

ESTERILIDAD EN EL PEJERREY *ODONTESTHES BONARIENSIS* EN AMBIENTES NATURALES

Alejandra M. Cornejo

CeDePesca. 12 de Octubre 3456. L. 22. (7600) Mar del Plata. Tel/Fax: (0223) 489-6397/472-5391. E-mail: acornejo@cedepesca.org.ar

RESUMEN

Se presentan resultados del análisis histológico de gónadas de pejerrey, *Odontesthes bonariensis* de lagunas de la Provincia de Buenos Aires, parcial y totalmente estériles. Macroscópicamente se observó la presencia de zonas o secciones gonadales con anomalías en la coloración, tamaño y consistencia de las gónadas. El análisis histológico muestra 3 tipos de esterilidad, entendiendo como tal la ausencia de células germinales ó aplasia; el denominado tipo I abarcó a los ejemplares sexados como hembras que presentaron una de las gónadas –o una sección de ella –con esterilidad parcial; en el tipo II se incluyeron aquellos ejemplares reconocidos macro y microscópicamente como machos, con gónadas de características similares al anterior grupo. Y finalmente, el tipo III se refirió a los ejemplares denominados “indefinidos” en los cuales no fue posible identificar el sexo, ya que ambas gónadas se presentaron esterilidad total. Se agregan algunas consideraciones preliminares referidas al peso de las gónadas, ubicación de las zonas estériles, tallas de estos ejemplares y su distribución en el ciclo reproductivo del pejerrey. Se discuten las posibles causas de estos fenómenos: 1) la acción de “disruptores químicos endógenos” (EDCs); 2) desórdenes endocrinos o metabólicos; 3) “stress”; 4) esterilidad por temperaturas elevadas; 5) acción conjunta de los factores mencionados anteriormente.

Palabras clave: gónadas; estériles; pejerrey; Buenos Aires.

INTRODUCCION

La familia Atherinidae está compuesta por el grupo de peces denominado “pejerreyes”, que comprende especies marinas y continentales de amplia distribución en América del Sur. El pejerrey, *Odontesthes bonariensis* (Cuvier & Valenciennes), conforma uno de los más importantes recursos ícticos de la Provincia de Buenos Aires, desde el punto de vista de la pesca comercial, artesanal y deportiva. Por otra parte, no existen observaciones referidas a patologías gonadales en el pejerrey en ambientes naturales, salvo casos de hermafroditismo mencionados por Garcia Romeu (1964), Loubens & Osorio (1988), y más recientemente Strüssmann *et al.* (1996), así como la pérdida de células germinativas por efecto de altas temperaturas (Strüssmann & Patiño, 1995, 1999; Strüssmann *et al.*, 1998) y Cornejo (2002). Este trabajo está referido a aparición de ejemplares con gónadas aplásicas encontrados durante una investigación corriente sobre la reproducción del pejerrey en ambientes naturales; el objetivo consiste en caracterizar los fenómenos que alteren la reproducción de esta especie. La gónada de tipo aplásica o aplasia gonadal fue

caracterizada por Louge *et al.* (1994) quienes definieron dicho fenómeno como la ausencia del epitelio germinativo, y carencia de los componentes de la serie espermatogónica, como así también de los folículos ováricos.

MATERIAL Y METODOS

Los ejemplares analizados pertenecen a dos lagunas pampásicas de la Provincia de Buenos Aires: San Miguel del Monte (35° 27' S - 58° 47' W), y Lacombe (35° 50' S - 57° 53' W) durante el período 03/95-12/96 y 01/97-12/98 respectivamente. Se obtuvo un total de 501 ejemplares en muestreos mensuales, (245 en laguna de Monte y 255 en laguna Lacombe), capturados con redes del tipo agalleras. Los individuos analizados fueron sexados inmediatamente después de la captura y clasificados según los estadios de desarrollo gonadal en base a las escalas propuestas por Boschi & F. De Plaza (1959), Calvo & Dadone (1972) y Loubens & Osorio (1988). Para cada individuo se registró longitud estandar (Lst); peso (P) y peso gonadal (Pg), con precisión de 0,1 g.

