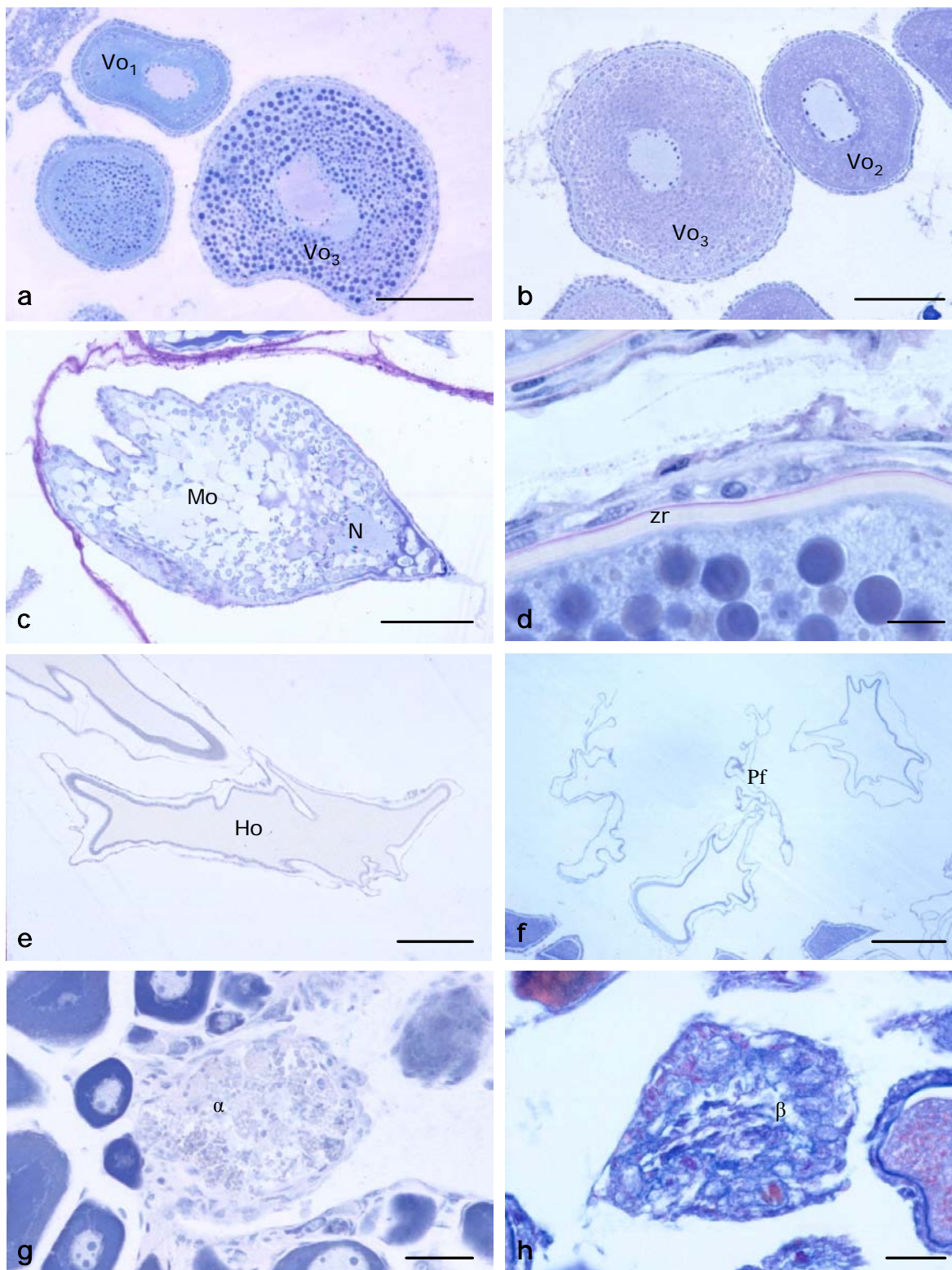
Vo₃: oòcit vitel·logènic III

zr: zona radiata

α: estadi d'alfa-atrèsia

β: estadi de beta-atrèsia

LÀMINA 7



LÀMINA 8

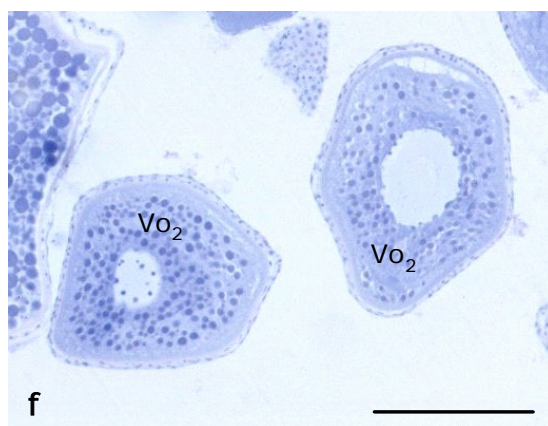
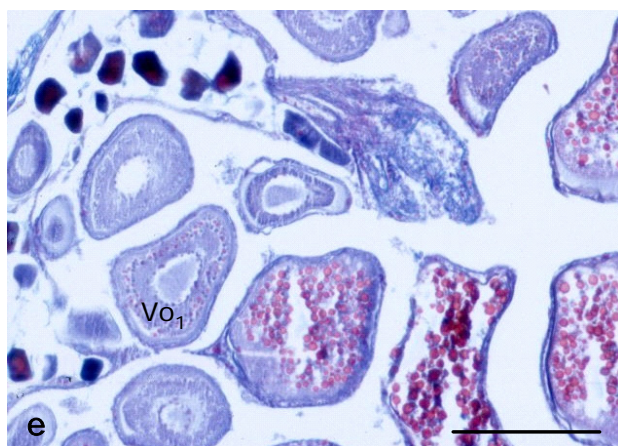
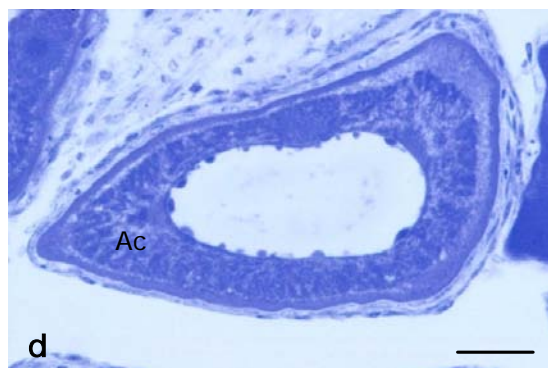
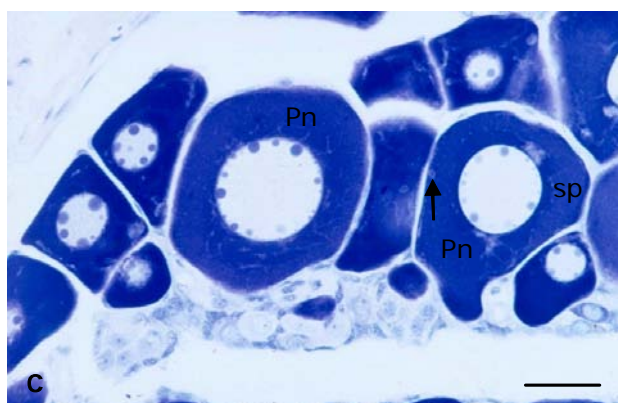
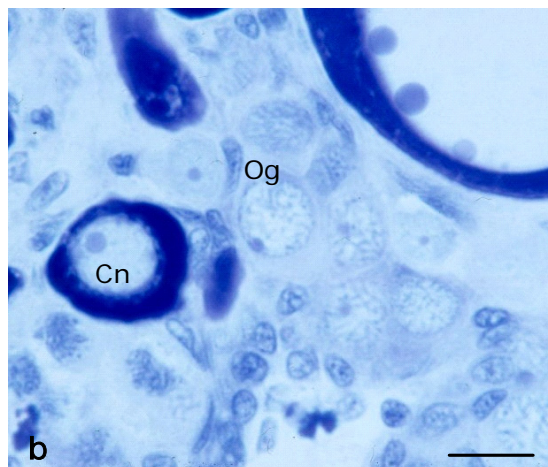
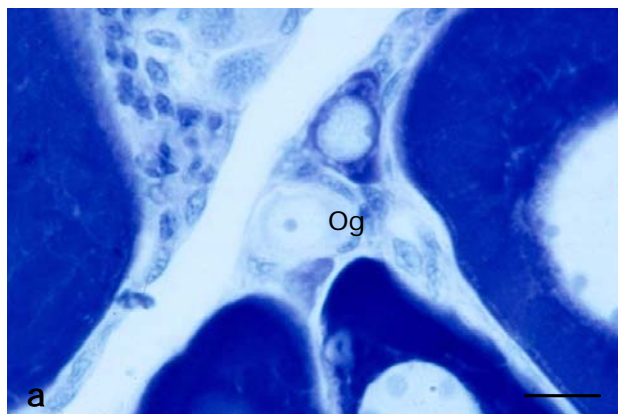
OOGÈNESI DE *S. elongata*

- a. Detall d'una oogònia. Blau de toluïdina. Barra = 10 µm.
 - b. Oòcit cromatina-nucleolar i un grup d'oogònies. Blau de toluïdina. Barra = 10 µm.
 - c. Oòcits peri-nucleolars. Les fletxes mostren el cos dens del cos de Balbiani. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
 - d. Oòcit en estadi d'alvèols corticals. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
 - e. Oòcit vitel·logènic I. Mallory. Barra = 200 µm.
 - f. Oòcits vitel·logènics III. PAS. Barra = 200 µm.
-
-

Abreviatures:

Ac: oòcit en estadi d'alvèols corticals	sp: substància pal·lial
Cn: oòcit cromatina-nucleolar	Vo ₁ : oòcit vitel·logènic I
Og: oogònia	Vo ₂ : oòcit vitel·logènic II
Pn: oòcit peri-nucleolar	

LÀMINA 8



LÀMINA 9

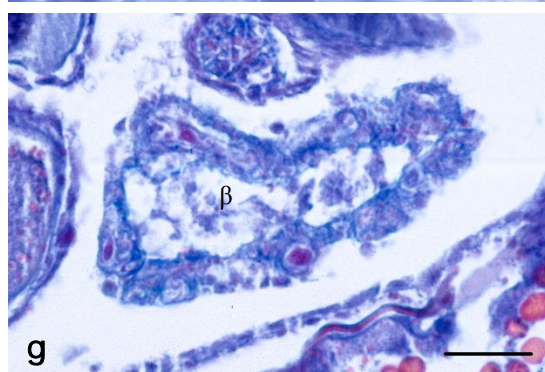
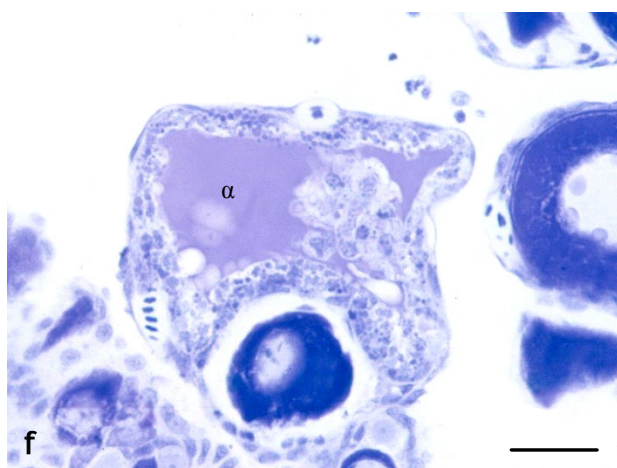
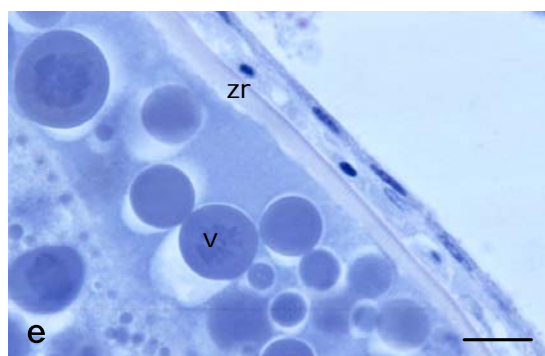
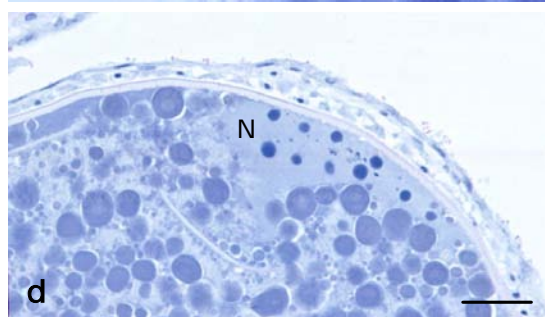
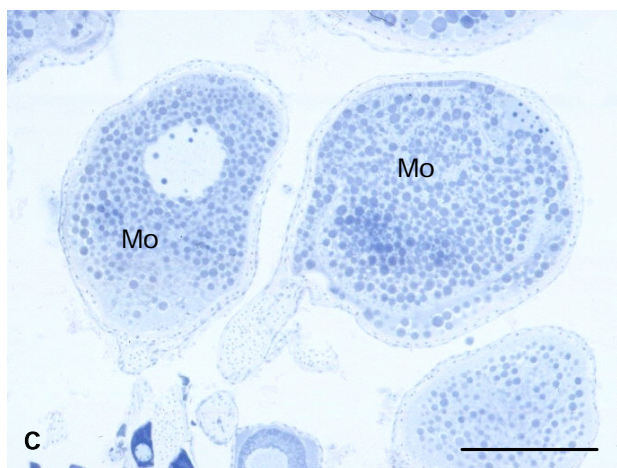
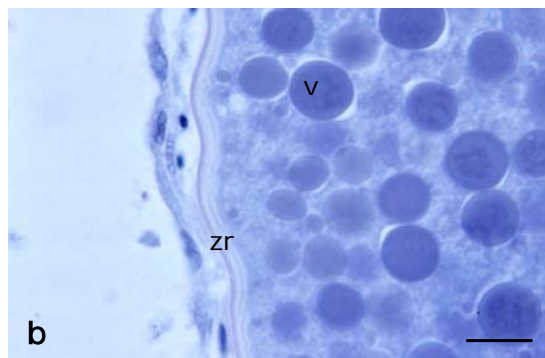
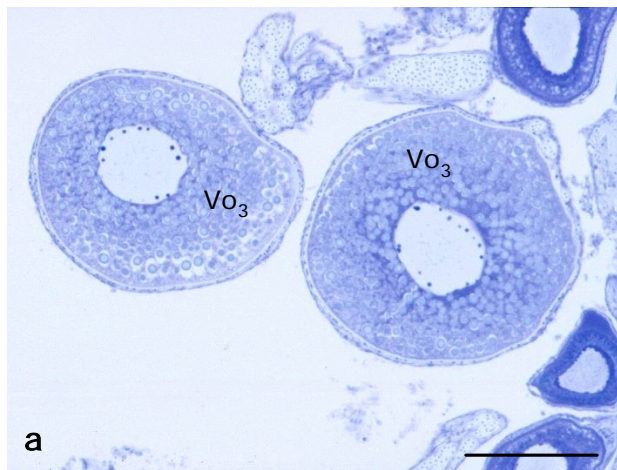
OOGÈNESI DE *S. elongata*

-
-
- a. Oòcits vitel·logènics III. Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
 - b. Detall de la zona radiata d'un oòcit vitel·logènic III. PAS. Barra = 10 µm.
 - c. Oòcits madurs en diferents instants de l'etapa de migració nuclear. Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
 - d. Detall del nucli d'un oòcit madur un cop ja es troba al pol animal de l'oòcit. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
 - e. Detall de la zona radiata d'un oòcit madur. PAS. Barra = 10 µm.
 - f. Estadi alfa-atrèsic. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
 - g. Estadi beta-atrèsic. Mallory. Barra = 30 µm.
-
-

Abreviatures:

Mo: oòcit amb nucli migrador	zr: zona radiata
N: nucli	α: estadi d'alfa-atrèsia
v: grànuls de vitel	β: estadi de beta-atrèsia
Vo ₃ : oòcit vitel·logènic III	

LÀMINA 9



4.3. DISCUSSIÓ

El patró de desenvolupament que segueixen els oòcits en l'ovari de *Scorpaena porcus*, *S. scrofa* i *S. elongata*, correspon al tipus "grup sincrònic" (Wallace i Selman, 1981), atès que conté grups sincrònics d'oòcits en desenvolupament que seran alliberats a mesura que vagin madurant. Aquesta organització, juntament amb la presència de fol·licles postovulatoris en ovaris que encara contenen oòcits vitel·logènics, indica que es realitza més d'una posta dins un mateix cicle reproductor. Aquest fet es dona en *S. porcus* i *S. scrofa*; i probablement també en *S. elongata*, encara que en aquest últim cas no es pot afirmar ja que no s'han observat fol·licles postovulatoris.

Un primer tret destacable és l'estructura ovàrica de les espècies analitzades. En tots els casos, l'ovari és envoltat completament per la paret ovàrica i té el raquis músculo-conjuntiu i els vasos sanguinis al seu centre, de manera que el lumen envolta totalment l'estroma ovàric. En funció d'aquesta estructura també el podem classificar dins el tipus cistovàric II-3 descrit per Takano (1989). Aquest tipus d'organització és molt poc comú dins els teleostis, tot i que s'ha descrit en altres escorpènids com *Dendrochirus bachypterus* (Fishelson, 1975, 1977), *Sebastolobus alascanus* (Erickson i Pikitch, 1993), *S. macrochir* (Koya i Matsubara, 1995), *Helicolenus hilgendorfi* (Takano, 1989), *H. dactyloperus dactylopterus* (Muñoz *et al.*, 1999), *Scorpaenodes littoralis* (Yoneda *et al.*, 2000) i *Scorpaena notata* (Muñoz *et al.*, 2002b). Koya i Matsubara (1995) consideren que aquesta organització ovàrica podria estar relacionada amb la producció de masses gelatinoses que engloben la posta que realitzen totes aquestes espècies.

En l'estadi cromatina-nucleolar es pot destacar l'aparició molt freqüent del cos de Balbiani, que es manté fins a l'inici del creixement secundari de l'oòcit. Aquesta estructura ha estat descrita per diversos autors en altres espècies de peixos (Chaudhry, 1952; Nayyar, 1964; Guraya, 1963; Yamamoto 1964; Coello i Grimm, 1989; Selman i Wallace, 1989; Grau *et al.*, 1996), malgrat que la seva funció encara no està massa ben entesa. Sembla que actua com a centre de la biogènesi d'òrgànuls durant el creixement de l'oòcit primari, abans de la deposició del vitel (Guraya, 1986). Bazzoli i Godinho (1995) també apunten que aquesta estructura participa en la formació dels alvèols corticals. El cos de Balbiani normalment apareix en la fase de desenvolupament primari de l'oòcit i en posició juxtannuclear, però la seva morfologia i composició són diferents en cada cas. En les tres espècies estudiades, la descripció del

cos de Balbiani és molt similar a la feta per Guraya (1963) a *Channa maruleus*, on hi distingeix també dues parts, el cos dens i la substància pal·liol.

Una altra particularitat destacada és l'existència de peduncles ovàrics vascularitzats, que uneixen cada oòcit amb la resta d'estroma ovàric, i que es detecten a partir de la fase de creixement secundari. La funció d'aquests peduncles pot ser diversa: en espècies vivíparas es consideren connexions placentàries o pseudo-placentàries (Erickson i Pikitch, 1993) i s'han relacionat amb facilitar la fertilització (Nagahama, 1983) i l'accés de nutrients als embrions en desenvolupament (Hoar, 1969); mentre que en espècies ovíparas, com és el cas de les tres espècies estudiades, sembla que prevenen l'amuntegament dels ous (Fishelson, 1975; 1978) i faciliten l'ovulació dels oòcits madurs dins la massa gelatinosa (Muñoz *et al.*, 2002b). Aquestes estructures tampoc són gens habituals en teleostis, fins ara només s'havien descrit en quatre espècies, també d'escorpènids: *Sebastolobus alascanus* (Erickson i Pikitch, 1993), *H. dactyloperus dactyloperus* (Muñoz *et al.*, 1999), *Scorpaenodes littoralis* (Yoneda *et al.*, 2000) i *Scorpaena notata* (Muñoz *et al.*, 2002b).

A la fase d'alvèols corticals apareixen els alvèols corticals i es diferencia la zona radiata, i en la majoria de teleostis també apareixen les gotes lipídiques. En les tres espècies objecte d'estudi, però, no s'han detectat gotes lipídiques en cap dels diferents estadis oocitaris, tot i que, tal com es comentarà més endavant, realitzen una posta pelàgica. També cal destacar que els alvèols corticals són molt escassos i de mida molt petita, molt difícils d'observar amb el microscopi òptic. Els alvèols corticals semblen contribuir en l'enfortiment del corion que es forma immediatament després de la formació de l'ou (Selman i Wallace, 1989; West, 1990), i per tant, una disminució en el seu nombre implicarà una pèrdua de rigidesa del corion i, com a conseqüència, una disminució de la protecció mecànica dels ous. De fet, la seva escassetat ha estat associada amb la viviparitat en peixos (Takemura *et al.*, 1987), però no sembla gaire lògic que aquest fet es doni en espècies ovíparas amb fertilització externa com les que s'han estudiat en aquest treball, o com en *S. notata* (Muñoz *et al.*, 2002b). Probablement en les espècies analitzades la protecció dels ous s'aconsegueix, doncs, amb la massa gelatinosa que engloba la posta. Pel que fa a la zona radiata, tot i anar augmentant de gruix al llarg de la vitel·logènesi i la maduració, aconsegueix un gruix molt menor que el de la majoria d'espècies de peixos ovíparas: en un oòcit madur de *S. porcus* i *S. elongata* mesura aproximadament 4 µm, i en *S. scrofa* entre 7-8 µm, una mida molt inferior als 37 µm d'*Aspitrigla obscura* o als 19 µm

de *Trigla lyra* (Muñoz, 2000), espècies ovíparas del mateix ordre que els escorpènids. Segons varis autors (Wourms, 1976; Fleger, 1977; Boehlert i Yoklawich, 1984; Takemura *et al.*, 1987 i Yamada i Kusakari, 1991) aquesta característica també pot representar una adaptació cap a l'ovoviviparisme. En espècies vivíparas no hi ha tanta necessitat de protecció, més aviat al contrari, ja que una membrana molt compacta i gruixuda reduiria la transferència de nutrients a l'embrió (Fleger, *op. cit.*). El fet que aquest tret apareixi en les tres espècies d'estudi, tot i ser espècies ovulíparas, referma la hipòtesi que la massa gelatinosa que engloba la posta tingui una funció protectora.

**5. ESTRUCTURA TESTICULAR I
ESPERMATOGÈNESI DE *S. porcus* i *S. scrofa***

5.1. INTRODUCCIÓ

Els testicles dels vertebrats en general són òrgans parells, tot i que en alguns casos poden ser imparells degut a la fusió de les dues gònades al llarg del desenvolupament o per la degeneració unilateral d'una d'elles. Es localitzen a la part dorsal de la cavitat abdominal del cos, suspesos pel teixit mesentèric. L'estructura i funció dels testicles de teleostis ha estat revisada per diversos autors (Hoar, 196; Guraya, 1976; Grier, 1981, 1993; Nagahama, 1983, atlas). Aquests treballs evidencien la gran confusió i controvèrsia que existeix respecte a la morfologia dels testicles i a la nomenclatura dels diferents tipus cel·lulars. Durant molts anys, els termes "lobular" i "tubular" s'han utilitzat indistintament (Moser, 1967; Grier, 1978; Billard, 1986), i en alguns casos simultàniament (Nagahama, 1983), per descriure el mateix tipus d'estructura testicular. Tot i que Callard (1991) i Grier (1993) van definir les característiques dels diferents tipus de testicle per tal d'unificar conceptes, encara es publiquen treballs on no es segueixen aquests criteris, com per exemple Saidpur i Shanbahg (1999).

En general els testicles dels teleostis estan envoltats per una capa de teixit connectiu, anomenada càpsula testicular (Billard, 1986). Presenta dos tipus de compartiment: un compartiment intersticial i un de germinal. El primer està format per les cèl·lules intersticials, cèl·lules de Leydig, cèl·lules mioïdes, vasos sanguinis i vasos limfàtics. El compartiment germinal està constituït per l'epiteli germinal, format per les cèl·lules germinals i les cèl·lules de Sertoli, aquestes últimes sempre recolzades sobre la membrana basal que separa els dos compartiments. Les extensions citoplasmàtiques de les cèl·lules de Sertoli engloben les cèl·lules germinals formant els espermatocists o cists, els quals representen la unitat funcional del testicle.

Segons l'estructura del compartiment germinal, els testicles dels teleostis es poden classificar en tubulars anastomosats o lobulars; i segons la distribució de les espermatogònies al llarg del lòbul o túbul, en restringits o no-restringits (Grier, 1993). Els testicles tubulars anastomosats són típics de teleostis ancestrals, i són aquells on el compartiment germinal està format per túbuls anastomosats, altament ramificats, que en cap cas acaben a la perifèria del testicle. Els lobulars, en canvi, poden formar xarxes anastomosades a la part proximal, però a la part distal s'extenen cap a la perifèria on s'acaben amb un extrem cec. Segons la segona classificació, el testicle restringit, només present en la sèrie Atherinomorpha, es caracteritza per tenir les espermatogònies confinades a la part distal dels lòbul, normalment a l'extrem cec;

mentre que en el no-restringit, les espermatogònies es distribueixen al llarg de tota la longitud del lòbul o túbul.

Segons Selman i Wallace (1986), el procés d'espermatogènesi es pot dividir en tres fases: espermatocitogènesi, meiosi i espermiogènesi. L'espermatocitogènesi és la fase de formació dels espermatòcits primaris a partir de les espermatogònies. L'espermatogònia primària és la cèl·lula germinal masculina més grossa, que es caracteritza normalment per presentar un nucli gros amb un nuclèol prominent. Les espermatogònies primàries es transformen en espermatogònies secundàries després d'una sèrie de divisions mitòtiques que acaben amb una citoquinesi incompleta, fet que comporta que es mantinguin unides entre elles per ponts citoplasmàtics. Aquestes cèl·lules són englobades per les cèl·lules de Sertoli constituint així el cist. Quan les espermatogònies secundàries entren en meiosi i formen els espermatòcits primaris, s'inicia la fase de meiosi. Els espermatòcits primaris són fàcilment detectables per la presència de complexos sinaptonèmics al llarg del període de zigotè i paquitè. La primera divisió meiòtica o reduccional dóna lloc als espermatòcits secundaris. Aquest estadi és difícil d'identificar perquè la divisió cel·lular és lleugerament asincrònica i ràpidament entren en la segona divisió meiòtica transformant-se en espermatides. Finalment la fase d'espermiogènesi engloba tots els canvis morfològics i funcionals que pateix l'espermàtida fins a transformar-se en espermatozoide. En aquest moment se sol obrir el cist i l'espermatozoide és alliberat a la llum del lòbul.

Jamieson (1991) va classificar l'espermatozoide dels peixos en aquasperma i introsperma segons el tipus de transmissió i fertilització. El primer tipus es dóna en espècies on els espermatozoides són alliberats en el medi aquàtic i la fertilització és externa. L'introsperma, en canvi, no és alliberat en el medi aquàtic, ja que la fertilització és interna. Aquests dos tipus d'espermatozoide a la vegada es subdivideixen en diversos subtipus en funció de l'acrosoma i del nombre de flagels.

En teleostis existeix una elevada diversitat morfològica dels espermatozoides, des d'aquasperma fins a introsperma. L'absència d'acrosoma és l'únic caràcter comú que tenen tots els espermatozoides dels teleostis (Mattei, 1970), per això per permetre la fecundació, en els ous d'aquestes espècies apareix el micròpil (Jamieson, 1991).

En teleostis amb fertilització externa, es dóna dos tipus d'espermiogènesi (Mattei, 1970), que donen lloc a dos tipus d'aquasperma diferents (Mattei, *op.cit.*; Jamieson, 1991). El tipus I és el resultat d'una espermiogènesi típica: en l'espermàtida jove, el

diplosoma està prop de la membrana plasmàtica. El centríol distal originarà el flagel, mentre el diplosoma es va movent en direcció a la possible base del nucli. Posteriorment, es dona la rotació del nucli per tal que el flagel esdevingui perpendicular en relació a la base del nucli. Aquest tipus d'espermatozoide té un nucli arrodonit o ovoide, d'aproximadament 2-3µm de diàmetre. El centríol proximal sovint forma un angle recte amb el distal, el qual forma el cos basal del flagel. Un o tots dos centríols poden o no localitzar-se a la fossa basal del nucli si, com és freqüent, la fossa existeix. La peça intermèdia és curta, de menys de 1 µm de llarg, i està formada per un anell citoplasmàtic al voltant de la base del flagel, i que està separat d'aquest pel canal citoplasmàtic. El flagel conté un axonema clàssic de 9+2 microtúbuls, i la membrana plasmàtica que el recobreix pot formar 1, 2 o 3 processos longitudinals, anomenats aletes.

L'aquasperma de tipus II, en canvi, es forma a partir d'un procés d'espermiogènesi on no es realitza la rotació de l'eix del flagel respecte al nucli, de manera que el flagel es manté paral·lel a la base del nucli. Tot i que és freqüent trobar fossa nuclear en aquest tipus d'espermatozoide, els centríols es mantenen fora. El canal citoplasmàtic és absent i la peça intermèdia és molt petita. Aquest tipus d'espermatozoide es troba en els teleostis més evolucionats, espècies del subordre Acanthopterygii i 25 espècies de l'ordre Perciformes (Mattei, 1988).

L'elevada diversitat morfològica dels espermatozoides en peixos pot estar influenciada per els diferents modes reproductius i per la posició sistemàtica (Gardiner, 1978; Grier *et al.*, 1978) i pot ser utilitzat com un caràcter addicional en la classificació taxonòmica (Mattei i Mattei, 1974; Lahnsteiner i Patzner, 1990).

5.2. RESULTATS

En aquest capítol, l'estructura testicular de les dues espècies es descriurà conjuntament, tal i com s'ha fet en el cas de les femelles. L'espermatogènesi, en canvi, és relativament diferent en les dues espècies i s'analitzarà per separat.

5.2.1. ESTRUCTURA TESTICULAR

Els testicles són dues estructures allargades situades a la part dorsal de la cavitat abdominal, sostingudes per teixit mesentèric. La seva secció transversal és reniforme, i està format per lòbuls acabats amb un extrem cec a la perifèria de la gònada (Figs. 10a, 10b, 11a, 11c). Els vasos sanguinis i els conductes espermàtics principals es troben situats en posició ventral i central. Aquests conductes convergeixen en posició posterior formant l'espermiducte, a través del qual els espermatozoides seran conduïts cap a l'exterior. Al voltant d'aquests conductes espermàtics sovint apareixen centres melanomacrofàgics que normalment reaccionen negativament a la tinció de PAS-Schiff (Figs. 10a, 11b).

Les espermatogònies es localitzen majoritàriament a la part distal dels lòbuls, tot i que se'n poden observar algunes, poques, al llarg de tota la seva longitud (Figs. 10c, 11d). Els lòbuls testiculars estan revestits internament per les cèl·lules de Sertoli, les extensions citoplasmàtiques de les quals formen els cists que engloben els diferents estadis de desenvolupament (Figs. 10d). Aquests cists omplen tota l'amplada del lòbul sense permetre l'aparició d'un lumen central, present en la majoria de teleostis. A més en alguns casos i sobretot en èpoques de posta, sembla que existeixi una ordenació dels cists segons l'estadi de maduració de les cèl·lules germinals que engloba: les espermatogònies primàries a la part distal del lòbul, a continuació les espermatogònies secundàries, després els espermatòcits primaris... i així successivament fins que finalment a l'extrem oposat del lòbul es formen els espermatozoides. Tot i això, si s'analitza detalladament, s'observa que aquesta ordenació no és perfecte, i en alguns casos es trenca.

En *Scorpaena porcus* i *S. scrofa*, a diferència de la majoria de teleostis estudiats, els cists es trenquen abans d'acabar el procés d'espermatogènesi, i les cèl·lules germinals s'acaben de desenvolupar a la llum dels lòbuls. En el cas de *S. porcus*, el cist es trenca

durant la meiosi, ja que s'observen espermatòcits, espermatides i espermatozoides barrejats i lliures a la llum del lòbul (Figs. 10e, 10f). En canvi, en l'altre escorpènid, el cist s'obre a l'estadi d'espermàtida (Figs., 11e, 11f).

L'estroma interlobular està format bàsicament per petits vasos sanguinis, cèl·lules de Leydig, cèl·lules musculars llises i fibres de col·làgena. La paret testicular o albugínia està constituïda per una capa externa de mesoteli o epiteli visceral i una capa interna musculoconjuntiva constituïda per fibres musculars llises circulars. En *S. porcus* s'ha observat conductes espermàtics perifèrics inclosos dins d'aquesta capa musculoconjuntiva (Figs. 10g, 10h)

Els pocs exemplars mascles de *S. elongata* obtinguts, semblen presentar una estructura testicular igual que *S. porcus* i *S. scrofa*, i una espermatogènesi també semicística, on els cists s'obren a nivell d'espermàtida. De totes maneres, per corroborar-ho de forma definitiva caldria estudiar molts més exemplars, i realitzar un anàlisi detallat al microscopi electrònic.

LÀMINA 10

ESTRUCTURA TESTICULAR DE *S. porcus*

- a. Secció transversal del testicle on es veu clarament la seva forma reniforme, amb les conductes i vasos sanguinis al seu centre. Blau de toluïdina. Barra = 400 µm.
 - b. Visió general dels lòbuls testiculars. Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
 - c. Lòbul testicular amb diferents estadis espermatogènics. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
 - d. Secció transversal d'un lòbul testicular. Blau de metilè. Barra = 30 µm.
 - e. Espermàtides i espermatozoides barrejats a la llum del lòbul. PAS. Barra = 30 µm.
 - f. Micrografia on s'observen espermàtides i espermatozoides lliures a la llum del lòbul i les cèl·lules de Sertoli revestint la paret d'aquest lòbul sense formar cap cist. Barra = 6 µm.
 - g. Secció transversal del testicle que mostra un conducte espermàtic perifèric (fletxa). Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
 - h. Detall al microscopi òptic del conducte espermàtic perifèric de la figura anterior. Barra = 30 µm.
-
-

Abreviatures:

c: conducte testicular principal

cm: centre melanomacrofàgic

S: cèl·lula de Sertoli

Sc₁: espermatoïcit primari

Sc₂: espermatoïcit secundari

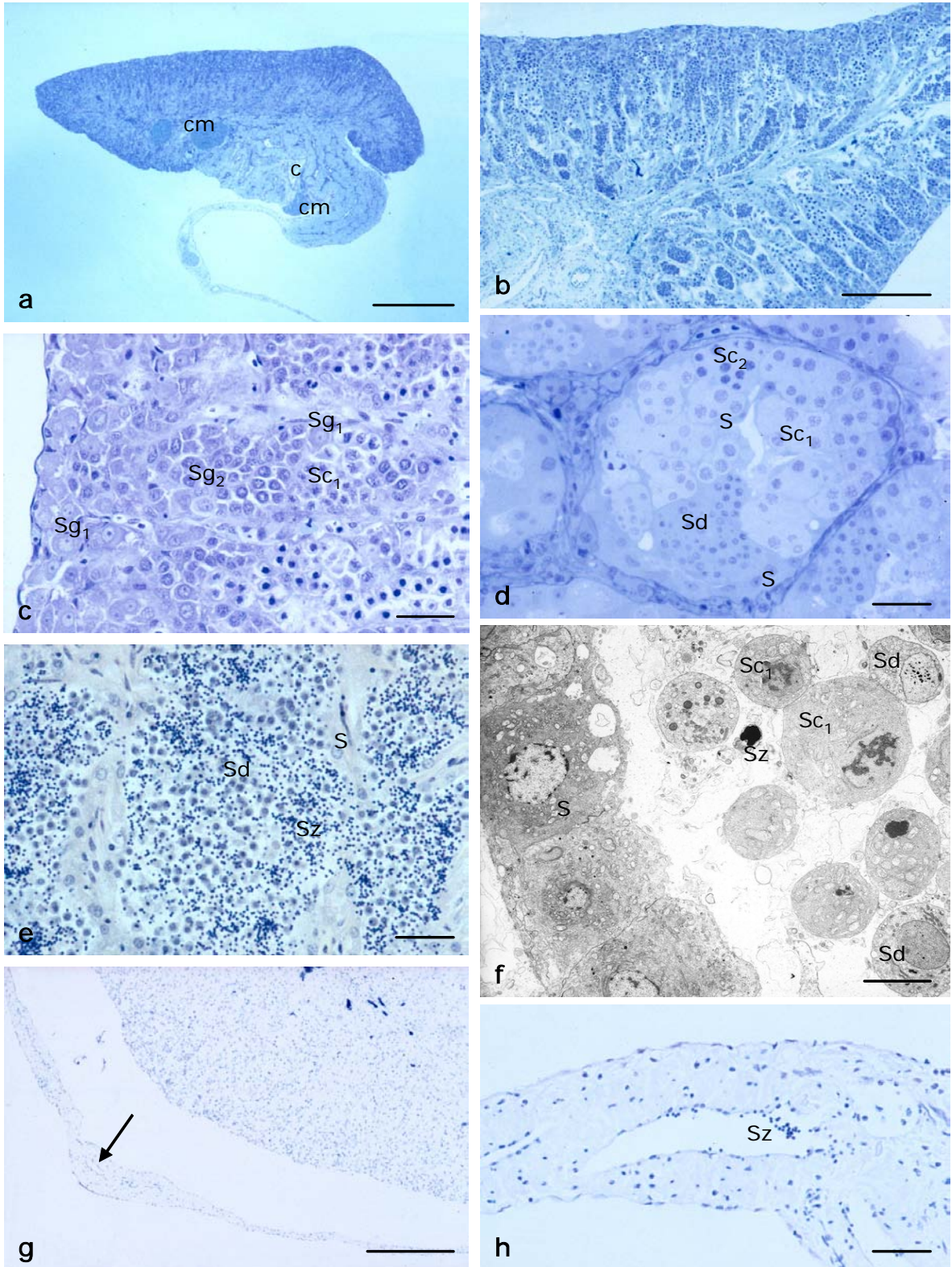
Sd: espermàtida

Sg₁: espermatogònia primària

Sg₂: espermatogònia secundària

Sz: espermatozoide

LÀMINA 10



LÀMINA 11

ESTRUCTURA TESTICULAR DE *S. scrofa*

- a. Secció transversal del testicle on es veu la seva forma reniforme, amb les conductes i vasos sanguinis a la part dorso-central. Blau de toluïdina.
Barra = 400 µm.
 - b. Detall al microscopi òptic dels conductes espermàtics on s'observen diversos centres melanomacrofàgics. Blau de toluïdina. Barra = 400 µm.
 - c. Secció transversal on s'observa clarament l'estructura lobular del testicle. Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
 - d. Lòbuls testiculars amb diferents estadis espermatogènics. Blau de toluïdina.
Barra = 30 µm.
 - e. Espermatides i espermatozoides barrejats a la llum del lòbul, amb les cèl·lules de Sertoli a les seves parets. PAS. Barra = 30 µm.
 - f. Detall al microscopi electrònic de transmissió d'una espermatida i diversos espermatozoides barrejats i lliures a la llum del lòbul. Barra = 3 µm.
-
-

Abreviatures:

c: conducte testicular principal

cm: centre melanomacrofàgic

S: cèl·lula de Sertoli

Sc₁: espermatòcit primari

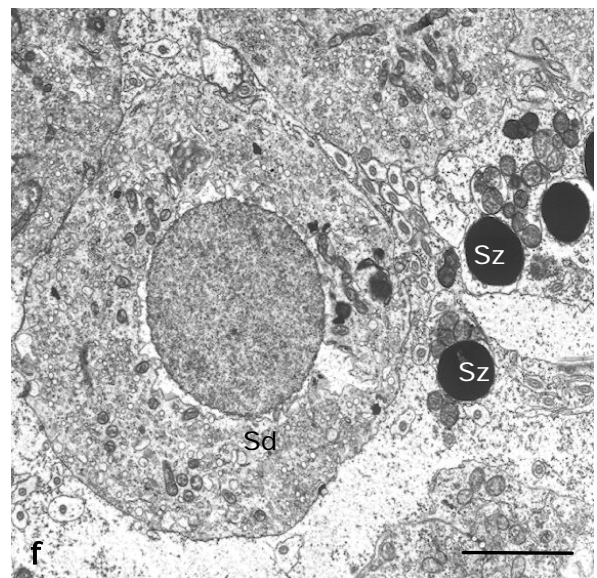
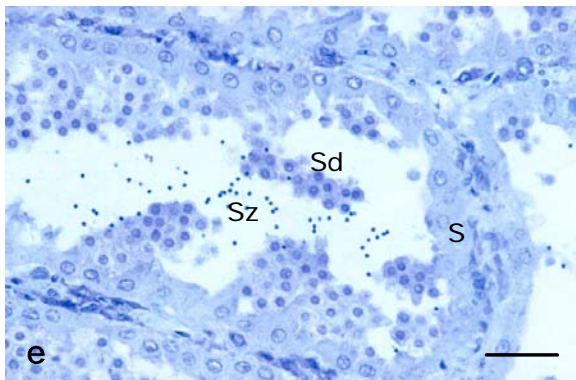
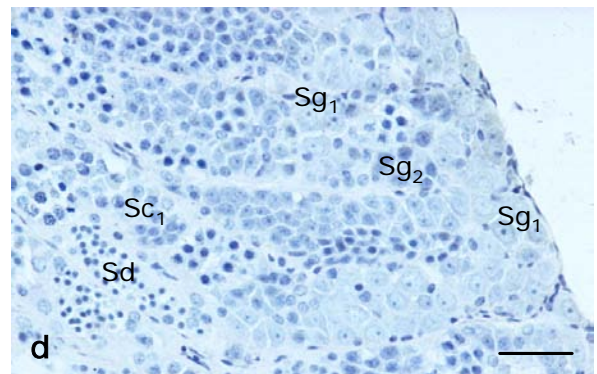
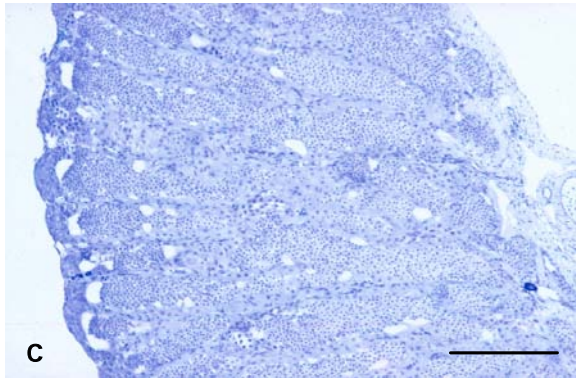
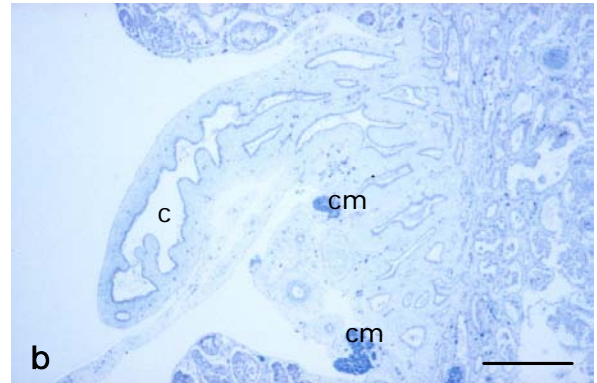
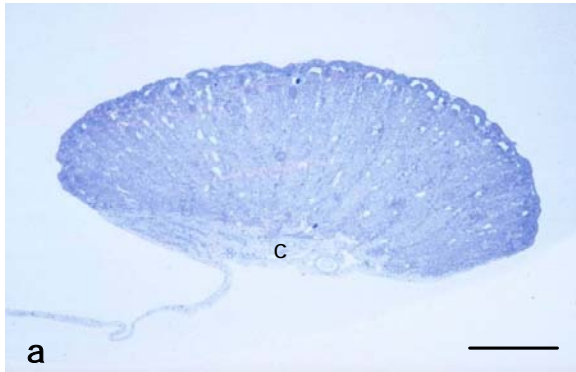
Sd: espermatida

Sg₁: espermatogònia primària

Sg₂: espermatogònia secundària

Sz: espermatozoide

LÀMINA 11



5.2.2. ESPERMATOGÈNESI

S. porcus

Cèl·lules germinals

Espermatocitogènesi

Les espermatogònies primàries (Fig. 12a) són les cèl·lules germinals més grans del testicle. Apareixen normalment en petits grups, sobretot a la perifèria del testicle als extrems cecs dels lòbuls, tot i que també se'n localitzen al llarg dels lòbuls testiculars (Fig. 10c). Són cèl·lules de forma ovalada amb un nucli central també ovalat, amb un nuclèol prominent. La cromatina és granulada i poc homogènia. El citoplasma conté una gran quantitat de mitocondris no molt grans, amb poques crestes lamel·lars i matriu molt laxa. També presenta "nuage" al voltant del nucli, abundant reticle endoplasmàtic llis i una làmina anellada molt evident i en forma esfèrica (Fig. 12b).

