

ESTIMACION DE LA FECUNDIDAD DE LA CORVINA RUBIA (*Micropogonias furnieri*) MEDIANTE LA APLICACION DEL METODO ESTEREOMETRICO^{1, 2}

Gustavo J. Macchi y Harald E. Christiansen

Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero
Playa Grande, 7600 Mar del Plata, República Argentina

RESUMEN: El objetivo del presente trabajo es establecer un criterio operativo para la cuantificación de ovocitos en los cálculos de fecundidad de la corvina rubia. Para tal fin se analizó la distribución de diámetros ovocitarios para los estadios de madurez gonadal y se tipificó las distintas camadas celulares. A partir de estos resultados se realizaron los cálculos de fecundidad.

Se trabajó con ovarios recolectados en la campaña H-01/88, de los cuales 76 se utilizaron para el cálculo de la fecundidad, en individuos de dos localidades (Uruguay, 34°50'-35°S y Bahía Samborombón, 35°-36°48'S). El material se incluyó en parafina y se coloreó con H-E y PAS. Las estimaciones se realizaron por el método estereométrico utilizando la ecuación de Weibel y Gómez (1962).

A partir del análisis de las camadas ovocitarias, se decidió utilizar el estadio IV, previo a la maduración total y cuantificar los ovocitos en vitelogenesis secundaria avanzada. Las estimaciones de fecundidad en función de la talla arrojaron los siguientes resultados:

Uruguay, $F = 5,6 \cdot 10^{-4} \times Lt^{5,3}$, $r = 0,89$ (fecundidad absoluta media = 781.310 ovocitos).

Bahía Samborombón, $F = 7,81 \cdot 10^{-1} \times Lt^{3,46}$, $r = 0,70$ (fecundidad absoluta media = 491.000 ovocitos).

Palabras clave: Corvina rubia, fecundidad, método estereométrico.

SUMMARY: ESTIMATION OF FECUNDITY IN WHITE CROAKER (*Micropogonias furnieri*) BY MEANS OF THE STEREOLOGICAL METHOD. - The objective of the present paper is to establish an adequate criteria in the quantification of ovocytes for the fecundity calculations in the white croaker. For this, the distribution of ovocitary diameters for the gonadal maturity stages is analyzed, and the different cellular groups are established. From these results the correspondent fecundity calculation are made.

Work was done with ovaries collected in the H-01/88 cruise, of which 76 were used for fecundity calculations, belonging to two localities (Uruguay, 34°50'-35°S and Samborombón Bay 35°-36°48'S). The material was paraffin included and stained with H-E and PAS. The estimations were done by the stereological method, using the Weibel and Gómez equation (1962).

From the analysis of ovocitary groups, it was decided to use the stage previous to total maturation, and to quantify the ovocytes in advanced secondary vitellogenesis. The fecundity estimates in relation to size showed up the following results:

Uruguay locality, $F = 5.6 \cdot 10^{-4} \times Lt^{5.3}$, $r = 0.89$ (mean absolute fecundity = 781,310 ovocytes).

Samborombón Bay, $F = 7.81 \cdot 10^{-1} \times Lt^{3.46}$, $r = 0.70$ (mean absolute fecundity = 491.000 ovocytes).

Key words: White croaker, fecundity, stereological method.

INTRODUCCION

El cálculo de la fecundidad es un dato fundamental a tener en cuenta en la evaluación de un recurso pesquero. Para la obtención del mismo se emplearon distintas metodologías, siendo las estimaciones gravimétricas y volumétricas las más utilizadas. A partir de los trabajos de Weibel y Gómez (1962) y Neuer (1966), se comenzó a emplear la técnica estereométrica para el cálculo de este parámetro, siendo un método mucho más rápido y ventajoso con respecto a los anteriores (Emerson *et al.*, 1990). Christiansen y Weiss (1974) introdujeron una variante en el método con la aplicación de la microtomía por congelación el cual se utilizó posteriormente para el cálculo de la fecundidad en *Brevoortia aurea* (Cassia *et al.*, 1979), *Merluccius hubbsi* (Christiansen *et al.*, 1986), *Engraulis anchoita* (Louge y Christiansen, manuscrito), etc.