Todas las gónadas de los ejemplares capturados se analizaron histológicamente, lo que permitió clasificarlos en activos o inactivos sexualmente sobre la base de la determinación histológica de presencia/ausencia de vitelo en el caso de las hembras y presencia/ausencia de esperma en los machos. Las gónadas se fijaron en Bouin durante 24 h., con posterior inclusión en parafina. Los cortes histológicos se realizaron con un espesor de 5 micras, en tres secciones gonadales: anterior o cefálica, media y posterior o caudal. La coloración utilizada fue Hematoxilina-Eosina (H-E), no se realizaron coloraciones específicas.

Se utilizó el índice gonadosomático (IGS) como un indicador de desarrollo gonadal relativo o actividad reproductiva que presume relaciones aritméticas entre el peso gonadal y el peso corporal, siendo $IGS = Pg / (a + bP)$, a y b: ctes; Pg: peso gonadal; P: peso corporal. El seguimiento de las variaciones del IGS se ajustó estadísticamente mediante polinomios trigonométricos de Fourier. Se procedió a clasificarlos en hembras o machos en los casos en que al menos una porción de la gónada presentaba características claras de un ovario o de un testículo; en los ejemplares en los cuales no fue posible determinar el sexo por tratarse de individuos con gónadas absolutamente aplásicas se procedió a clasificarlos como "indefinidos"; así se determinó la siguiente escala de tipos de aplasia gonadal:

Tipo I: hembras con ovarios en los cuales al menos uno de ellos, o una sección, presentaba evidencia de aplasia gonadal

Tipo II: machos con testículos en los cuales al menos uno de ellos, o una sección, presentaba aplasia gonadal.

Tipo III: individuos en los cuales no fue posible determinar el sexo, y en los que ambas gónadas presentaron esterilidad total.

RESULTADOS

El 87% de los ejemplares analizados en la laguna de Monte presentó gónadas normales, en distintos estadios de maduración (Fig. 1 y 2). En cuanto a los casos de esterilidad encontrados se registraron los siguientes porcentajes: 3%

de los ejemplares presentaron esterilidad total en ambas gónadas, mientras que el 10 % presentó esterilidad de tipo parcial, es decir zonas de la gónada en las cuales, mediante el análisis histológico, fue posible registrar áreas de la gónada con evidencia de aplasia, según puede observarse en la fig. 3. Por otra parte, en la laguna Lacombe el 95 % de los ejemplares evidenciaron gónadas en total estado de normalidad; los casos de esterilidad se manifestaron en los siguientes porcentajes: 2 % esterilidad total y 3 % esterilidad parcial. Los resultados se observan en la fig. 4.

En cuanto a la distribución según el sexo en los casos de esterilidad observados, en la laguna de Monte, los ejemplares del tipo I presentaron 26 % de casos de esterilidad de tipo parcial, según se observa en la fig. 5. El tipo II arrojó porcentajes del 51 %, mientras que los ejemplares clasificados como tipo III (23 %) presentaron esterilidad total. En la laguna Lacombe, para el tipo I se registró un porcentaje muy superior al de Monte (64 %); el tipo II fue sensiblemente menor (7 %), y todos los ejemplares del tipo III (29 %) presentó gónadas aplásicas, totalmente estériles. Estos resultados se observan en la fig. 6.

En cuanto a la localización de las zonas de aplasia en las gónadas, se observó que los ejemplares del tipo I presentaron mayor porcentaje de aplasia gonadal en la sección anterior de la gónada que en la media, tanto en Monte como en Lacombe. En los ejemplares del tipo II de la laguna de Monte la zona de aplasia se localizó en mayor porcentaje en la región anterior de la gónada, al contrario de los resultados de la laguna Lacombe, donde el mayor porcentaje de aplasia se ubicó en la sección media de la gónada. Los ejemplares del tipo III evidenciaron las gónadas estériles en todas las secciones (aplasia total). Los resultados se presentan en la fig. 7.

Respecto al peso de las gónadas en los ejemplares que presentaron aplasia gonadal los resultados obtenidos se observan en la fig. 8.

Las tallas de esos ejemplares con esterilidad de tipo parcial varió entre 265 – 425 mm de Lst para las hembras en Monte y 205 – 265 mm en Lacombe; en el caso de los machos, 245 – 425 en Monte y 215 para el único ejemplar macho de Lacombe con estas características. Estos resultados se presentan en la fig. 9.