Les espermatogònies secundàries (Fig. 12c,d) constitueixen ja un cist i estan interconnectades entre elles per ponts intercel·lulars, resultat d'una citoquinesis incompleta. Són cèl·lules arrodonides amb un nucli esfèric central i un nuclèol prominent. La cromatina presenta diferents graus de condensació en funció de l'etapa mitòtica en la que es trobin. El número de mitocondris ha disminuït en relació a l'estadi anterior, tot i que continuen essent molt nombrosos, majoritàriament arrodonits i amb poques crestes. El citoplasma també presenta complex de Golgi, ribosomes i reticle endoplasmàtic llis. No es torna a observar la làmina anellada present l'estadi anterior, i el "nuage" també és quasi inexistent.

Meiosi

Quan les espermatogònies secundàries repliquen el seu DNA i entren a la profase de la meiosi, esdevenen espermatòcits primaris (Fig. 12e,g). Aquests són cèl·lules de mida similar a la última generació d'espermatogònies secundàries i presenten un nucli esfèric gros, la morfologia del qual varia molt al llarg de la profase. L'espermatòcit primari s'identifica per la compactació de la cromatina i la formació dels complexos sinaptonèmics (Fig. 12f). Aquests complexos comencen a aparèixer en el zigotè prop de l'embolcall nuclear (Fig. 12e), i van penetrant cap al centre del nucli fins a l'estadi del paquitè (Fig. 12g), quan acaben de formar-se totalment. Cal destacar que en el

nucli encara s'hi continua observant fins a dos nuclèols situats al costat de la membrana nuclear, un de més gran i difós i l'altre més petit i electrodens. Els mitocondris són més escassos però més grossos, amb més crestes lamel·lars i més arrodonits que en l'estadi anterior. Es manté la presència de làmina anellada i el reticle endoplasmàtic llis continua essent molt abundant, sobretot al voltant del nucli ; en canvi, és difícil d'observar el complex de Golgi. Aquestes cèl·lules continuen connectades entre elles per ponts intercel·lulars.

Els espermatòcits secundaris (Fig. 13a) són cèl·lules més petites que les anteriors. El nucli també es redueix molt i la cromatina es compacta de forma molt heterogènia. Algunes vegades encara s'hi pot distingir lleugerament un nuclèol gran i difús. El citoplasma és molt similar a l'espermatòcit primari, conté reticle endoplasmàtic llis, grans mitocondris de matriu laxa i algun complex de Golgi.

Espermiogènesi

Les espermatides són cèl·lules que varien molt de mida i forma al llarg de tot el procés d'espermiació, que en aquesta espècie es dona fora del cist, a la llum del lòbul.

Les espermatides inicials (Fig. 13b) són cèl·lules que encara mantenen un nucli força gran i molt rodó, normalment en posició central amb un nuclèol excèntric gran i difús. El citoplasma es caracteritza per tenir una gran quantitat de reticle endoplasmàtic llis al costat del nucli, quasi sempre agrupat en un pol de la cèl·lula. Els mitocondris són completament diferents als dels estadis anteriors: són petits, cilíndrics i solen trobar-se més o menys agrupats a les zones on no hi ha reticle endoplasmàtic llis. També presenten una gran quantitat de lisosomes, complex de Golgi i vacúols. Cal esmentar que en molts casos s'ha observat com aquestes cèl·lules absorben productes localitzats en el lumen (Fig. 13e). En aquest moment del desenvolupament la majoria d'aquestes cèl·lules encara es troben estretament unides, tant per ponts citoplasmàtics com per interdigitacions (Fig. 13b,c).

En un estadi més avançat, els dos centríols col·locats de forma pràcticament coaxial es desplacen cap a la perifèria del citoplasma on es formarà el flagel (Figs. 13d,f). El cos basal va arrossegant el flagel fins a ancorar-lo a la fossa nuclear que s'ha format prèviament, a on s'hi troba el centríol proximal (Figs. 14a, 14b, 14c). A partir d'aquest moment la cromatina es comença a condensar de forma heterogènia des de la fossa nuclear cap amunt, i els mitocondris es van desplaçant cap al voltant de la base del flagel per formar la peça intermèdia (Figs. 14d-f, 15a). Tot seguit, la resta de citoplasma també es desplaça cap al voltant del flagel. En aquest nivell del procés

d'espermioogènesi, les espermatides perden el contacte entre elles atès que desapareixen els ponts intercel·lulars.

Al llarg de tot el procés d'espermioogènesi, la composició del citoplasma va variant. Hi ha una disminució important del reticle endoplasmàtic llis i de les vesícules i lisosomes, i encara es pot observar algun complex de Golgi. Conté també reticle endoplasmàtic rugós de forma dispersa i s'observa de forma molt continuada làmina anellada al costat de l'embolcall nuclear. Els mitocondris passen de tenir forma cilíndrica a tenir forma arrodonida.

L'espermatida final es caracteritza per tenir el nucli totalment compactat i una menor quantitat de citoplasma quasi bé sense orgànuls (Figs. 15b,c). El procés d'espermioogènesi s'acaba amb l'eliminació de tot el citoplasma residual.

L'espermatzoide (Figs. 15d,e) presenta un cap lleugerament allargat sense acrosoma. En el nucli la cromatina és homogènia i altament compactada. La peça intermèdia té una longitud de 0,78 μm (\pm 0,32) i està formada pels dos centríols en posició coaxial i dos anells mitocondrials d'entre 8 i 9 mitocondris (Fig. 15f). Aquests són arrodonits, amb crestes lamel·lars i matriu molt densa. La cua o flagel presenta la configuració axonèmica típica: dos microtúbuls centrals i nou doblets perifèrics envoltat per una membrana flagelar (Fig. 15f). Aquesta membrana presenta dues projeccions lamel·lars (aletes) que es poden observar tant en un tall transversal com longitudinal.

Cèl·lules de Sertoli

Les cèl·lules de Sertoli sempre es localitzen sobre la membrana basal que delimita el lòbul testicular. A l'inici de l'espermatogènesi rodegen les espermatogònies primàries, separant-les les unes de les altres. En aquest moment presenten un nucli pleomòrfic (fusiforme o triangular), amb la cromatina molt heterogènia i un nuclèol petit, poc definit. El citoplasma és molt lax, amb poc reticle endoplasmàtic llis, i escassos mitocondris petits, de matriu poc electrodensa (Fig. 16a).

A partir de l'estadi d'espermatogònia secundària i fins a espermatòcit, els processos citoplasmàtics de les cèl·lules de Sertoli envolten les cèl·lules germinals formant el què es coneix com espermatocist o cist. Entre les cèl·lules de Sertoli d'un mateix cist s'estableix un contacte molt íntim per interdigitacions (Fig. 16d). Al llarg d'aquest període el nucli s'allarga i el citoplasma es va fent més electrodens. El reticle

endoplasmàtic llis augmenta progressivament, igual que el nombre de mitocondris, i apareix un complex de Golgi prominent (Figs. 16b,c).

Durant la meiosi es perden les unions entre cèl·lules de Sertoli que formen un mateix cist i els espermatòcits són alliberats a la llum del lòbul, on s'acabaran de desenvolupar fins a esdevenir espermatozoides (Fig. 16e). A partir d'aquest moment aquestes cèl·lules s'hipertrofiën i es converteixen en cèl·lules columnars que ressegueixen la llum del lòbul, sempre recolzades sobre la membrana basal (Figs. 16f, 17a,b). S'uneixen les unes amb les altres per interdigitacions i, a la part apical, per unions fortes (Figs. 17a,d). El nucli passa a situar-se a la meitat de la cèl·lula, la cromatina deixa d'estar tan compactada, i en alguns casos s'observa un nuclèol excèntric. El citoplasma presenta molts mitocondris petits i electrodensos, ribosomes, reticle endoplasmàtic rugós, reticle endoplasmàtic llis i complex de Golgi. A la part apical hi destaquen sovint grans lisosomes, vacúols, grànuls de secreció i vesícules picnócítiques. S'ha observat en moltes ocasions cèl·lules de Sertoli fagocitant espermatozoides (Fig. 17e) i altres cossos residuals (Fig. 17d), així com també processos d'exocitosi (Fig. 17b,c).

Taula 9. Evolució dels diàmetres nuclears al llarg de l'espermatogènesi de *S. porcus*. (n: número d'òcits mesurats; SE: error estàndard)

Estadis	n	Diàmetre ($\mu\text{m} \pm \text{SE}$)
Espermatogònia 1ària	11	6,32 \pm 0,31
Espermatogònia 2ària	13	6,27 \pm 0,30
Espermatòcit 1àri	51	7,17 \pm 0,13
Espermatòcit 2àri	20	4,25 \pm 0,26
Espermàtida	74	4,17 \pm 0,71
Espermatozoide	45	1,65 \pm 0,18

LÀMINA 12

ESPERMATOGÈNESI DE *S. porcus*

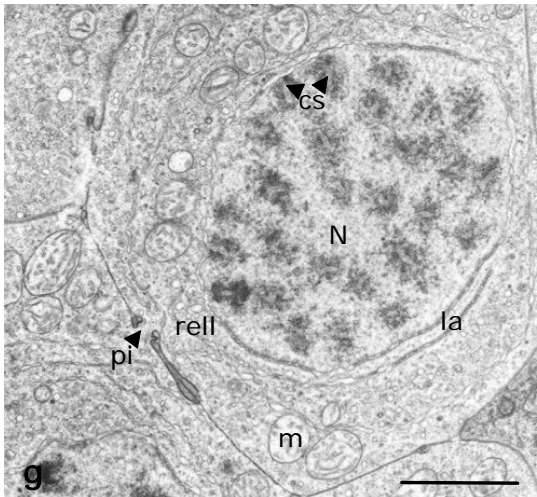
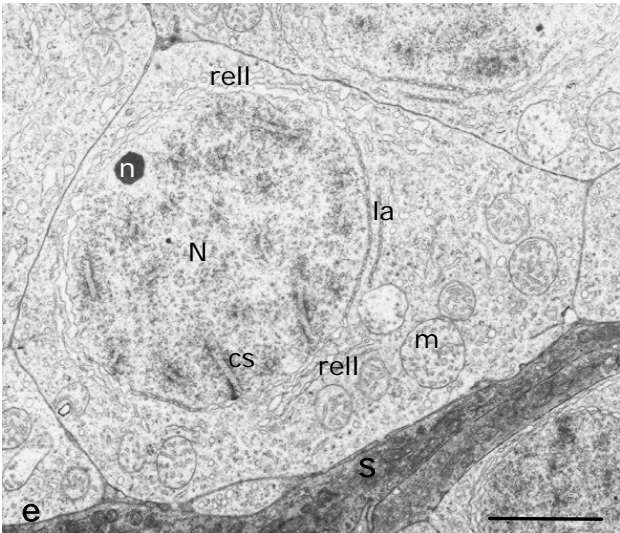
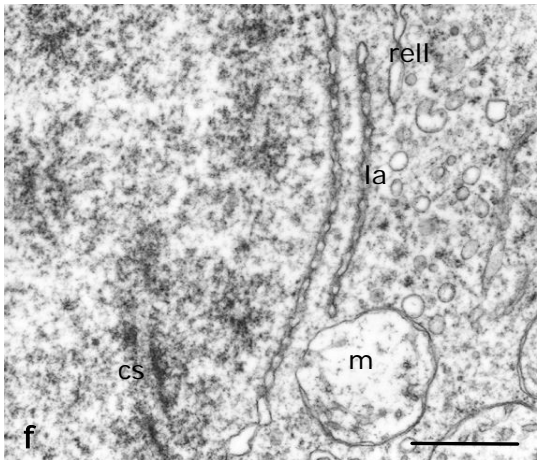
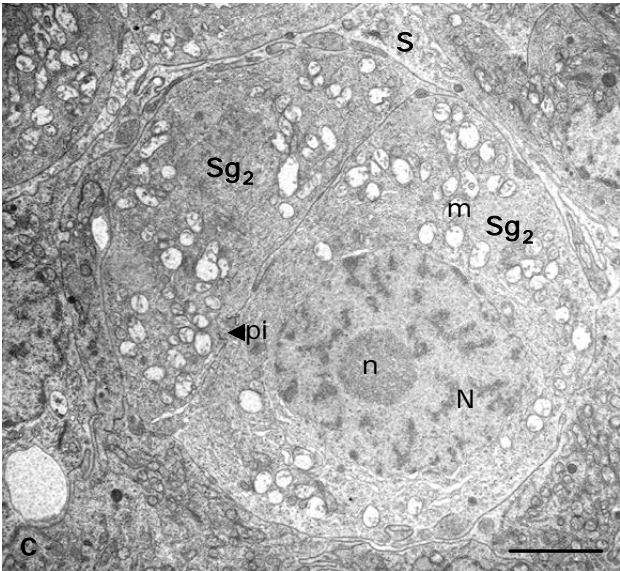
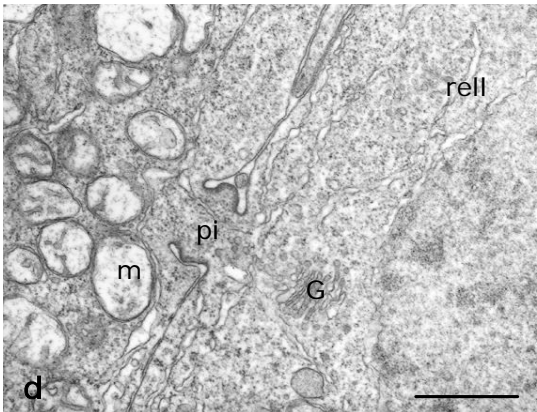
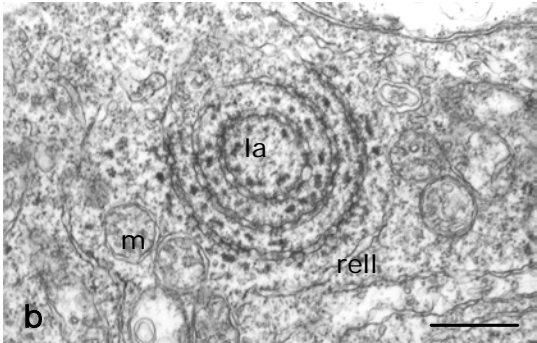
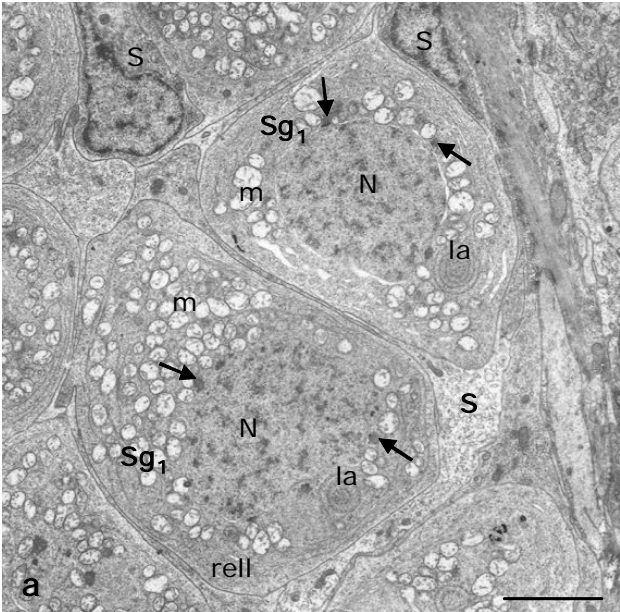
- a. Espermatogònies primàries envoltades per processos citoplasmàtics de les cèl·lules de Sertoli. Les fletxes assenyalen el material "nuage" situat al voltant del nucli.
Barra = 4 μm .
 - b. Detall de la làmina anellada de les espermatogònies primàries de la figura anterior.
Barra = 0,5 μm .
 - c. Ultraestructura d'una espermatogònia secundària. Barra = 3 μm .
 - d. Detall d'un pont intercel·lular que uneix les dues espermatogònies secundàries de la figura anterior. Barra = 2 μm .
 - e. Espermatòcit primari en estadi de zigotè. Barra = 3 μm .
 - f. Detall d'un complex sinaptonèmic i de la làmina anellada de l'espermatòcit de la figura anterior. Barra = 1 μm .
 - g. Pont intercel·lular que uneix dos espermatòcits primaris en estadi de paquitè.
Barra = 3 μm
-
-

Abreviatures:

cs: complex sinaptonèmic
G: complex de Golgi
la: làmina anellada
m: mitocondri
N: nucli
n: nuclèol

pi: pont intercel·lular
rell: reticle endoplasmàtic llis
S: cèl·lula de Sertoli
Sg₁: espermatogònia primària
Sg₂: espermatogònia secundària

LÀMINA 12



LÀMINA 13

ESPERMATOGÈNESI DE *S. porcus*

-
-
- a. estructura d'un espermatòcit secundari. Barra = 1 μm .
 - b. Espermàtides molt inicials. Barra = 2 μm .
 - c. Detall d'un pont intercel·lular entre dues espermàtides inicials. Barra = 1 μm .
 - d. Espermàtida en la fase de formació del flagel. Barra = 2 μm .
 - e. Detall dels processos d'absorció de substàncies del lumen per part d'espermàtides. Barra = 1 μm .
 - f. Detall del cos basal de la figura d. Barra = 0,5 μm .
-
-

Abreviatures:

cb: cos basal

G: complex de Golgi

f: flagel

li: lisosoma

m: mitocondri

N: nucli

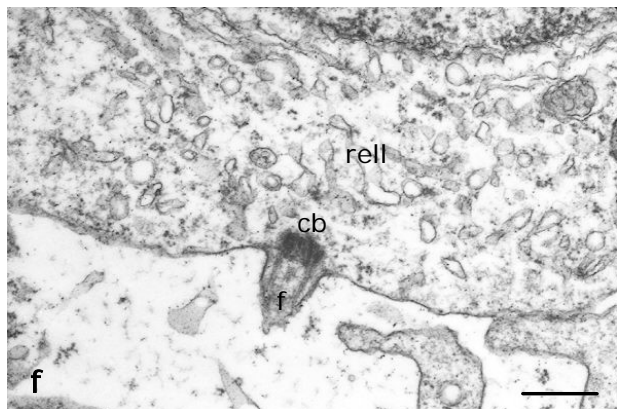
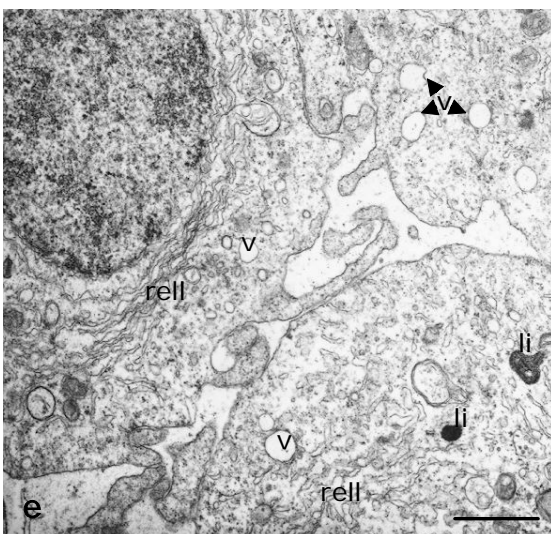
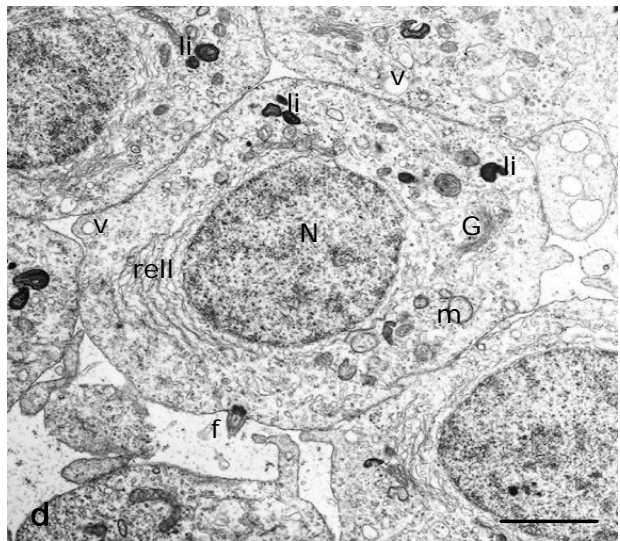
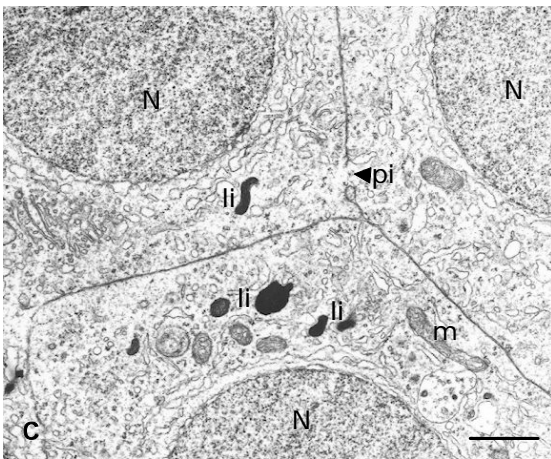
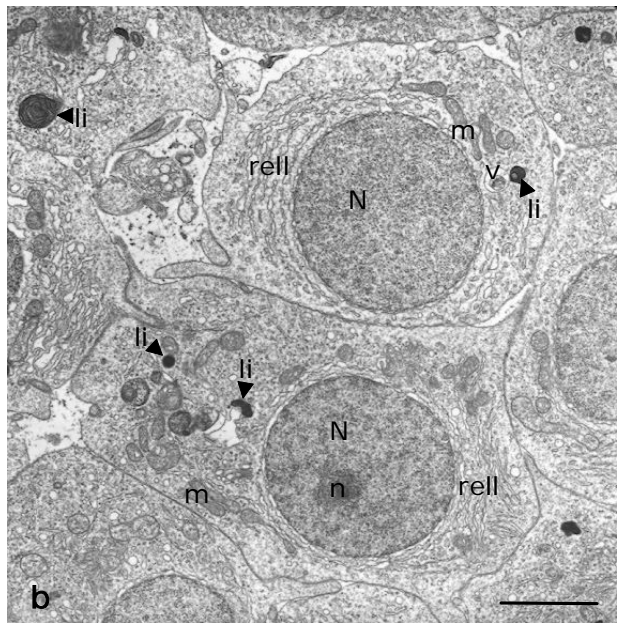
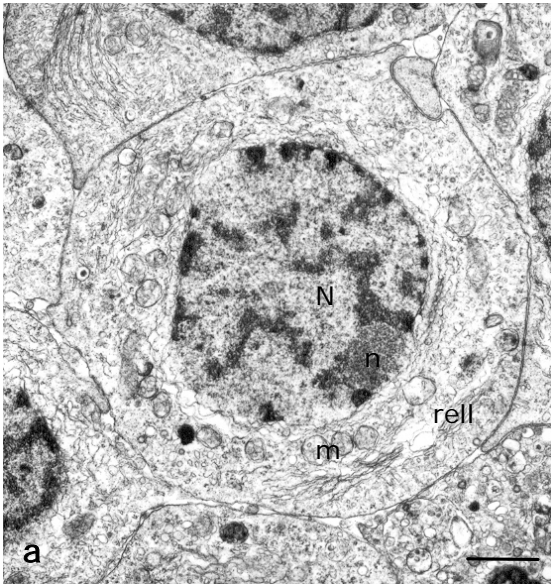
n: nuclèol

pi: pont intercel·lular

rell: reticle endoplasmàtic llis

v: vacúol

LÀMINA 13



LÀMINA 14

ESPERMATOGÈNESI DE *S. porcus*

Espermiogènesi

-
-
- a.** Espermàtida en una fase més avançada, on s'observen de forma molt clara la disposició del cos basal i el centríol proximal. Barra = 2 µm.
- b-c.** Migració dels mitocondris cap al flagel. Barra = 2 µm.
- d-e.** Diferents etapes de la condensació de la cromatina del nucli de l'espermàtida. Barra d = 3µm; Barra e = 2 µm.
- f.** Tall transversal d'una espermàtida final on s'observa l'anell de mitocondris. Barra = 1 µm.
-
-

Abreviatures:

cb: cos basal

cp: centríol proximal

G: complex de Golgi

f: flagel

la: làmina anellada

li: lisosoma

m: mitocondri

N: nucli

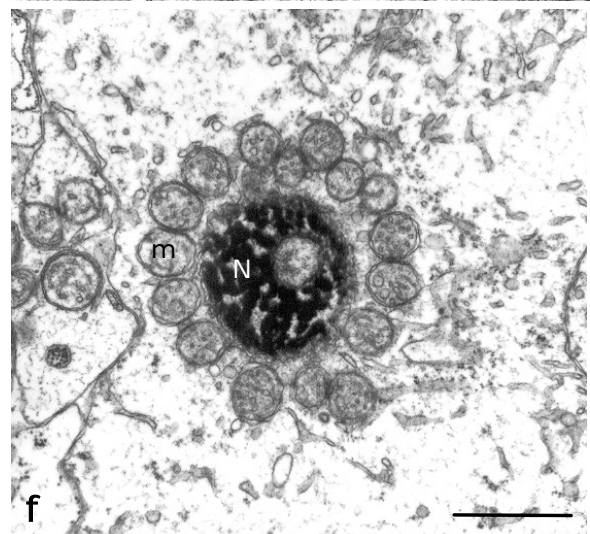
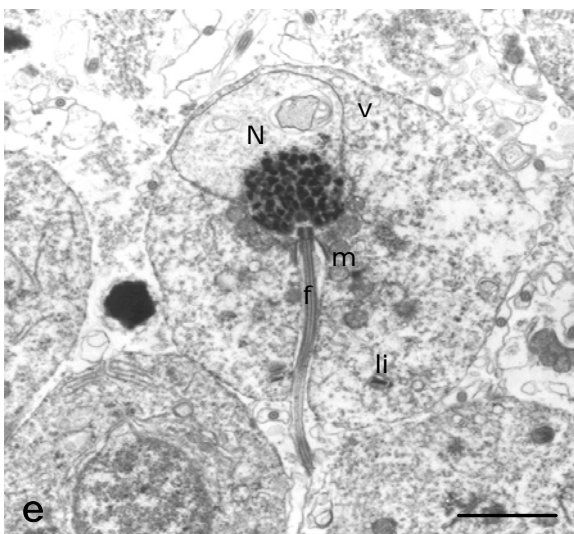
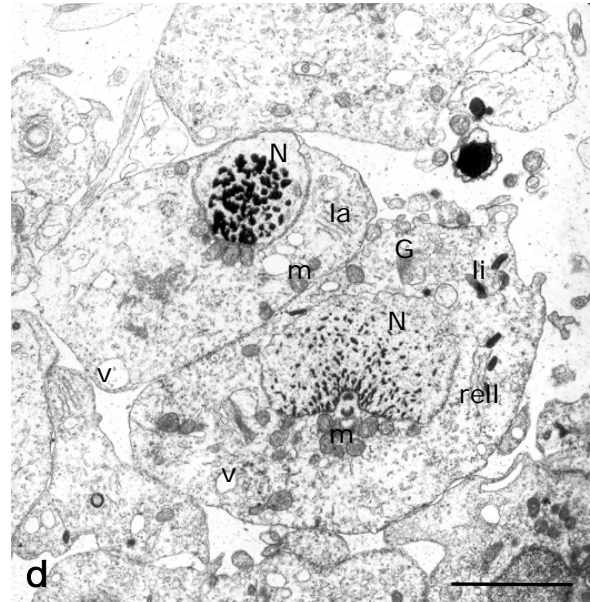
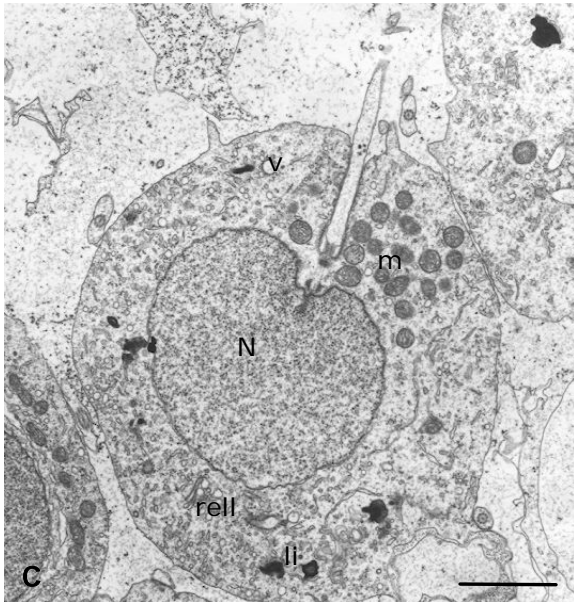
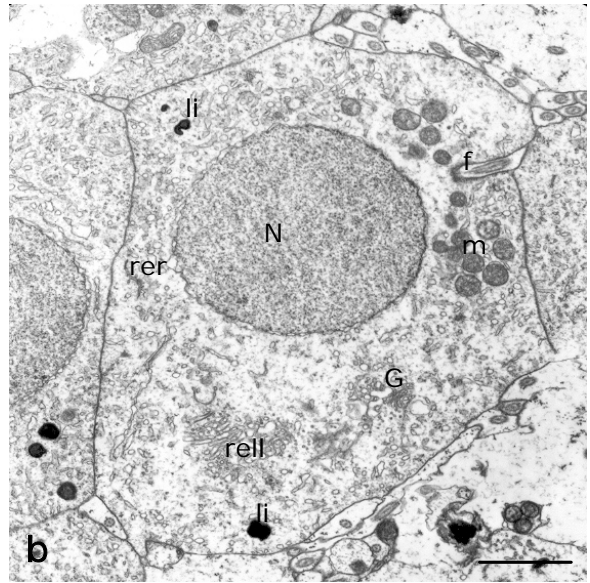
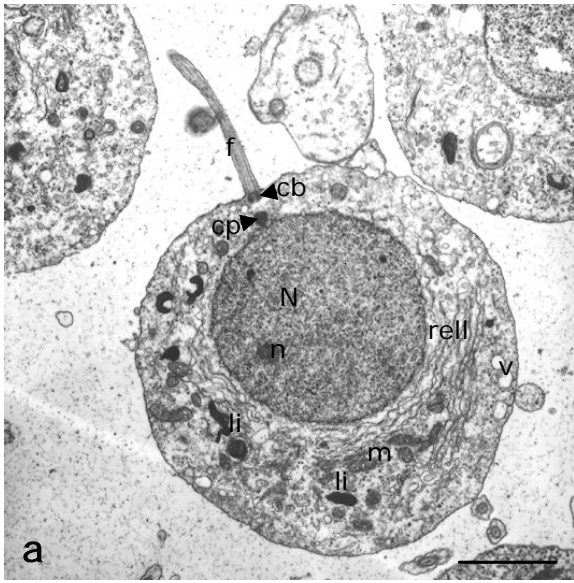
n: nuclèol

rell: reticle endoplasmàtic llis

rer: reticle endoplasmàtic rugós

v: vacúol

LÀMINA 14



LÀMINA 15

ESPERMATOGÈNESI DE *S. porcus*

Espermiogènesi

a-c. Espermatides finals. Barra = 2 µm.

d-e. Ultraestructura d'un espermatozoide. Barra = 1 µm.

f. Secció transversal de la peça intermèdia de l'espermatozoide. Barra = 0,5 µm.