En *Micropogonias furnieri* se calculó la fecundidad utilizando el método gravimétrico, en individuos de la costa sur de Brasil (Vazzoler, 1970) y recientemente se realizaron estimaciones con el método volumétrico a partir de ejemplares capturados en el Río de la Plata (Pravia *et al.*, 1989). Los objetivos del presente trabajo son establecer una pauta operativa en la elección de los elementos a cuantificar para el cálculo de la fecundidad y efectuar estimaciones de este parámetro para la corvina rubia mediante la aplicación del método estereométrico.

MATERIAL Y METODOS

El material empleado se recolectó en la campaña H-01/88, realizada en el mes de noviembre, la cual abarcó distintas áreas costeras de la Provincia de Buenos Aires y Uruguay. De las 687 gónadas extraídas, 76 se emplearon para el cálculo de la fecundidad, 23 correspondientes a la localidad de Uruguay y 53 a Bahía Samborombón (Fig. 1).

¹ Este trabajo fue presentado en el Séptimo Simposio Científico de la CTMFM, diciembre 1990.

² Contribución del INIDEP Nº 753.

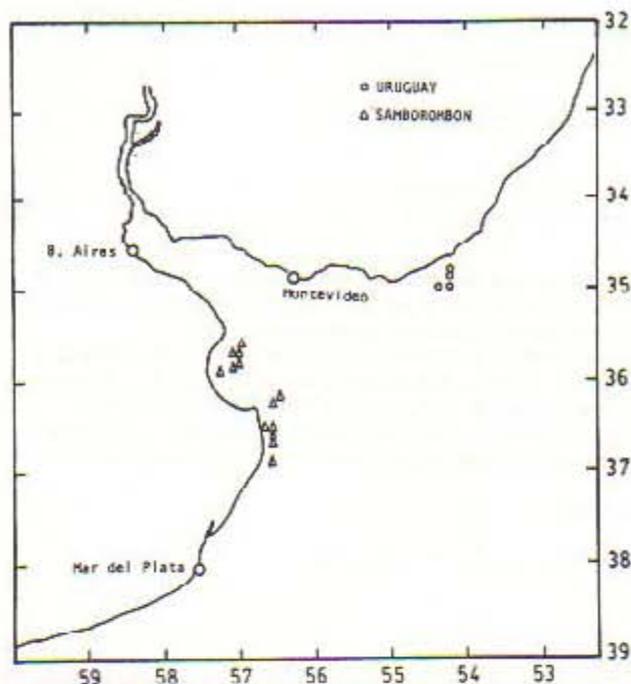


Fig. 1. Distribución de los lances de pesca efectuados durante la campaña H-01/88 en los cuales se obtuvieron muestras para los cálculos de fecundidad.

Los ovarios se fijaron en formol al 10%, se determinó el volumen y peso de cada uno, posteriormente se extrajo una porción de material correspondiente a la parte central del órgano, la cual se procesó por inclusión en parafina. Con el objeto de establecer el coeficiente de retracción de los ovarios, se seleccionaron 14 gónadas en maduración avanzada, y se tomaron 3 muestras de cada una; se midió el volumen después de la fijación e inmediatamente antes de la inclusión. El coeficiente de retracción se estableció a partir de la siguiente relación:

$$CR = \frac{Vf_1 + Vf_2 + Vf_3}{Vi_1 + Vi_2 + Vi_3} \quad (1)$$

donde V_i es el volumen post-fijación y V_f es el volumen pre-inclusión.

La media obtenida para los 14 ejemplares fue de 0,54, con una varianza de 0,00037. Este valor se tomó como coeficiente de retracción gonadal para el estadio de maduración avanzada (IV), y se multiplicó por los volúmenes gonadales en el cálculo de la fecundidad.