En cuanto al índice gonadosomático (IGS), los registros del mismo pueden observarse en la fig. 10 para ambas lagunas. Se observaron picos de actividad reproductiva en *O. bonariensis* hacia la época primaveral, en ambas lagunas. Hacia febrero-marzo se observó en la laguna Lacombe un pico que representaría el denominado desove otoñal, mientras que en la laguna de Monte estuvo poco representado.

DISCUSION

En ambas lagunas el porcentaje de casos registrados de esterilidad total arrojó valores reducidos; estos ejemplares presentaron una talla superior a los 305 mm de Lst, tanto en la laguna de Monte como en Lacombe. La talla de estos ejemplares parecería indicar que se trata de individuos sexualmente maduros, que por alguna causa han sufrido un proceso desintegrativo de sus elementos germinales o necropsia. Las formaciones observadas serían tejidos tipo epitelioide. En estos ejemplares (“indefinidos”) ambas gónadas presentaron macroscópicamente una notoria disminución en su grosor y consistencia, y a

nivel histológico fenómenos de aplasia total. El peso de estas gónadas fue notoriamente menor que el de los ejemplares considerados normales. En cuanto a la aparición temporal de estos ejemplares estériles, no se puede afirmar que presenten una distribución definida ni en Monte ni en Lacombe. En el caso de la laguna de Monte, el porcentaje de esterilidad parcial observados en ejemplares machos prácticamente duplicó al de las hembras. Los preparados histológicos de gónadas de *O. bonariensis* de ambos sexos evidenciaron como característica común fenómenos de necrobiosis parcial, donde se observó una estructura gonadal desintegrativa, con las citadas formaciones epitelioides y amplios espacios vacíos. No se visualizaron células germinales en estas zonas de esterilidad gonadal. El resto de la gónada presentó características normales. En el examen macroscópico la zona de la gónada con estas anomalías presentó tamaño y grosor muy reducido, con coloración blanquecina y poca consistencia. En el caso de las hembras se detectó atresia ovocitaria en zonas de diámetro gonadal reducido, en tanto que en el resto de la gónada el crecimiento ovocitario observado fue normal. Cabe señalar que en los ejemplares que registraron esterilidad de tipo parcial el porcentaje fue superior en la laguna de Monte que en Lacombe. En la laguna Lacombe los porcentajes de casos de esterilidad parcial resultaron a la inversa que en Monte, es decir fue superior en hembras que en machos, ya que de estos últimos se encontró solo un ejemplar. Respecto a la localización en la sección gonadal que presentaba esterilidad de tipo parcial, en la mayoría de los casos de la laguna de Monte se ubicó en la sección anterior, mientras que en Lacombe se registraron ejemplares con aplasia gonadal en la sección media de la gónada; en el caso de los ejemplares “indefinidos” se evidenciaron fenómenos de aplasia total en las tres secciones analizadas histológicamente. El peso gonadal en los ejemplares parcial ó totalmente estériles resultó muy inferior a la media de los considerados “normales”, en ambos sexos y tanto en Monte como en Lacombe. Por otra parte, no se registró relación entre los casos de esterilidad observados y la talla.

Se plantean las siguientes hipótesis causales de estos fenómenos:

1.- la acción de “disruptores químicos endógenos” (EDCs), expresión utilizada por Van der Kraak *et al.* (1995), quienes identificaron un gran número de ellos que alteran la función endocrino-reproductiva de los teleósteos; los principales son los pesticidas, los químicos sintéticos e industriales y los fotoquímicos.

2.- Distintos autores (Lambert & Janssen; 1995; Von Westernhagen *et al.* 1987; Freeman *et al.* 1980; Thomas, 1989. Hibiya (1982) señalan que desarrollo gonadal insuficiente en los teleósteos obedece a desordenes de tipo endocrinos o metabólicos.