Abreviatures:

f: flagel

li: lisosoma

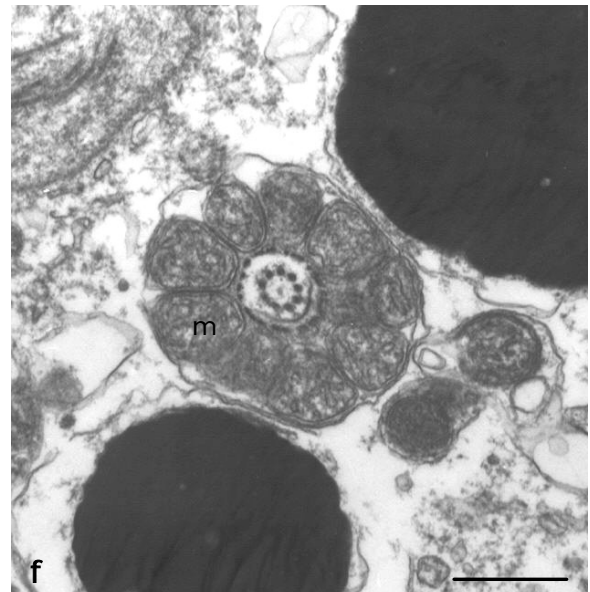
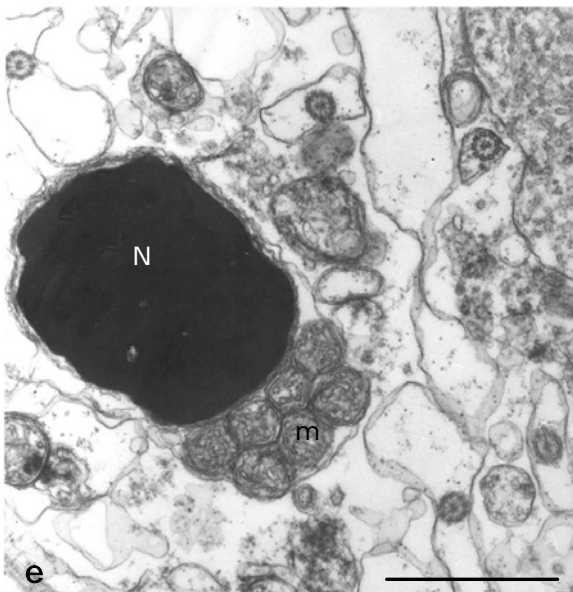
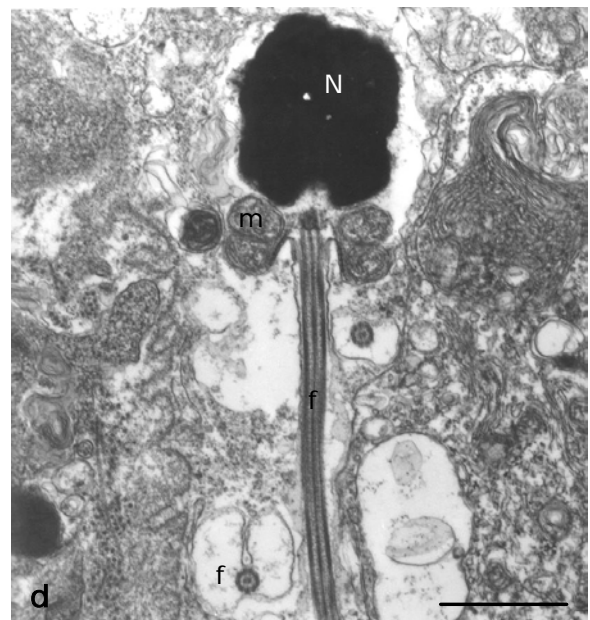
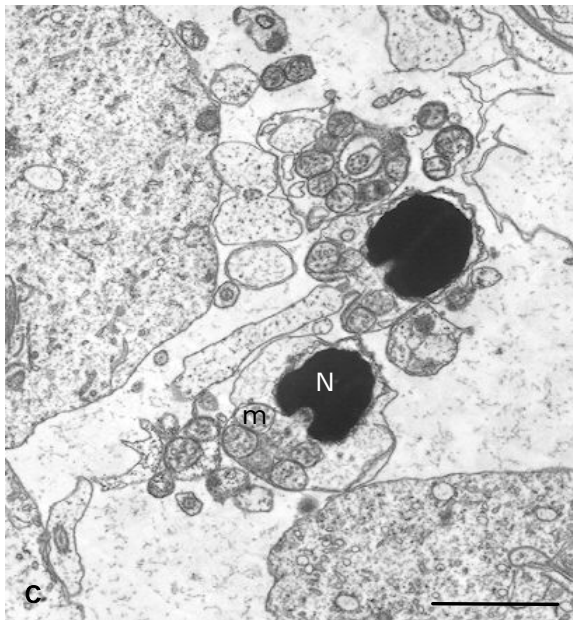
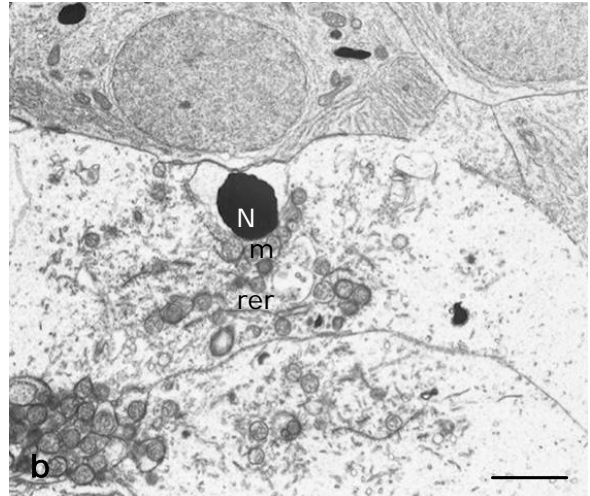
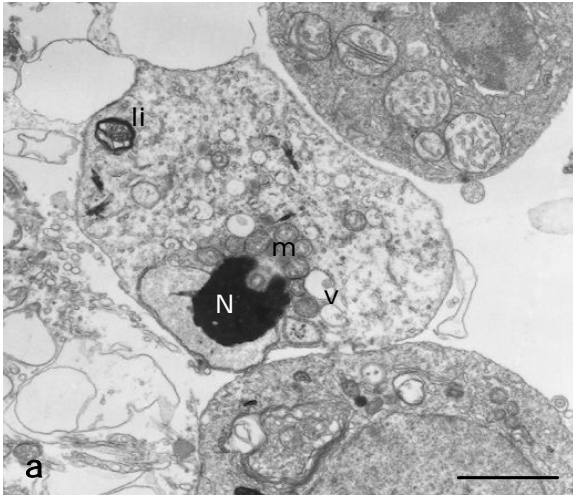
m: mitocondri

N: nucli

rer: reticle endoplasmàtic rugós

v: vacúol

LÀMINA 15



LÀMINA 16

ESPERMATOGÈNESI DE *S. porcus*

Cèl·lules de Sertoli

-
-
- a. Cèl·lula de Sertoli situada a l'extrem cec del lòbul embolcallant les espermatogònies primàries. Barra = 1 μm .
 - b. Detall d'una cèl·lula de Sertoli que forma un cist d'espermatogònies secundàries. Barra = 1 μm .
 - c. Cèl·lula de Sertoli formant un cist d'espermatòcits primaris. Barra = 3 μm .
 - d. Detall de les interdigitacions que es formen entre cèl·lules de Sertoli. Barra = 2 μm .
 - e. Cist en procés de trencament al costat de cèl·lules germinals que ja es troben lliures en el lumen. Barra = 6 μm .
 - f. Cèl·lules de Sertoli formant un cist d'espermatòcits primaris i el mateix tipus de cèl·lules quan ja no formen cist situades sobre la membrana basal, amb espermatides a la llum del lòbul. Barra = 6 μm .
-
-

Abreviatures:

G: complex de Golgi

li: lisosoma

m: mitocondri

N: nucli

rell: reticle endoplasmàtic llis

S: cèl·lula de Sertoli

Sc₁: espermatòcit primari

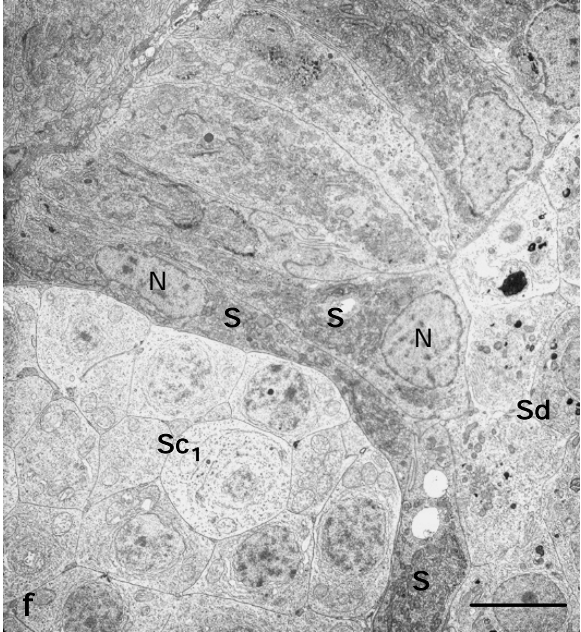
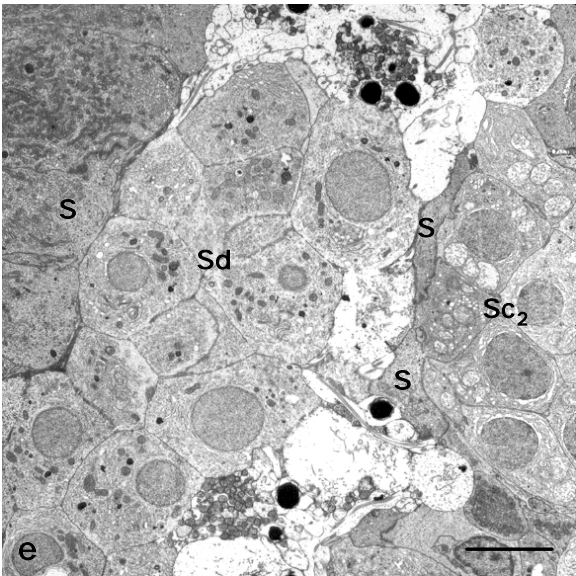
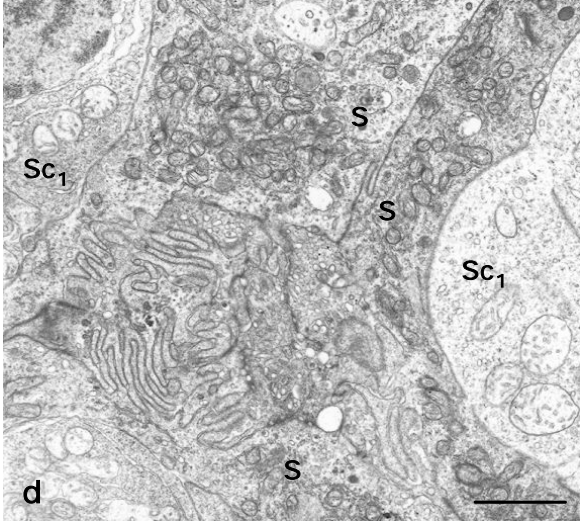
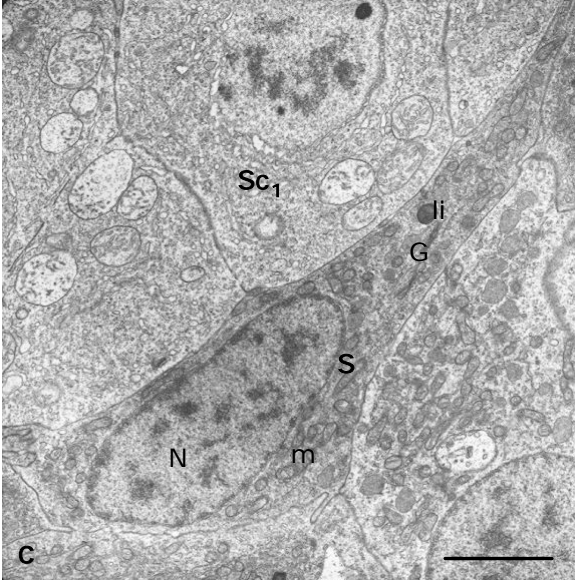
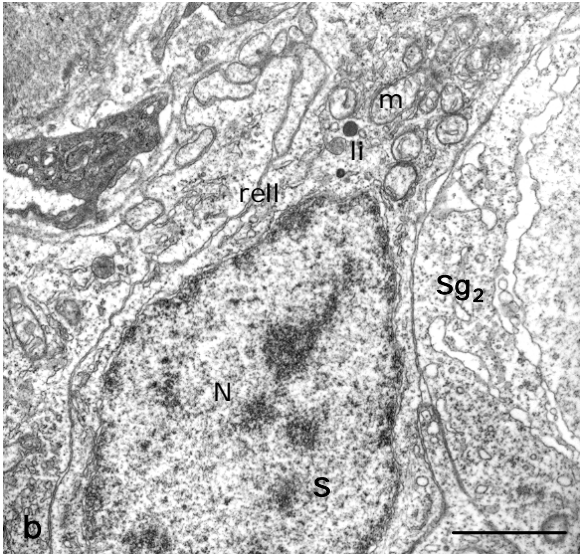
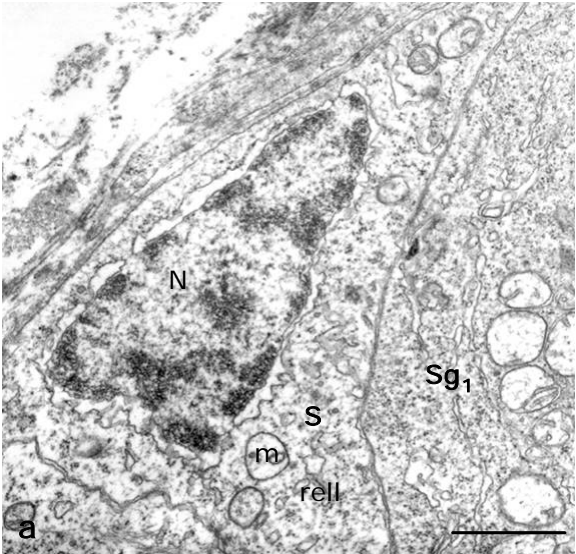
Sc₂: Espermatòcit secundari

Sd: espermatida

Sg₁: espermatogònia primària

Sg₂: espermatogònia secundària

LÀMINA 16



LÀMINA 17

ESPERMATOGÈNESI DE *S. porcus*

Cèl·lules de Sertoli

-
-
- a-b.** Cèl·lules de Sertoli situades a la paret del lòbul. Barra = 6 µm.
- c.** Detall de la part apical de les cèl·lules de Sertoli de la figura anterior. La fletxa assenyala un procés de picnociosi. Barra = 1 µm.
- d.** Cèl·lula de Sertoli fagocitant cossos residuals. Barra = 3 µm.
- e.** Cèl·lula de Sertoli fagocitant un espermatozoide. Barra = 2 µm.
-
-

Abreviatures:

f: flagel

li: lisosoma

m: mitocondri

mb: membrana basal

N: nucli

n: nuclèol

rell: reticle endoplasmàtic llis

S: cèl·lula de Sertoli

Sd: espermàtida

Sz: espermatozoide

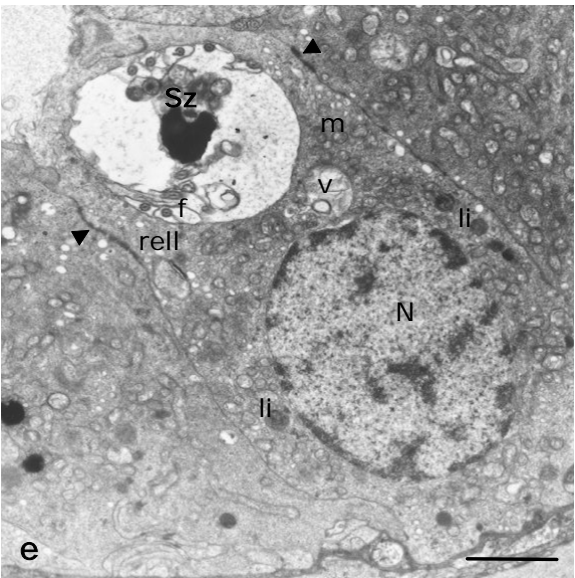
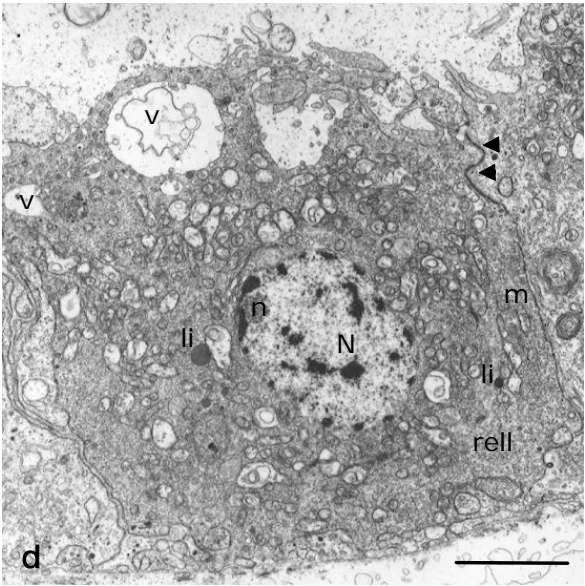
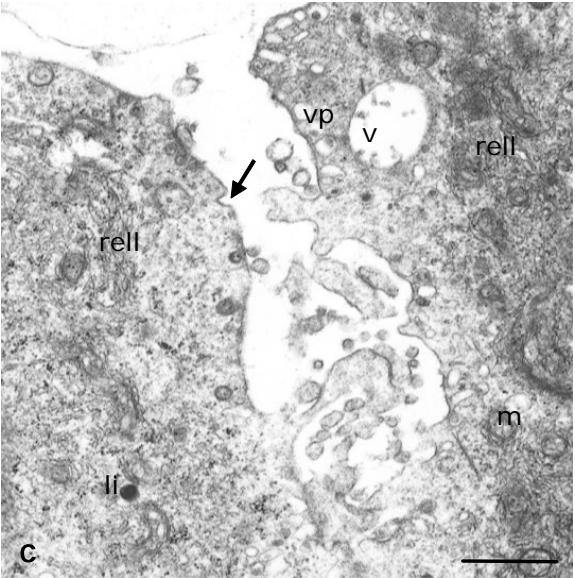
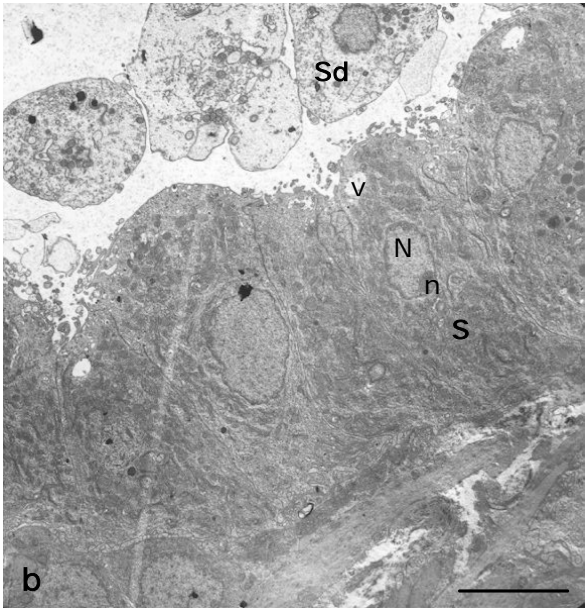
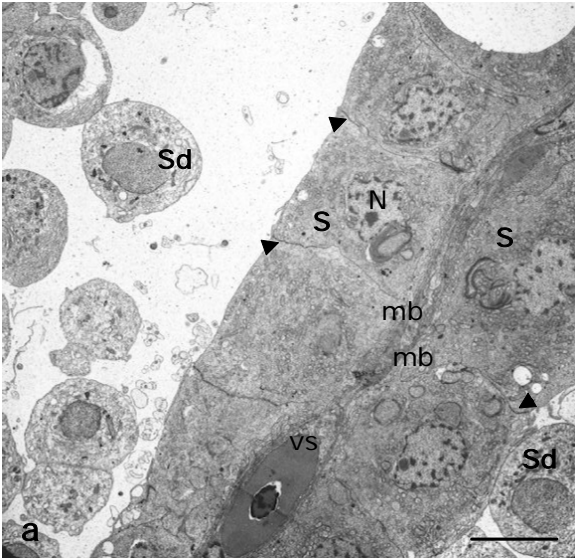
v: vacúol

vp: vesícula picnociosa

vs: vas sanguini

▶: unions fortes

LÀMINA 17



S. scrofa

El procés d'espermatogènesi de *Scorpaena Scrofa* és semblant al de l'espècie anterior, ja que aquest procés tampoc s'acaba dins el cist, sinó que el procés d'espermioogènesi es dona també a la llum del lòbul. De totes maneres, l'alliberament de les cèl·lules germinals sembla que es produeix més tard que en *S. porcus* ja que no s'ha observat cap espermatòcit fora de cist, i en canvi, sí que s'han detectat espermatides encara envoltades per cèl·lules de Sertoli.

Cèl·lules germinals

Espermatocitogènesi

Les espermatogònies primàries (Fig. 18a) són arrodonides i es localitzen sobretot a l'extrem cec dels lòbuls testiculars, tot i que, tal com passa amb l'espècie anterior, se'n poden observar al llarg del lòbul. El nucli és molt rodó, amb cromatina granular i, a diferència de l'espècie anterior, s'hi poden observar dos nuclèols, un de més electrodens que l'altre. Els mitocondris són molt grossos, més que no pas en *S. porcus*, i ocupen quasi tot el citoplasma. Tenen molt poques crestes lamel·lars i una matriu molt laxa. El "nuage" és molt abundant i es localitza normalment al voltant del nucli i entre mitocondris (ciment intermitocondrial). També presenta algun reticle endoplasmàtic llis i complex de Golgi.

Les espermatogònies secundàries (Fig. 18b) es troben ja dins un cist connectades entre elles per ponts intercitoplasmàtics. Són rodones, amb nucli esfèric, cromatina més heterogènia i mantenen els dos nuclèols. El nombre i mida dels mitocondris ha disminuït, i la forma és més allargada que en l'estadi anterior. El material "nuage" també es redueix considerablement, sobretot al voltant del nucli; en canvi, el reticle endoplasmàtic llis és abundant al llarg de tot el citoplasma.

Meiosi

L'espermatòcit primari (Figs. 18c,d) és molt similar al de *S. porcus*. Té un nucli molt rodó, amb els dos nuclèols presents en els estadis anteriors (Fig. 18d), i en l'estadi de paquitè es fan molt evidents els complexos sinaptonèmics (Fig. 18e). El reticle endoplasmàtic llis continua essent abundant en tot el citoplasma i, a diferència de *Scorpaena porcus*, els mitocondris són petits i allargats. Encara es mantenen els ponts intercitoplasmàtics.

No s'han observat espermatòcits secundaris. De fet, aquest estadi en general és força difícil de detectar perquè el temps entre la primera i la segona divisió mitòtica és molt curt.

Espermiogènesi

L'espermatida inicial s'ha observat tant dins com fora d'un cist (Figs. 18f,g), per tant és en aquest estadi quan es dona l'alliberació de les cèl·lules germinals a la llum del lòbul. Són cèl·lules arrodonides, amb el nucli molt rodó i que encara manté els dos nuclèols. El citoplasma presenta mitocondris petits i allargats, complex de Golgi, lisosomes i moltes vesícules de reticle endoplasmàtic llis (Fig. 19a). Dins el cist es mantenen els ponts intercel·lulars, però un cop les espermatides són alliberades, van perdent progressivament aquestes connexions tot i que mantenen durant força temps contacte per interdigitacions. Les espermatides inicials que ja es troben a la llum del lòbul tenen els mitocondris més allargats i més quantitat de lisosomes i vacúols que les que encara no s'han alliberat (Figs. 18f,g).

Un cop a la llum del lòbul, els centríols es desplacen cap a la membrana cel·lular on es formarà el flagel (Fig. 19b,c). El cos basal arrossega el flagel fins a ancorar-lo a la fossa nuclear, molt més profunda que no pas la de *S. porcus*. Simultàniament la cromatina es comença a condensar de forma heterogènia des de la fossa cap amunt, i els mitocondris es van desplaçant cap a la base del flagel per formar la peça intermèdia (Figs. 19d-f). Cal esmentar que s'ha pogut observar la formació de fins a 4 flagels per una mateixa cèl·lula, tot i que al final només se n'acaba utilitzant un.

Posteriorment, el citoplasma també es desplaça al voltant de la peça intermèdia. És un citoplasma més lax, ja que es produeix una disminució considerable del reticle endoplasmàtic llis i del nombre de mitocondris. Tot i això presenta un complex de Golgi prominent (Figs. 19g, 20a).

Al final d'aquest procés, la cromatina s'acaba de condensar totalment i s'elimina el citoplasma residual.

L'espermatozoide (Fig. 20b) es caracteritza per tenir un cap rodó i lleugerament aplanat, ben diferent del de *S. porcus*, i amb algunes zones on la cromatina no s'ha condensat. La fossa nuclear és molt profunda i arriba fins pràcticament a la meitat del cap, i els centríols es col·loquen en posició totalment coaxial. La peça intermèdia és molt llarga, 1,57 μm ($\pm 0,40$), més que no pas el cap, i està formada per tres fileres

de 8 mitocondris cadascuna (Fig. 20c). El flagel, igual que en la primera espècie, també presenta l'estructura axonèmica típica i les projeccions lamel·lars.

Cèl·lules de Sertoli

A l'inici de l'espermatogènesi, les espermatogònies primàries es troben envoltades per cèl·lules de Sertoli de característiques molt similars a les descrites per *S. porcus*. Presenten un nucli eucromàtic i pleomòrfic, amb un nuclèol molt prominent. El citoplasma és molt lax i s'hi observa reticle endoplasmàtic llis, ribosomes, filaments intermedis i alguns mitocondris (Fig. 21a).

Quan es formen les espermatogònies secundàries, les cèl·lules de Sertoli delimiten el cist que, a diferència de *S. porcus*, es mantindrà fins a l'estadi d'espermàtida inicial. Aquestes cèl·lules s'uneixen entre elles per interdigitacions i continuen tenint un nucli gros, pleomòrfic, i amb un nuclèol prominent en posició central. A mesura que va avançant el procés d'espermatocitogènesi i meiosi, el seu citoplasma cada cop es va fent més electrodens a causa de l'augment de la quantitat d'orgànuls. Incrementen de forma notable el número de mitocondris, el reticle endoplasmàtic llis i els ribosomes, i apareix un Complex de Golgi prominent (Figs. 21b,c).

Tal i com s'ha dit anteriorment, quan les cèl·lules germinals arriben a l'estadi d'espermàtides inicials, el cist es trenca (Figs. 21d) i les cèl·lules germinals s'alliberen a la llum del lòbul on es donarà pràcticament tota l'espermiogènesi. Igual que en el cas de *S. porcus*, les cèl·lules de Sertoli que anteriorment formaven els cists s'hipertrofien, i es converteixen en cèl·lules columnars unides entre sí per interdigitacions i unions fortes que revesteixen la llum del lòbul (Fig. 21e, 21f). El nucli esdevé més rodó i amb un nuclèol central. El citoplasma té les mateixes característiques que quan formava el cist, però amb la presència reticle endoplasmàtic rugós, lisosomes i més mitocondris. Com en l'espècie anterior, també s'han observat processos de fagocitosi de cossos residuals i espermatozoides (Fig. 21g).

Taula 10. Evolució dels diàmetres nuclears al llarg de l'espermatogènesi de *S. scrofa*.
(n: número d'òcits mesurats; SE: error estàndard)

Estadis	n	Diàmetre ($\mu\text{m} \pm \text{SE}$)
Espermatogònia 1ària	10	7,33 \pm 0,27
Espermatogònia 2ària	8	6,66 \pm 0,42
Espermatòcit 1àri	19	7,82 \pm 0,19
Espermàtida	83	4,51 \pm 0,07
Espermatozoide	31	1,37 \pm 0,02

LÀMINA 18

ESPERMATOGÈNESI DE *S. scrofa*

- a. Ultraestructura d'una espermatogònia primària. Barra = 3 μm .
 - b. Espermatogònies secundàries. Barra = 2 μm .
 - c. Espermatòcit primari on s'observen clarament els diferents complexos sinaptonèmics (fletxes). Barra = 3 μm .
 - d. Espermatòcit primari amb els dos nuclèols. Barra = 3 μm .
 - e. Detall al microscopi electrònic de transmissió d'un complex sinaptonèmic. Barra = 0,5 μm .
 - f. Cist d'espermàtides. Barra = 5 μm .
 - g. Espermàtides fora del cist. Barra = 6 μm .
-
-

Abreviatures:

cs: complexa sinaptonèmic

G: complex de Golgi

m: mitocondri

N: nucli

n: nuclèol

pi: pont intercel·lular

rell: reticle endoplasmàtic llis

S: cèl·lula de Sertoli

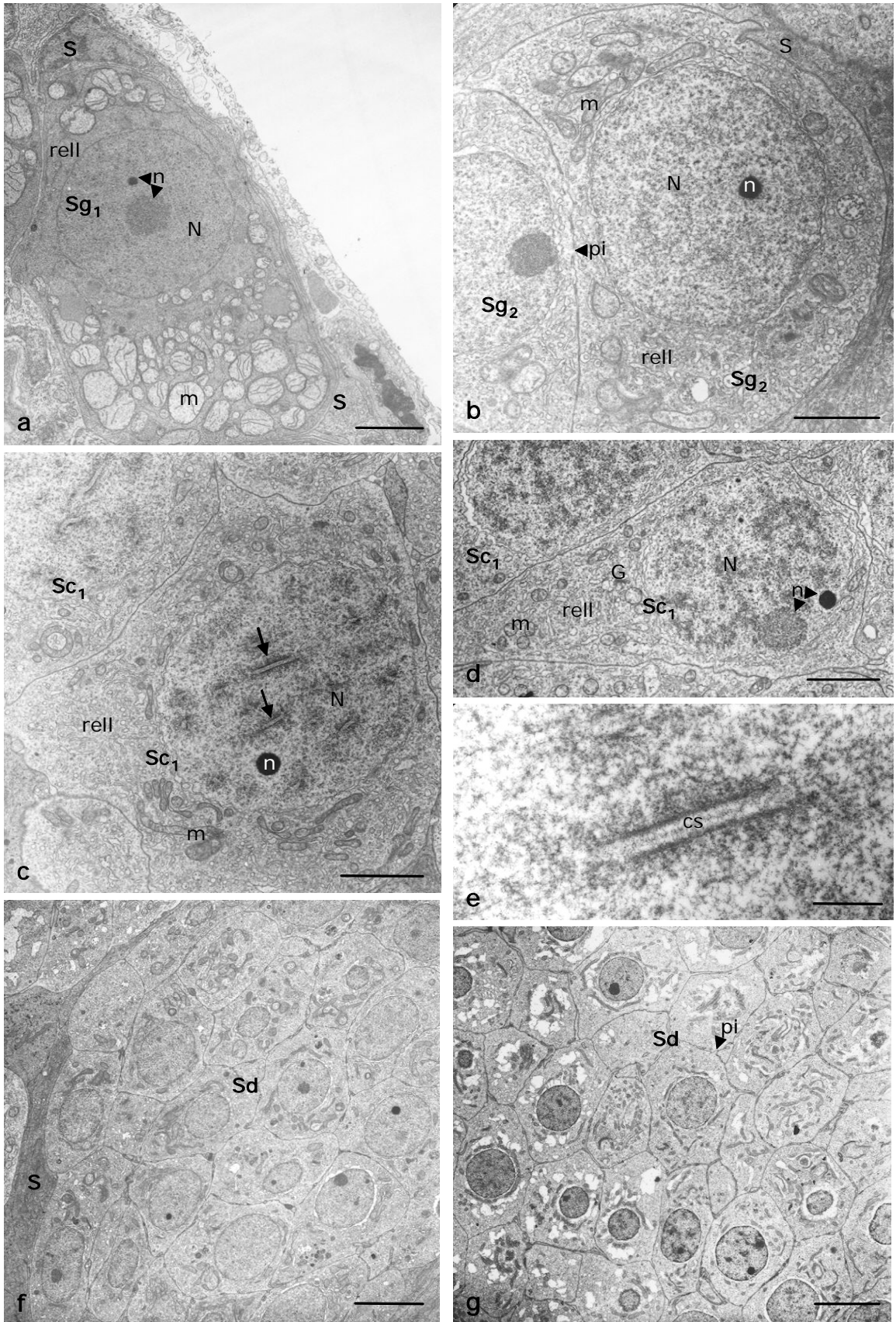
Sc₁: espermatòcit primari

Sd: espermàtida

Sg₁: espermatogònia primària

Sg₂: espermatogònia secundària

LÀMINA 18



LÀMINA 19

ESPERMATOGÈNESI DE *S. scrofa*

Espermiogènesi

-
-
- a. Ultraestructura d'una espermàtida molt inicial. Barra = 2 µm.
 - b. Espermàtida amb els centríols prop de la membrana plasmàtica. Barra = 3 µm.
 - c. Detall dels centríols de la figura anterior. Barra = 1 µm.
 - d. Espermàtida on la cromatina del nucli es comença a condensar i els mitocondris es desplacen cap a la base del flagel. Barra = 3 µm.
 - e. Detall del nucli d'una espermàtida on s'observa clarament la presència d'un nuclèol. Barra = 1 µm.
 - f. Detall de la fossa nuclear d'una espermàtida. Barra = 1 µm.
 - g. Espermàtida on s'observa com el citoplasma es desplaça cap al voltant del flagel. Barra = 3 µm.
-
-

Abreviatures:

c: centríols

cb: cos basal

cp: centríol proximal

f: flagel

G: complex de Golgi

li: lisosoma

m: mitocondri

N: nucli

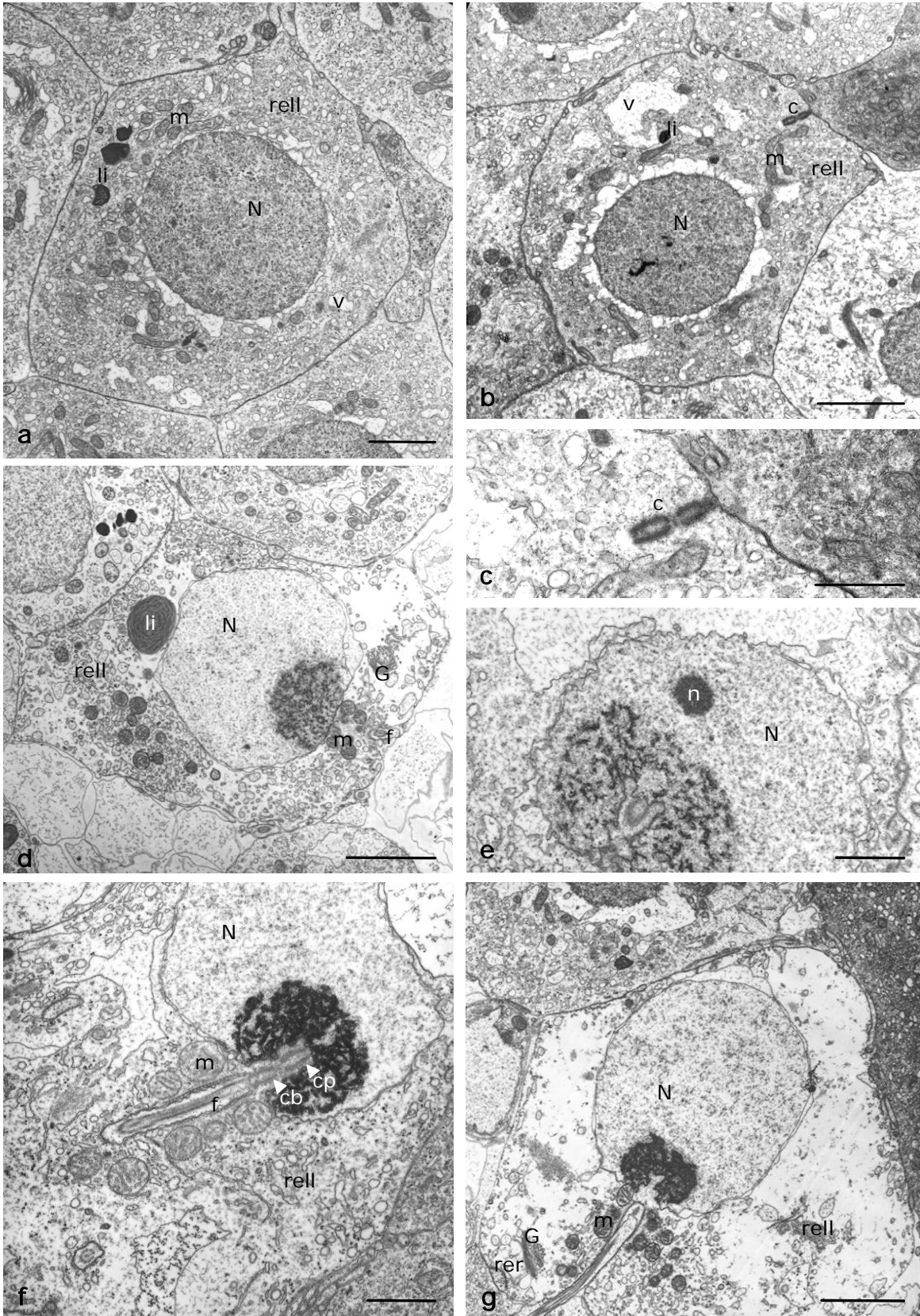
n: nuclèol

rell: reticle endoplasmàtic llis

rer: reticle endoplasmàtic rugós

v: vacúol

LÀMINA 19



LÀMINA 20

ESPERMATOGÈNESI DE *S. scrofa*

Espermiogènesi

-
-
- a. Espermàtida final. Barra = 2 μm .
 - b. Espermatozoide. Barra = 1 μm .
 - c. Secció transversal de la peça intermèdia d'un espermatozoide. Barra = 0,5 μm
-
-

Abreviatures:

A: axonema

cb: cos basal

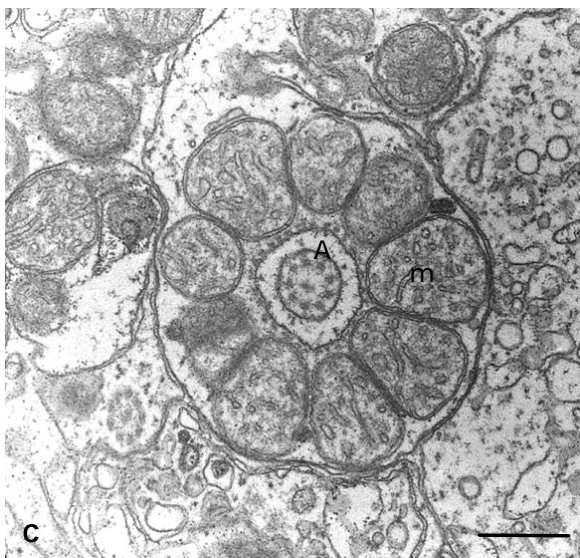
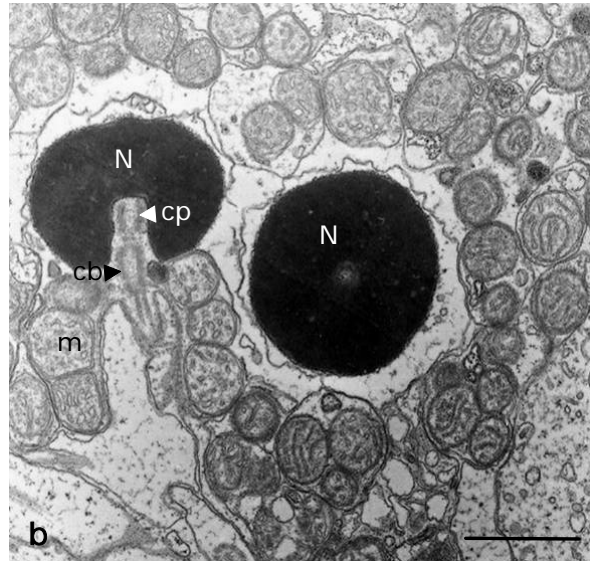
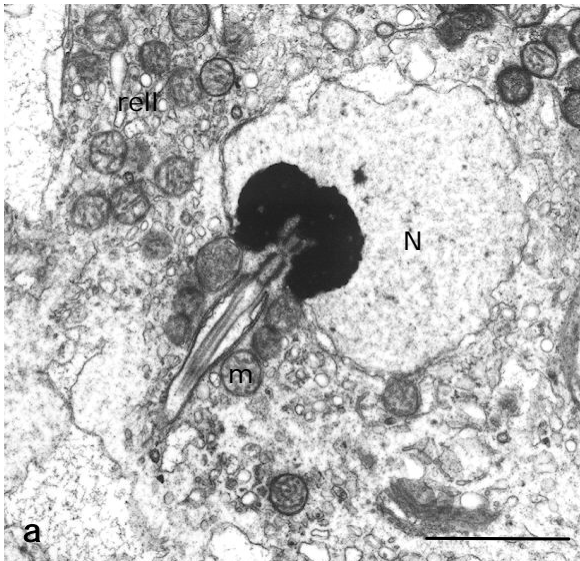
cp: centriol proximal

m: mitocondri

N: nucli

rell: reticle endoplasmàtic llis

LÀMINA 20



LÀMINA 21

ESPERMATOGÈNESI DE *S. scrofa*

Cèl·lules de Sertoli

-
-
- a. Ultraestructura de dues cèl·lules de Sertoli situades a l'extrem cec del lòbul testicular, acompanyant les espermatogònies primàries. Barra = 3 µm.
 - b. Cèl·lula de Sertoli que envolta espermatogònies secundàries. Barra = 3 µm.
 - c. Detall d'una cèl·lula de Sertoli que forma part de dos cists, un d'espermatòcits primaris i un altre d'espermàtides inicials. La fletxa mostra les interdigitacions que es formen entre cèl·lules de Sertoli d'un mateix cist. Barra = 3 µm.
 - d. Electrografia on s'observa la pèrdua de contacte entre dues cèl·lules de Sertoli de diferents cists. Barra = 3 µm.
 - e. Cèl·lules de Sertoli que no formen cap cist situades sobre la membrana basal de la paret del lòbul. Barra = 6 µm.
 - f. Detall d'una cèl·lula de Sertoli hipertrofiada situada a la paret del lòbul. Barra = 4 µm.
 - g. Cèl·lula de Sertoli fagocitant un espermatozoide. Barra = 3 µm.
-
-

Abreviatures:

G: complex de Golgi

li: lisosoma

m: mitocondri

N: nucli

n: nuclèol

rell: reticle endoplasmàtic llis

S: cèl·lula de Sertoli

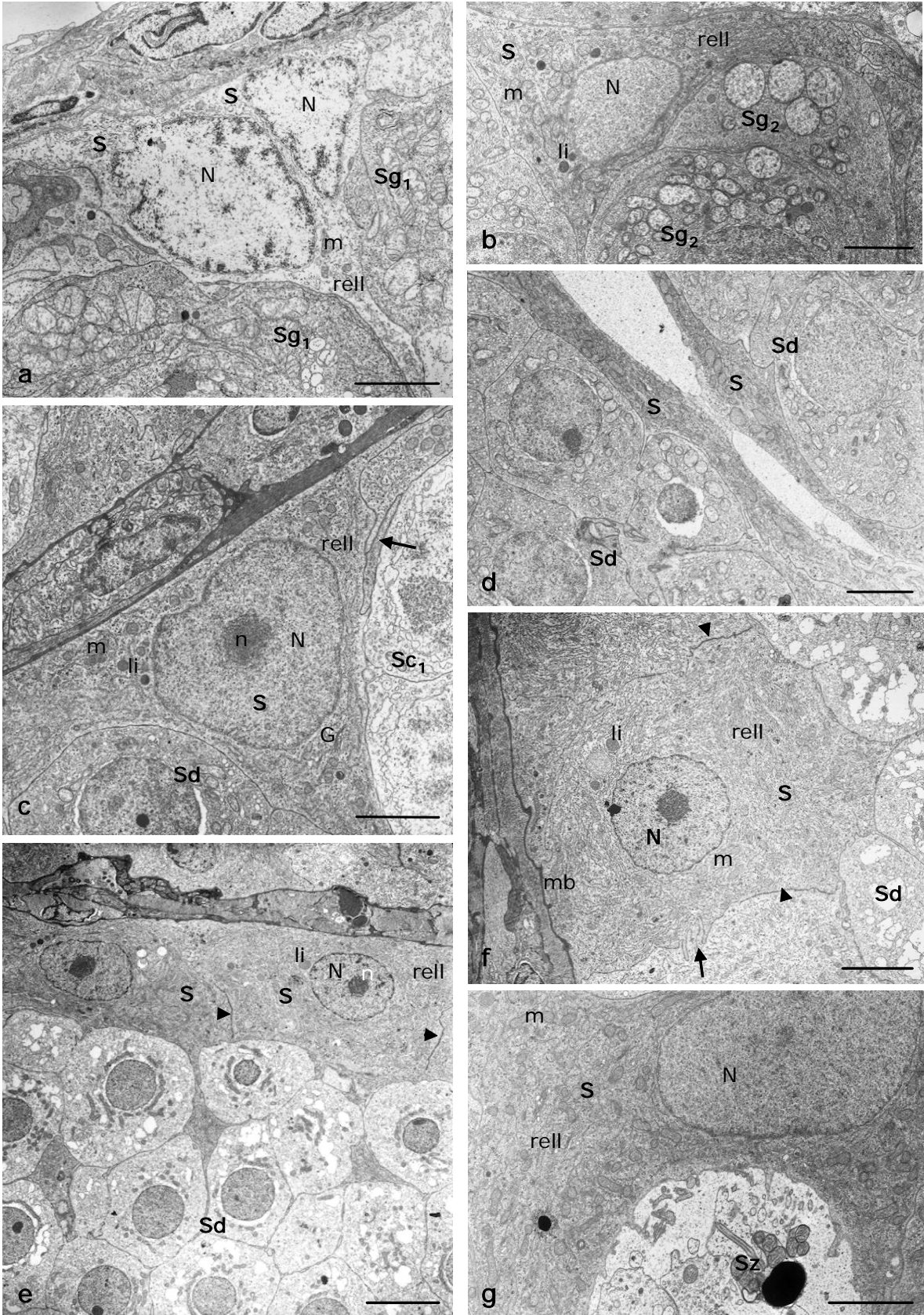
Sc₁: espermatòcit primari

Sd: espermàtida

Sg₁: espermatogònia primària

Sg₂: espermatogònia secundària

LÀMINA 21



5.3. DISCUSSIÓ

El testicle de *Scorpaena porcus*, *S. scrofa* i *S. elongata* presenta una estructura força particular. En principi es tracta d'un testicle lobular no-restringit, perquè està format per lòbuls que acaben en un extrem cec a la perifèria del testicle, i les espermatogònies es poden trobar al llarg de tota la longitud d'aquests lòbuls. Tot i això, la majoria d'espermatogònies es troben localitzades a la perifèria del lòbul, concretament a l'extrem cec, essent molt escasses les detectades al llarg del lòbul. A més, a mesura que el testicle madura van desapareixent les poques espermatogònies de la part més proximal, i només s'observen a la part més distal. Aquest fet, unit a la certa ordenació dels cists segons l'estadi de maduració de les cèl·lules germinals, i a l'absència de lumen central, fa que es tracti de testicles amb una estructura molt semblant al tipus lobular restringit de les espècies de la sèrie Atherinomorfa. En certa manera se situaria en un tipus intermig: no es pot dir que sigui restringit perquè es troben algunes espermatogònies al llarg del lòbul, però a la vegada també es distancia força del tipus de testicle no-restringit que s'ha descrit fins ara. El fet que s'hagi descrit una estructura similar per *Scorpaena notata* (Muñoz *et al.*, 2002c), suggereix que podria tractar-se d'una organització testicular típica del gènere *Scorpaena*.