Los cortes histológicos se colorearon con H-E y PAS, este último método se empleó para lograr una mayor precisión en la tipificación de las camadas ovocitarias (Emerson *et al.*, 1990).

A partir de estos preparados se realizaron los diagnósticos correspondientes empleando la escala de madurez de Macchi y Christiansen (1992) y se midieron las tallas ovocitarias, utilizando para el

cálculo de la fecundidad el estadio de maduración IV, debido a la escasa presencia de ejemplares totalmente maduros en el muestreo.

Para el recuento de las células se utilizó un ocular integrador Zeiss con la placa II de 100 pto., y el número de ovocitos se estableció a partir de la fórmula de Weibel y Gómez (1962):

$$NV = \frac{1}{\beta} \frac{N_o^{3/2}}{V^{1/2}} \quad (2)$$

donde NV es el número de ovocitos por unidad de volumen, N_o es el número de ovocitos por unidad de área; V_v es la densidad volumétrica de los ovocitos y β es el coeficiente de forma.

Se calcularon regresiones entre las variables fecundidad y talla para cada zona y se evaluó el comportamiento de los residuales (Draper y Smith, 1980) previa transformación logarítmica de los datos.

RESULTADOS OBTENIDOS

Análisis de las camadas ovocitarias para cada estadio

El análisis de la distribución de diámetros

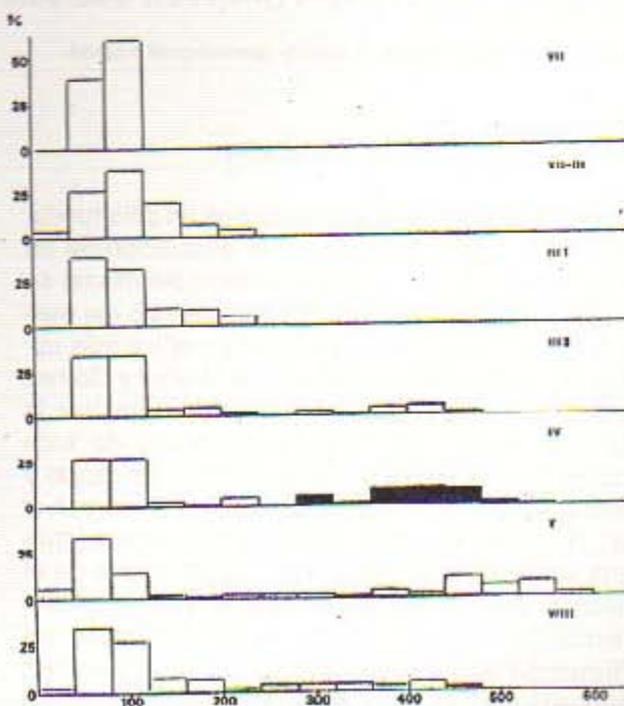


Fig. 2. Distribución de frecuencias relativas de diámetros ovocitarios (μ) para cada estadio de madurez gonadal (las barras oscuras, estadio IV, representan el grupo de ovocitos en vitelogénesis secundaria avanzada).

ovocitarios para cada estadio de maduración (Fig. 2) muestra un incremento en tamaño de los ovocitos a partir de la etapa de reposo gonadal (VII). Las transiciones ováricas correspondientes a los estadios VII III y III₁, no son acompañadas de importantes variaciones en el diámetro celular siendo ambos estadios discriminables por el inicio de la vitelogénesis secundaria en el III₁. A partir del estadio III₂ se constata un grupo de ovocitos entre las 280 y 480 μ , que comprende citar en vitelogénesis secundaria avanzada (fase 4). En el siguiente estadio (IV) se acentúa la segregación de este grupo celular del resto de los ovocitos, acrecentándose su número. En la maduración total (V) los ovocitos en fase 4 se hidratan y constituyen el grupo de mayor diámetro. Este estadio presenta ovocitos con distintos grados de hidratación (Fig. 3), lo cual es un indicio de que este proceso se desarrolla en forma gradual y no