3.- Otros autores (Scott, 1979; Gerking, 1980) indican que el stress sería el responsable de los efectos sobre la reproducción y los niveles hormonales en los teleósteos, ya que algunos aspectos de su reproducción se modifican por alteraciones del medio bajo situaciones de stress. Bajo estas condiciones varios pasos del ciclo reproductivo pueden ser bloqueados (Billard *et al.* 1981). Como bien lo señala Lam (1983) es necesario lograr un conocimiento más amplio del rol que juega el stress en la reproducción de los teleósteos, particularmente en especies importantes para la acuicultura

4.- En cuanto a factores ambientales, existen evidencias recientes aportadas por Strüssmann *et al.* (1998) para dos especies de aterínidos, *O. bonariensis* y

Patagonina hatcheri, así como para otros grupos de peces (Strüssmann & Patiño, 1995, 1999) que demostraron la inducción de deficiencias en células germinales y esterilidad completa en larvas y juveniles sometidos por períodos prolongados a altas temperaturas. Es posible entonces que las altas temperaturas del período estival resulten responsables de algunos casos de aplasia gonadal en ambientes naturales.

5. Sobre la base de las hipótesis anteriores, se considera que uno o más factores mencionados - de manera aislada o en conjunto – logren provocar la interrupción del mecanismo normal de acción pituitaria-gonadotrofina-estimulación de la ovulación o espermatogénesis y crecimiento gonadal. Es de destacar el hecho que en los ejemplares analizados en ambas lagunas no se detectó la presencia de hongos y/o parásitos alojados en gónadas. Si bien no son porcentajes significativos, los fenómenos que inciden en la reducción del número de ejemplares que participan de la actividad reproductiva de *O. bonariensis* señalan la necesidad de realizar investigaciones intensivas sobre el tema.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi profundo agradecimiento en especial al Lic. L.R. Freyre por la lectura crítica del manuscrito y colaboración en la interpretación de los resultados; al Dr. C.A. Strüssmann por las valiosas sugerencias brindadas; a los Dres. H.E. Christiansen, G. Macchi (INIDEP, Mar del Plata), N. Bellisio y G. Piacentino y Lic. G. Chiaramonte (MACN “Bernardino Rivadavia”) por su inestimable colaboración y apoyo; al personal del Laboratorio de Ecología de Poblaciones de Peces del Instituto de Limnología “Dr. Raúl A. Ringuelet” que participó en las tareas de recolección de muestras; al Laboratorio de Fotografía de INIDEP (Mar del Plata), y al personal de la Estación de Piscicultura de la Municipalidad de San Miguel del Monte, en especial al Sr. Francisco Ramírez.