Un altre aspecte que tenen en comú l'estructura testicular dels escorpènids estudiats en aquest treball amb la dels atherinomorfs, és el fet que no existeix un epitelí germinal vertader que s'entén al llarg de lòbul, present en la majoria de testicles lobulars no-restringits. En les espècies analitzades en aquest treball hem de parlar d'una disposició epitelioida de les cèl·lules de Sertoli i les cèl·lules germinals. L'epitelí germinal ha estat recentment clarificat i redefinit (Grier, 2000; Grier i Lo Nostro, 2000). Els quatre criteris principals que segons aquests autors haurien de complir les cèl·lules per considerar-se un vertader epitelí són: limitar una superfície del cos, lumen o túbul; estar connectades lateralment per unions intercel·lulars; no estar vascularitzades; i recolzar-se sobre una membrana basal. En el compartiment germinal dels testicles de *S. porcus*, *S. scrofa* i *S. elongata*, els cists ocupen tota l'amplada del lòbul, de manera que no existeix cap lumen central mentre les cèl·lules germinals es desenvolupen dins el cist. Així doncs, no es compleix el primer requisit per poder parlar d'epitelí germinal. Quan el cist es trenca, sí que les cèl·lules germinals són alliberades en el lumen del lòbul, però en aquest lumen normalment no es troba cap cist en desenvolupament, ja que el lòbul passa a realitzar la funció de conducte eferent. Per tant, tot i aparèixer lumen, en aquest cas tampoc el podem

considerar un epiteli germinal perquè no existeix la relació íntima entre les cèl·lules de Sertoli i les cèl·lules germinals (el cist), components essencials de l'epiteli germinal.

El terme epitelioides va ser aplicat per primera vegada en la descripció del testicle de *Rachycentron canadum*, en referència a les cordes d'espermatogònies que, juntament amb cèl·lules de Sertoli, creixen a la part terminal dels lòbuls durant la classe regressional del cicle anual d'aquest peix (Brown-Peterson *et al.*, 2002). Al llarg d'aquesta classe, aquestes cordes espermatogonials tampoc presenten lumen, tot i que a mesura que avança el cicle reproductiu s'anirà desenvolupant, de manera que aquesta disposició epitelioides és transitòria. En el cas dels testicles de les tres espècies d'estudi mai es desenvolupa un lumen, per tant mai podem parlar d'epiteli germinal sinó que la disposició epitelioides es manté al llarg de tot el cicle anual. Aquest fet també s'ha detectat en les 79 espècies d'aterinomorfes estudiades fins ara (Parenti i Grier, 2004), és a dir, en totes les espècies que tenen un testicle lobular restringit.

Els conductes espermàtics perifèrics detectats en *S. porcus* són molt similars als descrits en *S. notata* (Muñoz *et al.*, 2002c). Aquests autors consideren que l'esperma es mou des del conducte testicular principal als conductes perifèrics, els quals desemboquen en el conducte espermàtic. Malgrat que la disposició dels espermatozoides descrita per l'espècie citada, amb el cap orientat cap a l'endoteli del conducte i les cues cap a l'interior, no es troba en *S. porcus*, la xarxa de conductes també podria funcionar de la mateixa manera. Per altra banda, cap de les tres espècies estudiades presenten conductes eferents, els lòbuls desemboquen directament en el conducte testicular principal, característica típica de testicles no-restringits (Grier *et al.*, 1980; Lahnsteiner *et al.*, 1994)

La particularitat més important que presenten els testicles de *S. porcus* i *S. scrofa*, és l'espermatogènesi anomenada semicística (Mattei *et al.*, 1993): els cists es trenquen abans d'haver-se acabat tot el procés d'espermatogènesi, el qual s'acaba de completar a la llum del lòbul. En el cas d'*S. porcus* el cist s'obre a nivell d'espermatòcit, mentre que en *S. scrofa* ho fa a nivell d'espermàtida. En totes dues espècies, un cop s'han alliberat les cèl·lules germinals a la llum del lòbul, aquestes es mantenen unides per ponts citoplasmàtics durant un cert temps, però després aquestes unions desapareixen i el desenvolupament passa a ser asincrònic. Aquest tipus d'espermatogènesi també s'ha detectat en *Lepadogaster lepadogaster* (Mattei i Mattei, 1978), on tots els estadis espermatogènics es troben barrejats en el lumen; en les espècies de la família Neoceratidae (Jespersen, 1984), on no hi apareix cap cist en tota l'estructura testicular; en blènnids (Lahnsteiner i Patzner, 1990), *Ophidion sp.*

(Mattei *et al.*, 1993), *Ophistognathus whitehurstii* (Manni i Rasotto, 1997), *Lophiomus setigerus* (Yoneda *et al.*, 1998a) i *Ophidion barbatum* (Hernández, 2004), on els cists s'obren a nivell d'espermàtida, igual que *S. Scrofa*; i en *Scorpaena notata* (Muñoz *et al.*, 2002c) que s'obren a nivell d'espermatòcit, igual que *S. porcus*. Tot i això, la descripció ultraestructural detallada de tot el procés d'aquest tipus d'espermatogènesi fins ara només s'havia realitzat en aquesta última espècie (Muñoz *et al.*, *op. cit.*) i en *Ophistognathus whitehurstii* (Manni i Rasotto, 1997), de manera que és força desconeguda. Segons Manni i Rasotto (1997), aquesta espermatogènesi porta a reduir el nombre d'espermatozoides que maduren simultàniament; i defensen que podria ser un mecanisme utilitzat per reduir el cost de producció d'esperma en espècies territorials i amb cura parental, on no tota l'energia destinada a la reproducció pot ser invertida en la producció d'esperma. Ara bé, malgrat que vertaderament l'espermatogènesi semicística produeix espermatozoides de forma asincrònica, això no significa que en produeixin menys que les espècies amb espermatogènesi cística, sinó que senzillament els produeixen de forma més espaiada en el temps. Així doncs, l'estalvi energètic que suposa creiem que tampoc deu ser molt important. En base al que sabem de l'espermatogènesi semicística, considerem que senzillament és un altre tipus d'espermatogènesi i que no necessàriament ha de tenir un avantatge per sobre de l'espermatogènesi cística.

L'estructura de les cèl·lules de Sertoli varia molt al llarg de tot el procés d'espermatogènesi, però el canvi més acusat es dona després del trencament del cist i del subsegüent alliberament de les cèl·lules germinals al lumen. Pel que sembla, algunes interdigitacions que existien entre les diferents cèl·lules de Sertoli que formaven el cist es perden, de manera que el cist s'obre alliberant les cèl·lules germinals. Després de trencar-se els cists, les cèl·lules de Sertoli s'hipertrofien i es mantenen sobre la membrana basal unides entre elles per interdigitacions i unions fortes, revestint el lòbul que en aquest moment passa a realitzar la funció de conducte eferent. S'ha pogut evidenciar que les cèl·lules columnars que revesteixen la part proximal del lòbul són realment cèl·lules de Sertoli hipertrofiades perquè s'ha observat com aquestes cèl·lules fagociten cossos residuals i espermatozoides, una funció important que realitzen les cèl·lules de Sertoli. A més, en cap moment s'han observat cèl·lules de Sertoli en degeneració al lumen del lòbul després del trencament dels cists. Al mateix moment, les cèl·lules de Sertoli també varien a nivell funcional: l'aparició de reticle endoplasmàtic rugós, grànuls de secreció, vacúols i vesícules picnòcítiques, i l'observació de processos d'exocitosi a la part apical, indiquen que tenen un metabolisme actiu o activitat secretora, segurament per tal de constituir el

fluid seminal. La substància que secreten conté mucopolisacàrids neutres, ja que es tenyeixen fortament amb el reactiu de PAS-Schiff.

La bipotencialitat de les cèl·lules de Sertoli també ha estat descrita en Salmoniformes, Perciformes, Cypriniformes, i Atheriniformes (Grier *et al.*, 1980). Per altra banda, en altres casos s'ha vist com les cèl·lules de Sertoli degeneren just després de l'obertura del cist (Pudney, 1995).

Un fet important a destacar de les cèl·lules de Sertoli hipertrofiades, és que es troben unides entre elles mitjançant unions fortes situades a la part latero-apical de la cèl·lula. La presència d'aquestes unions suggereix l'existència del què s'anomena la barrera de les cèl·lules de Sertoli ("Sertoli cell barrier"), la funció de la qual és impedir la formació d'anticossos anti-esperma i crear un medi específic on les cèl·lules haploides puguin diferenciar-se (Marcaillou i Szöllösi, 1980). La barrera de les cèl·lules de Sertoli existeix en tots els amniotes, i es considera un caràcter plesiomòrfic i conservat de les cèl·lules de Sertoli dels cordats, indicant l'homologia d'aquestes cèl·lules al llarg d'aquest tàxon (Grier, 1993). L'existència d'aquesta barrera en teleostis, ha estat demostrada mitjançant una sèrie de marcadors cel·lulars en *Aphanius dispar* (Abraham *et al.*, 1980), *Poecilia reticulata* (Marcaillou i Szöllösi, 1980), *Cyprinus carpio* (Parmentier *et al.*, 1985), *Oryzias latipes* (Shibata i Hamaguchi, 1986) i *Oreochromis niloticus* (Lou i Takahashi, 1989). En tots aquests casos aquesta barrera es forma en cists que contenen cèl·lules germinals en desenvolupament avançat, és a dir, en espermatòcits finals i/o espermàtides, a diferència d'aus i mamífers on la barrera s'estableix just després de començar la meiosi (Dym i Fawcett, 1970). En *S. porcus* i *S. scrofa*, també només s'ha observat a partir del moment en què es formen les espermàtides, tot i que, a diferència de les espècies anteriors, les cèl·lules de Sertoli que formen la barrera ja no estan formant part de cap cist.

Actualment diferents autors estan discutint les causes del creixement del cist al llarg del procés d'espermatogènesi. Pudney (1993), per exemple, va suggerir que els cists creixien gràcies a l'allargament de les extensions citoplasmàtiques de les cèl·lules de Sertoli; Koulisch *et al.* (2002), en canvi, van demostrar la divisió de les cèl·lules de Sertoli en *Thalassoma bifasciatum* mitjançant el marcatge de cèl·lules amb triti, fet que els va portar a suggerir que el creixement del cist es donava gràcies a un augment del número de cèl·lules de Sertoli causat per la proliferació d'aquestes. La utilització de la tècnica immunohistoquímica de PCNA en testicles de *S. porcus*, ha permès detectar cèl·lules de Sertoli en divisió durant tot el procés d'espermatogènesi,

tant a la part distal del lòbul mentre formen cists d'espermatogònies secundàries i espermatòcits, com també quan estan situades a la paret del lòbul, després de l'obertura del cist. L'observació de divisions mitòtiques per part de les cèl·lules de Sertoli en aquesta espècie recolza la hipòtesi formulada per Koulis *et al.* (*op.cit.*). Fins ara s'havia observat la divisió de cèl·lules de Sertoli en molts pocs estudis, i en la majoria aquestes cèl·lules deixen de dividir-se més enllà dels cists amb espermatòcits primaris (Schulz *et al.*, 2000; Lo Nostro *et al.*, 2003). Schulz *et al.* (*op.cit.*) van suggerir que les cèl·lules de Sertoli deixen de proliferar quan el cist s'aproxima al número de cèl·lules germinals previsibles. Potser és així quan parlem d'espècies amb una espermatogènesi cística, és a dir, quan tot el procés d'espermatogènesi es realitza a l'interior dels cists. Ara bé, aquest estudi demostra que en *S. porcus* les cèl·lules de Sertoli es continuen dividint després del trencament del cist i després d'hipertrofiar-se, posant de manifest que el paper d'aquestes cèl·lules continua essent important en la maduració final dels espermatozoides i en la constitució del fluid espermàtic.

Al llarg de l'espermatogènesi de *S. porcus* i *S. scrofa*, es van desenvolupant les diferents cèl·lules germinals que presenten alguns trets destacables i a vegades diferents per cada espècie.

En *S. porcus* cal comentar la presència de la làmina anellada ("*lamella annulata*") tant en espermatogònies i espermatòcits, com en espermàtides. Aquest orgànul és usual en el citoplasma de les cèl·lules germinals dels peixos, però normalment en cèl·lules germinals joves: sobretot en espermatogònies (Grier, 1975; Billard, 1984; Quagio-Grassiotto i Carvalho, 1999), i en algun cas en espermatòcits primaris (Mattei *et al.*, 1967). No és usual trobar làmina anellada en espermàtides. Encara no se sap amb certesa la funció d'aquest orgànul, però sembla que està involucrat en el metabolisme de RNAs de llarga durada (Kessel, 1983; 1992). Les espermàtides d'aquesta espècie, a més de presentar làmina anellada, també presenten altres característiques força peculiars que no solen trobar-se en aquest estadi espermatogènic: encara retenen molt de citoplasma, una quantitat exagerada de reticle endoplasmàtic llis, i absorbeixen productes de la llum del lòbul. Pel què fa a aquest últim aspecte, possiblement absorbeixen les substàncies que estan secretant les cèl·lules de Sertoli, que precisament tenen la funció de suport nutricional de les cèl·lules germinals (Russell, 1999). Si les cèl·lules germinals es desenvolupen dins un cist, el pas de nutrients d'una cèl·lula a l'altra és més fàcil per la proximitat dels dos tipus cel·lulars; però en *S. porcus* les espermàtides es troben lliures en el lumen, sense contacte

directe amb les cèl·lules de Sertoli, per tant la transferència de metabolits s'ha de realitzar via la llum del lòbul.

L'espermatozoide tant de *S. porcus* com *S. scrofa* es pot classificar com aquasperma anacrosòmic del tipus I (Mattei, 1970; Jamieson, 1991). Tot i això, l'espermatozoide de *S. scrofa* té una peça intermèdia més gran d'1 μm , i per tant més gran del que sol presentar aquest tipus d'espermatozoide; concretament mesura 1,57 μm . Una peça intermèdia llarga sol anar lligada a un nombre elevat de mitocondris, i per tant més energia disponible per la mobilitat de l'espermatozoide. Tot i que aquest caràcter se sol relacionar amb una adaptació a la fertilització interna (Nagahama, 1983; Mattei, 1991), *S. scrofa* presenta fertilització externa malgrat que la seva peça intermèdia és lleugerament més llarga que la de *Sebasticus marmoratus*, un escorpeniforme vivípar que té una peça intermèdia de 1,50 μm (Mattei, 1988). Aquest allargament de la peça intermèdia també s'ha observat en altres escorpeniformes amb fertilització externa: *Cottius gobio* (Jamieson, 1991), *Scorpaena angolensis* (Mattei, 1970) i *Scorpaena notata* (Muñoz *et al.*, 2002c). En el cas dels escorpènids, aquest allargament podria estar relacionat amb el fet que l'espermatozoide necessita més energia per travessar la massa gelatinosa que engloba la posta i poder fertilitzar els ous.

6. CICLE ANUAL I FECUNDITAT DE
S. porcus, S. scrofa

6.1. INTRODUCCIÓ

A l'hora d'estudiar a fons la biologia de la reproducció d'una espècie, cal també analitzar el seu cicle anual i la seva fecunditat.

L'estudi del cicle anual d'una espècie permet determinar no només el període de posta, sinó que també posa de manifest si la maduració de les gònades dels dos sexes es dona de manera simultània en el temps, si la condició en què es troben els individus afecta a la seva reproducció, o bé en quin moment del cicle reproductiu les reserves energètiques emmagatzemades al fetge són utilitzades, entre d'altres aspectes. Així doncs, a l'hora d'analitzar el cicle anual s'han d'utilitzar diferents mètodes per tal d'aconseguir tota la informació necessària. Concretament es solen utilitzar tres mètodes: l'anàlisi macroscòpica i l'anàlisi histològica de les gònades al llarg dels diferents mesos de l'any, i els índex relacionats amb la reproducció.

El mètode d'anàlisi macroscòpica de les gònades se sol utilitzar bàsicament en femelles. Es basa en observar els ovaris externament, i determinar si els oòcits que contenen són opacs (amb vitel) o translúcids (ovari madur). Aquest mètode, tot i ser molt més ràpid que l'anàlisi histològica, requereix experiència per part de l'observador i és poc acurat (West, 1990).

L'anàlisi histològica de les gònades és el mètode més exhaustiu (Hunter i Macewicz, 1985a), però a la vegada requereix més temps, un personal més especialitzat i, degut a la utilització de productes tòxics, unes instal·lacions adequades (West, 1990). Malgrat que és un dels mètodes més utilitzats actualment (Takemura *et al.*, 1987; Treasurer, 1990; Jakson i Sullivan, 1995; Janssen *et al.*, 1995; Koya *et al.*, 1995a; Macchi *et al.*, 1995; Grier i Taylor, 1998; Leonardos i Sinis, 1998; Muñoz *et al.*, 1999; De Oliveira *et al.*, 2002; entre d'altres), encara no existeix un criteri únic ni una terminologia estandarditzada per determinar i denominar les diferents classes de maduració de l'ovari, els quals varien molt en funció dels autors.

I per últim, l'estudi de l'evolució anual de diferents índex relacionats amb la reproducció és un mètode que tradicionalment s'ha fet servir com a suport objectiu per descriure els cicles reproductius dels peixos, sobretot per complementar l'anàlisi histològica (Takano *et al.*, 1991; Janssen *et al.*, 1995; Jackson i Sullivan, 1995; Koya *et al.*, 1998; Brown-Peterson *et al.*, 2002). Per exemple, l'índex gonadosomàtic (IGS) dona uns indicis generals de l'estat de desenvolupament de l'ovari (West, 1990), i la

forma de la corba informa de l'estratègia de posta de l'espècie (Yamamoto i Yoshioka, 1964).

Finalment l'estimació de la fecunditat d'una espècie informa sobre la seva capacitat o potencial reproductor, i s'estima com el número d'òcits en les fases finals de desenvolupament o madurs presents a l'ovari abans de la posta (Hunter *et al.*, 1985).

6.2. RESULTATS

CICLE ANUAL I FECUNDITAT DE *S. porcus*

CICLE ANUAL DE LES GÒNADES

Ovaris

En funció del tipus d'òcit més desenvolupat que contenen els ovaris, el cicle anual de les femelles de *S. porcus* es divideix en 3 classes: de previtel·logènesi, d'alvèols corticals, i de vitel·logènesi i maduració.

Previtel·logènesi: setembre-març

Aquesta classe comença al mes de setembre, quan tots els òcits presents a l'ovari són previtel·logènics (l'ovari està en previtel·logènesi) (Fig. 1a). Des de l'inici fins pràcticament al mes de desembre, apareixen una gran quantitat de centres melanomacrofàgics, fortament PAS positius, situats a les parets del raquis i de les lamel·les (Fig. 22a). De gener a març, aquests centres van essent més escassos i no reaccionen de manera tan forta a la tinció de PAS-Schiff.

En aquest període l'epiteli de la paret ovàrica està format per una única capa de cèl·lules columnars amb un nucli pleomòrfic molt gran que ocupa bona part de la cèl·lula (Fig. 22b). Aquest nucli presenta la cromatina condensada de forma heterogènia. El citoplasma és força electrodens degut a que conté una gran quantitat de reticle endoplasmàtic rugós i ribosomes. Els mitocondris són petits, amb la matriu electrodensa i moltes crestes lamel·lars, i es localitzen sobretot a la part basal de la cèl·lula. Aquestes cèl·lules es troben connectades entre elles per complexes d'unió: unions fortes i desmosomes (Fig. 22c). A la part apical s'hi observen pocs microvillis distribuïts de forma molt laxa.

L'epiteli lamel·lar té una aparença semblant a l'epiteli de la paret ovàrica. Està format per 2 fileres de cèl·lules aplanades amb un nucli gros, de forma irregular i amb la cromatina condensada heterogèniament (Fig. 22d). El citoplasma és molt electrodens i s'hi pot observar complex de Golgi, alguns mitocondris de matriu molt laxa, i molta quantitat de reticle endoplasmàtic rugós i ribosomes. A la part apical també s'hi observen alguns microvillis i processos de secreció exocrina i macroapocrina, però de

poca magnitud (Fig. 22e). En aquest cas les cèl·lules es mantenen fortament unides entre elles per molts desmosomes i interdigitacions.

Alvèols corticals: abril

Al llarg del mes d'abril comencen a aparèixer oòcits en estadi d'alvèols corticals. Encara es manté la presència de centres melanomacrofàgics però són més petits i més escassos, tot i que continuen essent PAS positius.

Vitel·logènesi i de maduració: maig-agost

No s'ha pogut diferenciar clarament entre la fase de vitel·logènesi i la fase de maduració, ja que en el primer mes en què s'han observat oòcits vitel·logènics, el mes de maig, també s'han observat oòcits madurs amb migració nuclear (Fig. 23a). Al principi d'aquesta fase encara hi són presents alguns centres melanomacrofàgics lleugerament PAS positius, però de mida molt més petita que els presents en les fases anteriors. A mesura que l'ovari va madurant aquests centres van desapareixent.

En aquest període apareixen projeccions citoplasmàtiques en l'epiteli de la paret ovàrica (Fig. 23b). Les cèl·lules epitelials s'allarguen notablement, mentre que el nucli passa a ser més petit, amb la cromatina més homogènia i situat a la part basal de la cèl·lula (Fig. 23d). Els mitocondris es troben repartits per tot el citoplasma i són més grans i allargats, tot i que continuen tenint una matriu molt densa i amb moltes crestes. El citoplasma també presenta reticle endoplasmàtic rugós, molt complex de Golgi i alguns ribosomes. A la part apical apareixen una gran quantitat de vacúols, i el nombre de microvillis augmenta considerablement. A la base d'aquests microvillis s'observen molts processos d'exocitosi (Fig. 23e).

L'epiteli lamel·lar també experimenta canvis en relació a la fase de previtel·logènesi. Passa a ser un epiteli simple, les cèl·lules creixen, però de forma moderada, i el citoplasma passa a ser més lax (Fig. 23f). Aquest conté mitocondris, complex de Golgi, moltes vesícules de reticle endoplasmàtic llis i poc reticle endoplasmàtic rugós. En aquest epiteli les cèl·lules es troben connectades entre elles bàsicament mitjançant interdigitacions, que han augmentat considerablement en relació a les fases anteriors, i per unions fortes a la part apical. El nombre de microvillis, tal com passa a l'epiteli de la paret ovàrica, també augmenta molt, igual que els processos d'exocitosi que es donen a la seva base.

En el microscopi òptic s'observa com les substàncies que secreten aquestes projeccions són fortament PAS positives (Fig. 23c), mentre que les secretades per les

lamel·les ovàriques i la teca dels fol·licles ovàrics són PAS positives (Fig. 24a) i també blau de toluïdina positives (Fig. 23g). En tots els casos la secreció té lloc a l'inici d'aquesta classe.

Cal destacar que al llarg del procés de maduració de l'ovari va apareixent el fluid ovàric, en aquest cas molt viscos i transparent, que acabarà omplint tot el lumen i envoltant als oòcits madurs (Fig. 23a). Tant al juny com al juliol s'han pogut observar dins el lumen de l'ovari oòcits hidratats envoltats per aquest fluid, generalment PAS negatiu (Fig. 23c), i en algunes zones blau de toluïdina positiu (Fig. 24b). Al mes d'agost ja s'han detectat alguns ovaris que havien realitzat la posta.

S'ha pogut obtenir 2 postes d'escòrpora fosca just abans de la seva alliberació. Aquestes postes són pelàgiques i flotants, i estan formades pels ous madurs envoltats per aquest fluid ovàric de consistència gelatinosa. Es tracta, doncs, de masses d'ous pelàgiques.

Testicles

En els cas dels mascles de *S. porcus* el cicle anual es pot dividir en 5 classes reproductives segons les cèl·lules germinals presents en el testicle: proliferació d'espermatogònies, maduració inicial, maduració mitjana, maduració tardana i maduració funcional.

Proliferació d'espermatogònies (I): octubre-novembre

A l'inici d'aquesta fase la part distal dels lòbuls està plena d'espermatogònies, sobretot espermatogònies primàries, mentre que la part proximal es troba buida, amb una llum molt reduïda, quasi inexistent (Fig. 25a). És freqüent la presència de petits granulòcits en aquesta part proximal i de grans centres melanomacrofàgics a la zona dels conductes espermàtics.

Els lòbuls comencen a créixer des de la part proximal fins a la perifèria del testicle. Aquesta elongació es produeix per divisions mitòtiques de les cèl·lules germinals i també, tot i que en menys freqüència, de les cèl·lules de Sertoli (Fig. 25b). A mesura que va avançant aquesta classe, es pot anar observant com la quantitat d'espermatogònies en els lòbuls va augmentant progressivament.

Els espermatozoides residuals de l'estació reproductiva prèvia s'observen freqüentment tant a la part proximal dels lòbuls com als conductes espermàtics.

Maduració inicial (II): desembre

Les espermatogònies secundàries entren en meiosi fins a formar espermatòcits primaris (Fig. 25c). En alguns casos fins i tot s'hi poden observar les primeres espermatides. Continua la presència d'espermatozoides residuals i de centres melanomacrofàgics, tant a la part proximal dels lòbuls com en els conductes, generalment PAS positius (Fig. 25d).

Maduració mitjana (III): gener-abril

De gener a febrer apareixen de forma abundant les espermatides inicials a la part proximal de quasi tots els lòbuls i, en alguns casos, tot i que de forma molt discreta, s'observen ja alguns espermatozoides de nova formació. En una etapa més avançada, entre els mesos de març i abril, ja es poden observar clarament tots els tipus cel·lulars germinals en els lòbuls testiculars, des d'espermatogònies fins a espermatozoides (Fig. 25e). A partir d'aquests mesos és quan es fa més evident una certa ordenació dels diferents estadis espermatogènics de menys a més madur, des de la part distal dels lòbuls fins a la part proximal, respectivament. Cal dir que, tot i que en un primer moment pugui semblar una ordenació estricta, si s'observa atentament es veu que en realitat existeixen alguns casos en què aquesta ordenació es trenca.

Quan s'arriba a l'etapa d'espermatòcits, els cists es trenquen, i les cèl·lules germinals s'alliberen a la llum del lòbul, on s'acabaran de desenvolupar fins a l'estadi d'espermatozoide. Les cèl·lules de Sertoli que delimitaven el cist que s'ha trencat s'hipertrofien i queden situades a la paret del lòbul, sobre la membrana basal (Fig. 25g). La regió dels lòbuls més propera als conductes espermàtics passa a realitzar la funció de conductes eferents.

Els lòbuls testiculars continuen la seva elongació degut a les divisions mitòtiques de les cèl·lules de Sertoli i les espermatogònies de la part proximal dels lòbuls (Fig. 25f). Cal destacar que en les últimes etapes de la maduració mitjana s'han observat cèl·lules de Sertoli situades a les parets dels lòbuls que també s'estaven dividint (Fig. 25g). Els centres melanomacrofàgics encara hi són presents, però en molta menys quantitat, tot i que segueixen essent PAS positius.

Maduració tardana (IV): maig-juliol

En aquest període s'arriba a la mida màxima del testicle. A mesura que va avançant aquesta classe hi ha una disminució de la mitosi i la meiosi, que van quedant restringides a la part més distal dels lòbuls, mentre que el procés que va agafant protagonisme és l'espermiogènesi (Fig. 25h). Les espermatogònies quasi no hi són presents, només en una fina línia a l'extrem cec del lòbul (Fig. 26a). La major part del lòbul funciona com a conducte eferent amb gran quantitat d'espermàtides en diferents fases de desenvolupament barrejades amb espermatozoides, i amb les cèl·lules de Sertoli que formaven cists a les etapes anteriors situades al llarg de les seves parets (Fig. 26b). En aquests conductes es poden observar tant espermàtides com espermatozoides (Fig. 26c).

Al llarg d'aquesta classe s'ha observat en les cèl·lules de Sertoli que ja no formen cist i revesteixen el lòbul, la secreció de substàncies fortament PAS positives envers el lumen (Fig. 26d). Els centres melanomacrofàgics pràcticament desapareixen, tan sols se'n troben alguns de forma esporàdica i de mida molt petita a les parets dels conductes espermàtics.

Cal destacar que al mes de maig, la prova de la PCNA detecta un elevat número de cèl·lules de Sertoli hipertrofiades situades a les parets dels lòbuls que es divideixen (Fig. 26e). A mesura que va avançant aquesta classe el número d'aquestes cèl·lules en divisió baixa en picat.

En qualsevol d'aquests tres mesos es pot trobar testicles amb lòbuls força buits senyal d'haver fet una posta recentment (Fig. 26f).

Maduració funcional (V): agost-setembre

El testicle disminueix considerablement de mida i pes. Aquesta classe es caracteritza per tenir la major part del testicle ple d'espermàtides i espermatozoides situats a la llum dels lòbuls i per un lleuger augment d'espermatogònies primàries a la perifèria (Fig. 26g). En alguns casos puntuals del mes de setembre, també s'han observat encara espermatòcits secundaris. En aquest mes, quasi tot el lòbul fa la funció de conducte perquè només emmagatzema i transporta els espermatozoides cap al conducte principal. El conducte espermàtic es troba ple només d'espermatozoides (Fig. 26h).

Les cèl·lules de Sertoli hipertrofiades i les cèl·lules de l'epiteli del conducte espermàtic continuen secretant substàncies PAS positives cap a la llum del lòbul. Al final d'aquesta classe ja es tornen a observar alguns centres melanomacrofàgics petits a la part proximal del testicle.

LÀMINA 22

CICLE ANUAL DE LES FEMELLES DE *S. porcus*

Classe de previtel·logènesi

- a. Visió general d'un ovari en la classe de previtel·logènesi. Mes de setembre. Es pot observar la presència de centres melanomacrofàgics PAS positius al raquis i a les lamel·les. PAS. Barra = 200 µm.
 - b. Vista al microscopi electrònic de transmissió de l'epiteli de la paret ovàrica del mes de febrer. Barra = 4 µm.
 - c. Detall de la part apical d'una de les cèl·lules epitelials de la figura anterior. S'observa clarament els complexos d'unió que s'estableixen amb les cèl·lules adjacents (puntes de fletxa). Barra = 1 µm.
 - d. Ultraestructura de l'epiteli lamel·lar de la classe de previtel·logènesi. Mes de febrer. Les puntes de fletxa assenyalen els desmosomes que es formen entre les diferents cèl·lules epitelials. Barra = 2 µm
 - e. Detall d'una cèl·lula de l'epiteli lamel·lar de la figura anterior. Barra = 1 µm.
-
-

Abreviatures:

cm: centre melanomacrofàgic

d: desmosoma

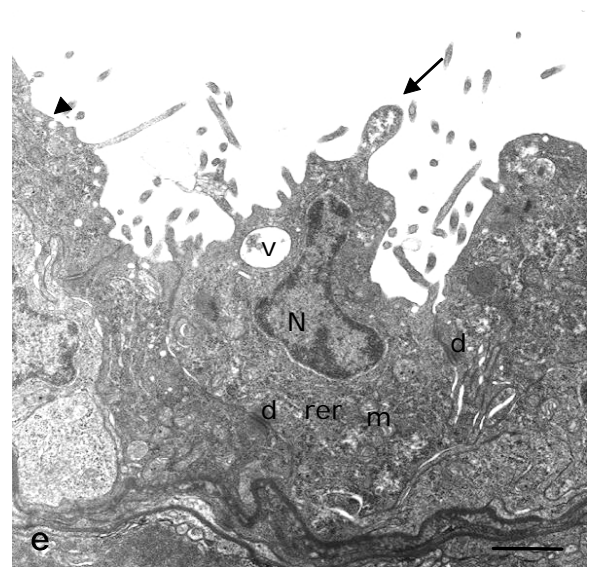
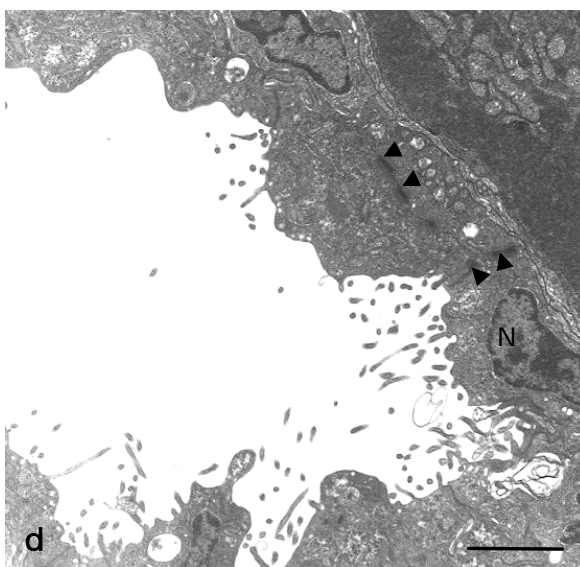
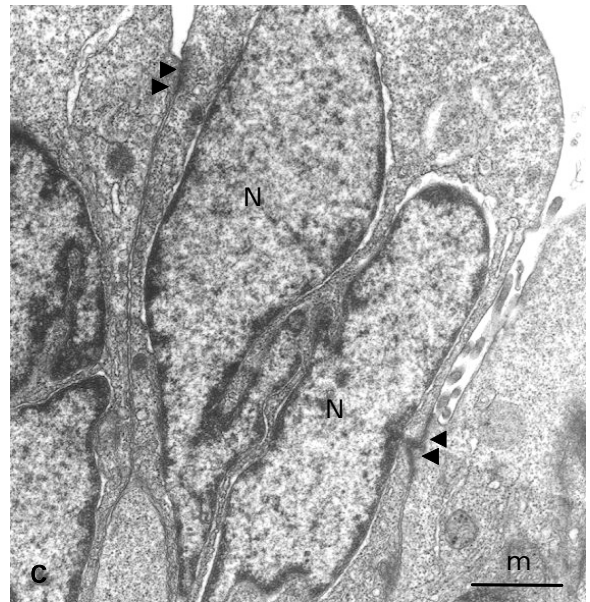
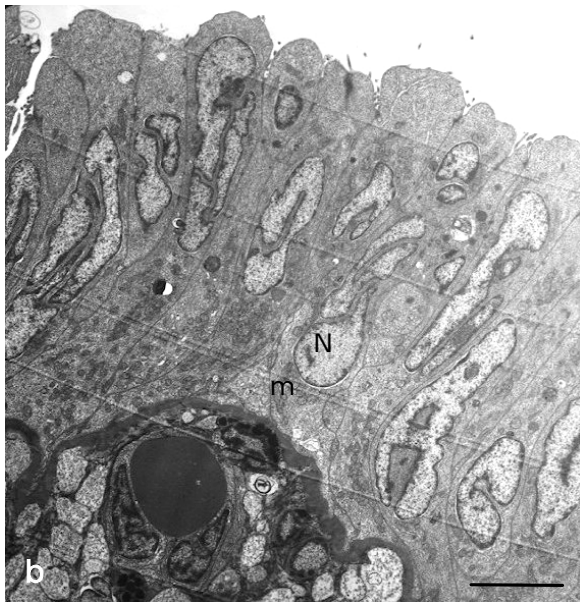
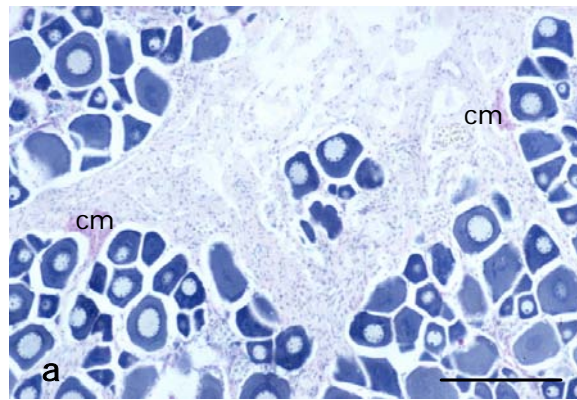
m: mitocondri

N: nucli

rer: reticle endoplasmàtic rugós

v: vacúol

LÀMINA 22



LÀMINA 23

CICLE ANUAL DE LES FEMELLES DE *S. porcus*

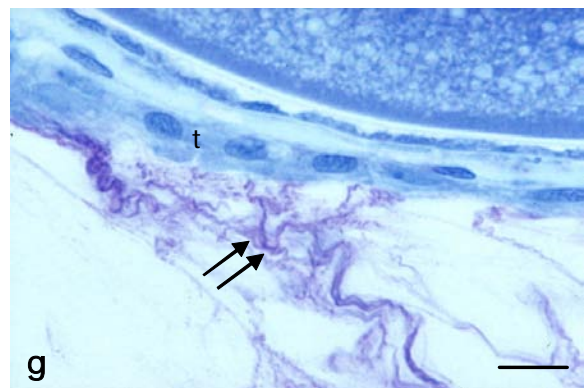
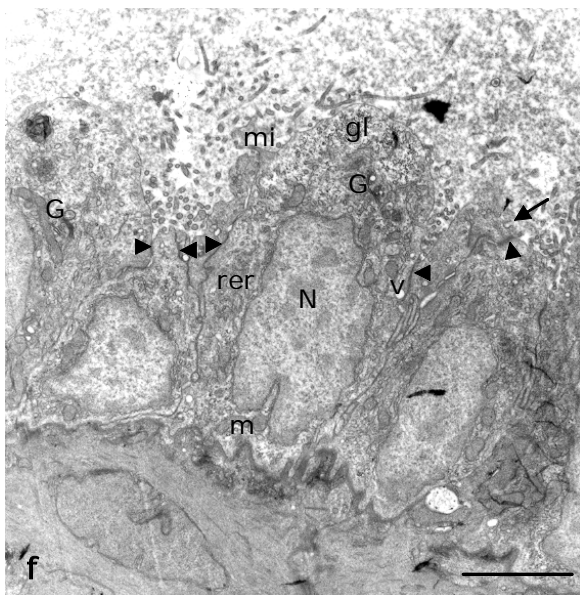
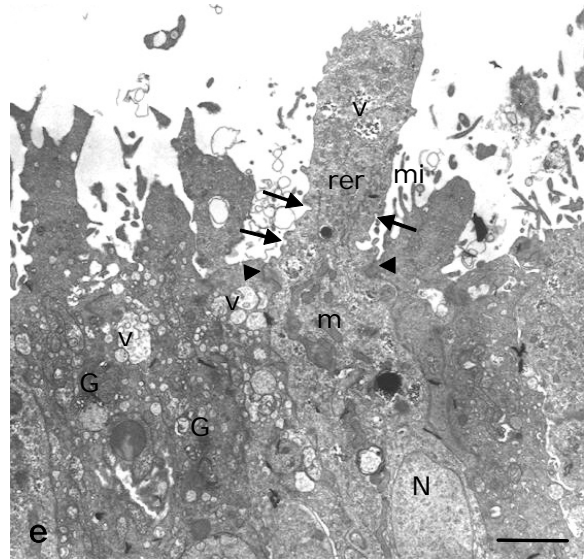
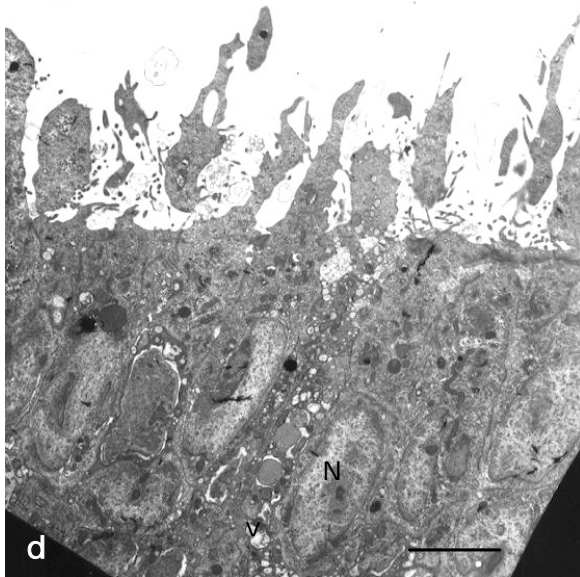
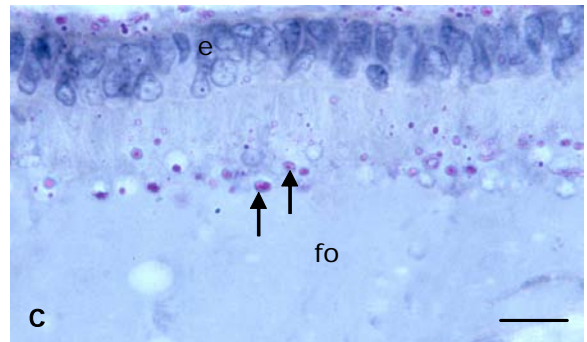
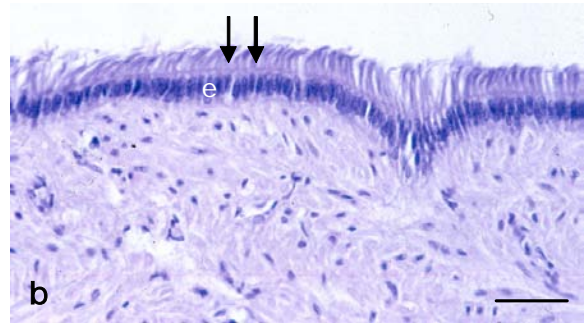
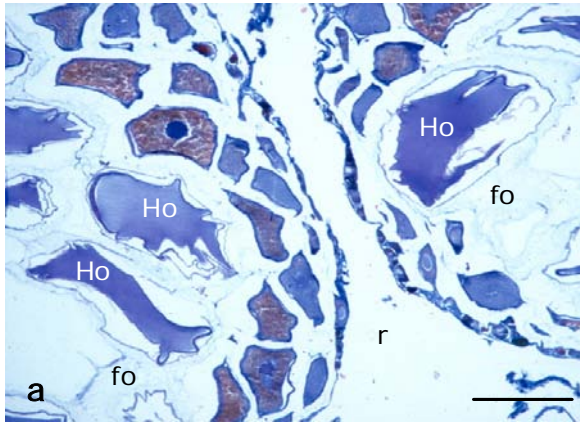
Classe de vitel·logènesi i maduració