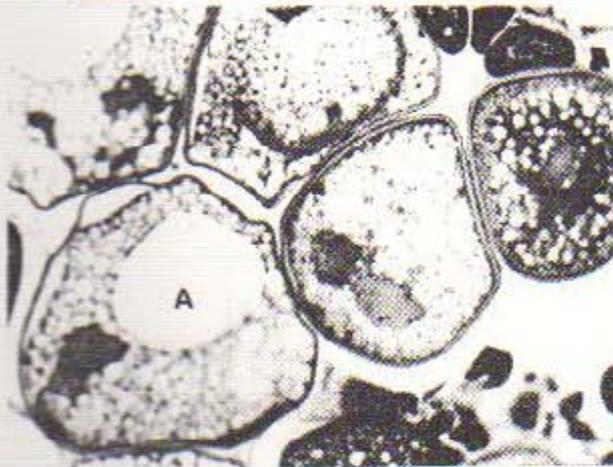


Fig. 3. Ovario en maduración total (V) (se observan ovocitos en distintos grados de hidratación, los más maduros con formación de la gota oleosa (A); aumento 100x).

afecta solo a una camada de células.

En el grupo de ovocitos en vitelogénesis secundaria avanzada, se observan diferencias en el

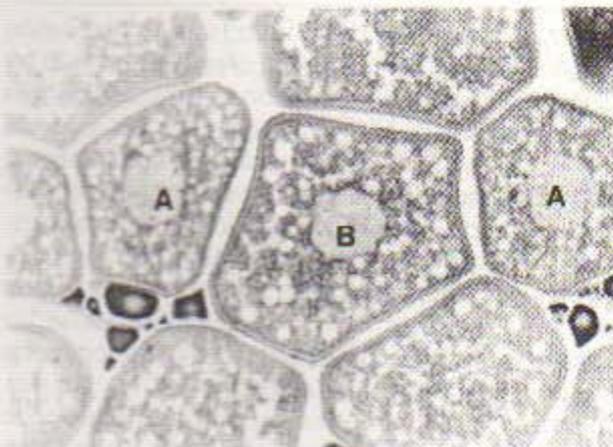


Fig. 4. Ovario en maduración avanzada (IV) (se observan ovocitos en vitelogénesis secundaria en distintos grados de maduración (A y B); aumento 100x).

espesor de la membrana pelúcida y en el tamaño de los gránulos de vitelo (Fig. 4), siendo los más maduros provistos de pelúcidas bien desarrolladas y gránulos de mayor diámetro. La tinción por el método de PAS no aporta elementos diagnósticos significativos respecto de la técnica de H-E (Fig. 5), lo cual, junto con lo observado respecto de la distribución de diámetros, evidencia la existencia de un gradiente de maduración en el conjunto de ovocitos en vitelogénesis secundaria avanzada y en hidratación, dificultando la diferenciación de camadas. Por tal

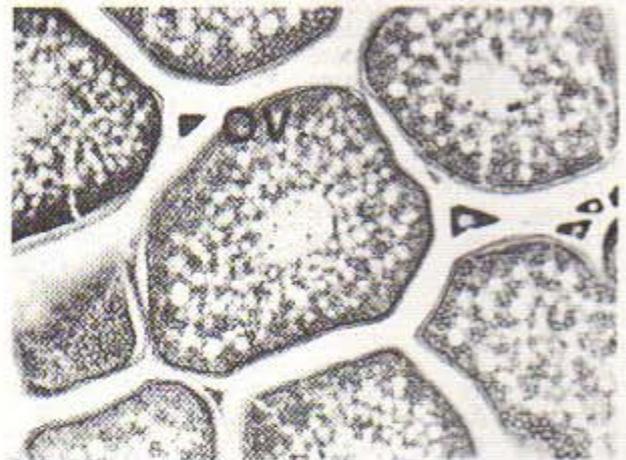


Fig. 5. Ovario en maduración avanzada (PAS-Hematoxilina) (la técnica no permite diferenciar camadas celulares en el conjunto de ovocitos en vitelogénesis secundaria (OV); aumento 100x).

razón el criterio empleado para el cálculo de la fecundidad fue cuantificar la totalidad de los ovocitos en vitelogénesis secundaria avanzada, que constituyen el grupo celular más maduro del estadio IV de madurez gonadal.