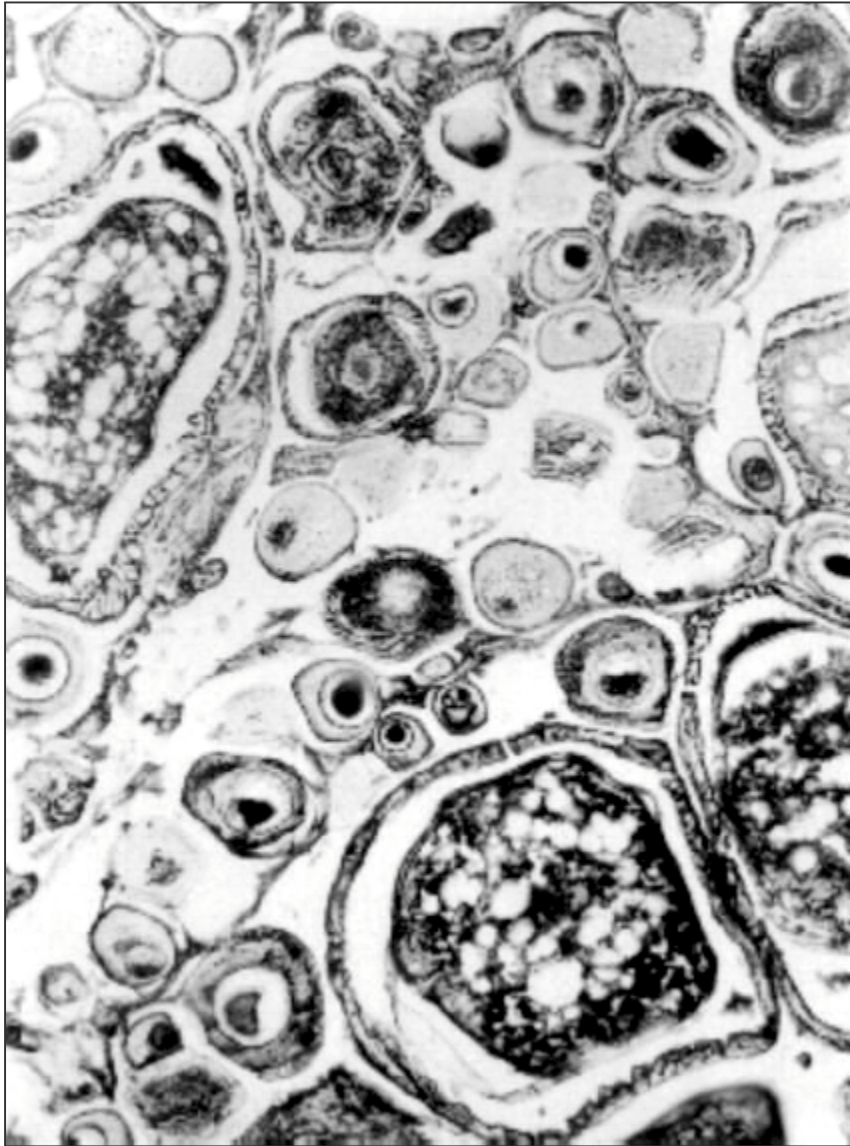


Fig. 1. Fotomicrografía de corte de ovario normal de *O. bonariensis*, con ovocitos en distintos estadios de maduración. 40 X.

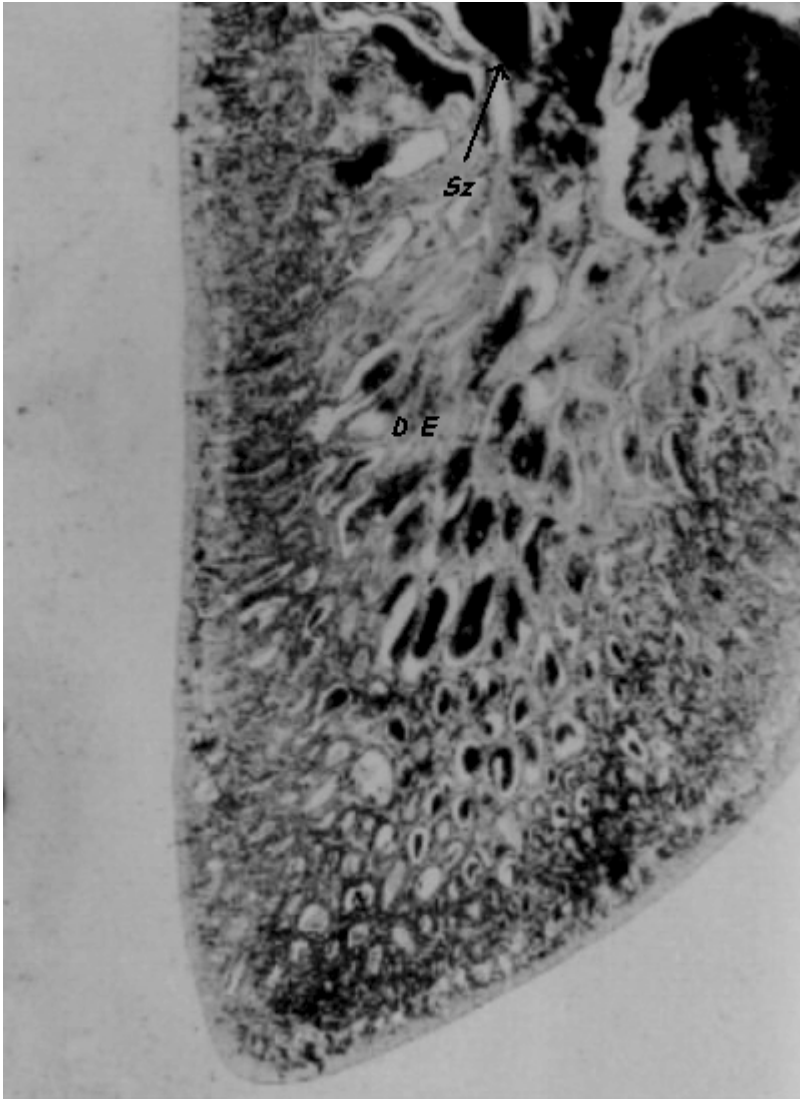


Fig. 2. Fotomicrografía de corte transversal de testículo normal de *O. bonariensis*, donde se observa la presencia de esperma. Obsérvese la típica sección triangular del testículo. DE: ductos eferentes; Sz: espermatozoides. (20X)