- a. Secció transversal d'un ovari en classe de maduració. Mes d'agost. Mallory.
Barra = 400 µm.
 - b. Projeccions citoplasmàtiques de l'epiteli de la paret ovàrica (fletxes) que es desenvolupen durant aquesta classe. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
 - c. Detall de les projeccions citoplasmàtiques secretant una substància PAS positiva (fletxes). PAS. Barra = 10 µm.
 - d. Visió al microscopi electrònic de transmissió de les projeccions citoplasmàtiques. Mes d'agost. Barra = 6 µm.
 - e. Detall de la part apical de les projeccions citoplasmàtiques. La punta de les fletxes mostren els complexos d'unió entre les diferents cèl·lules, i les fletxes els processos de secreció per picnociosi. Barra = 3 µm.
 - f. Ultraestructura de l'epiteli lamel·lar durant la classe de maduració de l'ovari. A la part apical s'observen les unions entre cèl·lules (punta fletxa) i processos de secreció per picnociosi (fletxa). Barra = 3 µm.
 - g. Detall al microscopi òptic de la teca secretant una substància blau de toluïdina positiva (fletxes). Blau de toluïdina. Barra = 10 µm.
-
-

Abreviatures:

e: epiteli	mi: microvilli
fo: fluid ovàric	N: nucli
G: complex de Golgi	r: raquis
gl: glicogen	rer: reticle endoplasmàtic rugós
Ho: oòcit hidratat	t: teca
m: mitocondri	v: vacúol

LÀMINA 23



LÀMINA 24

CICLE ANUAL DE LES FEMELLES DE *S. porcus*

Classe de vitel·logènesi i maduració

-
-
- a. Detall al microscopi òptic de la teca secretant una substància PAS positiva. PAS.
Barra = 10 µm.
- b. Fluid ovàric blau de toluïdina positiu. Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
-
-

Abreviatures:

fo: fluid ovàric

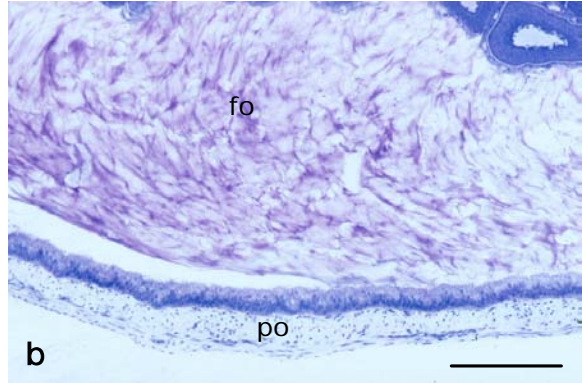
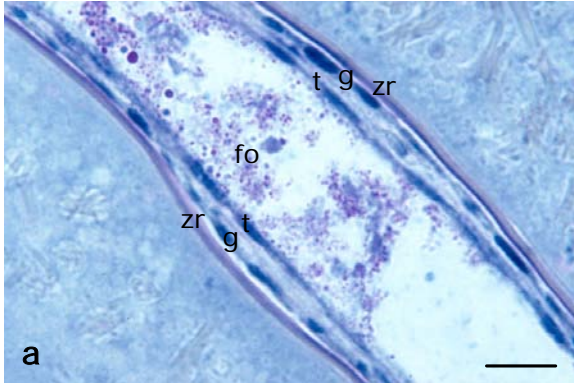
t: teca

g: granulosa

zr: zona radiata

po: paret ovàrica

LÀMINA 24



LÀMINA 25

CICLE ANUAL DELS MASCULES DE *S. porcus*

- a. Secció transversal d'un testicle a l'inici de la classe de proliferació d'espermatogònies. Mes d'octubre. Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
 - b. Espermatogònies i cèl·lules de Sertoli dividint-se. Mes d'octubre. PCNA. Barra = 10 µm.
 - c. Secció transversal d'un testicle del mes de desembre, durant la classe de maduració inicial. Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
 - d. Detall al microscopi òptic de diversos centres melanomacrofàgics PAS positius. Mes de desembre. PAS. Barra = 200 µm.
 - e. Testicle en classe de maduració mitjana. Mes de març. Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
 - f. Testicle del mes de març on s'observen, tenyides de marró, les cèl·lules que s'estan dividint mitòticament. PCNA. Barra = 200 µm.
 - g. Cèl·lules de Sertoli situades a la paret del lòbul, PCNA positives. PCNA. Barra = 30 µm.
 - h. Testicle en classe de maduració tardana. Mes de juny. Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
-
-

Abreviatures:

c: conducte testicular principal

cm: centre melanomacrofàgic

S: cèl·lula de Sertoli

Sc: espermatòcits

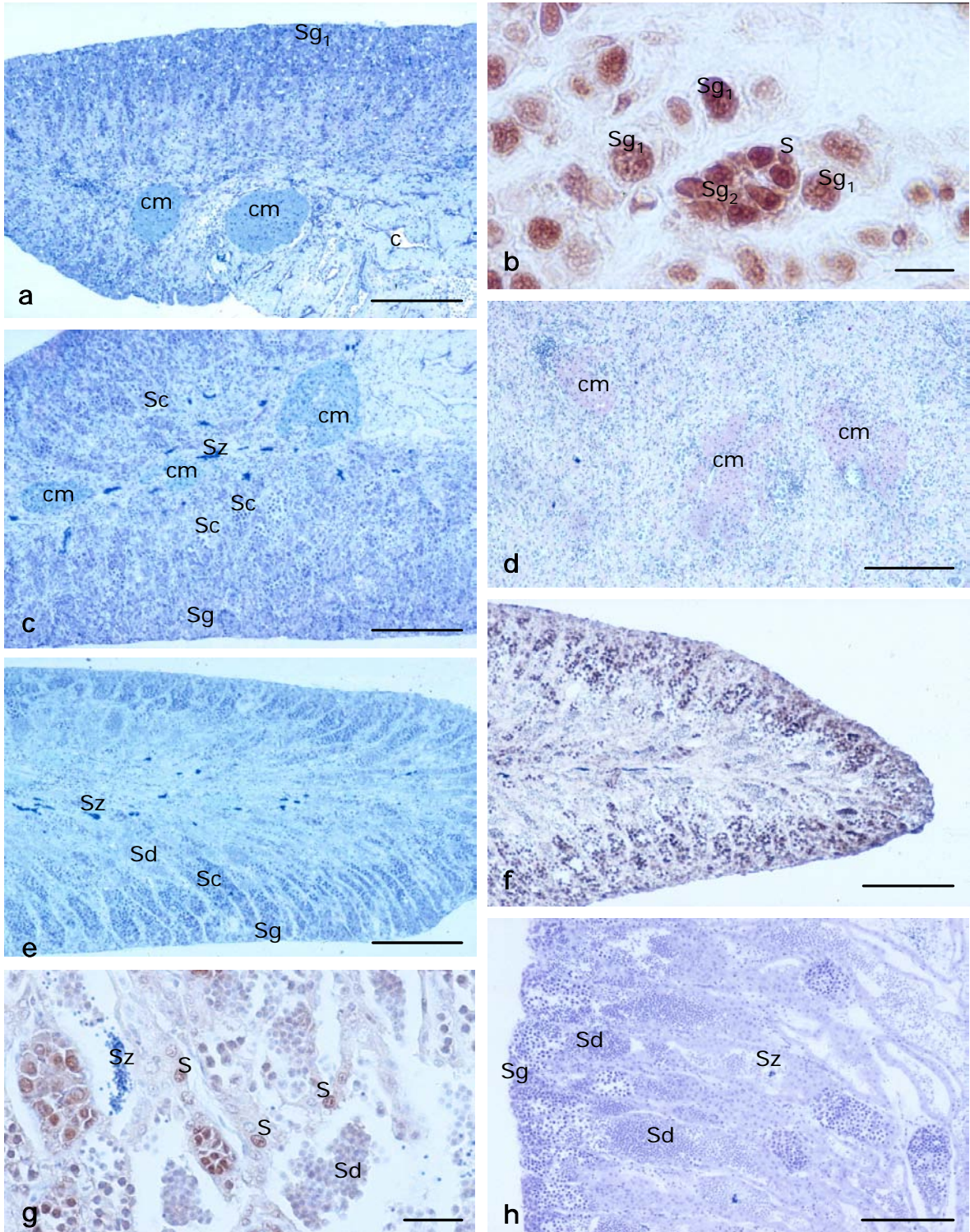
Sd: espermatides

Sg₁: espermatogònies primàries

Sg₂: espermatogònies secundàries

Sz: espermatozoides

LÀMINA 25



LÀMINA 26

CICLE ANUAL DELS MASCLES DE *S. porcus*

- a. Vista al microscopi òptic de les espermatogònies situades a l'extrem cec del lòbul. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
 - b. Part proximal d'un lòbul testicular on s'observa espermatides i espermatozoides, fora dels cists, barrejats en el lumen. Mes de maig. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
 - c. Conducte testicular principal. Mes de juny. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
 - d. Detall al microscopi òptic de les cèl·lules de Sertoli hipertrofiades situades a la paret del lòbul, secretant una substància PAS positiva. Mes de juliol. PAS. Barra = 10 µm.
 - e. Cèl·lules de Sertoli de la paret del lòbul, dividint-se. Mes de maig. PCNA. Barra = 30 µm.
 - f. Testicle del mes de juny amb alguns lòbuls buits degut a que ja s'ha realitzat alguna posta. Blau de toluïdina. Barra = 400 µm.
 - g. Secció transversal d'un testicle en classe de maduració funcional. Mes de setembre. Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
 - h. Conducte testicular d'un exemplar del mes de setembre ple d'espermatozoides. Blau de toluïdina. Barra = 200 µm.
-
-

Abreviatura:

c: conducte testicular principal

S: cèl·lula de Sertoli

Sd: espermatides

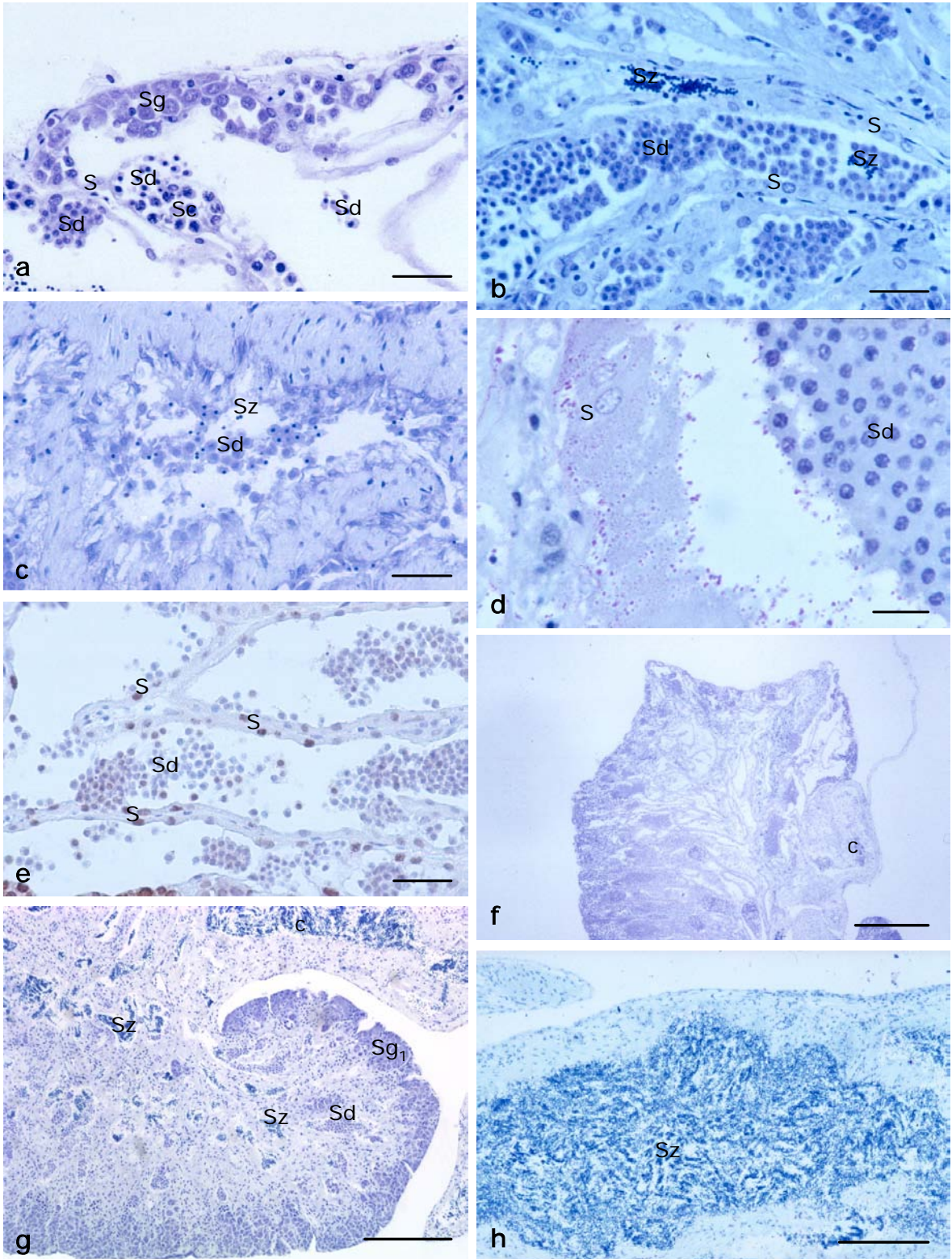
Sc: espermatòcits

Sg: espermatogònies

Sg₁: espermatogònies primàries

Sz: espermatozoides

LÀMINA 26



Índexs relacionats amb la reproducció

La taula 12 mostra els resultats obtinguts en el disseny preliminar i final de l'ANCOVA que s'ha realitzat per tal d'analitzar si el pes gonadal, el pes del fetge i el pes eviscerat varien significativament al llarg de l'any. En el disseny preliminar s'han inclòs les interaccions de cada factor amb la covariable longitud estàndard, i la interacció triple entre la covariable i els 2 factors, sexe i mes. El resultat d'aquestes interaccions ha estat no significatiu, indicant que existeix una homogeneïtat de pendents i, per tant, que es pot dur a terme el disseny típic de l'ANOVA.

Segons aquest disseny definitiu tan el pes gonadal, com el pes del fetge i el pes eviscerat, varien de forma molt significativa en tots dos sexes al llarg dels diferents mesos de l'any ($p < 0,0005$). La variació segueix un patró similar tant en mascles com en femelles, ja que la interacció sexe-mes no és significativa. També es detecten diferències significatives entre el pes gonadal de mascles i femelles ($p < 0,0005$).

Les variacions d'aquestes tres variables es poden analitzar mitjançant l'observació de l'evolució mensual dels índexs gonadosomàtic (IGS) i hepatosomàtic (IHS), i el factor de condició (K) (taules 13, 14, 15 i Graf. 1, 2, 3).

L'IGS, tant en mascles com en femelles, presenta un pic molt destacable entre els mesos de maig i juliol, presentant el valor màxim el mes de juny (Graf. 1). El segon índex que s'ha estudiat, L'IHS, oscil·la més que no pas l'anterior (Graf. 2). Tot i això, cal comentar que pels dos sexes experimenta un augment durant els mesos de maig i juny, coincidint amb l'inici de la plena maduració de les gònades (Gràf. 4). També s'observa l'existència d'un desfasament temporal entre aquest índex i l'IGS: l'IHS cau en picat un mes abans que ho faci l'IGS (Gràf. 4). I per últim, en referència al factor de condició cal destacar que el valor més baix de tot l'any pels dos sexes se situa al mes d'agost, en plena època de posta, recuperant-se ràpidament al llarg del mes següent fins a arribar al valor màxim de tot l'any al mes d'octubre. De totes maneres, cal tenir en compte que aquest valor màxim pot estar influït pel fet que, tant per mascles com per femelles, en aquest mes només s'ha pogut obtenir i analitzar un individu.

Taula 12. Disseny preliminar i definitiu de l'ANCOVA del pes eviscerat (Pe), el pes gonadal (Pg) i el pes del fetge (Pf) de *S. pocus* respecte la covariable longitud estàndard (Ls), segons el sexe i el mes. Totes les variables han estat transformades logarítmicament.

Disseny Preliminar:

Font de variació	df	LogPg		logPf		logPe	
		F	P	F	P	F	P
logLs	1	0,28	0,597	1,59	0,208	28,31	0,000
sexe	1	0,05	0,831	0,03	0,853	0,41	0,522
mes	10	0,29	0,982	0,47	0,909	1,46	0,157
sexe x mes	8	0,96	0,471	0,37	0,933	1,15	0,332
sexe x logLs	1	0,14	0,709	0,02	0,898	0,26	0,609
mes x logLs	10	0,41	0,942	0,50	0,886	1,45	0,161
sexe x mes x logLs	9	0,89	0,536	0,35	0,956	1,01	0,435

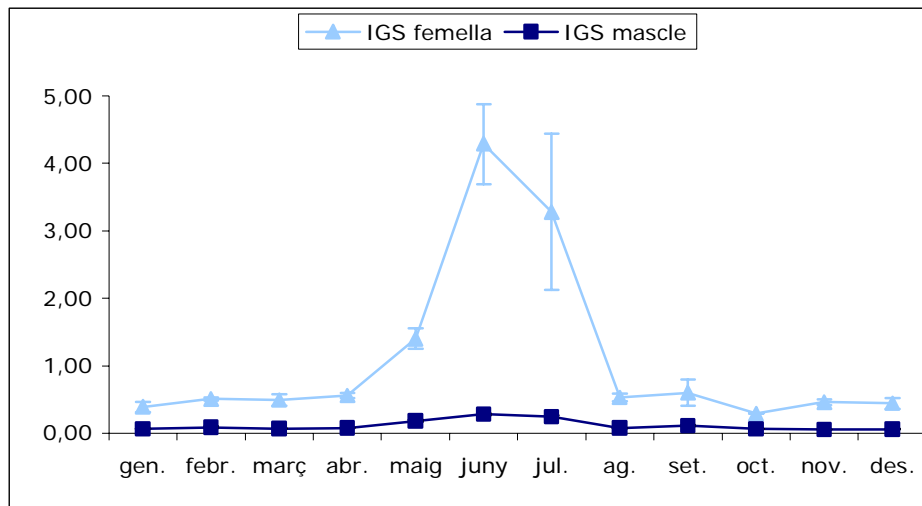
Disseny Definitiu:

Font de variació	df	LogPg		logPf		logPe	
		F	P	F	P	F	P
sexe	1	194,95	0,000**	0,03	0,854	2,44	0,120
mes	11	22,10	0,000**	6,85	0,000**	4,04	0,000**
sexe x mes	11	1,23	0,266	0,79	0,651	1,24	0,262

Taula 13. Valors mensuals mitjos de l'índex gonadosomàtic (IGS) en *Scorpaena porcus*. (n = número total, ES = error estàndard).

	mascles					femelles				
	n	mitjana	mínim	màxim	ES	n	mitjana	mínim	màxim	ES
gener	5	0,063	0,054	0,068	0,002	2	0,388	0,314	0,463	0,074
febrer	4	0,086	0,041	0,112	0,016	5	0,507	0,431	0,550	0,022
març	6	0,066	0,046	0,088	0,006	6	0,491	0,300	0,869	0,090
abril	2	0,075	0,072	0,079	0,004	7	0,560	0,413	0,759	0,042
maig	19	0,181	0,069	0,326	0,017	29	1,402	0,113	3,571	0,154
juny	44	0,279	0,105	0,502	0,014	22	4,288	0,264	9,586	0,594
juliol	35	0,242	0,062	0,508	0,018	12	3,281	0,326	14,908	1,160
agost	2	0,074	0,073	0,705	0,001	7	0,528	0,310	0,711	0,059
setembre	9	0,109	0,081	0,166	0,008	9	0,599	0,240	2,120	0,196
octubre	1	0,063	0,063	0,063	.	1	0,287	0,287	0,287	.
novembre	1	0,051	0,051	0,051	.	11	0,457	0,165	0,603	0,039
desembre	2	0,059	0,051	0,067	0,008	3	0,443	0,291	0,577	0,083
total	130	0,206	0,041	0,508	0,010	114	1,757	0,113	14,908	0,219

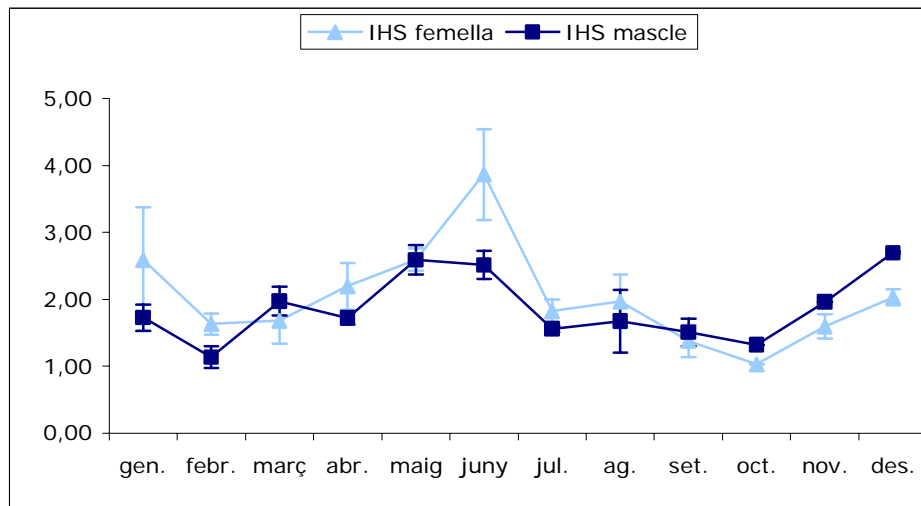
Gràf. 1. Valors mensuals de l'IGS en *S. porcus*. Barres verticals: ± error estàndard



Taula 14. Valors mensuals mitjos de l'índex hepatosomàtic (IHS) en *Scorpaena porcus*. (n = número total, ES = error estàndard).

	mascles					femelles				
	n	mitjana	mínim	màxim	ES	n	mitjana	mínim	màxim	ES
gener	5	1,728	1,288	2,269	0,195	2	2,588	1,802	3,375	0,787
febrer	4	1,137	0,791	1,552	0,166	5	1,630	1,157	1,960	0,155
març	6	1,968	0,986	2,426	0,215	6	1,681	0,797	3,104	0,338
abril	2	1,720	1,625	1,816	0,095	7	2,194	0,968	3,763	0,347
maig	19	2,591	1,054	4,552	0,222	29	2,595	1,055	4,326	0,165
juny	44	2,513	1,427	10,513	0,211	22	3,868	0,512	16,996	0,681
juliol	35	1,560	1,065	2,198	0,048	12	1,821	1,109	3,300	0,179
agost	2	1,674	1,208	2,140	0,466	7	1,966	0,864	3,433	0,402
setembre	9	1,506	0,142	2,491	0,202	9	1,378	0,852	2,887	0,239
octubre	1	1,319	1,319	1,319	.	1	1,029	1,029	1,029	.
novembre	1	1,962	1,963	1,963	.	11	1,595	1,005	2,811	0,179
desembre	2	2,697	2,675	2,719	0,022	3	2,028	1,791	2,148	0,118
total	130	2,065	0,142	10,513	0,092	114	2,384	0,512	16,996	0,164

Gràf. 2. Valors mensuals de l'IHS en *S. porcus*. Barres verticals: ± error estàndard

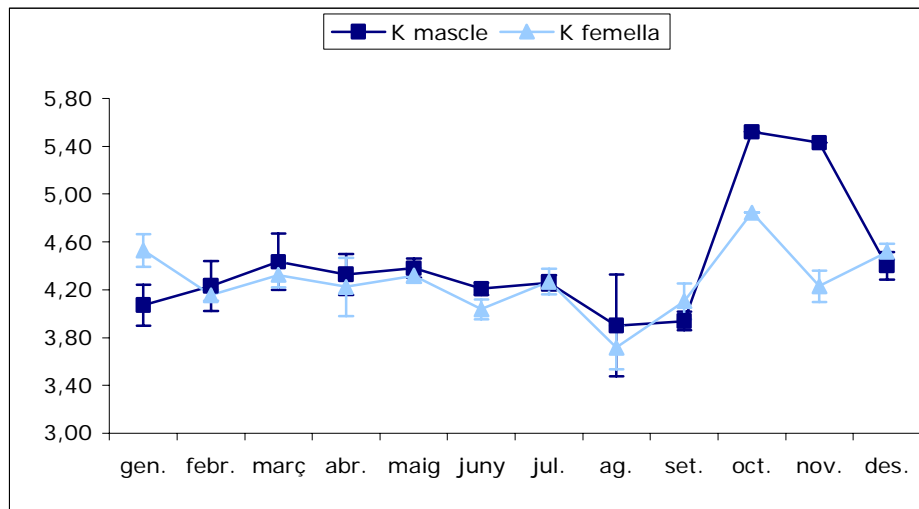


Taula 15. Valors mensuals mitjos del factor condició (K) en *Scorpaena porcus*.

(n = número total, ES = error estàndard).

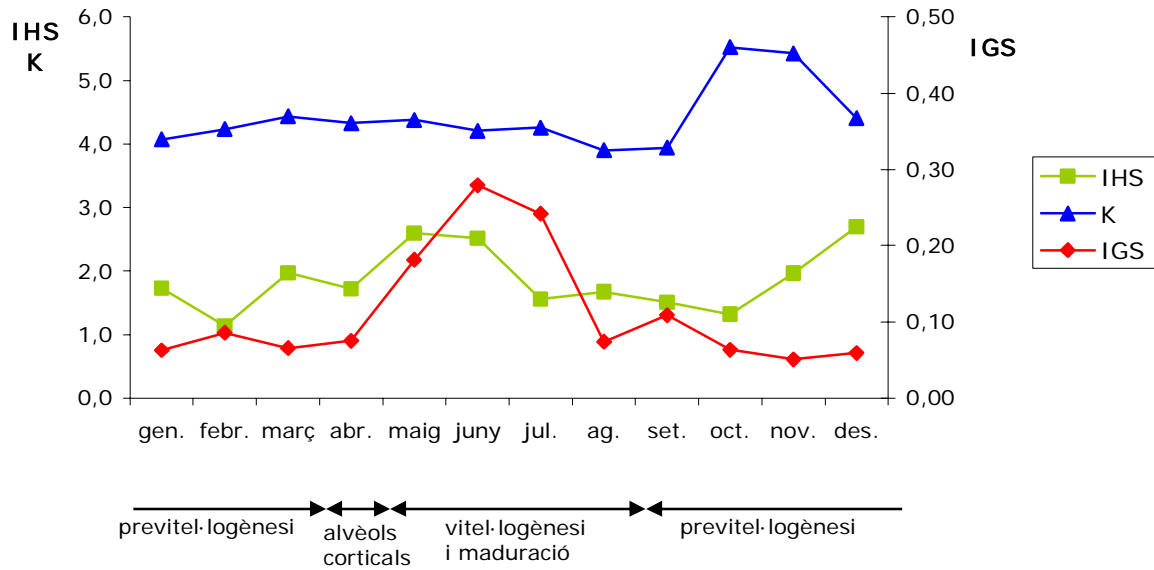
	mascles					femelles				
	n	mitjana	mínim	màxim	ES	n	mitjana	mínim	màxim	ES
gener	5	4,071	3,564	4,487	0,171	2	4,531	4,394	4,668	0,137
febrer	4	4,233	3,619	4,555	0,209	5	4,153	3,999	4,262	0,047
març	6	4,434	3,680	5,465	0,235	6	4,323	4,059	4,721	0,106
abril	2	4,328	4,155	4,501	0,173	7	4,224	3,035	5,017	0,246
maig	19	4,379	3,768	4,973	0,081	29	4,318	3,711	5,031	0,062
juny	44	4,208	3,317	4,977	0,050	22	4,035	3,132	4,923	0,085
juliol	35	4,257	3,625	5,228	0,062	12	4,267	3,813	4,959	0,106
agost	2	3,901	3,476	4,326	0,425	7	3,716	3,094	4,402	0,182
setembre	9	3,938	3,591	4,367	0,077	9	4,103	3,528	4,854	0,150
octubre	1	5,521	5,521	5,521	.	1	4,846	4,846	4,846	.
novembre	1	5,429	5,429	5,429	.	11	4,228	3,560	4,913	0,130
desembre	2	4,401	4,285	4,518	0,116	3	4,518	4,413	4,644	0,067
total	130	4,253	3,317	5,521	0,035	114	4,195	3,035	5,031	0,039

Gràf. 3. Valors mensuals del K en *S. porcus*. Barres verticals: ± error estàndard

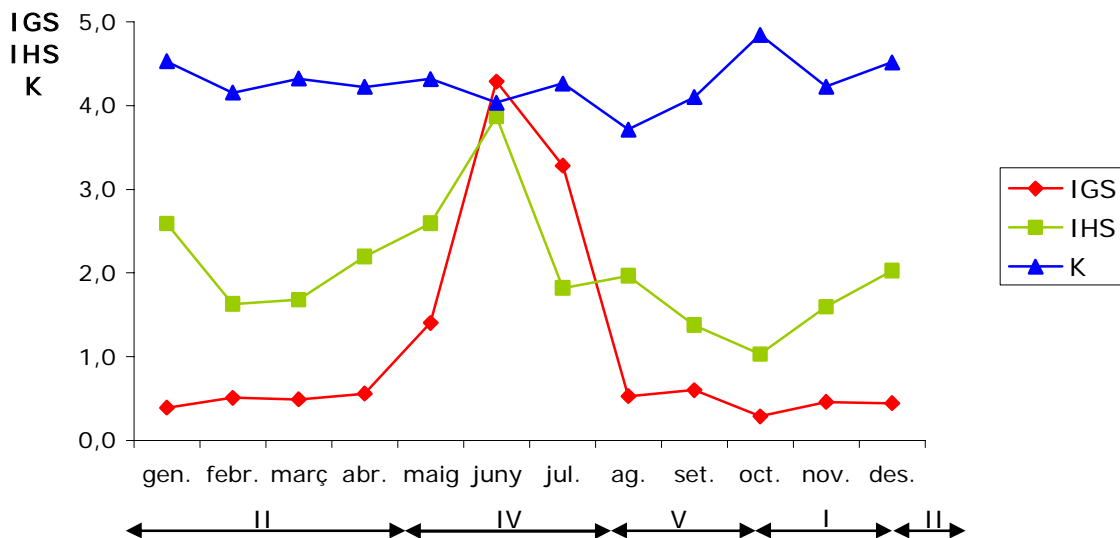


Gràf. 4. Cicle anual de *Scorpaena porcus*. Els gràfics mostren el cicle anual dels índexs relacionats amb la reproducció. A sota de cada gràfic s'especifica en quina classe del cicle es troba la gònada.

Mascles:



Femelles:



Anàlisi morfomètrica i gravimètrica de femelles i mascles.

Tal com s'observa a la Taula 16 existeixen diferències molt significatives entre mascles i femelles en relació a la longitud estàndard, longitud pre-anal i pes total ($p = 0,000$). Les femelles són més grans i pesen més que no pas els mascles.

S'han mesurat un total de 248 individus, dels quals 132 són mascles, i 116 femelles. Això significa que un 53,2% de la població són mascles (Taula 17), determinant un "sex-ratio" de 1,14, un resultat no significativament diferent de 1 ($\chi^2 = 1,032$, g.d.l. = 1, $p = 0,310$).

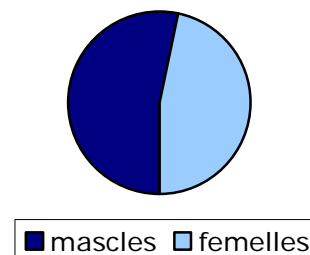
Taula 16. Longitud estàndard, longitud pre-anal i pes total de *Scorpaena porcus*.

[Ls = longitud estàndard (mm), LpA = longitud pre-anal (mm), Pt = pes total (g)]

	n	mitjana \pm error st.	Mínim	màxim	DS	nivell significació
Ls						
mascles	132	135,1 \pm 2,3	82	215	26,64	
femelles	116	159,4 \pm 2,9	65	218	31,46	**
total	248	146,5 \pm 2,0	65	218	31,37	
LpA						
mascles	132	82,5 \pm 1,5	48	128	17,13	
femelles	116	99,0 \pm 2,0	36	142	20,65	**
total	248	90,2 \pm 1,3	36	142	20,54	
Pt						
mascles	131	132,3 \pm 7,2	26,4	490,4	82,55	
femelles	115	218,7 \pm 11,6	10,6	794,9	123,91	**
total	246	172,7 \pm 7,2	10,6	794,9	112,36	

Taula 17. Proporció de sexes en *Scorpaena porcus*.

	n	%
mascles	132	53,2
femelles	116	46,8
nivell significació	ns	



FECUNDITAT

La taula 18 mostra les fecunditats absoluta i relativa de 12 femelles madures de *S. porcus*, capturades entre els mesos de juny i juliol. També s'indica la talla i pes de l'exemplar i la distribució dels ous per freqüència de diàmetre de cada exemplar.

Paral·lelament a aquest estudi, es van aconseguir dues postes de les quals també se'n va mesurar els ous que la formaven (taula 19). Cal comentar que aquestes postes ja es trobaven parcialment a fora l'individu quan es van extreure. En aquest cas no es tenen les dades de longitud i pes, malgrat que el segon individu que apareix en la taula era de mida molt petita, probablement amb una longitud estàndard menor a 130 mm.

Les equacions de regressió obtingudes per les dues fecunditats i la longitud estàndard (Ls), el pes eviscerat (Pe) i el pes gonadal (Pg), són les següents:

$\text{Log Fabs} = 3,05 + 1,57 \log \text{Ls}$	($r = 0,554$)	$p = 0,062$ n.s.
$\text{Log Fabs} = 3,71 + 0,55 \log \text{Pe}$	($r = 0,580$)	$p = 0,048$ *
$\text{Log Fabs} = 4,32 + 0,62 \log \text{Pg}$	($r = 0,792$)	$p = 0,002$ **
$\text{Log Frel} = 4,39 - 1,39 \log \text{Ls}$	($r = 0,520$)	$p = 0,083$ n.s.
$\text{Log Frel} = 3,71 - 0,45 \log \text{Pe}$	($r = 0,501$)	$p = 0,097$ n.s.
$\text{Log Frel} = 2,60 + 0,09 \log \text{Pg}$	($r = 0,123$)	$p = 0,702$ n.s.

(Fabs = fecunditat absoluta, Frel = fecunditat relativa, Ls = longitud estàndard, Pe = pes eviscerat, Pg = pes de les gònades).

Segons aquests resultats, només existeix una correlació significativa entre la fecunditat absoluta i el pes eviscerat i pes gonadal.

Al Gràf. 4 es representa la distribució dels oòcits per freqüència de diàmetre de cada individu. Existeix una distribució molt variable entre els diferents individus analitzats: alguns individus (núms. 4,6,8,12) presenten un número similar d'oòcits en diferents fases de desenvolupament; en d'altres (núms. 1 i 9), apareix una freqüència de diàmetre que sobresurt de totes les altres; i finalment, n'hi ha alguns (núms. 5 i 7), que presenten una distribució bimodal.

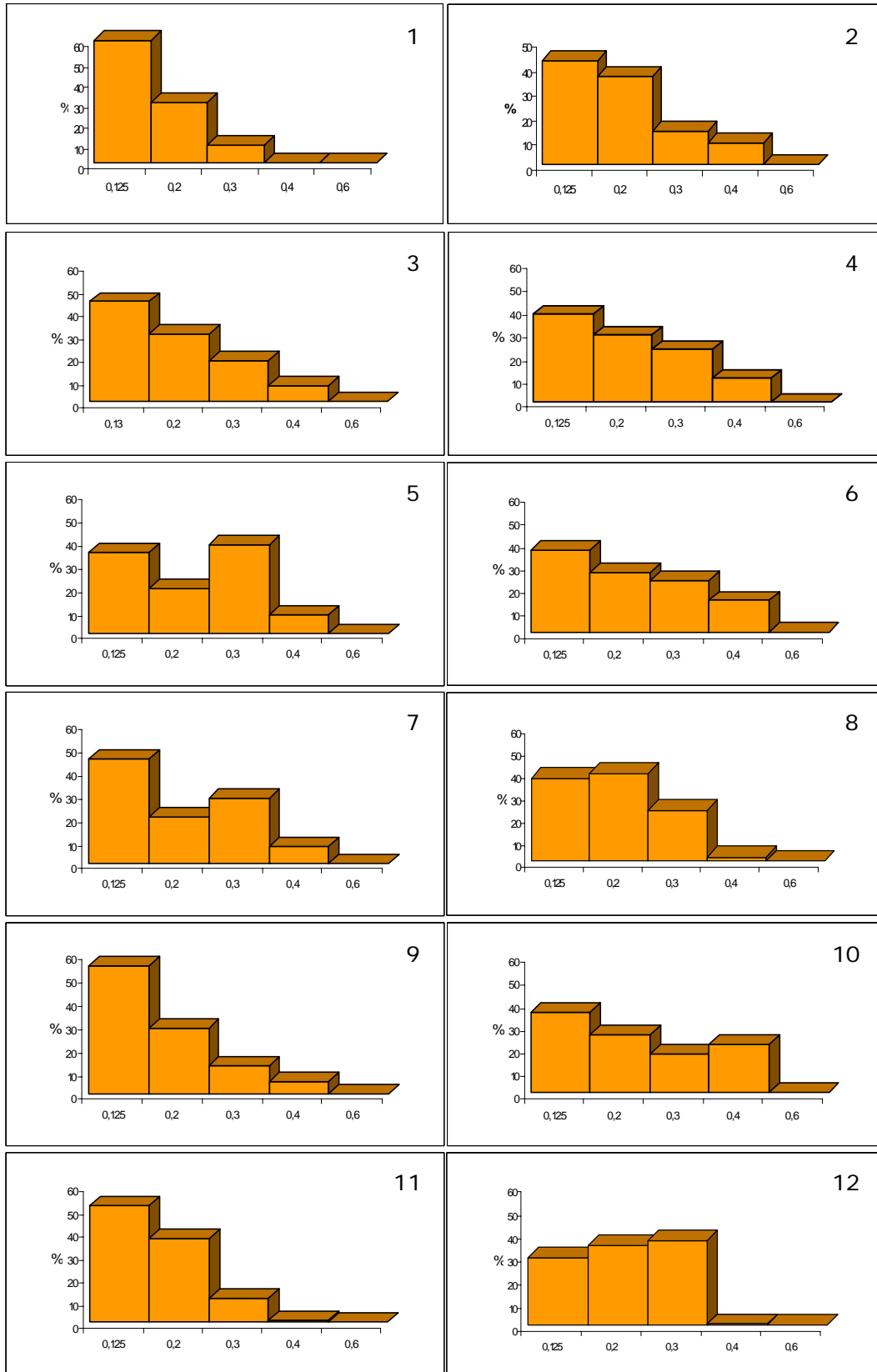
Taula 18. Distribució dels ous per freqüències de diàmetre (mm) i fecunditat de *Scorpaena porcus*. (Ls = longitud estàndard, Pe = pes eviscerat, Pg = pes de les gònades, D = diàmetre, F = fecunditat).