Cálculo de la fecundidad

Los cálculos de fecundidad se llevaron a cabo para los individuos de Uruguay y Bahía Samborombón. En la Tabla 1 figuran los valores de fecundidad absoluta por clase de largo para ambas zonas. La regresión entre ambas variables dio los siguientes resultados:

Uruguay (Fig. 6), $F = 5,6 \cdot 10^{-4} \times Lt^{5,3}$, $r = 0,89$, $SE = 0,275$.

Bahía Samborombón (Fig. 7), $F = 7,81 \cdot 10^{-1} \times Lt^{3,46}$, $r = 0,70$, $SE = 0,366$.

El análisis de residuales mostró un comportamiento normal para ambas regresiones, lo que demuestra un buen ajuste al modelo potencial (Fig. 8).

Tabla 1. Fecundidad absoluta para los individuos de Uruguay y Samborombón. En la última fila figuran las medias correspondientes a cada zona.

Uruguay		Bahía Samborombón			
Fec. 10^5	Lt	Fec. 10^5	Lt	Fec. 10^5	Lt
2.32617	44	2.18896	37	4.63479	45
2.14103	44	2.68625	38	4.03723	45
4.72892	49	1.82618	40	10.67236	46
5.45240	50	6.14127	40	6.11697	46
5.92772	50	3.14464	40	4.75507	46
2.42190	50	2.00290	40	2.78689	47
4.96554	50	4.94505	40	3.45477	47
5.47044	51	1.56035	40	6.37077	48
3.69020	52	5.46198	41	6.89334	48
6.94894	52	3.00780	41	6.94391	48
9.37464	53	4.68990	42	3.29473	49
12.19540	54	2.29985	42	7.22495	50
7.52710	55	2.76313	42	6.85370	50
5.35189	55	3.25423	42	12.69024	50
7.67180	56	2.35808	42	12.49654	50
7.18666	56	4.92259	42	7.78263	50
7.61289	56	2.42460	43	5.18890	51
12.65011	57	3.38525	43	6.10003	51
12.21627	58	2.72270	43	5.76278	51
10.26307	58	2.64428	43	3.82172	51
10.46557	59	3.07800	43	5.59023	51
15.33600	64	2.21989	43	4.54459	52
17.89842	65	4.21678	44	7.99347	54
		3.52276	44	5.82022	54
		3.28602	44	10.52847	55
		3.44250	45	10.35327	58
		3.40138	45		
7.81360	54			4.91000	46

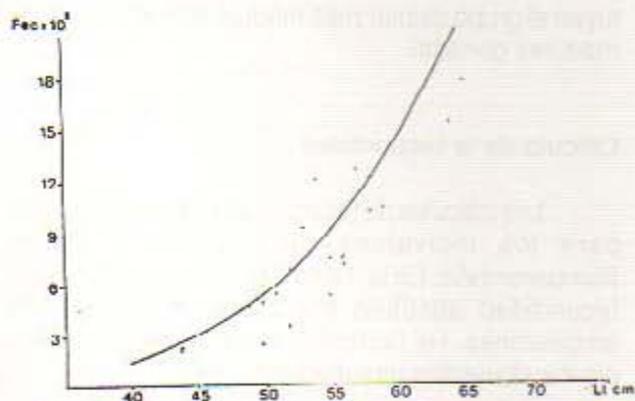


Fig. 6. Relación entre la fecundidad absoluta y la talla de los individuos capturados en Uruguay.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Para el cálculo de la fecundidad en especies con desove parcial, se han empleado distintos criterios en la elección de los ovocitos para la cuantificación. Algunos autores utilizan los estadios de maduración total y cuentan en forma directa los elementos hidratados, proporcionando una estimación del número de ovocitos evacuados en cada