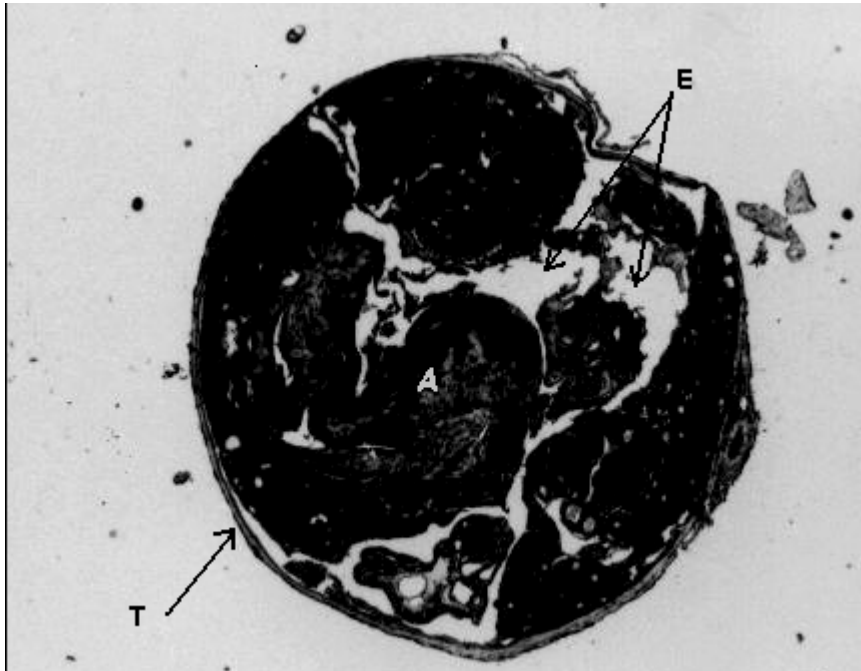


Figura 3. Imagen microscópica de corte transversal de gónada estéril de *O. bonariensis*. Nótese el reducido diámetro gonadal; se evidencia aplasia gonadal y espacios vacíos. A: aplasia; E: espacios; T: túnica. (40 X)

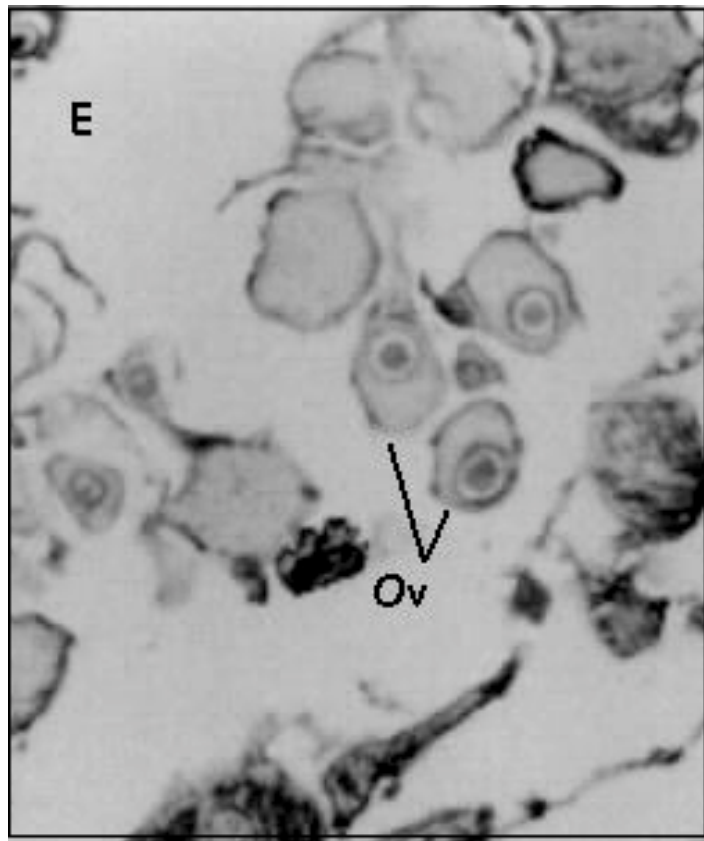


Figura 4. Fotomicrografía de corte de gónada de un ejemplar tipo I, donde se distinguen elementos ovocitarios primarios; se trata de una hembra de *O. bonariensis* parcialmente estéril. El corte corresponde a la sección caudal de la gónada. E: espacios vacíos; Ov: ovocitos en estado de crecimiento primario.