	Mes	Ls (mm)	Pe (g)	Pg (g)	D.0,125 (%)	D.0,2 (%)	D.0,3 (%)	D.0,4 (%)	D.0,6 (%)	F. absoluta	F. relativa
1	6	199	283,3	6,6630	61,5	29,7	8,8	0	0	109193	385,4
2	6	122	81,2	7,7839	42,5	36,1	13,1	8,3	0	72343	890,9
3	6	176	204,0	18,0059	44,1	30,2	18,5	7,2	0	143595	703,9
4	6	162	188,4	10,6491	37,7	29,1	22,6	10,6	0	169058	897,3
5	6	191	286,6	13,4825	34,9	19,4	37,9	7,8	0	87635	305,8
6	6	176	217,2	7,7351	36,6	26,5	22,8	14,1	0	49549	228,1
7	6	196	337,9	29,1006	44,5	19,8	28,2	7,5	0	247005	731
8	6	160	176,6	8,4883	37,0	38,8	22,6	1,6	0	82926	469,6
9	6	104	42,8	3,8844	54,8	28,0	11,8	5,4	0	45841	1071
10	7	184	258,4	38,5228	35,8	25,6	17,1	21,4	0,1	121327	469,5
11	7	194	290,3	15,3290	51,2	37,1	10,8	0,9	0	106161	365,7
12	7	153	151,0	3,6623	29,0	34,5	36,4	0,1	0	34421	228

Taula 19. Fecunditat absoluta i distribució dels oòcits per freqüència de diàmetres de dues postes de *S. porcus*.

Mes	D.0,4	D.0,6	D.0,7	D.0,8	nº d'ous
6	2256	2865	154		5275
7	343	967	508	4	1822

Gràf. 4. Distribució dels ous per freqüència de diàmetre de cada individu.



CICLE ANUAL I FECUNDITAT DE *S. scrofa*

Cicle anual dels ovaris:

Tal com s'ha comentat en anteriorment, el cicle anual de *S. scrofa* no s'ha pogut descriure en profunditat degut a la petita talla dels individus capturats i al poc nombre d'individus que s'han aconseguit en alguns mesos. Tot i això, l'estudi realitzat a partir dels individus que s'han pogut obtenir aporta resultats destacables pel que fa al cicle anual de les femelles d'aquesta espècie:

Durant tot el període anterior a la classe de maduració s'observa, amb molta freqüència, centres melanomacrofàgics de diferents mides en el raquis i a la base de les lamel·les ovàriques. Aquests centres solen ser PAS positius (Fig. 27a) i en alguns casos també es tenyeixen lleugerament amb blau d'alcià pH 2,5 (Fig. 27b). En aquest període les cèl·lules de l'epiteli de la paret ovàrica són prismàtiques o columnars, amb un nucli gros amb la cromatina condensada heterogèniament que ocupa quasi tota la cèl·lula (Fig. 27c). En el citoplasma s'hi poden observar alguns mitocondris de matriu lleugerament densa, molt reticle endoplasmàtic rugós i ribosomes. A la seva base hi destaquen tota una sèrie d'espais buits sense citoplasma (Fig. 27d); i a la part apical s'hi localitzen, de forma molt esporàdica, alguns microvilli (Fig. 27e). Les cèl·lules epitelials es mantenen unides per desmosomes, sobretot situats a la meitat apical de les cèl·lules, i per algunes interdigitacions (Fig. 27c).

En els mesos de juliol i agost l'ovari es troba en la classe de maduració, ja que conté tots els estadis de desenvolupament de l'oòcit, des de l'estadi d'oogònia fins a oòcits hidratats (Fig. 27f). És probable que aquesta fase s'allargui algun mes més, però malauradament no s'han pogut capturar femelles potencialment madures dels mesos de setembre i d'octubre per poder comprovar-ho. En exemplars del mes d'agost i setembre s'ha detectat la presència de fluid ovàric en el lumen, que igual que en l'espècie anterior, és una massa viscosa i transparent que envolta els oòcits madurs just abans que tot el conjunt sigui alliberat cap al medi marí en el moment de la posta. Aquesta posta també és pelàgica i flotant.

Al llarg d'aquests dos mesos l'epiteli de la paret ovàrica desenvolupa unes projeccions citoplasmàtiques (Fig. 27g), tal com també s'ha detectat en *S. porcus*. Aquestes secreten una substància que reacciona positivament a la tinció de PAS-Schiff i a la de blau de toluídina. Les cèl·lules d'aquest epiteli s'allarguen de forma exagerada i el

nucli, que s'acaba localitzant a la meitat basal, es redueix, al mateix temps que la seva cromatina esdevé homogènia (Fig. 28a). A sobre d'aquest nucli hi destaca una vesícula molt gran de productes de secreció (Fig. 28b). El citoplasma està format per reticle endoplasmàtic rugós, mitocondris, molts vacúols i glicogen. En aquest cas el número de microvillis sembla no augmentar, tot i que s'observa secreció apocrina (Fig. 28c) i holocrina (Fig. 28d).

Al llarg d'aquests dos mesos també s'han observat al microscopi òptic secrecions PAS positives i blau de toluídina positives per part de l'epiteli lamel·lar i la teca (Fig. 28e,f).

LÀMINA 27

CICLE ANUAL DE LES FEMELLES DE *S. scrofa*

- a. Ovari en classe de previtel·logènesi. S'observa clarament la presència de diversos centres melanomacrofàgics PAS positius. PAS. Barra = 400 µm.
 - b. Detall al microscopi òptic de dos centres melanomacrofàgics blau alcià pH 2,5 positius. Blau d'alcià pH 2,5. Barra = 200 µm.
 - c. Vista al microscopi electrònic de transmissió de la paret ovàrica durant la classe de previtel·logènesi. Mes de febrer. Barra = 2 µm.
 - d. Detall de la part basal de les cèl·lules epitelials de la paret ovàrica, on s'observa la presència de diversos espais buits (fletxes). Barra = 1 µm.
 - e. Detall de la part apical de les cèl·lules epitelials de la paret ovàrica. La fletxa mostra els microvillis tallats transversalment. Barra = 0,5 µm.
 - f. Secció transversal d'un ovari madur. Blau de toluïdina. Barra = 400 µm.
 - g. Detall al microscopi òptic de les projeccions citoplasmàtiques de l'epiteli de la paret ovàrica que es formen durant la classe de maduració de l'ovari. Blau de toluïdina. Barra = 30 µm.
-
-

Abreviatures:

cm: centre melanomacrofàgic

d: desmosoma

e: epiteli

Ho: oòcit hidratat

i: interdigitacions

l: lamel·la

m: mitocondri

mb: membrana basal

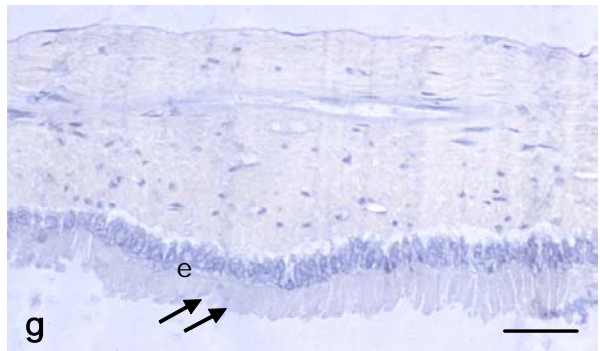
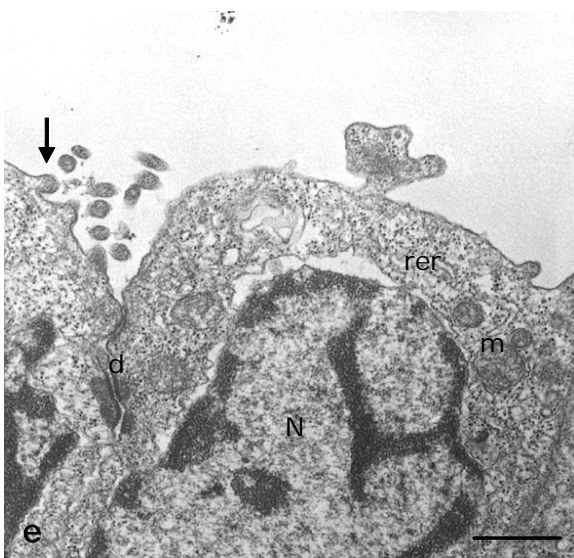
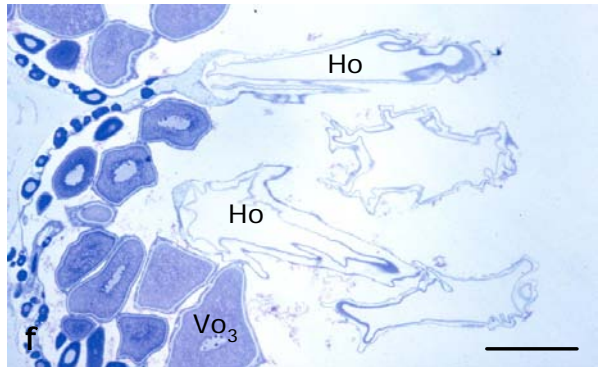
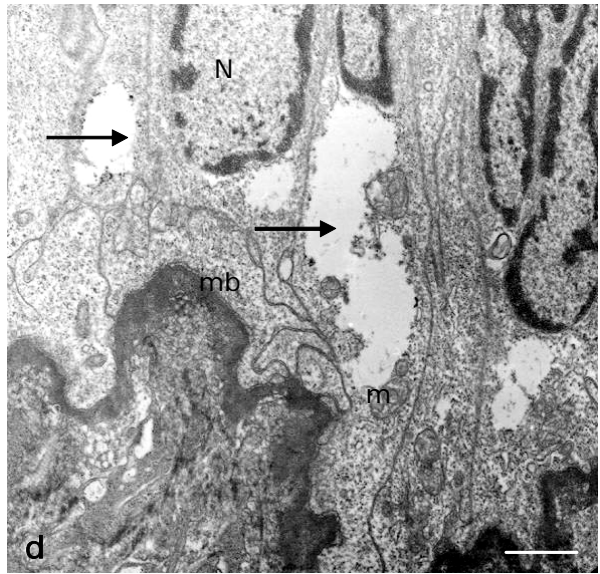
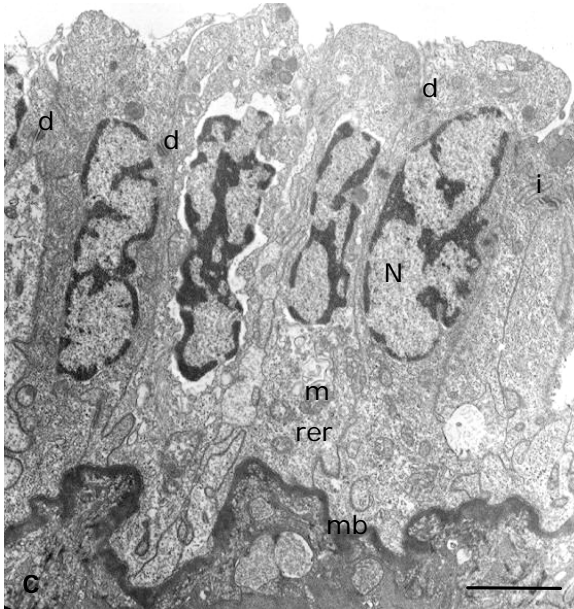
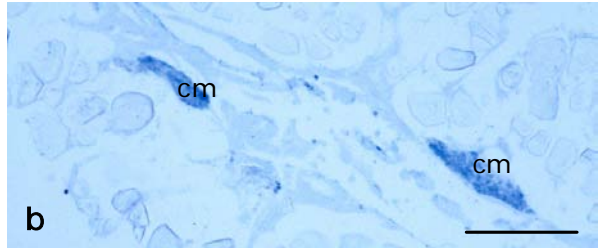
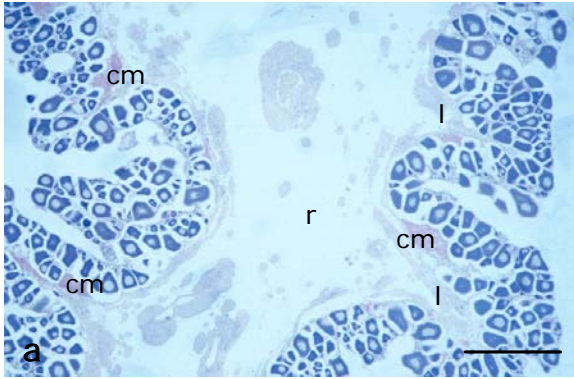
N: nucli

r: raquis

rer: reticle endoplasmàtic rugós

Vo₃: oòcit vitel·logènic III

LÀMINA 27



LÀMINA 28

CICLE ANUAL DE LES FEMELLES DE *S. scrofa*

- a. Vista al microscopi electrònic de transmissió de l'epiteli de la paret ovàrica durant la classe de maduració. Mes de juliol. Barra = 12 μm .
 - b. Detall de la vesícula situada sobre el nucli que presenten les cèl·lules epitelials de la figura anterior. Barra = 3 μm .
 - c. Detall de la part apical de les projeccions citoplasmàtiques de l'epiteli de la paret ovàrica. Les fletxes mostren una vesícula de secreció apocrina. Barra = 3 μm .
 - d. Secreció holocrina de les projeccions citoplasmàtiques. Barra = 3 μm .
 - e. Detall al microscopi òptic de la teca secretant una substància PAS positiva (fletxes). PAS. Barra = 10 μm .
 - f. Detall de les cèl·lules de la teca i de l'epiteli lamel·lar secretant una substància blau de toluïdina positiva. Blau de toluïdina. Barra = 10 μm .
-
-

Abreviatures:

gl: glicogen

N: nucli

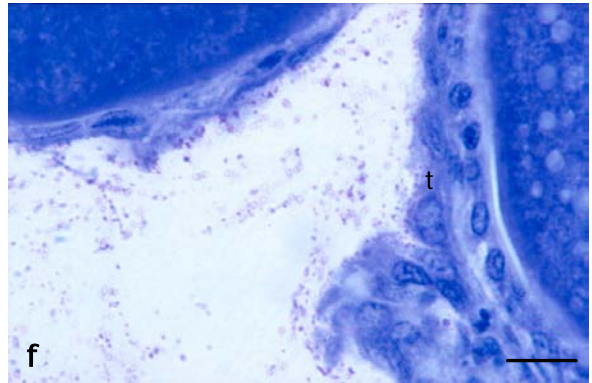
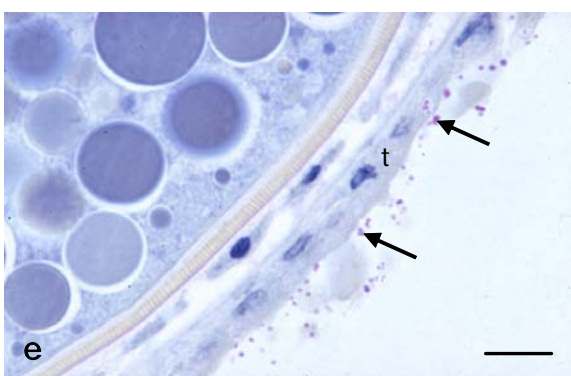
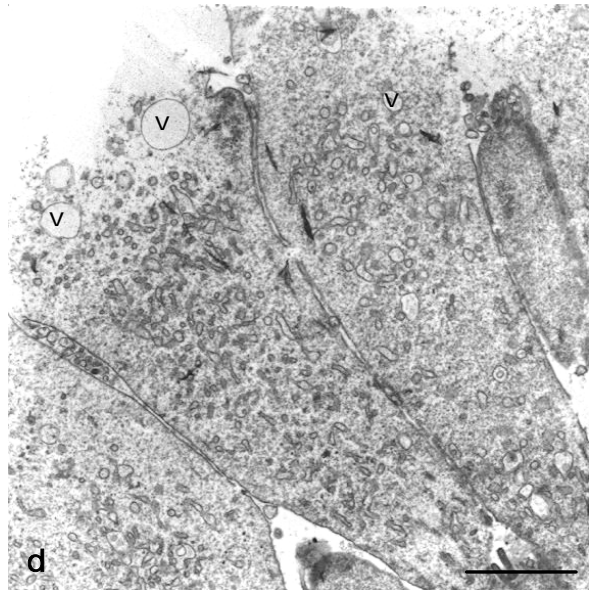
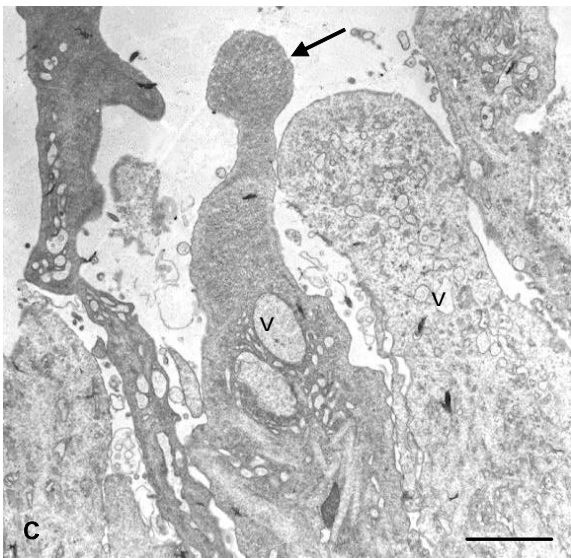
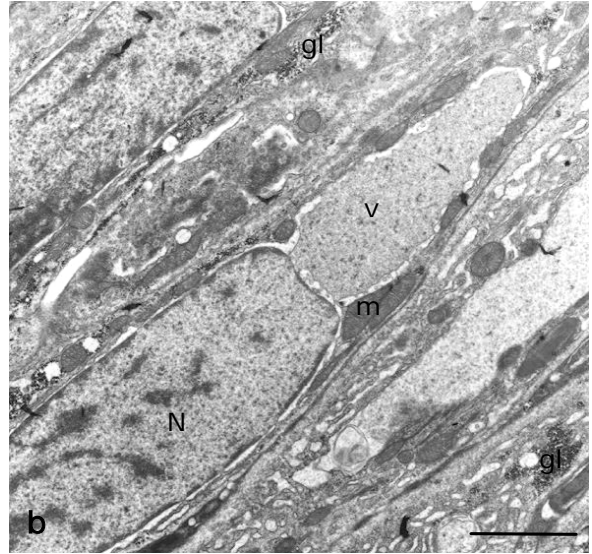
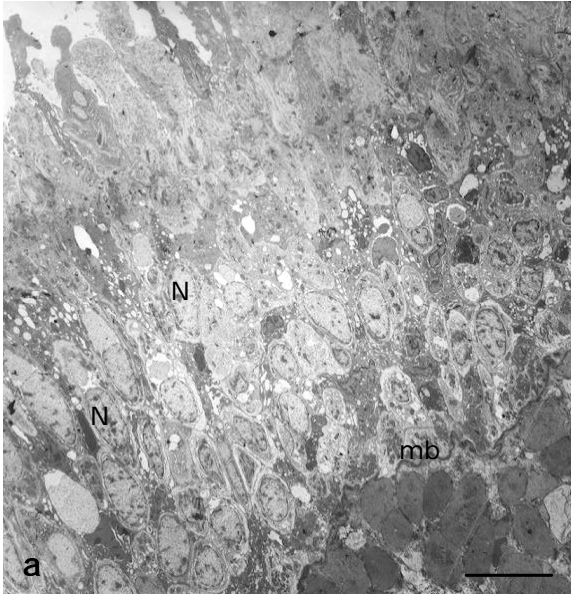
m: mitocondri

t: teca

mb: membrana basal

v: vacúol

LÀMINA 28



Anàlisi morfomètrica i gravimètrica de femelles i mascles.

Entre els mascles i les femelles de *S. scrofa* existeixen diferències molt significatives en relació a la longitud estàndard i a la longitud pre-anal ($p = 0,001$). En canvi, les diferències són no significatives pel que fa al pes total ($p = 143$) (taula 20). Cal tenir en compte que en l'anàlisi pel pes total no es van poder incloure els espècimens més grossos, ja que es tracta d'individus capturats durant la campanya de Colombres, on no es pesaren els exemplars.

D'un total de 108 exemplars analitzats, el 43 % són mascles, el 53% són femelles, i el 12% restant queden com indeterminats. Descartant aquests últims, la proporció de sexes és molt equilibrada, 0,81, i molt propera a 1 ($\chi^2 = 1,042$, g.d.l. = 1, $p = 0,307$) (taula 21).

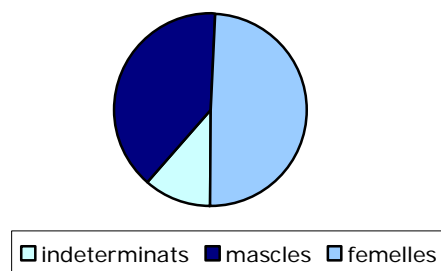
Taula 20. Longitud estàndard, longitud pre-anal i pes total de *Scorpaena scrofa*.

[Ls = longitud estàndard (mm), LpA = longitud pre-anal (mm), Pt = pes total (g)]

	n	mitjana \pm error st.	Mínim	màxim	DS	nivell significació
Ls						
Indeterminats	12	119,0 \pm 7,2	93	168	24,80	
mascles	43	252,4 \pm 12,4	143	410	81,09	
femelles	53	199,9 \pm 8,5	94	356	61,74	**
total	108	211,8 \pm 7,6	93	410	78,71	
LpA						
Indeterminats	12	73,8 \pm 4,6	57	107	16,00	
mascles	43	162,86 \pm 8,7	87	275	56,83	
femelles	53	126,3 \pm 5,9	42	233	43,16	**
total	108	135,0 \pm 5,2	42	275	54,50	
Pt						
Indeterminats	12	78,6 \pm 13,2	36,0	174,0	45,75	
mascles	30	371,9 \pm 38,1	37,6	874,0	208,75	ns
femelles	45	330,5 \pm 46,5	31,0	1939,8	312,11	
total	87	310,0 \pm 29,1	31,0	1939,8	271,71	

Taula 21. Proporció de sexes en *Scorpaena scrofa*.

	n	%
Indeterminats	12	11,1
Mascles	43	39,8
Femelles	53	49,1
nivell significació	ns	



FECUNDITAT

A la taula 22 es detallen les fecunditats absoluta i relativa, algunes dades morfomètriques i la distribució dels ous per freqüència de diàmetre, de cada una de les femelles madures de *S. scrofa* capturades entre els mesos de juliol i agost. No s'han calculat les equacions de regressió entre les fecunditats absolutes i relatives, i la mida, el pes eviscerat i el pes gonadal, ni tampoc s'han representat la distribució dels ous de cada individu degut a què només s'han pogut analitzar cinc femelles.

Taula 22. Distribució dels ous per freqüències de diàmetre (mm) i fecunditat de *Scorpaena scrofa*. (Ls = longitud estàndard, Pe = pes eviscerat, Pg = pes de les gònades, D = diàmetre dels ous, F = fecunditat).

	Mes	Ls (mm)	Pe (g)	Pg (g)	D.0,125 (%)	D.0,2 (%)	D.0,3 (%)	D.0,4 (%)	F. absoluta	F. relativa
1	7	356	1745,5	88,1636	18,5	34,5	33,4	13,6	428057	245,2
2	7	199	334,9	1,8770	25,8	32,0	23,5	18,7	152949	237,2
3	8	247	536,9	25,0731	46,8	32,6	18,7	1,9	224602	418,3
4	8	259	641,5	63,2575	22,6	33,7	22,5	21,2	260346	405,8
5	8	219	355,4	13,8734	46,0	31,0	22,6	0,4	171084	481,4

6.3. DISCUSSIÓ

Els cicles anuals dels mascles i femelles de *Scorpaena porcus* coincideixen quasi totalment, ja que només difereixen lleugerament al final de l'etapa de maduració: mentre que la de la femella s'acaba a l'agost, la del mascle s'allarga fins al setembre. Aquesta petita diferència no es considera important perquè el límit de les diferents fases no és fix per a tota la població, sinó que pot variar en funció de cada individu i de les condicions ambientals.

En els mesos en què les gònades són immadures l'IGS es manté molt baix fins al mes d'abril, quan aquest índex comença a augmentar de manera ràpida i sobtada aconseguint el valor màxim al mes de juny. A les femelles aquest augment es pot relacionar amb l'acumulació d'una gran quantitat de fluid ovàric gelatinós i amb l'augment de volum dels oòcits, mentre que en els mascles és degut a l'elevat nombre de cèl·lules germinals en tots els diferents estadis de desenvolupament que conté el testicle. El període de posta de *S. porcus* es pot delimitar entre juny i agost, tenint en compte la baixada brusca que experimenta l'IGS en aquests tres mesos i la presència d'oòcits hidratats i fol·licles postovulatoris. Aquest període és similar al citat per la regió d'Alger (Silbot-Bouteflika, 1976) i pel Golf de Gabes (Bradai i Bouain, 1991), situat entre els mesos de juliol i de setembre. Durant aquest període apareix una gran quantitat de fluid ovàric gelatinós i transparent, i que en la posta s'expulsa juntament amb els oòcits madurs formant una massa gelatinosa d'ous flotant. Aquest tipus de fluid també apareix en ovaris de *S. scrofa* obtinguts el mes d'agost.

S'han descrit masses d'ous pelàgiques en diverses espècies: *Branchiostegus japonicus* (Okumura *et al.*, 1996); vàries espècies de la família Lophiidae: *Lophius piscatorius* (Prince, 1891; Fulton, 1898; Afonso-Dias i Hislop, 1996), *Lophius americanus* (Armstrong *et al.*, 1992) i *Lophiomus setigerus* (Yoneda *et al.*, 1998b); en espècies de la família Ophidiidae: *Ophidion* sp. (Spartà, 1932); i sobretot en moltes espècies de la família Scorpaenidae: *Dendrochirus brachypterus* (Fishelson, 1975), *D. zebra* (Moyer i Zaiser, 1981), *Pterois volitans* i *P. radiata* (Fishelson, 1975), *Sebastalobus alascanus* (Erickson i Pkitch, 1993), *Sebastalobus macrochir* (Koya i Matsubara, 1995), *Trachyscorpia cristulata echinata* (Ragonese i Giusto, 1999), *Helicolenus dactylopterus dactylopterus* (Krefft, 1961; Muñoz *et al.*, 1999), *Scorpaenodes littoralis* (Yoneda *et al.*, 2000); *Scorpaena miostoma* (Kimura *et al.*, 1989) i *Scorpaena notata* (Muñoz *et al.*, 2002b). Els diferents autors suggereixen diverses funcions que pot dur a terme la

massa gelatinosa que engloba la posta: facilitar la fertilització i dispersió dels ous (Armstrong *et al.*, 1992; Alfonso-Dias i Hislop, 1996), protegir els ous i larves davant els depredadors (Fishelson, 1977; Moyer i Zeiser, 1981; Armstrong *et al.*, 1992; Alfonso-Dias i Hislop, 1996), i funcionar com a mecanisme de flotació de la posta (Armstrong *et al.*, 1992; Muñoz *et al.*, 2002b).

En diverses espècies s'ha suggerit que el fluid ovàric és secretat per l'epiteli de la paret ovàrica (Yamamoto, 1963; Takano, 1968; Fishelson, 1977; Gardiner, 1978; Erickson i Pikitch, 1993 i Yoneda *et al.*, 1998b, Muñoz *et al.*, 2002b); mentre que en altres casos s'ha descrit que, a part de la paret ovàrica, l'epiteli lamel·lar també contribueix en la seva secreció (Koya *et al.*, 1993; Koya i Matsubara, 1995; Koya *et al.*, 1995b; Muñoz *et al.*, 1999; Yoneda *et al.*, 2000). En *S. porcus* es produeix un canvi ultraestructural de les cèl·lules que limiten el lumen ovàric. Tant l'epiteli de la paret ovàrica com en l'epiteli lamel·lar mostren canvis morfològics importants al llarg del procés de maduració. Les cèl·lules s'hipertrofiïen, apareixen una gran quantitat de vesícules en el citoplasma, i es donen processos d'exocitosi a la base dels microvillis que s'han desenvolupat a la part apical de la cèl·lula. En el microscopi òptic s'observa com aquestes secrecions contenen mucopolisacàrids neutres, ja que es tenyeixen fortament amb la reacció de PAS-Schiff. En *S. scrofa* també s'ha observat com l'epiteli de la paret ovàrica desenvolupa una sèrie de projeccions citoplasmàtiques similars a les de l'espècie anterior. S'han detectat secrecions per part dels dos epitelis que, en aquest cas, no només són PAS positives, sinó també blau de toluidina positives; per tant, secreten tant mucopolisacàrids neutres com mucopolisacàrids àcids. Aquests resultats obtinguts per les dues espècies indiquen que tant l'epiteli de la paret ovàrica com l'epiteli lamel·lar participen en la formació de les substàncies que formen el fluid ovàric.

La disminució de l'IGS a partir del mes de juny en mascles, no està relacionat amb l'alliberament dels gàmetes, com en el cas de la femella, sinó que finalitza l'espermatocitogènesi i la meiosi, de manera que en el testicle hi predomina l'espermogènesi al mateix temps que es dona l'eliminació dels cossos residuals per part de les cèl·lules de Sertoli (Stoumbodi *et al.*, 1993). Aquesta davallada del pes dels testicles coincideix amb la classe de maduració funcional, que juntament amb la classe de proliferació d'espermatogònies, és quan es produeix un repoblament de les espermatogònies primàries a la part distal del lòbul gràcies a la divisió tant d'espermatogònies com de cèl·lules de Sertoli, per preparar-se per la propera època de posta. Mitjançant la tècnica de PCNA s'ha constatat que no existeix cap període de

repòs entre dues estacions reproductives, sinó que la divisió cel·lular és activa al llarg de tot el cicle anual. Així doncs, el procés d'espermatogènesi és continu al llarg de tot el cicle reproductor, tot i els canvis de mida del testicle i els canvis de predominància de les cèl·lules germinals. Aquest fet també s'ha constatat en *Rachycentron canadum* (Brown-Peterson *et al.*, 2002), i en *Synbranchus marmoratus* (Lo Nostro *et al.*, 2003).

En aquests mesos de post-posta i preparació de la propera època de reproducció apareixen una gran quantitat de centres melanomacrofàgics a l'estroma ovàric i a la regió central testicular. Aquests centres també es detecten en *S. scrofa*. Els centres melanomacrofàgics són descrits com agregats cel·lulars compactes o com grans cèl·lules amb inclusions heterogènies. La seva funció bàsica és de reabsorció, per fagocitosis, de partícules o productes resultants de la degradació cel·lular (Ellis *et al.*, 1976; Macchi *et al.*, 1992), i es creu que aquests centres són una resposta immune de les cèl·lules a una zona concreta de degeneració del teixit (Grier i Taylor, 1998). S'han observat centres melanomacrofàgics en gònades de *Symbranchus marmoratus*, sobretot en l'època post-reproductiva, i situats pròxims a les cèl·lules germinals o dispersos pel teixit intersticial, associats o no als vasos sanguinis (Ravaglia i Maggese, 1995). En mascles de *Centropomus undecimalis* aquests centres són PAS positius i apareixen sobretot a l'interior del compartiment intersticial i poques vegades també dins el lòbul, i se'ls hi atribueix la funció de fagocitar espermatozoides residuals juntament amb les cèl·lules de Sertoli (Grier i Taylor, 1998). En el cas de *S. porcus* i *S. scrofa* s'observen al raquis músculo-connectiu i a les lamel·les ovàriques en les femelles; mentre que en els mascles es localitzen sobretot prop dels conductes espermàtics i en l'espai intersticial, però no dins el lòbul. Tampoc s'ha detectat cap procés de fagocitosis d'espermatozoides. En *S. notata* també apareixen centres melanomacrofàgics PAS positius, que en un primer moment van ser descrits com glàndules holocrines (Muñoz *et al.*, 2002b). Segons Grier i Taylor (1998), la presència de cèl·lules PAS positives i centres melanomacrofàgics en gònades, pot ser un mecanisme generalitzat de regressió gonadal tant en peixos com en altres animals que presenten un cicle reproductor anual.

La contribució del fetge com a font d'energia necessària per la reproducció en *S. porcus* és força clara en ambdós sexes. L'IHS va augmentant des del març-abril fins al pic de maduració de les gònades, quan cau en picat. Això indica que les reserves lipídiques s'utilitzarien com a font d'energia per la fase final de la maduració i per la posta, tant en mascles com en femelles. De fet, Shchepkin (1971) ja va constatar en

aquesta mateixa espècie que els triglicèrids del fetge participen activament en el creixement de les gònades i com a suplement energètic del període de posta. L'efecte de la condició física dels individus en la reproducció és diferent segons el sexe. En mascles, el factor de condició es manté més o menys constant durant els mesos de maduració, i per tant les reserves corporals sembla que no contribueixin a la maduració dels testicles. En les femelles, en canvi, experimenta un lleuger descens coincidint amb el valor màxim de l'IGS i l'IHS, que s'atribueix a la demanda d'energia que necessiten les femelles per la vitel·logènesi (Santos *et al.*, 1996). Així doncs, els mascles de *S. porcus* utilitzen les reserves lipídiques del fetge per realitzar el procés de maduració dels testicles i la seva condició no es veu massa afectada pel procés reproductiu; mentre que les femelles utilitzen les reserves acumulades en diferents parts del cos al llarg de la vitel·logènesi, de manera que la seva condició física es veu ressentida pel desgast energètic que comporta la maduració dels oòcits, i finalment utilitzen les reserves del fetge per acabar la fase de maduració i per la posta.

La població estudiada de l'escòrpora fosca té un número semblant de mascles i femelles, però presenta dimorfisme sexual: la longitud estàndard, longitud pre-anal i pes total de les femelles són superiors i molt significativament diferents als dels mascles. Bradai i Bouain (1988) també assenyalen pel Golf de Gabes que les femelles d'aquesta espècie creixen més ràpidament que els mascles, però en el seu cas les femelles són més abundants que els mascles. Per contra, a la regió de Marsella són els mascles que predominen a la població i que tenen talles més grans que les femelles (Kaim-Malka i Jacob, 1985). Així doncs, els resultats dels que disposem són molt diferents i contradictoris, fet que fa pensar en la necessitat d'analitzar un nombre d'individus més elevat per tal de poder estudiar amb més detall la proporció de sexes i el dimorfisme sexual en aquesta espècie.

En la població estudiada del cap roig la proporció de sexes es manté sempre propera a l'equitat, i els mascles són més grans que les femelles. Aquests resultats coincideixen plenament amb els observats per la població estudiada del Golf de Gabes (Bradai i Bouain, 1988; Bradai i Bouain, 1991).

El nombre d'ous de *S. porcus* que maduren en cada cicle reproductor varia entre 34000 i 247000, aproximadament. La distribució dels ous per freqüència de diàmetre dels 12 individus estudiats també és força variable, fet que suggereix que s'han

analitzat femelles que es troben en diferents moments del període de posta. Així, l'existència d'algunes distribucions bimodals posa de manifest que la posta de l'escòrpora fosca és múltiple, i suggereix que els exemplars que presenten distribucions més uniformes o unimodals han estat capturats i analitzats després d'haver realitzat una o més postes. L'anàlisi de la fecunditat feta per aquesta mateixa espècie en el Golf de Gabes (Bradai i Bouain, 1991), mostra un nombre total d'ous molt inferior a l'observat en aquest treball, ja que no van comptabilitzar els oòcits en estadi d'alvèols corticals. De totes maneres, és important tenir en compte que el valor de la fecunditat absoluta calculat és aproximat, perquè, per una banda, tal com s'ha comentat anteriorment, alguns dels individus ja han realitzat una o més postes abans de ser capturats; i per l'altra banda, alguns dels oòcits que s'han comptabilitzat no seran mai alliberats, ja que degeneraran pel procés d'atrèsia.

La fecunditat absoluta de *S. porcus* incrementa a mesura que augmenta el pes eviscerat i el pes gonadal. La relació que s'estableix entre aquests paràmetres presenta una al·lometria decreixent, és a dir, que el creixement en pes de l'individu i de la gònada és més ràpid que l'increment en nombre d'ous. Tot i això, el coeficient de correlació entre fecunditat absoluta i pes gonadal és elevat, tal i com passa en la majoria d'espècies (Kartas i Quignard, 1984). Per altra banda, no existeix correlació entre la fecunditat absoluta i la longitud estàndard, fet poc habitual ja que en la majoria de peixos la fecunditat està en funció de la mida de l'individu (Wourms i Lombardi, 1992). Aquest resultat, com també l'absència de correlació entre la fecunditat relativa i la mida, el pes eviscerat i el pes ovàric, podrien ser causats per l'anàlisi d'exemplars que ja havien realitzat alguna posta, per la poca grandària mostral, i per la gran variabilitat dels valors obtinguts que se'n deriva. L'escassetat d'individus en plena maduració ha fet necessari l'agrupament d'exemplars capturats en diferents anys, de manera que els resultats també es veuen afectats per les variacions interanuals de la fecunditat, àmpliament demostrades en altres espècies (Bagenal, 1957, 1973; Raitt i Hall, 1967; Hunter *et al.*, 1985; deMartini, 1990, 1991; Eldridge i Jarvis, 1995). De totes maneres, deMartini (1990) també comenta que justament a causa de l'elevada variabilitat interanual de caràcters com la fecunditat o la mida dels ous (Svardson, 1949), no seria raonable descriure la biologia de la reproducció d'una espècie a partir de les dades d'un sol any.

El diàmetre màxim dels ous de *S. porcus* és aproximadament de 500-600 µm, tant si es mesura en els talls histològics com després d'estar un temps amb líquid de Gilson. En canvi, el diàmetre màxim trobat en les 2 postes obtingudes és de 700-800 µm.

Aquesta diferència de mida probablement evidencia l'augment de volum que pateixen els ous de moltes espècies quan entren en contacte amb l'aigua de mar.

Pel què fa a la fecunditat absoluta obtinguda pel cap roig també és molt variable, d'entre 153000 i 420000 ous. Aquest és un estudi preliminar de la fecunditat d'aquesta espècie, perquè només s'han pogut obtenir cinc individus degut a l'elevada talla en què es dona la maduració sexual i a la dificultat d'obtenir espècimens de talles grans. És probablement per aquestes mateixes raons per les que tampoc s'han pogut trobar dades bibliogràfiques sobre la fecunditat de l'espècie. L'anàlisi d'aquestes primeres dades suggereixen que la fecunditat de *S. scrofa* es mou dins d'uns paràmetres similars als de *S. porcus*, malgrat que cal ampliar l'estudi a un major nombre d'individus per tal de poder-ho afirmar.

7- DISCUSSIÓ GENERAL

7. DISCUSSIÓ GENERAL

Al llarg dels tres capítols anteriors s'ha analitzat la biologia reproductiva de *S. porcus*, *S. scrofa* i també, encara que en menys detall, de *S. elongata*, posant de manifest tota una sèrie de característiques particulars que difereixen de la majoria de teleostis ovípars, i que situarien aquestes espècies dins un ovuliparisme més especialitzat. Muñoz *et al.* (2002b, 2002c) també ho va destacar per *Scorpaena notata*, fet que fa pensar que possiblement caracteritza a totes les espècies del gènere *Scorpaena*. De fet, Wourms i Lombardi (1992) ja van assenyalar que aquest gènere representa una transició dels escorpènids cap a una posta més especialitzada. En aquest treball s'ha vist que l'especialització no es troba només en la posta, sinó que també afecta molts altres caràcters.

En primer lloc aquestes espècies presenten una estructura ovàrica molt particular: l'estroma està situat al centre de la gònada, envoltat completament pel lumen i per la paret ovàrica; i els oòcits s'hi troben connectats per mitjà de peduncles. Aquesta estructura és exclusiva dels escorpènids ovípars, i s'ha relacionat amb la producció d'una massa gelatinosa que acaba englobant la posta (Koya i Matsubara, 1995). Tots els gèneres ovípars de la família Scorpaenidae estudiats fins ara (*Helicolenus*, *Sebastolobus*, *Pterois*, *Dendrochirus*, *Scorpaenodes*, *Scorpaena*, *Scorpaenopsis*, *Setarches* i *Trachyscorpia*) presenten aquesta estructura, i totes les espècies analitzades sintetitzen aquest fluid ovàric viscos i transparent, incloent les espècies estudiades en aquest treball. Aquest fluid ovàric envolta els oòcits hidratats i tota la massa és expulsada en el moment de la posta.