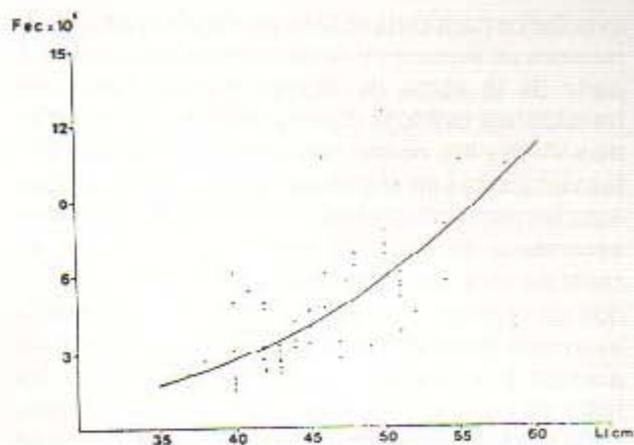


Fig. 7. Relación entre la fecundidad absoluta y la talla de los individuos del área de Bahía Samborombón.

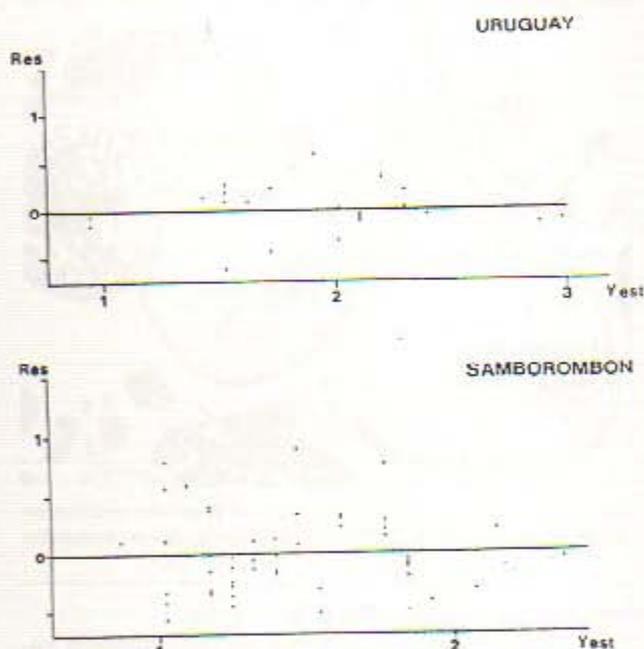


Fig. 8. Distribución de los residuales en función de los \hat{y} para localidades de Uruguay y Bahía Samborombón.

puesta (Hunter y Goldberg, 1980; Hunter y Macewicz, 1980; Alegre y Alheit, 1986; Lo *et al.*, 1986). El inconveniente que se plantea con esta metodología es la probabilidad de la evacuación antes del recuento debido al inminente desove, conduciendo a subestimar la fecundidad. Para evitar este error es necesario realizar diagnósticos microscópicos de los ovarios y descartar los que presenten folículos post-ovulatorios. Otro criterio es trabajar con el estadio de madurez previo al desove y cuantificar todas las camadas de ovocitos a partir de la vitelogénesis secundaria (Macer, 1974; Haimovici y Cousin, 1989), posibilitando una estimación de la fecundidad total durante el período de desove. Este proceder no tiene en cuenta la incidencia de atresias previas a la maduración total, pudiendo conducir a

sobreestimaciones (Deniel *et al.*, 1989).

En el presente trabajo, tanto la tipificación como el análisis de la distribución de diámetros ovocitarios para cada uno de los estadios de maduración gonadal, evidencian un gradiente en el proceso madurativo a partir de la vitelogénesis secundaria avanzada. Esta circunstancia hace difícil la identificación de camadas en las distintas fases de maduración. Por tal razón se consideró conveniente realizar las estimaciones de fecundidad, a partir del estadio previo a la maduración total y cuantificar la totalidad de los ovocitos en vitelogénesis secundaria avanzada. Hunter *et al.* (1989) han empleado un criterio similar para hallar la fecundidad total del pez sable (*Anoplopoma fimbria*) si bien estos autores incorporan también al conteo los ovocitos en estado de hidratación.