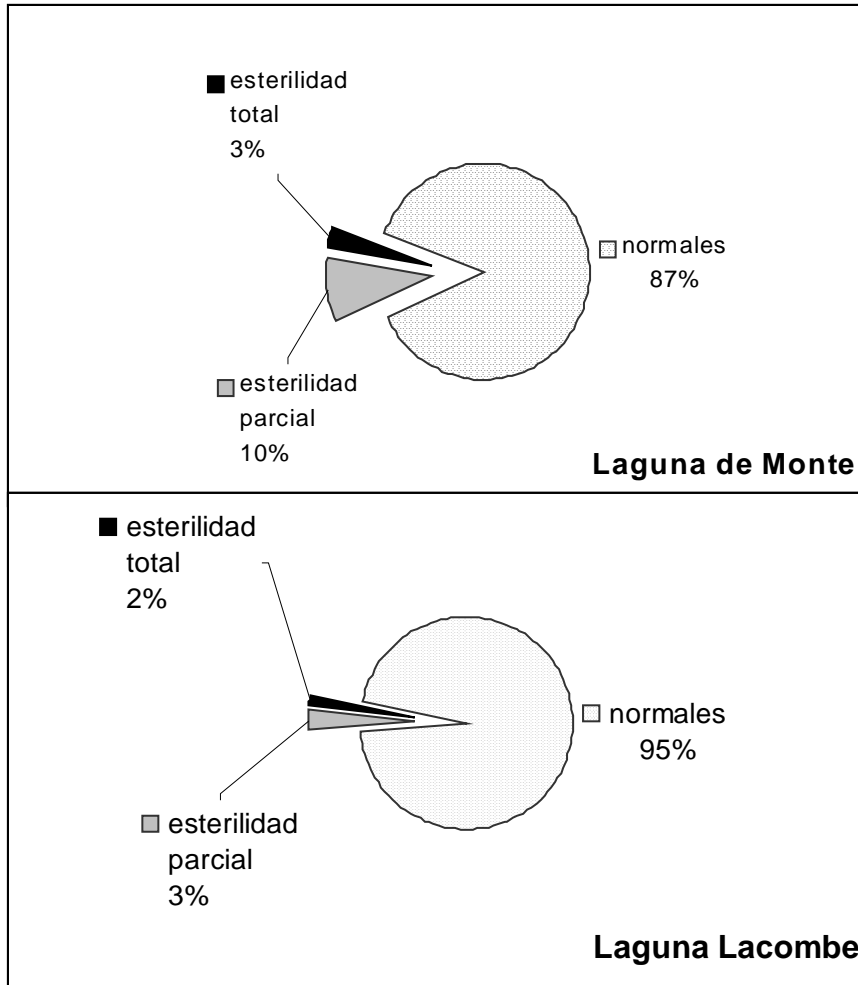


Figura 5. Porcentajes de ejemplares de *O. bonariensis* con gónadas normales y de ejemplares estériles de Monte y Lacombe.