S'ha estudiat el comportament d'alguns escorpènids que produeixen aquestes masses d'ous. En tots els casos analitzats s'ha vist com el procés d'alliberament dels gàmetes no és tan simple com el de la majoria d'espècies amb fertilització externa, sinó que va precedit d'una pauta de festeig, més o menys complicada segons l'espècie, i d'un aparellament mascle-femella. Així per exemple, en *D. brachypterus*, *P. volitans* i *P. radiata*, quan la femella accepta el mascle s'aparellen i tots dos puguen cap a la superfície on alliberen els seus gàmetes (Fishelson, 1975). En *D. zebra* les femelles en condicions de fer la posta es situen prop del centre d'activitat d'alguns mascles, i posteriorment els mascles competeixen per les femelles, sovint amb lluites, abans d'aparellar-se (Moyer i Ziser, 1981). En *Branchiostegus japonicus* també s'ha descrit el

festeig i un posterior aparellament que acaba amb l'alliberament dels gàmetes dels dos sexes (Okumura *et al.*, 1996). Així doncs, la producció de masses d'ous gelatinoses pelàgiques sembla estar relacionada amb el procés d'aparellament entre el mascle i la femella. Tal i com suggereix Muñoz (2000) per *S. notata*, la posta dels ous dins una massa gelatinosa els manté agregats, facilitant així la fertilització total dels mateixos. En aquest sentit és molt probable que tant *S. porcus* com *S. scrofa* presentin també un comportament d'aparellament, assegurant d'aquesta manera que l'esperma s'allibera directament sobre la massa d'ous.

També s'han descrit caràcters que han estat relacionats amb el viviparisme en peixos, com és el cas de la disminució de gruix de la zona radiata, i l'escassetat i la mida petita dels alvèols corticals. Com ja s'ha comentat en un capítol anterior, tots dos caràcters tindrien com a conseqüència una disminució de la protecció dels ous, aspecte que no suposa cap problema en espècies vivíparas, però que sembla contraproduent en espècies ovíparas. Ara bé, en el cas dels escorpènids ovípars, la protecció dels ous s'aconsegueix mitjançant la massa gelatinosa esmentada anteriorment.

L'estructura testicular i l'espermatogènesi de les tres espècies estudiades és també molt poc usual. El testicle d'aquests escorpènids en principi es classificaria com a lobular no-restringit, tot i que presenta alguns trets semblants als testicles restringits de l'ordre dels Ateriniformes. Aquesta estructura tan particular només s'ha descrit fins ara, i de forma parcial, en *S. notata* (Muñoz *et al.*, 2002c), per tant podria tractar-se d'una altra exclusivitat d'aquest gènere. Per altre banda, l'espermatogènesi és semicística: els cists s'obren abans d'acabar el procés d'espermatogènesi i les cèl·lules germinals són alliberades a la llum del lòbul on s'acaben de desenvolupar fins a esdevenir espermatozoides. La majoria de treballs que es refereixen a l'espermatogènesi semicística la presenten com poc comuna, estranya i molt particular. De totes maneres, tenint en compte que s'ha detectat en espècies d'ordres diferents (Scorpaeniformes, Perciformes, Ophidiiformes, Lophiiformes i Gobiesociformes) i filogenèticament allunyades, fa pensar que segurament és més habitual del què sembla, però que fins a l'actualitat no s'han estudiat les espècies que la presenten.

La família Scorpaenidae es considera particularment interessant pels modes de reproducció tan variats que presenta. Set de les seves vuit subfamílies estan constituïdes per espècies ovíparas, però la fertilització interna, requisit del viviparisme,

es dóna en moltes d'aquestes espècies. La viviparitat només es dóna en la subfamília Sebastinae, concretament en els gèneres *Sebastes* i *Sebasticus*. Precisament, dins d'aquesta subfamília també hi destaca el gènere *Helicolenus*, constituït per espècies zigòpares i considerat per alguns autors com un estadi transicional cap al viviparisme dins de la família Scorpaenidae (Wourms, 1991; Wourms i Lombardi, 1992). *H. dactylopterus dactylopterus*, per exemple, presenta fertilització interna, però els ous fertilitzats són alliberats en un estadi de desenvolupament molt primari envoltats per la mateixa matriu gelatinosa descrit per les espècies ovíparas d'aquesta família (Muñoz *et al.*, 1999; 2000; 2002a). Cal comentar que recentment Koya i Muñoz (2005) han analitzat l'evolució dels modes de reproducció en escorpènids basant-se, principalment, en l'estructura ovàrica de les espècies que constitueixen aquesta família. L'ovari de les dues espècies vivíparas, *Sebastes* i *Sebasticus*, presenta un estroma dorsal, tal i com apareix en altres famílies d'escorpeniformes com en Cottidae i Hexagrammidae, i en molts altres ordres de teleostis. Això suggereix que aquesta estructura ovàrica és primitiva, i no pas una estructura especialitzada pel viviparisme. Per altre banda, els ovaris amb estroma central, com els observats en les d'espècies estudiades en aquest treball, s'han detectat en tots els gèneres analitzats d'escorpènids, a excepció de les espècies vivíparas, i no apareixen en cap altre família d'escorpeniformes. Aquest fet suggereix que aquest tipus d'estructura ha evolucionat dins d'aquesta família. A partir d'aquests resultats els autors apunten que, mentre *Sebastes* va evolucionar cap al viviparisme mantenint una estructura ovàrica més primitiva, els gèneres que realitzaven una massa d'ous flotant van desenvolupar un tipus d'ovari amb estroma central, a partir del qual va evolucionar posteriorment la zigoparitat que trobem en el gènere *Helicolenus*. Per tant, per una banda hi hauria les espècies vivíparas del gènere *Sebastes* i *Sebasticus*; i per l'altre, els escorpènids ovulípars especialitzats, com els del gènere *Scorpaena*, juntament amb els zigòpars del gènere *Helicolenus*. Així doncs, la viviparitat de *Sebasticus* i *Sebastes*, i la zigoparitat d'*Helicolenus*, tot i tenir aspectes en comú com fertilització interna, haurien evolucionat seguint dues línies separades. Tenint en compte aquests resultats, potser caldria replantejar la classificació del gènere *Helicolenus* dins la subfamília Sebastinae, juntament amb *Sebastes* i *Sebasticus*.

Així doncs, encara queden molts aspectes per resoldre de la família Scorpaenidae: des de determinar l'escenari evolutiu dels diferents modes de reproducció que s'hi donen fins a discutir la seva sistemàtica. És important continuar estudiant la reproducció de

les diferents espècies d'escorpènids per tal de poder aclarir tots aquests dubtes i, fins i tot, potser poder ajudar a comprendre l'evolució dels modes de reproducció d'altres famílies de peixos.

8- CONCLUSIONS

8. CONCLUSIONS

1. *Scorpaena porcus*, *S. scrofa* i *S. elongata* són espècies ovíparas ovulíparas especialitzades.
2. Aquesta especialització consisteix en tota una sèrie de trets molt particulars i poc comuns a la resta de peixos ovípars estudiats:
 - Posició central del raquis músculo-connectiu, envoltat completament pel lumen i la paret ovàrica (ovari cistovàric II-3)
 - Presència de peduncles en oòcits en fase de creixement secundari
 - Escassetat i mida petita dels alvèols corticals
 - Poc gruix de la zona radiata
 - Secreció d'una massa gelatinosa que engloba els ous en el moment de la posta.
3. Totes aquestes característiques també s'han observat en *Scorpaena notata*, suggerint que l'especialització de l'oviparisme ovulípar es dona probablement en moltes espècies del gènere *Scorpaena*.
4. Tots els escorpènids ovípars analitzats fins a l'actualitat presenten un ovari amb l'estroma central, oòcits amb peduncles i la producció d'una massa gelatinosa. Probablement, doncs, aquests són trets compartits per totes les espècies ovíparas de la família Scorpaenidae.
5. El fluid ovàric en *S. porcus* i *S. scrofa* és secretat tant per les projeccions citoplasmàtiques de l'epiteli de la paret ovàrica com per l'epiteli lamel·lar.
6. El desenvolupament de l'ovari d'aquestes espècies és del tipus "grup sincrònic". La posta és múltiple i consisteix en una massa d'ous pelàgica, que en el cas de *S. porcus* s'allibera entre els mesos de juny i agost, i en *S. scrofa*, a partir del mes de juliol.
7. L'estructura testicular d'aquestes espècies també és força particular. El testicle és del tipus lobular no-restringit; tot i això, presenta algunes característiques com la ordenació parcial dels cists segons l'estadi de maduració de les cèl·lules germinals, i l'absència de lumen central, que també s'observen en testicles del tipus lobular restringit de les espècies de la sèrie Atherinomorfa.

8. L'espermatogènesi és semicística, els cists s'obren abans d'acabar tot el procés d'espermatogènesi. En *S. porcus* s'obren a nivell d'espermatòcits, mentre que en *S. scrofa* i *S. elongata* ho fan a nivell d'espermàtida. Un cop alliberades, les cèl·lules germinals es desenvolupen a la llum del lòbul fins arribar a l'estadi d'espermatozoide.
9. Un cop el cist es trenca, en *S. porcus* i *S. scrofa* les cèl·lules de Sertoli s'hipertrofien i es situen a la paret del lòbul, sempre recolzades sobre la membrana basal. Aquestes cèl·lules es troben connectades entre elles per unions fortes a la part latero-apical, suggerint l'existència del que s'anomena la barrera de les cèl·lules de Sertoli ("Sertoli cell barrier"), la funció de la qual és impedir la formació d'anticossos anti-esperma.

9- BIBLIOGRAFIA

9. BIBLIOGRAFIA

- Abraham M., Rahamim E., Tibika H. i Golenser E. 1980. The blood-testis barrier in *Aphanius dispar* (Teleostei). *Cell Tissue Research*, 211: 207-214.
- Afonso-Díaz I.P. i Hislop J.R.G. 1996. The reproduction of anglerfish *Lophius piscatorius* Linnaeus from the north-west coast of Scotland. *Journal of Fish Biology*, 49: 18-39.
- Armstrong M.P., Musick J.A. i Colvocoresses J.A. 1992. Age, growth, and reproduction of the goosefish *Lophius americanus* (Pisces: lophiiformes). *Fishery Bulletin*, 90 (2): 217-230.
- Bell J.D. i Harmelin-Vivien M.L. 1982. Fish fauna of French Mediterranean *Posidonia oceanica* seagrass meadows. 1. Community structure. *Téthys*, 10: 337-347.
- Bell J.D. i Harmelin-Vivien M.L. 1983. Fish fauna of French Mediterranean *Posidonia oceanica* seagrass meadows. 2. Feeding habits. *Téthys*, 11: 1-14.
- Bagenal T.B. 1957. Annual variations in fish fecundity. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 36: 377-382.
- Bagenal T.B. 1973. Fish fecundity and its relations with stock and recruitment. *Rapports et Procès-Verbaux des Réunions de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée*, 164: 186-198.
- Bagenal T.B. 1978. Aspects of fish fecundity. *En: Ecology of freshwater fish production* (S. D. Gerning, ed), pp. 75-101. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Bauchot M.L. i Pras A. 1993. Guía de los peces de mar de España y de Europa. 432 pp. Barcelona: Edicions Omega.
- Bazzoli N. i Godinho H.P. 1994. Cortical alveoli in oocytes of freshwater neotropical teleost fish. *Bolletino di Zoologia*, 64 (4): 301-308.
- Billard R. 1984. Ultrastructural changes in the spermatogonia and spermatocytes of *Poecilia reticulata* during spermatogenesis. *Cell Tissue Research*, 237: 219-226.
- Billard, R. 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reproduction Nutrition Development*, 26(4): 877-920.

- Boehlert G.W. i Yoklavich M.M. 1984. Reproduction, embryonic energetics, and the maternal-fetal relationship in the viviparous genus *Sebastes* (Pisces: Scorpaenidae). *Biological Bulletin*, 167: 354-370.
- Bonet S. i Molinas M. 1983. Utilitat del glicol metacrilat en l'obtenció de talls semifins per a histologia. *Annals de la Secció de Ciències del Col·legi Universitari de Girona (UAB)*, 9: 21-29.
- Bonet S. i Huguet G. 1985. Tècniques habituals de coloració per a seccions semifines de material inclòs en glicol metacrilat (G.M.A.). *Scientia gerundensis*, 10: 23-32.
- Bradai M.L. 1991. Reproduction de *Scorpaena porcus* (Linne, 1758) et de *Scorpaena scorfa* (Linne, 1758) (Pisces, Scorpaenidae) du Golfe de Gabes. *Oebalia*, 17: 167-180.
- Bradai M.L. i Bouain A. 1988. Age et croissance de *Scorpaena porcus* et *Scorpaena scorfa* du Golfe de Gabes. *Bulletin de l'Institut National Scientifique et Technique d'Océanographie et de Pêche de Salammbô*, 15: 13-38.
- Bradai M.N. i Bouain A. 1991. Reproduction de *Scorpaena porcus* (Linné, 1758) et de *Scorpaena scorfa* (Linné, 1758) (Pisces, Scorpaenidae) du Golfe de Gabes. *Oebalia*, 17: 167-180.
- Brown-Peterson N.J., Grier H.J. i Overstreet R.M. 2002. Annual changes in germinal epithelium determine male reproductive classes of the cobia. *Journal of Fish Biology*, 60: 178-202.
- Burd A.C. i Howlett G.J. 1974. Fecundity studies on North Sea herring. *Journal du Conseil permanent international pour l'Exploration de la Mer*, 35: 107-120.
- Cadenat J. 1943. Les Scorpaenidae de l'Atlantique et de Méditerranée. Première note. Le genre *Scorpaena*. *Revue des Travaux de l'Office Scientifique et Technique des Pêches Maritimes*, 10(4): 533-562.
- Callard G.V. 1991. Spermatogenesis. *En: Vertebrate Endocrinology: Fundamentals and Biomedical Implications*, (P. Pang i M. Schreiber, eds.), Vol. 4 pp. 313-341. New York: Academic Press.
- Campillo A. 1986. Les pêcheries françaises en Méditerranée continentale. Bilan des connaissances. Perspectives. *IFREMER, Direction Ressources Vivantes, DRV. 86004/RH/Sète*.

- Chaudry H.S. 1952. The yolk-nucleus of balbiani in teleostean fishes. *Zeitschrift für Zellforschung*, 37: 455-466.
- Coello S. i Grimm A.S. 1990. Development of balbiani's vitelline body in the oocytes of the Atlantic mackerel, *Scomber scombrus* L. *Journal of Fish Biology*, 36: 265-267.
- Corbera J., Sabatés A. i Garcia-Rubies A. 1996. Peces de mar de la Península Ibérica. 312 pp. Barcelona: Planeta.
- Crupkin M., Montecchia C.L. i Trucco R.E. 1988. Seasonal variations in gonadosomatic index, liversomatic index and myosin/actin ratio in actomyosin of mature hake (*Merluccius hubbsi*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 89A: 7-10.
- DeMartini E.E. 1990. Annual variations in fecundity, egg size and condition of the plainfin midshipman (*Porchthys notatus*). *Copeia* 3: 850-855.
- DeMartini, E. E. 1991. Annual variations in fecundity, egg size, and the gonadal and somatic conditions of queenfish *Seriphus politus* (Sciaenidae). *Fishery Bulletin* 89: 9-18.
- de Oliveira, C.L.C., Fialho C.B. i Malabarba L.R. 2002. Período reproductivo, desova e fecundidade de *Cheirodon ibucuhiensis* Eigenmann, 1915 (Ostariophysi: Characidae) do arroio ribeiro, Rio Grande do Sul, Brasil. *Comunicacoes do Museu de Ciencias e Tecnologia da PUCRS. Serie Zoologia*, 15(1): 3-14.
- DeVlaming V. 1983. Oocyte developmental patterns and hormonal involvements among teleosts. *En: Control Processes in Fish Physiology* (J. C. Rankin, T. J. Pitcher i R. T Duggan, eds.), pp. 176-199. Londres: Croom Helm.
- Dym M. i Fawcett D.W. 1970. The blood-testis barrier in the rat and the physiological compartmentation of the seminiferous epithelium. *Biology of Reproduction*, 3: 308-326.
- Eldridge M.B. i Jarvis B.M. 1995. temporal and spatial variation in fecundity of yellowtail rockfish. *Transactions of the American Fisheries Society*, 124(1): 16-25.
- Ellis A.E., Munroe A.L.S. i Roberts R.J. 1976. Defence mechanisms in fish. 1. A study of the phagocytic system and the fate of intraperitoneally injected particulate material in the plaice (*Pleuronectes platessa* L.). *Journal of Fish Biology*, 8: 67-78.

- Erickson D.L. i Pikitch. 1993. A histological description of shortspine thornyhead, *Sebastolobus alascanus*, ovaries: structures associated with the production of gelatinous egg masses. *Environmental Biology of Fishes*, 36: 273-282.
- Eschmeyer W.N. 1969. A systematic review of the Scorpionfishes of the Atlantic Ocean (Pisces: Scorpaenidae). *Occasional Papers of the California Academy of Sciences*, 79: 130.
- Fage L. 1918. Shore fishes. *En: Report on the Danish Oceanographical Expeditions 1908-10, to the Mediterranean and adjacent seas*, pp. 1-154. Copenhagen: Høst & Sons.
- Fishelson L. 1975. Ethology and reproduction of pteroid fishes found in the Gulf of Aqaba (Red Sea), especially *Dendrochirus brachypterus* (Cuvier) (Pteroidae: Teleostei). *Pubblicazioni della Stazione Zoologica di Napoli*, 39 (Suppl.): 635-656.
- Fishelson L. 1977. Ultrastructure of the epithelium of the ovary wall of *Dendrochirus brachypterus* (Pteroidae: Teleostei). *Cell and Tissue Research*, 177: 375-381.
- Fishelson L. 1978. Oogenesis and spawn formation in the pigmy lion fish *Dendrochirus brachypterus* (Pteroidae: Teleostei). *Cell and Tissue Research*, 177: 375-381.
- Fisher W., Bauchot M.-L. i Schneider M. 1987. Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. (Revision 1). Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. vol 2. pp. 761-1529. Rome: FAO & CEE.
- Fleger C. 1977. Electron microscopic studies on the development of the chorion of the viviparous teleost *Dermogenys pusillus* (Hemirhamphidae). *Cell and Tissue Research*, 179: 255-270.
- Foley J.E., Dietrich D.R., Swenberg J.A. i Maronpot R.R. 1991. Detection and evaluation of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in rat tissue by an improved immunohistochemical procedure. *Journal of Histochemistry*, 14: 237-241
- Fulton T.W. 1898. The ovaries and ovarian eggs of the angler or frog-fish (*Lophius piscatorius*) and of the John Dory (*Zeus faber*). *Sixteenth Annual Report of Fishery Board for Scotland (1897)*, Part III: 125-134.
- Gardiner D.M. 1978. Cyclic changes in fine structure of the epithelium lining the ovary of the viviparous teleost *Cymatogaster aggregata* (Perciformes: Embiotocidae). *Journal of Morphology*, 156: 367-380.

- Garcia-Berthou E. i Moreno-Amich R. 1993. Multivariate analysis of covariance in morphometric studies of the reproductive cycle. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50: 1394-1399.
- Giles V., Thode G. i Alvarez M.C. 1988. Early replication bands in two scorpion fishes, *Scorpaena porcus* and *S. notata* (order Scorpaeniformes). *Cytogenetics and Cell Genetics*, 47: 80-83.
- Grau A., Crespo S., Riera F., Pou S. i Sarasquete M.C. 1996. Oogenesis in the amberjack *Seriola dumerili* Risso, 1810. An histological, histochemical and ultrastructural study of oocyte development. *Scientia Marina*, 60: 391-406.
- Grier H.J. 1975. Aspects of germinal cysts and sperm development in *Poecilia latipinna* (Teleostei: Poeciliidae). *Journal of Morphology*, 146: 229-250.
- Grier H.J. 1981. Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. *American Zoologist*, 21: 345-357.
- Grier H.J. 1993. Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier. *En: The Sertoli Cell*. (D. L. Russell i M. D. Griswold, eds.), pp. 704-739 (Capítol 33). Florida: Cache River Press.
- Grier H.J. 2000. Ovarian germinal epithelium and folliculogenesis in the common snook, *Centropomus undecimalis* (Teleostei: Centropomidae). *Journal of Morphology*, 243: 265-281.
- Grier H.J., Fitzsimons J.M. i Linton J.R. 1978. Structure and ultrastructure of the testis and sperm formation in goodeid teleosts. *Journal of Morphology*, 156: 419-438.
- Grier H.J., Linton J.R, Leatherland J.F. i De Vlaming V.L. 1980. Structural evidence for two different testicular types in teleost fishes. *The American Journal of Anatomy*, 159: 331-345.
- Grier H.J. i Taylor R.G. 1998. Testicular maturation and regression in the common snook. *Journal of Fish Biology*, 53: 521-542.
- Grier H.J. i Lo Nostro F. 2000. The germinal epithelium in fish gonads: the unifying concept. *En: Proceedings of the Sixth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish* (B. Norberg, O.S. Kjesbu, G.K. Taranger, E. Andersson, S.O. Stefansson, eds.), pp. 233-236. Bergen, Norway: The University of Bergen.

- Guraya S.S. 1963. Histochemical studies on the yolk-nucleus in fish oogenesis. *Zeitschrift für Zellforschung*, 60: 659-666.
- Guraya S.S. 1976. Recent advances in the morphology, histochemistry, and biochemistry of steroid-synthesizing cellular sites in the testes of nonmammalian vertebrates. *International Review of Cytology*, 47: 99-136.
- Guraya S.S. 1986. The cell and molecular biology of fish oogenesis. *Monographs in Developmental Biology*, 18: 1-223. Basel: Karger.
- Hall P.A., Levison D.A., Woods A.L., Yu C.C.-W., Kellock D.B., Watkins J.A., Barnes D.M., Gillett C.E., Camplejohn R., Dover R., Waseem N.H. i Lane D.P. 1990. Proliferation cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in paraffin sections: an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. *The Journal of Pathology*, 162: 285-294.
- Harmelin-Vivien M.L., Kaim-Malka R.A., Ledoyer M. i Jacob-Abraham S.S. 1989. Food partitioning among scorpaenid fishes in Mediterranean seagrass beds. *Journal of Fish Biology*, 34: 715-734.
- Hernández M.R. 2004. L'estratègia reproductiva d'*Ophidion barbatum* Linnaeus, 1758 (Pisces, Ophidiidae): Espermatogènesi. Diploma d'estudis avançats, Universitat de Girona. 65 pp.
- Hoar W.S. 1969. Reproduction. *En: Fish Physiology*, vol. III (Hoar W.S. & D.J. Randall, eds.), pp. 1-72. New York: Academic Press.
- Hunter, J. R. i Macewicz B. J. 1985a. Rates of atresia in the ovary of captive and wild northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fishery Bulletin* 83(2): 119-136.
- Hunter, J. R. i Macewicz B. J. 1985b. Measurement of spawning frequency in multiple spawning fishes. *NOAA Technical Report NMFS* 36: 79-94.
- Hunter J.R., Lo N.C.H. i Leong R.J.H. 1985. Batch fecundity in multiple spawning fishes. *En: An egg production method for estimating spawning biomass of pelagic fish: application to the northern anchovy, Engraulis mordax*. R. Lasker, ed., pp. 67-77. U.S. Department of Commerce, NOAA Technical report NMFS 36.
- Hunter J.R., Macewicz B.J., Lo N.C.H. i Kimbrell C.A. 1992. Fecundity, spawning, and maturity of female dover sole *Microstomus pacificus*, with an evaluation of assumptions and precision. *Fishery Bulletin*, 90: 101-128.

- Jackson L. F. i Sullivan C. V. 1995. Reproduction of white perch: the annual gametogenic cycle. *Transactions of the American Fisheries Society*, 124(4): 563-577.
- Jamieson B.G.M. 1991. Fish Evolution and Systematics: evidence from spermatozoa. Cambridge: University Press. 391 pp.
- Janssen P.A.H., Lambert J. G.D i Goos H.J.Th. 1995. The annual ovarian cycle and the influence of pollution on vitellogenesis in the flounder, *Pleuronectes flesus*. *Journal of Fish Biology*, 47: 509-523.
- Jespersen A. 1984. Spermatozoans from a parasitic dwarf male of *Neoceratias spinifer* Pappenheim, 1914. *Videnskabelige Meddelelser Dansk naturhistorisk Forening*, 145: 37-42.
- Kaim-Malka R.A. i Jacob S.S. 1985. Données préliminaires sur la biologie de trois espèces de Scorpaenidae de la région de Marseille. *Rapports et Procès-Verbaux des Réunions de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée*, 29 (8): 45-47.
- Kessel R.G. 1983. The structure and function of annulate lamellae, porous cytoplasmic and intranuclear membrane. *International Review of Cytology*, 82: 181-303.
- Kessel R.G. 1992. Annulate lamellae, a last frontier in cellular organelles. *International Review of Cytology*, 133: 43-100.
- Kiernan J.A. 1990. Histological and histochemical methods. Theory and Practice. London: Pergamon Press. 433pp.
- Khoury C. 1984. Ethologies alimentaires de quelques espèces de poissons de l'herbier de Posidonies du Parc National de Port-Cros. *En: International Workshop Posidonia oceanica Beds* (Boudouresque C.F., Jeudy de Grissac A. & J. Olivier, eds), pp. (1) 335-347. GIS Posidonie Publ.
- Khoury C. 1987. Ichtyofaune des herbiers de Posidonies du Parc National de Port-Cros: composition, éthologie alimentaire et rôle dans le réseau trophique. Thèse 3^o Cycle, Océanologie, Université d'Aix-Marseille II. 230 pp.
- Kimura S., Tsukamoto Y. i Mori K. 1989. Early developmental stages of the Scorpaenid fish, *Scorpaena miostoma*, reared in the laboratory. *Japanese Journal of Ichthyology*, 35(4): 434-440.

- Koulish S., Kramer C.H. i Grier H.J. 2002. Organization of the male gonad in a Protogynous fish *Thalassoma bifasciatum* (Teleostei: Labridae). *Journal of Morphology*, 254: 292-311.
- Koya Y., Munehara H. i Takano H. 1993. Secretion abilities of epithelia of ovarian wall and ovigerous lamella lining the ovarian cavity of masked greenling, *Hexagrammos octogrammus*. *Japanese Journal of Ichthyology*, 40(2): 199-208.
- Koya Y. i Matsubara T. 1995. Ultrastructural observations on the inner ovarian epithelia of kichiji rockfish *Sebastolobus macrochir* with special reference to the production of gelatinous material surrounding the eggs. *Bulletin of the Hokkaido National Fisheries Research Institute*, 59: 1-17.
- Koya Y., Hamatsu T. i Matsubara T. 1995a. Annual reproductive cycle and spawning characteristics of the female kichiji rockfish *Sebastolobus macrochir*. *Fisheries Science*, 61(2): 203-208.
- Koya Y., Takano K. A. i Takahashi H. 1995b. Annual changes in fine structure of inner epithelial lining of the ovary of a marine sculpin, *Alcichthys alcicornis* (Teleostei: Scorpaeniformes), with internal gametic association. *Journal of Morphology*, 223: 85-97.
- Koya Y., Itazu T. i Inoue M. 1998. Annual reproductive cycle based on histological changes in the ovary of the female mosquitofish, *Gambusia affinis*, in central Japan. *Ichthyological Research*, 45 (3): 241-247.
- Koya Y., Munehara H. i Takano K. 2002. Sperm storage and motility in the ovary of the marine sculpin *Alcichthys alcicornis* (Teleostei: Scorpaeniformes), with internal gametic association. *Journal of Experimental Zoology*, 292: 145-155.
- Koya Y. i Muñoz M. 2005. Evolution of reproductive mode in scorpaenids from an ovarian structural standpoint. Abstract Book, 7th Indo-Pacific Fish Conference, pàg 214.
- Kreff G. 1961. A contribution to the reproductive biology of *Helicolenus dactylopterus* (De La Roche, 1809) with remarks on the evolution of the *Sebastinae*. *Rapports et Procès – Verbaux des Réunions. Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer. Copenhague*, 150: 243-245.
- Lahnsteiner F. and Patzner R.A.. 1990. Spermiogenesis and structure of mature spermatozoa in blennioid fishes (Pisces, Blenniidae). *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 22(4): 565-576.

- Lahnsteiner F., Patzner R.A. i Weismann T. 1994. Testicular main ducts and spermatic ducts in some cyprinid fishes I. Morphology, fine structure and histochemistry. *Journal of Fish Biology*, 44: 937-951.
- Leonardos I. i Sinis A. 1998. Reproductive strategy of *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 (Pisces: Cyprinodontidae) in the Mesolongi and Etolikon lagoons (W. Greece). *Fisheries Research*, 35: 171-181.
- Lo Nostro F., Grier H.J., Meijide F.J. i Guerrero G.A. 2003. Ultrastructure of the testis in *Synbranchus marmoratus* (Teleostei, Synbranchidae): the germinal compartment. *Tissue & Cell*, 35: 121-132.
- Lou Y. H. i Takahashi H. 1989. The blood-testis barrier and its breakdown following immunization to testis material in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Cell Tissue Research*, 258: 491-498.
- Macchi G. J., Romano L. A. i Christiansen H.E. 1992. Melano-macrophage centres in whitemouth croaker, *Micropogonias furnieri*, as biological indicators of environmental changes. *Journal of Fish Biology*, 40: 971-973.
- Macchi G.J., Elias I i Burgos, G.E. 1995. Histological observations on the reproductive cycle of the Argentinian sandperch, *Pseudoperca semifasciata* (Osteichthyes, Pinguipedidae). *Scientia Marina*, 59(2): 119-127.
- Manni L. i Rasotto M.B. 1997. Ultrastructure and histochemistry of the testicular efferent duct system and spermiogenesis in *Opistognathus whitehurstii* (Teleostei, Trachinoidei). *Zoomorphology*, 117: 93-102.
- Marcaillou C. i Szöllösi A. 1980. The "Blood-testis" barrier in a nematode and a fish: a generalizable concept. *Journal of Ultrastructure Research*, 70: 128-136.
- Marinaro J. Y., Brabant J. C., Siblot D., Henry J. 1972. Note préliminaire sur les Scorpaenides de la région d'Alger. *Pelagos*, 4(1): 5-11.
- Matallanas J. 1990. Els escorpeniformes: escòrpores, lluernes i afins. *En: Història Natural dels Països Catalans*, vol. 11 (Carreras J., Foch R., Gosàlvez J., Llimona X., Puigdefràbregas C & Terradas J, eds.), pp. 347-358. Barcelona: Fundació Enciclopèdia Catalana.
- Mattei X. 1970. Spermiogenèse comparée des poissons. *En: Comparative spermatology* (B. Baccetti, ed.), pp. 57-69. New York: Academic Press.

- Mattei X. 1988. The flagellar apparatus of spermatozoa in fish. Ultrastructure and evolution. *Biology of the Cell*, 63: 151-158.
- Mattei X. 1991. Spermatozoon ultrastructure and its systematic implications in fishes. *Canadian Journal of Zoology*, 69: 3038-3055.
- Mattei C., Boisson C. i Mattei X. 1967. Présence de lamelles annelées dans les spermatocytes de *Lycodontis afer* (Muraenidae). *CR Soc. Biol.*, 161: 1761-1763.
- Mattei C. i Mattei X. 1974. Spermiogenesis and spermatozoa of the elopomorpha (teleost fish). *En: The Functional Anatomy of the Spermatozoon* (Afzelius B.A., ed.), pp. 211-221. New York: Pergamon Press.
- Mattei X., Siau Y., Thiaw O.T. i Thiam D. 1993. Peculiarities in the organization of testis of *Ophidion* sp. (Pisces, Teleostei). Evidence for two types of spermatogenesis in teleost fish. *Journal of Fish Biology*, 43: 931-937.
- Mattei C. i Mattei X. 1978. La spermiogenèse d'un poisson téléostéen (*Lepadogaster lepadogaster*). II. Le spermatozoïde. *Biologie Cellulaire*, 32: 267-274.
- Miyachi K., Frizler M.J. i Tan E.M. 1978. Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *Journal of Immunology*, 121: 2228-2234.
- Moser H.G. 1967. Reproduction and development of *Sebastes paucispinis* and comparison with other rockfishes off Southern California. *Copeia*, 4: 773-797.
- Moyer J.T. i Zaiser M.J. 1981. Social organization and spawning behavior of the Pteroine fish *Dendrochirus zebra* at Miyake-Juma, Japan. *Japanese Journal of Ichthyology*, 28 (1): 52-69.
- Muñoz M., Casadevall M. i Bonet S. 1999. Annual reproductive cycle of *Helicolenus dactylopterus dactylopterus* (Teleostei: Scorpaeniformes) with special reference to the ovaries sperm storage. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 79: 521-529.
- Muñoz M. 2000. Biologia de la reproducció d'alguns escorpeniformes del Mediterrani occidental (Pisces, Teleostei). Tesi doctoral, Universitat de Girona. 313 pp.
- Muñoz M., Casadevall M., Bonet S. i Quagio-Grassiotto. 2000. Sperm storage structures in the ovary of *Helicolenus dactylopterus dactylopterus* (Teleostei: Scorpaenidae): an ultrastructural study. *Environmental Biology of Fishes*, 58: 53-59.

- Muñoz M., Casadevall M. i Bonet S. 2002a. Gametogenesis of *Helicolenus dactylopterus dactylopterus* (Teleostei, Scorpaenidae). *Sarsia*, 87: 119-127.
- Muñoz M., Casadevall M. i Bonet S. 2002b. The ovarian morphology of *Scorpaena notata* shows a specialized mode of oviaparity. *Journal of Fish Biology*, 61: 877-887.
- Muñoz M., Casadevall M. i Bonet S. 2002c. Testicular structure and semicyclic spermatogenesis in a specialized ovuliparous species: *Scorpaena notata* (Pisces, Scorpaenidae). *Acta Zoologica*, 83: 213-219.
- Nagahama Y. 1983. The functional morphology of teleost gonads. *En: Fish Physiology*, Vol. IX(A) (Hoar W.S., Randall D.J. & E.M. Donaldson, eds). San Diego: Academic Press.
- Nelson J.S. 1984. *Fishes of the World*. New York: John Wiley & Sons. 523 pp
- Nayyar B.P. 1964. The yolk nucleus of fish oocytes. *The Quarterly Journal of Microscopical Science*, 105: 353-358.
- Okumura S., Tanaka T. i Nakazono A. 1996. Spawning and mucus-enveloped pelagic eggs of the red tilefish, *Branchiostegus japonicus* (Malacanthidae), reared in captivity. *Copeia*, 3: 743-746.
- Ortego L.S., Hawkins W.E., Walker W.W., Krol R.M. i Benson W.H. 1995. Immunohistochemical detection of Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) in tissues of Aquatic Animals utilized in toxicity bioassays. *Marine Environmental Research*, 39: 271-273.
- Parenti L.P. i Grier H.J. 2004. Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fish. *Integrative and Comparative Biology*, 44: 333-348.
- Parmentier H.K., Boogaart J.G.M. van der i Timmermans L.P.M. 1995. Physiological compartmentation in gonadal tissue of the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Cell Tissue Research*, 242: 75-81.
- Prelich G., Tan C-K., Kostura M., Mathews M.B., So A.G., Downey K.M. i Stillman B. 1987. Functional identity of proliferating cell nuclear antigen and a DNA polymerase- δ auxiliary protein. *Nature*, 326: 517-520.
- Prince E.E. 1891. Notes on the development of the angler-fish (*Lophius piscatorius*). *Ninth Annual Report of the Fishery Board for Scotland (1890)*, Part III: 343-348.

- Pudney J. 1993. Comparative cytology of the non-mammalian Sertoli cell. *En: The Sertoli cell* (Russell LD, Griswold MD, eds.), pp. 611-657 (Capitol 30). Florida: Cache River Press.
- Pudney J. 1995. Spermatogenesis in non-mammalian vertebrates. *Microscopy Research and Technique*, 32: 459-497.
- Quagio-Grassiotto I. i Carvalho E.D. 1999. The ultrastructure of *Sorubim lima* (Teleostei, Siluriformes, Pimelodidae) spermatogenesis: premeiotic and meiotic periods. *Tissue & Cell*, 31 (6): 561-567.
- Ragonese S. i Giusto G. 1999. Range extensión for *Trachyscorpia cristulata echinata* (Pises: Scorpaenidae) in the Western Mediterranean Sea. *Buletin of Marine Science*, 64: 329-334.
- Raitt D.F.S. i Hall W.B. 1967. On the fecundity of the redfish. *Journal du Conseil. Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer*, 31(2): 237-245.
- Ravaglia M.A i Maggese M.C. 1995. Melano-macrophage centres in the gonads of swamp eel, *Synbranchus marmoratus* Bloch 1795 (Pisces, Synbranchidae): histological and histochemical characterization. *Journal of Fish Diseases*, 18: 117-125.
- Raffaele F. 1888. Le uova galleggianti e le larve dei Teleostei nel golfo di Napoli. *Mitteilungen aus der Zoologischen Station zu Neapel*, 8: 1-84.
- Reynolds E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, 17: 208-213.
- Robards A.W. i Wilson A.J. 1993. Procedures in electron microscopy. Chichester, Anglaterra: J. Wiley and Sons.
- Russell L.D. 1999. Sertoli cell, overview. *En: Encyclopedia of reproduction* (Knobil E i Neill J.D, eds.), pp. 381-387. California: Academic Press.
- Saidpur S.K. i Shanbhag B.A. 1999. Evolution of testis in nonmammalian vertebrates. *En: Comparative Endocrinology and Reproduction* (K.P. Joy, A. Krishna i C. Haldar, eds.), pp. 183-200. India: Narosa Publishing House.
- Santos R.S., Hawkins S.J. i Nash R.D.M. 1996. Reproductive phenology of the Azorean rock pool blenny a fish with alternative mating tactics. *Journal of Fish Biology*, 48: 842-858.

- Selman K. i Wallace R.A. 1986. Gametogenesis in *Fundulus heteroclitus*. *American Zoologist*, 26: 173-192.
- Selman K. i Wallace R.A. 1989. Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. *Zoological Science*, 6: 211-231.
- Schulz R.W., Bogerd J. i Goos H. 2000. Spermatogenesis and its endocrine regulation. *Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of fish. Bergen, Norway*. 225-232.
- Shchepkin V.Y. 1971. Dynamics of lipid composition of the scorpionfish (*Scorpaena porcus* L.) in connection with maturation and spawning. *Journal of Ichthyology*, 11: 262-267.
- Shibata N., Hamaguchi S. 1986. Electron microscopic study of the blod-testis barrier in the teleost, *Oryzias latipes*. *Zoological Science*, 3: 331-338.
- Siblot-Bouteflika D. 1976. Contribution à l'étude des Scorpaenidae de la région d'Alger. Thèse 3è cycle, Université d'Aix-Marseille II. 173 pp.
- Simpson. 1951. The fecundity of the plaice. *Fish Invest. London*, sér. 2, 17 (5): 1-27.
- Sokal R.R. i Rohlf F.J. 1995. Biometry. The principles and practice of statistics in biological research (3d edition). W.H. New York: Freeman and Company. 887 pp.
- Spartà A. 1932. Novo contributo alla conoscenza dello sviluppo pot-embrionale in *Ophidion barbatum* L. ed in *O. vassoli* Risso R. *Comitato Talassografico italiano*, memoria CXC.
- Spartà A. 1956. Uova, larva e stadi giovanili de Teleostei. *En: Fauna e Flora del Golfo de Napoli*. Monogr., 38: 599-626.
- Stoumboudi M. Th., Villwock W., Sela J. i Abraham M. 1993. Gonadosomatic index in *Barbus longiceps*, *Capoeta damascina* and their natural hybrid (Pisces, Cyprinidae), versus spermatozoan index in the parental males. *Journal of Fish Biology*, 43: 865-875.
- Svardson G. 1949. Natural selection and egg number in fish. *Reports of the Institute of Freshwater Research, Fish. Bd. Sweden, Drottningholm*, 29: 115-122.
- Tabachnick B.G. i Fidell L.S. 2001. Computer-assisted research design and analysis. Boston: Allyn and Bacon, 748 pp.