El inconveniente que se plantea con la metodología empleada en este trabajo, es la posibilidad de sobreestimar el número de ovocitos por no tener en cuenta las atresias en el estadio de maduración total. Aún así, la probabilidad de error es mucho menor que la que pudiera derivar de cálculos efectuados a partir de las primeras generaciones ovocitarias.

La regresión entre fecundidad y talla presentó un mejor ajuste al modelo potencial. Para la localidad de Uruguay la ecuación obtenida fue: $F = 5,6 \cdot 10^{-4} \times Lt^{5,3}$ ($r = 0,89$) y para los individuos de Bahía Samborombón: $F = 7,81 \cdot 10^{-1} \times Lt^{3,46}$ ($r = 0,70$). La fecundidad absoluta media para los individuos de la primera zona fue de 781.310 ovocitos (Lt medio = 54 cm) y para la segunda 491.000 ovocitos (Lt medio = 46 cm).

Para Bahía Samborombón se observó, respecto del Uruguay, una mayor dispersión en los datos de fecundidad. El incremento de la variabilidad en el área citada, también ha sido observado analizando otros aspectos biológicos de esta especie, tales como la incidencia de patologías ováricas (Macchi *et al.*, en prensa) y la proporción de cuerpos melano-macrófagos en el bazo (Macchi *et al.*, 1992). Dichos trabajos evidencian la existencia de una marcada estimulación del sistema inmunológico en los individuos del área de Bahía Samborombón, manifestando un aumento de patologías irritativas en ovarios y un incremento en el tamaño de los cuerpos melano-macrófagos.

Consecuentemente esta área se perfila como una zona ambientalmente alterada, en la cual los individuos deben invertir parte de su energía en mecanismos de defensa orgánica. El que esta circunstancia pueda afectar la producción de ovocitos (Tam *et al.*, 1986; Donaldson, 1990) depende en gran parte de la base inmunológica de cada organismo, traduciéndose potencialmente en un mal ajuste al modelo que resume la relación fecundidad-talla.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a las señoras Teresa Carle y Virginia Habegger por su colaboración en el procesamiento del material para la obtención de los preparados histológicos.

BIBLIOGRAFIA

- ALEGRE, B. y J. ALHEIT. 1986. Un nuevo método para la determinación de la fecundidad de la sardina peruana (*Sardinops sagax*). Bol. Inst. Mar del Perú (Callao), 10(3): 61-90.
- CASSIA, M.C., J.D. CIECHOMSKI y H.E. CHRISTIANSEN. 1979. Estudios sobre la reproducción y fecundidad de la saraca *Brevoortia auroa* y la comparación de dos métodos utilizados. Physis (Buenos Aires), Sec. A, 38(94): 39-46.
- CHRISTIANSEN, H.E. y G. WEISS. 1974. Nuevo método para la determinación de la fecundidad en peces con técnicas estereométricas, mediante cortes por congelación. Su comparación puntual con otros métodos. Physis (Buenos Aires), Sec. A, 33(37): 453-458.
- CHRISTIANSEN, H.E., P.D. GLORIOSO y C.E. OLIVIERI. 1986. Aplicación de la histología en la determinación de efectivos de merluza (*Merluccius hubbsi*). Tipificación de tejidos, cálculos de fecundidad y vinculación con las condiciones ambientales. Publ. Com. Téc. Mix. Fr. Mar. (Montevideo), 1(2): 567-574.
- DENIEL, C., C. LE BLANC y A. RODRIGUEZ. 1989. Comparative study of sexual cycles, oogenesis and spawning of two soleidae *Solea lascaris* and *Solea imparon* western coast of Brittany. J. Fish. Biol., 35: 49-58.
- DONALDSON, E.M. 1990. Reproductive indices as measures of the effects of environmental stressors in fish. Am. Fish. Soc. Symp., 8: 109-122.
- DRAPER, N. y H. SMITH. 1980. Applied regression analysis, second edition, J. Wiley and Sons (Ed.), 709 p.
- EMERSON, L.S., M. GREER WALKER y P.R. WITTHAMES. 1990. A stereological method for estimating fish fecundity. J. Fish. Biol., 36: 721-736.
- HAIMOVICI, M. y J.C.B. COUSIN. 1989. Reproductive biology of castanha (*Umbrina canosa*) in southern Brasil. Rev. Brasil Biol., 49(2): 523-537.
- HUNTER, J.R. y S.R. GOLDBERG. 1980. Spawning incidence and bath fecundity in northern anchovy (*Engraulis mordax*). Fish. Bull. (U.S.), 77(3): 641-653.
- HUNTER, J.R. y B. MACEWICZ. 1980. Sexual maturity, batch fecundity, spawning frequency and temporal pattern of spawning for northern anchovy *Engraulis mordax* during the 1979 spawning season. CALCOFI Rep., 21: 139-149.
- HUNTER, J.R., B. MACEWICZ y C. KIMBRELL. 1989. Fecundity and other aspects of the reproduction of sablefish, *Anoplopoma fimbria* in central California waters. CALCOFI Rep., 30: 61-72.
- LO, N.C.H., J. ALHEIT y B. ALEGRE. 1986. Fecundidad parcial de la sardina peruana (*Sardinops sagax*). Bol. Inst. Mar del Perú (Callao), 10(2): 45-60.
- LOUGE, E.B. y H.E. CHRISTIANSEN. Fecundidad de la anchoita, *Engraulis anchoita*, proveniente de la pesca costera marplatense durante octubre de 1987. Manuscrito.
- MACCHI, G.J., A. AUBONE y H.E. CHRISTIANSEN. Incidencia de patologías en ovarios de corvina rubia (*Micropogonias furnieri*). Su relación con distintas zonas costeras del área bonaerense. En prensa: Atlántica.
- MACCHI, G.J., I. ROMANO y H.E. CHRISTIANSEN. 1992. Estudio histológico del ciclo reproductivo de hembras de la

- corvina rubia (*Micropogonias furnieri*). Análisis de la estructura madurativa en distintas localidades del área bonaerense. Frente Marítimo, 11:47-56.
- MACCHI, G.J., L. ROMANO y H.E. CHRISTIANSEN. 1992. Melano-macrophage centres in whitemouth croaker, *Micropogonias furnieri*, as biological indicators of environmental changes. J.Fish.Biol., 40: 971-973.
- MACER, C.T. 1974. The reproductive biology of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in North Sea and English Channel. J.Fish.Biol., 6: 415-438.
- NEUER, H. 1966. Quantitative analysis with the microscope. Zeiss Inform., 60. Carl Zeiss, Oberkochen, Wurt.
- PEÑA, N., J. ALHEIT y M.E. NAKAMA. 1986. Fecundidad parcial de la caballa del Perú. Bol.Inst.Mar del Perú (Callao), 10(4): 91-104.
- PRAVIA, M.A., C. GARCIA, L. ARES y N. BEROIS. 1989. Estimación de la fecundidad y determinación del tipo de desove de la corvina blanca (*Micropogonias furnieri*). Res. Sexto Simp.Cient.CTMF (Montevideo), 4-6 diciembre 1989.
- TAM, W.H. y P.D. PAYSON. 1986. Effects of chronic exposure to sublethal pH on growth, egg production and ovulation in brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Can.J. Fish.Aq.Sci., 43: 275-280.
- VAZZOLER, A.E.A. 1970. *Micropogon furnieri*. fecundidade e tipo de desove. Bol.Inst.Oceanogr. (Sao Paulo), 18(1): 27-32.
- WEIBEL, E.R. y D.M. GOMEZ. 1962. A principle for counting tissue structures on random section. J.Appl.Physiol., 17: 343-348.