- Takano K.A. 1968. Fine structure of the wall of the ovarian lumen in the teleost, *Oryzias latipes*. *Bulletin of the Faculty of Fisheries of Hokkaido University*, 19: 76-82.
- Takano K. 1989. Ovarian structure and gametogenesis. *En: Reproductive Biology of Fish and Shellfish* (Takashima F. & I. Hanyu, eds.), pp. 3-34. Tokyo: Midori-Shobo.
- Takano K.A., Takemura A., Furihata M., Nakanishi T. i Hara A. 1991. Annual reproductive and spawning cycles of female *Sebastiscus marmoratus*. *Environmental Biology of Fishes*, 30: 39-48.
- Takemura A., Takano K. i Takahashi H. 1987. Reproductive cycle of a viviparous fish, the white-edged rockfish, *Sebastes taczanowskii*. *Bulletin of the Faculty of Fisheries of Hokkaido University*, 38(2): 111-125.
- Tan C., Castillo C., So A.G. i Downey K.M. 1986. An auxiliary protein for DNA Polymerase- δ from fetal calf thymus. *The Journal of Biological Chemistry*, 261 (26): 12310-12316.
- Treasurer J.W. 1990. the annual reproductive cycle of pike, *Esox lucius* L., in two Scottish lakes. *Journal of Fish Biology*, 36: 29-46.
- Vila S. 2004. Cicle anual de l'emmagatzematge d'esperma en *Helicolenus dactylopterus dactylopterus*. Diploma d'estudis avançats, Universitat de Girona. 41 pp.
- Waga S. i Stillman B. 1994. Anatomy of a DNA replication fork revealed by reconstitution of SV40 DNA replication *in vitro*. *Nature*, 369: 207-212.
- Wallace R.A. i Selman K. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *American Zoologist*, 21: 325-343.
- West G. 1990. Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 41: 199-222.
- Whitehead P.J.P., Bauchot M.L., Hureau J.C., Nielsen J. i Tortonese E. 1986. Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean. Paris: UNESCO. 1473 pp.
- Wootton R.J. 1979. Energy costs of egg production and environmental determinants of fecundity in teleost fishes. *En: Fish Phenology: anabolic adaptiveness in teleosts*. (P.J. Miller, ed.), pp. 133-159. *Symposia of the Zoological Society of London*, 44.
- Wourms J.P. 1976. Annual fish oogenesis. *Developmental Biology*, 50: 338-354.

- Wourms J.P. 1991. Reproduction and development of *Sebastes* in the context of the evolution of piscine viviparity. *Environmental Biology of Fishes*, 30: 111-126.
- Wourms J.P., Grove B.D. i Lombardi J. 1988. The maternal-embryonic relationship in viviparous fishes. *En: Fish Physiology*, vol. 11B (Hoar W.S. i D.J. Randall, eds.), pp. 1-134. San Diego: Academic Press.
- Wourms J.P. 1991. Reproduction and development of *Sebastes* in the context of the evolution of piscine viviparity. *Environmental Biology of Fishes*, 30: 111-126.
- Wourms J.P. i Lombardi J. 1992. Reflections on the evolution of piscine viviparity. *American Zoologist*, 32: 276-293.
- Yamada J. i M. Kusakari. 1991. Stating and the time course of embryonic development in kurosoi, *Sebastes schlegeli*. *Environmental Biology of Fishes*, 30 (1-2): 103-110.
- Yamamoto K. 1963. Eggs and ovaries of the stickleback, *Pungitius tymensis*, with a note on the formation of a jelly-like substance surrounding the egg. *Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University*, 15 (Ser. VI Zool.): 190-201.
- Yamamoto K. 1964. Electrón microscopy of fish development. III. Changes in the ultrastructure of the nucleus and cytoplasm of the oocyte during its development in *Oryzias latipes*. *Journal of the Faculty of Science, Tokyo University*, 10: 335-346.
- Yamamoto K. i Yoshioka H. 1964. Rhythm of development in the oocyte of the medaka, *Oryzias latipes*. *Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University*, 12: 93-110.
- Yamamoto K. i H. Onozato. 1965. Electron microscope study on the growing oocyte of the goldfish during the first growth phase. *Memoirs of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University*, 8: 79-141.
- Yoneda M., Tokimura M., Fujita H., Takeshita N., Takeshita K., Matsuyama M. i Matsuura S. 1998a. Reproductive cycle and sexual maturity of the anglerfish *Lophiomus setigerus* in the East China Sea with a note on specialized spermatogenesis. *Journal of Fish Biology*, 53: 164-178.
- Yoneda M., Tokimura M., Fujita H., Takeshita N., Takeshita K., Matsuyama M. i Matsuura S. 1998b. Ovarian structure and batch fecundity in *Lophiomus setigerus*. *Journal of Fish Biology*, 52: 94-106.

Yoneda M., Miura H., Mitsuhashi M., Matsuyama M i Matuura S. 2000. Sexual maturation, annual reproductive cycle, and spawning periodicity of the shore scorpionfish, *Scorpaenodes littoralis*. *Environmental Biology of Fishes*, 58: 307-319.

Zar J.H. 1984. Biostatistical analysis. 718 pp. New Jersey: Prentice-Hall International.

10- ANNEX

10. ANNEX

En les pàgines següents es presenten les dades morfomètriques i gravimètriques de tots els exemplars de *S. porcus*, *S. scrofa* i *S. elongata* que es van recollir per a l'elaboració d'aquest treball

Les dades que es mostren són:

- Individu: el codi indica l'espècie (Sp: *Scorpaena porcus*, Ss: *Scorpaena scrofa* i Se: *Scorpaena elongata*), l'any i el mes de captura, i finalment la numeració de l'individu.
- Lt: longitud total (mm)
- Ls: longitud estàndard (mm)
- Lpa: longitud pre-anal (mm)
- Pt: pes total (g)
- Pe: pes eviscerat (g)
- Pg: pes de la gònada (g)
- Pf: pes del fetge (g)
- Sexe: M: mascle
 F: femella
 I: indiferenciat
- Procedència: CS: Cornide de Saavedra
 LI. Palamós: Llotja Palamós
 P. Llençà: Peixateria Llençà

S. porcus

Individu	Lt	Ls	Lpa	Pt	Pe	Pg	Pf	Sexe	Procedència
Sp000601	183	141	91	134,0	113,8	0,4531	3,3617	M	CS
Sp000602	191	141	88	126,9	118,3	0,4812	3,0384	M	CS
Sp000603	162	124	78	102,2	81,0	2,4792	3,9502	F	CS
Sp000604	160	120	69	87,2	77,9	0,1980	1,7105	M	CS
Sp000605	206	160	99	196,4	170,5	0,3212	4,6699	M	CS
Sp000606	174	135	86	125,0	110,2	0,2775	3,5846	M	CS
Sp000607	196	148	89	159,1	143,4	0,7199	2,9964	M	CS
Sp000608	172	131	80	116,6	97,1	5,0357	4,6902	F	CS
Sp000609	170	129	79	114,3	96,0	0,1532	4,1704	M	CS
Sp000610	193	148	93	141,7	124,0	0,5248	2,1847	M	CS
Sp000611	203	158	94	221,0	171,0	0,4289	2,4403	M	CS
Sp000612	149	113	72	67,8	61,0	0,1629	2,3069	M	CS
Sp000613	155	119	72	90,0	78,2	0,1390	2,5137	M	CS
Sp000614	205	154	96	195,5	171,0	0,6155	4,0691	M	CS
Sp000615	178	140	88	133,4	120,5	0,4158	2,0298	M	CS
Sp000616	212	167	111	197,5	158,5	10,6508	5,3206	F	CS
Sp000617	144	112	67	67,8	58,8	0,8610	2,7244	F	CS
Sp000618	154	121	74	75,2	67,5	0,1746	2,3366	M	CS
Sp000619	151	117	71	73,8	64,2	0,2327	1,9815	M	CS
Sp000620	171	132	80	97,5	86,8	0,1294	1,9627	M	CS
Sp000621	248	199	128	337,3	283,3	6,6630	11,8430	F	CS
Sp000622	195	150	96	173,9	150,8	0,2983	4,2948	M	CS
Sp000623	162	122	81	105,2	81,2	7,7839	3,0843	F	CS
Sp000624	170	131	78	98,0	86,9	0,3109	1,7945	M	CS
Sp000625	185	148	84	130,6	116,3	0,3109	2,1400	M	CS
Sp000626	174	137	85	103,6	92,9	0,2880	2,4160	M	CS
Sp000627	222	176	117	260,6	204,0	18,0059	8,1039	F	CS
Sp000628	208	162	98	230,9	188,4	10,6491	6,9315	F	CS
Sp000629	179	138	85	121,2	109,1	0,3602	2,1358	M	CS
Sp000630	189	146	90	150,5	132,6	1,3453	1,6501	F	CS
Sp000631	211	166	107	248,5	197,4	0,2069	20,7524	M	CS
Sp000632	188	151	89	163,0	147,9	0,6421	2,1875	M	CS
Sp000633	233	186	112	313,9	283,5	0,6073	7,7205	M	CS
Sp000701	137	107	62	54,8	49,0	0,1033	0,6049	M	Xàvega
Sp000702	171	136	83	121,1	107,8	0,3509	1,2603	F	Xàvega
Sp000703	186	145	91	123,1	112,0	0,1465	1,4554	M	Xàvega
Sp000704	153	119	69	85,5	78,5	0,0761	1,1899	I	Xàvega
Sp000705	174	134	78	141,6	125,8	0,4690	1,8776	M	Xàvega
Sp000706	167	129	85	103,7	92,2	2,5774	1,5623	F	Xàvega
Sp000707	161	125	76	100,4	92,6	0,1009	1,1108	M	Xàvega
Sp000708	126	98	56	42,6	37,9	0,0235	0,6058	M	Xàvega

S. porcus

Sp000901	147	116	67	74,2	61,0	0,2813	1,7609	F	Xàvega
Sp010101	235	184	113	300,2	290,8	0,9135	5,2388	F	LUPI
Sp010102	261	208	134	431,3	395,4	1,8296	13,3465	F	LUPI
Sp010201	222	175	104	262,1	228,4	0,9832	4,3710	F	LUPI
Sp010202	225	174	108	241,5	221,2	1,2051	2,5587	F	LUPI
Sp010203	200	156	102	165,0	151,8	0,7984	2,1111	F	LUPI
Sp010204	204	160	97	185,7	167,9	0,8160	2,8996	F	LUPI
Sp010205	185	144	86	146,6	136,0	0,1523	1,0756	M	LUPI
Sp010206	217	169	99	232,6	211,4	0,1821	2,6113	M	LUPI
Sp010207	206	163	96	205,4	182,2	1,0017	3,5715	F	LUPI
Sp010208	132	102	61	42,4	38,4	0,0399	0,5961	M	LUPI
Sp010209	171	132	79	109,0	100,7	0,0408	0,9767	M	LUPI
Sp010301	159	122	75	88,5	80,0	0,0701	1,9278	M	LUPI
Sp010302	147	113	68	74,2	65,2	0,2056	1,3156	F	LUPI
Sp010303	190	147	89	151,7	138,3	0,4149	1,1023	F	LUPI
Sp010304	231	184	117	355,6	294,1	1,7088	9,1293	F	LUPI
Sp010305	119	91	57	35,8	31,6	0,2745	0,5635	F	LUPI
Sp010306	247	193	118	346,2	316,8	0,2251	6,1932	M	LUPI
Sp010307	239	186	113	313,5	277,5	0,1269	5,4287	M	LUPI
Sp010308	180	135	85	107,0	106,6	0,0752	1,0513	M	LUPI
Sp010309	224	174	109	314,9	287,9	0,1883	6,9843	M	LUPI
Sp010310	184	144	90	134,2	121,2	0,4155	1,5707	F	LUPI
Sp010311	252	200	122	335,0	327,5	1,7641	3,5564	F	LUPI
Sp010312	154	121	73	72,7	65,2	0,0349	1,3542	M	LUPI
Sp010401	253	198	121	411,3	235,6	1,7873	6,5263	F	LUPI
Sp010402	260	205	128	513,3	413,6	2,5284	15,5625	F	LUPI
Sp010403	192	150	96	168,0	141,9	0,5858	1,3733	F	LUPI
Sp010404	137	105	64	52,7	48,1	0,0381	0,7814	M	LUPI
Sp010405	167	128	78	103,9	94,4	0,0676	1,7138	M	LUPI
Sp010406	154	121	75	78,7	70,8	0,4160	1,2672	F	LUPI
Sp010407	213	164	101	225,4	198,4	0,9980	5,1500	F	LUPI
Sp010408	151	115	72	83,8	76,3	0,3658	1,2407	F	LUPI
Sp010409	214	168	101	217,6	190,6	1,0815	3,5224	F	LUPI
Sp010501	202	156	95	173,7	154,3	0,9909	1,6281	F	LUPI
Sp010502	248	196	123	337,9	296,5	2,0686	5,3007	F	LUPI
Sp010503	171	133	85	102,9	92,7	0,4695	1,8688	F	LUPI
Sp010504	246	193	118	297,2	266,8	1,6921	4,3467	F	LUPI
Sp010505	217	170	108	211,8	182,6	0,8131	2,1856	F	LUPI
Sp010506	221	174	110	290,0	237,4	3,7328	7,9278	F	LUPI
Sp010507	182	142	87	131,5	116,6	0,1136	1,8563	M	LUPI
Sp010508	253	197	124	414,1	341,3	12,1867	12,6206	F	CS
Sp010509	194	150	97	174,5	150,1	3,7117	4,5924	F	CS

S. porcus

Sp010510	182	144	89	152,3	130,0	1,7305	2,4501	F	CS
Sp010511	258	204	123	416,0	362,5	9,3891	8,1485	F	CS
Sp010512	185	146	90	167,4	145,4	0,4426	5,7949	M	CS
Sp010513	241	188	114	396,7	330,0	5,9875	13,2426	F	CS
Sp010514	170	131	79	98,0	86,8	0,1876	3,0568	M	CS
Sp010515	191	148	91	163,8	148,6	0,4837	6,7648	M	CS
Sp010516	172	135	85	106,3	96,0	0,1630	2,1604	M	CS
Sp010517	189	146	89	147,8	125,3	0,2210	3,6357	M	CS
Sp010518	169	133	81	105,9	95,1	1,3035	2,1353	F	CS
Sp010519	152	119	74	87,1	74,4	0,1643	2,1704	M	CS
Sp010520	226	182	110	284,5	250,0	0,4881	9,5155	M	CS
Sp010521	220	172	104	246,9	240,8	0,3711	4,8261	M	CS
Sp010522	183	143	83	164,5	128,6	0,8691	1,9786	F	CS
Sp010523	185	144	92	143,3	121,5	1,0923	3,8025	F	CS
Sp010524	216	169	98	258,2	220,6	0,6393	7,9912	M	CS
Sp010601	244	191	115	331,5	286,6	13,4825	9,0322	F	LUPI
Sp010602	155	117	71	90,4	78,9	0,2004	1,8192	M	LUPI
Sp010603	144	111	66	75,6	62,2	0,2635	1,1707	M	LUPI
Sp010604	199	155	96	178,5	161,8	0,3491	2,8511	M	LUPI
Sp010605	146	113	67	64,0	56,1	0,0943	0,8853	M	LUPI
Sp010606	137	106	61	60,9	52,4	0,1485	1,0580	M	LUPI
Sp010607	158	122	71	84,7	74,2	0,2113	1,1910	M	LUPI
Sp010608	124	97	57	45,6	36,0	1,3191	2,0016	F	LUPI
Sp010609	157	121	71	83,2	75,4	0,2379	1,5468	M	LUPI
Sp010610	200	154	92	174,7	154,7	0,3770	3,0793	M	LUPI
Sp010611	179	138	83	147,7	130,8	0,5267	4,5962	M	LUPI
Sp010612	169	130	79	102,2	92,2	0,2293	2,5085	M	LUPI
Sp010613	225	176	105	250,5	217,2	7,7351	6,2347	F	LUPI
Sp010614	196	152	93	158,4	142,2	0,4258	2,3724	M	LUPI
Sp010615	141	109	68	56,0	51,2	0,1639	1,3261	M	LUPI
Sp010616	160	124	77	96,3	83,7	0,2002	1,8619	M	LUPI
Sp010617	250	196	125	414,0	337,9	29,1006	10,7897	F	LUPI
Sp010618	135	103	62	48,8	44,0	0,1243	0,8832	M	LUPI
Sp010619	80	65	36	10,6	8,6	0,0227	0,0440	F	LUPI
Sp010620	136	105	65	52,0	45,5	0,0556	0,8948	M	LUPI
Sp010621	141	111	67	57,7	51,7	1,4309	1,1241	F	LUPI
Sp010622	136	108	65	64,8	53,4	1,7340	1,7977	F	LUPI
Sp010623	177	138	79	138,3	121,4	0,3614	2,0345	M	LUPI
Sp010624	207	160	99	230,6	176,6	8,4883	30,0150	F	LUPI
Sp010625	237	183	116	272,8	240,9	4,1178	5,3371	F	LUPI
Sp010626	202	156	94	191,3	161,5	0,2701	3,3218	M	LUPI
Sp010627	173	133	82	115,2	101,8	0,2357	2,0983	M	LUPI

S. porcus

Sp010628	131	104	65	57,2	42,8	3,8844	1,2148	F	LUPI
Sp010701	236	184	120	338,1	258,4	38,5228	3,0223	F	LUPI
Sp010702	191	149	90	153,3	140,0	0,3024	1,9717	M	LUPI
Sp010703	134	104	61	66,0	53,1	0,1969	1,0804	M	LUPI
Sp010704	153	119	72	85,5	73,3	0,1765	1,4856	M	LUPI
Sp010705	204	160	97	223,8	193,0	0,5472	2,8152	M	LUPI
Sp010706	180	138	87	126,8	114,0	0,3411	1,4949	M	LUPI
Sp010707	172	134	84	124,0	107,3	0,2790	2,1296	M	LUPI
Sp010708	211	162	101	223,3	194,7	1,6687	3,8351	F	LUPI
Sp010709	247	194	123	350,6	290,3	15,3290	5,1529	F	LUPI
Sp010710	209	163	100	207,3	184,0	0,1724	2,9337	M	LUPI
Sp010711	228	178	111	246,4	222,6	0,8042	2,4688	F	LUPI
Sp010712	224	174	110	236,8	216,0	0,4993	3,0465	M	LUPI
Sp010713	159	125	73	88,5	79,1	0,3173	1,6158	M	LUPI
Sp010714	203	153	93	172,8	151,0	3,6623	3,1967	F	LUPI
Sp010715	158	122	77	81,1	71,7	0,3641	1,0286	M	LUPI
Sp010716	186	144	91	131,5	120,2	0,2360	2,0409	M	LUPI
Sp010717	158	120	73	90,9	80,4	0,1946	1,1657	M	LUPI
Sp010718	155	117	71	85,5	72,6	0,2293	1,5957	M	LUPI
Sp010719	154	120	75	72,3	63,4	0,0414	0,9334	M	LUPI
Sp010720	198	155	102	150,0	135,0	0,1011	1,7685	M	LUPI
Sp010721	181	143	85	142,0	115,3	2,6813	1,6954	F	LUPI
Sp010722	139	108	65	58,3	52,9	0,1405	0,9170	M	LUPI
Sp010723	152	117	72	76,8	70,0	0,1882	1,2000	M	LUPI
Sp010724	152	119	71	86,8	76,5	0,1346	0,9934	M	LUPI
Sp010725	106	82	48	26,4	22,4	0,0570	0,4047	M	LUPI
Sp010726	157	121	79	106,0	86,5	1,2074	2,8545	F	LUPI
Sp010727	182	140	89	140,0	118,0	0,1381	1,2564	M	LUPI
Sp010728	178	138	85	115,1	95,3	0,0777	1,3649	M	LUPI
Sp010801	183	140	86	133,7	118,7	0,0864	1,4341	M	LUPI
Sp010802	206	160	100	202,8	170,5	1,2125	2,5192	F	LUPI
Sp010803	210	168	100	211,4	191,2	0,5929	1,6523	F	LUPI
Sp010901	230	178	107	794,9	257,2	0,9577	5,8355	F	LUPI
Sp010902	213	169	101	245,8	217,1	0,6866	2,0097	F	LUPI
Sp010903	177	140	84	113,1	102,8	0,1235	1,5479	M	LUPI
Sp010904	189	147	97	133,8	119,1	0,3426	1,3214	F	LUPI
Sp010905	127	98	58	46,0	41,1	0,0395	1,0239	M	LUPI
Sp010906	165	128	75	110,4	101,8	0,3725	0,8675	F	LUPI
Sp010907	126	97	58	38,9	34,5	0,0398	0,0489	M	LUPI
Sp010908	119	92	61	33,8	30,0	0,6360	0,3659	F	LUPI
Sp010909	139	109	67	57,4	52,0	0,0864	0,8081	M	LUPI
Sp010910	134	104	62	50,9	44,8	0,0361	0,7944	M	LUPI

S. porcus

Sp010911	125	96	57	38,6	34,4	0,0346	0,5622	M	LUPI
Sp010912	122	95	56	40,9	35,7	0,0392	0,5307	M	LUPI
Sp010913	216	170	101	240,8	207,7	1,4789	1,7964	F	LUPI
Sp010914	125	98	57	38,1	33,8	0,0344	0,5133	M	LUPI
Sp010915	202	158	102	168,2	147,8	0,3542	1,3863	F	LUPI
Sp010916	146	113	72	58,3	50,9	0,2636	0,6807	F	LUPI
Sp010917	145	113	71	62,6	56,4	0,0505	0,8169	M	LUPI
Sp011101	213	167	106	231,4	214,4	1,0771	2,3395	F	LUPI
Sp011102	247	192	121	274,7	252,0	1,3536	3,8297	F	LUPI
Sp011201	164	127	72	104,5	92,1	0,2680	1,6498	F	LI. Palamós
Sp011202	237	187	116	304,3	280,2	0,1887	7,4941	M	LI. Palamós
Sp011203	237	183	114	326,2	284,6	1,6432	6,1120	F	LI. Palamós
Sp011204	240	189	122	343,9	305,0	0,1548	8,2933	M	LI. Palamós
Sp011205	202	159	93	197,9	177,4	0,8189	3,8038	F	LI. Palamós
Sp020101	206	159	93	183,1	166,9	0,1137	2,1501	M	LI. Palamós
Sp020102	232	182	113	283,3	262,3	0,1423	5,9508	M	LI. Palamós
Sp020103	222	173	109	253,7	232,3	0,1397	3,4734	M	LI. Palamós
Sp020104	215	170	108	190,9	175,1	0,1145	3,7107	M	LI. Palamós
Sp020105	235	185	113	266,1	240,7	0,1581	3,5372	M	LI. Palamós
Sp020501	200	158	98	187,8	171,6	1,5224	3,2581	F	LUPI
Sp020502	233	184	115	311,3	275,4	2,7633	9,1868	F	LUPI
Sp020503	232	183	116	260,0	234,7	2,3124	4,3093	F	LUPI
Sp020504	210	165	102	221,3	197,6	4,6707	2,7641	F	LUPI
Sp020505	181	142	90	118,8	107,9	0,2545	2,6356	M	LUPI
Sp020506	172	131	85	114,3	107,9	0,1275	2,5837	M	LUPI
Sp020507	145	112	67	69,2	64,7	0,4400	1,4653	F	LUPI
Sp020508	167	129	82	111,7	100,5	1,4286	3,6269	F	LUPI
Sp020509	115	89	55	35,9	32,3	0,0698	0,7447	M	LUPI
Sp020510	173	215	128	490,4	439,2	0,5722	13,5772	M	LUPI
Sp020511	160	122	75	93,4	85,2	0,4675	2,1070	F	LUPI
Sp020512	178	141	87	136,6	115,9	1,5254	3,7024	F	CS
Sp020513	171	133	78	115,9	102,7	1,5514	2,7144	F	CS
Sp020514	243	187	113	343,5	314,5	0,2601	5,7973	M	CS
Sp020515	186	153	95	216,4	180,2	2,6827	7,1026	F	CS
Sp020516	121	173	105	241,7	216,3	0,2437	5,7902	F	CS
Sp020517	189	146	94	154,6	139,2	0,0965	1,4676	M	CS
Sp020518	145	114	73	67,5	61,6	0,0538	0,9080	M	CS
Sp020519	239	186	110	311,6	265,6	5,5629	7,6574	F	CS
Sp020520	164	128	79	108,8	104,3	0,1903	1,8924	M	CS
Sp020521	198	154	93	192,4	157,5	3,9126	4,5005	F	CS
Sp020522	180	143	87	153,2	136,0	2,8483	4,1883	F	CS
Sp020523	136	107	64	63,9	55,7	1,3676	2,4094	F	CS

S. porcus

Sp020524	150	115	70	72,8	64,5	0,1101	1,0724	M	CS
Sp020601	278	218	142	561,5	510,0	19,2561	15,5738	F	LUPI
Sp020602	157	122	76	89,0	72,7	0,2004	1,3769	M	LUPI
Sp020603	170	132	83	120,5	96,2	0,8345	3,4779	F	LUPI
Sp020604	247	199	123	359,2	281,7	9,6271	2,7283	F	LUPI
Sp020605	176	139	91	115,0	105,4	0,2510	1,8603	M	LUPI
Sp020701	263	207	127	441,1	368,7	11,8869	6,0885	F	LI. Palamós
Sp020702	208	164	104	195,6	168,2	8,2135	4,0640	F	LUPI
Sp020703	194	150	90	174,1	158,6	0,2965	2,5022	M	LUPI
Sp020704	180	141	85	154,5	139,0	0,8286	2,7961	F	LUPI
Sp020705	120	95	57	40,7	36,4	0,1280	0,6974	M	LUPI
Sp020706	176	135	81	118,9	110,0	0,3101	1,7891	M	LUPI
Sp020707	128	100	58	44,5	40,6	0,0937	0,6045	M	LUPI
Sp020708	135	102	63	50,8	46,9	0,1620	0,6167	M	LUPI
Sp020709	122	90	56	30,8	34,4	0,1054	0,5625	M	LUPI
Sp020710	120	94	54	36,7	32,8	0,1224	0,4461	M	LUPI
Sp020711	136	104	62	50,6	44,8	0,1341	0,8219	M	LUPI
Sp020712	133	102	59	47,2	42,7	0,1052	0,4844	M	LUPI
Sp021101	264	209	140	378,3	340,0	1,9222	4,7511	F	LI. Palamós
Sp021102	214	169	99	241,3	215,6	0,8089	3,5958	F	LI. Palamós
Sp021103	231	180	113	257,1	233,1	0,3849	4,6367	F	LI. Palamós
Sp021104	201	155	98	175,3	162,4	0,5942	4,5651	F	LI. Palamós
Sp021105	222	171	105	211,3	195,0	1,1000	2,4109	F	LI. Palamós
Sp021106	203	157	99	165,6	154,2	0,5962	1,5500	F	LI. Palamós
Sp021107	208	156	93	231,7	206,1	0,1047	4,0447	M	LI. Palamós
Sp030501	251	202	135					F	LUPI
Sp030502	171	133	80					M	LUPI
Sp030601	234	185	119	225,0	210,0			M	Xàvega
Sp030602	251	200	130	325,0	300,0			F	Xàvega
Sp031001	175	134	81	122,7	116,6	0,3350	1,1996	F	LI. Palamós
Sp031002	172	130	74	130,0	121,3	0,0765	1,6003	M	LI. Palamós
Sp031101	244	190	113	356,4	337,0	1,7954	8,2762	F	Na Foguera
Sp031102	239	190	114	318,2	293,2	1,2644	3,9065	F	Na Foguera
Sp031103	230	182	112	310,2	284,6	1,7172	2,9496	F	Na Foguera
Sp040802	263	207	133	327,1	303,6	1,6621	10,1715	F	LI. Palamós
Sp040803	216	161	105	202,6	183,7	1,0911	6,3065	F	LI. Palamós
Sp040804	233	186	122	210,1	199,1	0,6213	1,7620	F	LI. Palamós
Sp040805	249	191	120	257,7	240,0	1,4862	4,9551	F	LI. Palamós
Sp040806	202	167	106	176,8	161,9	0,1217	3,4653	M	LI. Palamós
Sp040807	243	196	122	300,0	260,0	1,5714	4,3890	F	Xàvega

S. scrofa

Individu	Lt	Ls	Lpa	Pt	Pe	Pg	Pf	Sexe	Procedència
Ss000601	197	155	93	152,9	136,7	0,2165	1,9790	M	CS
Ss000602	121	93	59	37,6	30,0	0,0110	0,5603	I	CS
Ss000603	332	266	163	727,7	623,5	0,2056	15,9008	M	CS
Ss000604	344	271	165	874,0	758,8	0,4778	14,9591	M	CS
Ss000701	243	190	119	316,6	286,5	0,1952	2,5223	M	P. Llançà
Ss000702	247	196	127	330,5	293,9	0,1209	3,8843	M	P. Llançà
Ss000703	238	188	117	292,7	260,9	0,5052	5,1514	F	P. Llançà
Ss000704	267	207	126	410,8	364,0	1,0537	7,8415	F	P. Llançà
Ss000705	266	205	126	37,6	336,5	0,1458	3,3074	M	P. Llançà
Ss000706	330	257	159	726,5	652,1	0,4578	10,3824	M	P. Llançà
Ss000707	173	137	87	106,7	97,9	0,0327	1,4625	I	Xàvega
Ss010101	341	263	166	750,2	684,4	2,5061	24,2134	F	LUPI
Ss010102	286	228	150	421,4	371,7	0,1650	3,6703	M	LUPI
Ss010103	305	237	154	556,4	524,5	2,7523	4,4027	F	LUPI
Ss010104	260	200	127	340,0	312,2	1,1988	3,6684	F	LUPI
Ss010105	310	243	154	483,2	474,8	0,2889	5,7475	M	LUPI
Ss010201	304	243	157	527,6	444,1	1,3439	8,4589	F	LUPI
Ss010202	220	172	101	204,2	191,3	0,1190	1,5903	M	LUPI
Ss010301	191	150	96	150,9	125,9	0,2199	1,5920	F	LUPI
Ss010302	128	100	63	40,6	34,2	0,0160	0,2717	I	LUPI
Ss010303	221	171	107	230,2	208,6	0,3954	3,9367	F	LUPI
Ss010304	221	177	111	225,1	194,3		1,4215		LUPI
Ss010305	124	97	61	37,9	34,8	0,0452	0,4852	F	LUPI
Ss010306	196	152	93	136,5	131,9	0,2592	0,6426	F	LUPI
Ss010401	158	125	75	88,3	83,6	0,0270	1,7160	I	LUPI
Ss010501	119	94	59	41,4	34,7	0,7536	0,0136	I	LUPI
Ss010502	225	180	42	246,1	223,5	0,7815	3,5561	F	LUPI
Ss010503	192	149	91	142,0	130,8	0,0531	1,6460	M	CS
Ss010601	293	236	148	592,5	538,5	0,2329	7,7180	M	LUPI
Ss010602	130	102	61	52,3	45,6	0,0151	0,7518	I	LUPI
Ss010603	178	139	90	111,8	102,2	0,1720	1,0383	F	LUPI
Ss010701	191	149	95	120,8	115,6	0,0617	0,4768	F	LUPI
Ss010702	198	155	95	151,7	133,7	0,0300		I	LUPI
Ss010703	189	149	96	144,4	131,7	0,1343	1,9460	F	LUPI
Ss010704	207	162	101	222,6	196,4	0,1337	2,0646	M	LUPI
Ss010705	190	152	97	136,1	125,2	0,1311	0,8798	F	LUPI
Ss010706	218	172	115	198,4	182,6	0,2534	1,8968	F	LUPI
Ss010707	210	168	107	174,0	162,4	0,0356	0,8575	I	LUPI
Ss010708	189	150	94	140,7	127,1	0,1315	1,4206	F	LUPI
Ss010801	227	178	115	262,5	237,6	0,3222	2,4328	F	LUPI
Ss010802	116	94	57	31,0	26,8	0,0211	0,2717	F	LUPI

S. scrofa

Ss010803	139	110	67	55,8	50,8	0,0114	0,6289	I	LUPI
Ss010804	150	118	75	78,2	66,1	0,0596	0,5646	F	LUPI
Ss010901	151	120	75	73,8	67,5	0,0210	1,5466	I	LUPI
Ss010902	159	129	80	84,9	78,4	0,0231	1,1842	I	LUPI
Ss010903	121	96	56	41,4	36,1	0,0405	0,4791	F	LUPI
Ss010904	236	188	121	258,6	211,9	0,2689	2,7273	F	LUPI
Ss011101	210	165	107	184,7	171,3	0,3157	1,8649	F	LUPI
Ss011102	193	150	93	155,5	146,3	0,0680	0,9129	M	LUPI
Ss011103	242	189	129	266,1	236,5	0,0499	3,3104	M	LI. Palamós
Ss011104	123	98	60	40,0	37,0	0,0616	0,2613	F	LI. Palamós
Ss011105	214	167	105	191,4	180,0	0,4436	1,0563	F	LI. Palamós
Ss011201	275	217	137	424,8	382,6	1,1736	10,4262	F	LUPI
Ss011202	247	195	123	288,9	267,8	0,0761	2,2536	M	LUPI
Ss011203	207	163	101	168,2	157,5	0,2343	1,3529	F	LUPI
Ss011204	290	227	147	461,1	427,8	1,1429	7,0020	F	LI. Palamós
Ss011205	281	225	142	466,4	425,5	0,1138	10,3890	M	LI. Palamós
Ss011206	340	268	169	741,3	690,7	0,2361	17,0153	M	LI. Palamós
Ss011207	272	211	136	389,0	366,4	1,2430	3,6990	F	LI. Palamós
Ss020201	309	249	153	488,7	465,9	0,4846	1,5422	M	LI. Palamós
Ss020202	267	210	132	341,5	323,9	2,4903	2,7413	F	LI. Palamós
Ss020203	263	205	134	302,2	290,0	0,1580	2,1567	M	LUPI
Ss020204	121	95	57	36,0	32,1	0,0148	0,3787	I	LUPI
Ss020501	270	215	126	420,8	375,5	2,4981	7,4583	F	LI. Palamós
Ss020502	217	173	106	231,1	211,7	0,0490	0,7707	M	LI. Palamós
Ss020503	237	188	119	330,0	277,9	0,4734	2,5012	F	LI. Palamós
Ss020504	266	209	131	355,9	325,9	1,9802	3,8444	F	LUPI
Ss020505	129	102	62	45,4	41,1	0,0421	0,6791	F	LUPI
Ss020506	223	176	107	225,5	212,2	0,6256	1,9035	F	LUPI
Ss020507	197	153	95	147,8	138,5	0,3134	6,2250	F	LUPI
Ss020701	448	356	229	1939,8	1745,5	88,1636	60,5224	F	LI. Palamós
Ss020702	317	254	158	735,2	644,8	51,3955	8,7560	F	LI. Palamós
Ss020703	255	199	124	367,9	334,9	1,8770	7,7466	F	LI. Palamós
Ss020801	318	247	162	604,7	536,9	25,0731	7,5759	F	LUPI
Ss020802	331	259	172	762,8	641,5	63,2575	9,9118	F	LUPI
Ss020803	281	219	131	400,0	355,4	13,8734	3,7301	F	LUPI
Ss021101	230	183	116	233,9	215,6	0,6234	2,6635	F	LUPI
Ss021102	202	156	99	154,1	142,8	0,0352	1,1523	M	LUPI
Ss021201	304	239	154	513,4	465,2	0,3104	2,6142	M	LUPI
Ss021202	226	173	110	216,9	205,6	0,0742	1,6834	M	LUPI
Ss021203	183	143	87	124,5	118,2	0,0360	0,9231	M	LUPI
Ss021204	298	226	141	448,4	438,4	0,1163	2,2561	M	LUPI
Ss030501	263	212	141					F	LUPI

S. scrofa

Ss030601	320	252	175					F	LUPI
Ss030602	296	233	154					F	LUPI
Ss030603	363	296	194			5,8836	16,8831	F	Calypso
Ss030604	395	310	206			1,2707	12,9764	M	Calypso
Ss030605	390	311	201			7,8983	14,7239	F	Calypso
Ss030606	464	368	241			2,4567	23,8556	M	Calypso
Ss030607	376	293	186			1,0432	24,5011	M	Calypso
Ss030608	443	352	236			1,4961	13,9095	M	Calypso
Ss030609	391	308	196			1,4960	10,3068	M	Calypso
Ss030610	321	257	158			2,2293	8,2529	F	Calypso
Ss030611	475	384	263			1,5260	16,5193	M	Calypso
Ss030612	380	300	200			0,6430	7,8022	M	Calypso
Ss030613	500	402	275			1,7836	47,8143	M	Calypso
Ss030614	392	319	210			8,6746	13,1903	F	Calypso
Ss030615	436	352	233			12,6167	16,1131	F	Calypso
Ss030616	487	395	268			2,1170	24,3773	M	Calypso
Ss030617	472	380	257			2,5528	24,1114	M	Calypso
Ss030618	495	395	264			1,7355	37,4975	M	Calypso
Ss030619	456	367	230			2,0560	43,8877	M	Calypso
Ss030620	510	410	270			1,4115	25,1110	M	Calypso
Ss031001	246	192	123	323,9	306,8	0,1532	3,4494	M	Ll. Palamós
Ss040501	302	230	152	450,0	419,0	1,3887		F	CS
Ss040502	469	205	135	304,0	284,0	0,1592		M	CS
Ss040801	302	231	158	480,0	444,2	0,2101	8,8447	M	Ll. Palamós
Ss040802	301	239	158	418,8	394,3	0,2205	3,5521	M	Ll. Palamós
Ss040803	298	240	161	450,0	400,0	3,9951	4,8070	F	Xàvega

S. elongata

Individu	Lt	Ls	Lpa	Pt	Pe	Pg	Pf	Sexe	Procedència
Se000601	143	111	69	61,8	54,1	0,1710	1,8029	F	CS
Se000602	181	142	92	104,8	93,0	0,0163	2,1490	M	CS
Se000603	147	114	70	67,8	58,4	0,0346	1,8892	M	CS
Se000604	303	242	149	502,2	453,2	1,7319	5,7668	F	CS
Se000605	297	227	160	458,5	420,8	1,2310	0,5868	F	CS
Se001101	272	217	135	390,4	364,9	0,2942	9,3205	M	P. Llançà
Se010501	195	158	99	146,3	133,2	0,0691	2,0005	I	LUPI
Se010502	280	225	141	363,2	328,0	0,1781	6,7340	M	CS
Se010503	166	144	90	103,3	96,7	0,1407	1,3850	F	CS
Se010504	182	128	81	74,4	67,6	0,0880	1,1774	F	CS
Se010505	183	147	94	110,0	100,3		0,9777	I	CS
Se010506	106	85	53	23,5	18,2	0,0181	0,2167	I	CS
Se010507	172	137	82	101,3	89,0	0,0178	1,1070	I	CS
Se010508	299	235	151	528,8	456,9	0,3515	7,3284	M	CS
Se010509	406	323	202	1422,9	1292,4	1,1600	25,8150	M	CS
Se010510	411	328	208	1673,9	1205,0	1,0632	26,9307	M	CS
Se010511	473	380	220	2269,8	1746,3	22,9805	85,7445	F	CS
Se011101	298	239	150	525,5	429,3	1,4113	11,7181	F	LI. Palamós
Se011102	346	273	174	728,4	680,0	4,2087	6,0507	F	LI. Palamós
Se011201	250	197	120	318,2	293,5	0,8322	5,1301	F	LI. Palamós
Se011202	208	164	102	161,4	149,1	0,0618	1,7562	M	LI. Palamós
Se011203	200	157	96	166,0	153,2	0,0443	1,3913	M	LI. Palamós
Se020501	221	179	110	238,8	218,4	0,4307	4,0172	F	CS
Se020502	246	190	119	270,0	254,7	0,1327	3,8689	M	CS
Se020503	221	174	106	224,5	206,3	1,4440	5,7012	F	CS
Se020504	220	174	109	208,2	193,0	0,4383	4,1064	F	CS
Se020505	188	152	94	122,8	115,0	0,3112	1,5641	F	CS
Se020506	166	134	79	91,2	83,5	0,1438	1,1561	F	CS
Se020507	294	232	140	476,0	445,8	0,4426	6,8961	M	CS
Se020508	255	201	121	288,8	261,9	0,4891	3,9853	F	CS
Se020509	140	109	71	50,0	45,1	0,0106	0,5998	I	CS
Se020510	201	158	98	161,6	151,1	0,1150	2,4510	M	CS
Se020511	131	104	64	42,9	38,7	0,0263	0,4297	F	CS
Se020512	142	109	70	50,7	45,9	0,0208	0,3770	I	CS
Se020513	130	100	60	45,3	42,0	0,0061	0,5656	I	CS
Se020514	154	120	75	65,5	57,7	0,0985	0,9660	F	CS
Se020515	136	106	68	42,5	38,9	0,0420	0,4130	F	CS
Se020516	124	96	65	35,5	31,7	0,0517	0,5493	F	CS
Se020517	97	74	46	17,8	16,0	0,0056	0,3088	I	CS
Se020518	93	76	49	14,2	12,8	0,0048	0,1596	I	CS
Se020519	75	57	34	8,0	6,7	0,0096	0,1837	F	CS

S. elongata

Se020701	485	384	252	2253,5	2006,4	62,5066	82,0372	F	LI. Palamós
Se020702	244	196	119	288,6	271,0	0,6925	9,5130	F	LI. Palamós
Se030501	260			300,0	279,9	0,2186	7,9725	M	CS
Se030502	195			124,7	116,8	0,2220	3,2932	F	CS
Se040501	335	260	170	634,0	585,0	0,4004		F	CS
Se040502	302	230	149	457,0	419,0	3,0585		F	CS

Memòria redactada per **Maria Sàbat Bofill**, inscrita al programa de doctorat de Biologia Ambiental del Departament de Ciències Ambientals, per a optar al grau de Doctora en Biologia per la Universitat de Girona.

El present treball s'ha realitzat a l'Àrea de Zoologia de la Universitat de Girona sota la codirecció de la Dra. Margarida Casadevall Masó i el Dra. Marta Muñoz Frigola.