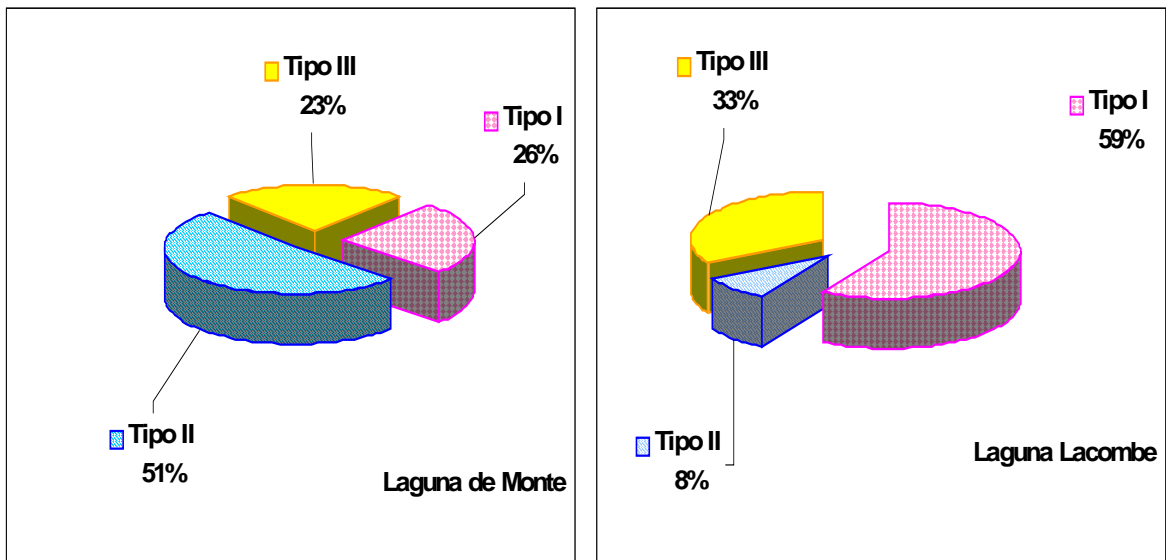


Figura 6. Porcentajes de los casos de esterilidad de *O. bonariensis* registrados: tipos I, II y III en las laguna de Monte y Lacombe. Tipo I: hembras parcialmente estériles; Tipo II: machos parcialmente estériles; Tipo III: indefinidos; esterilidad total.

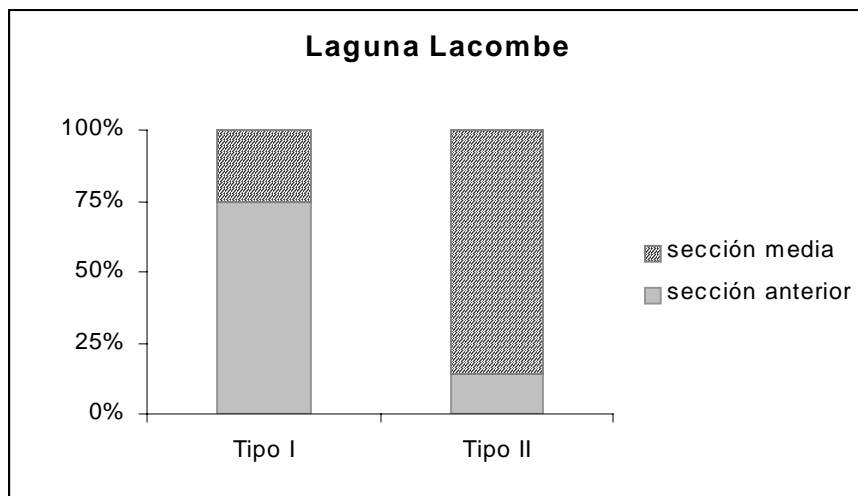
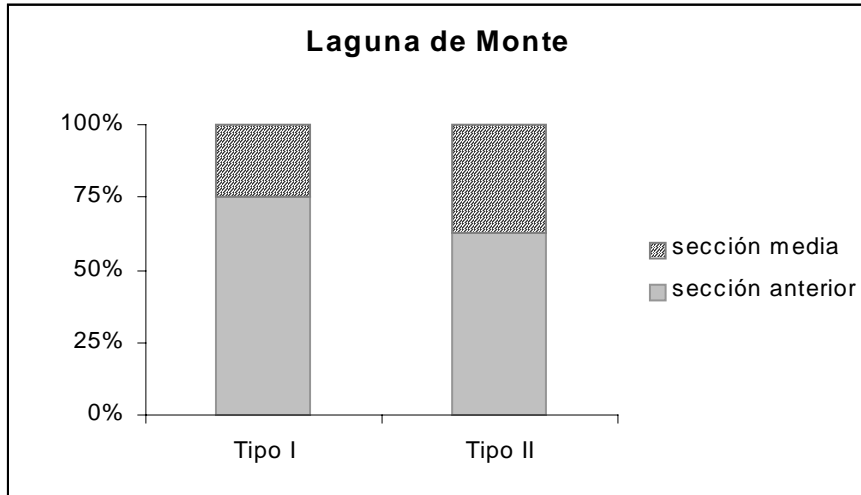


Figura 7. Porcentajes de ubicación de la esterilidad parcial en gónadas de ejemplares tipo I y II de *O. bonariensis* de las lagunas de Monte y Lacombe.

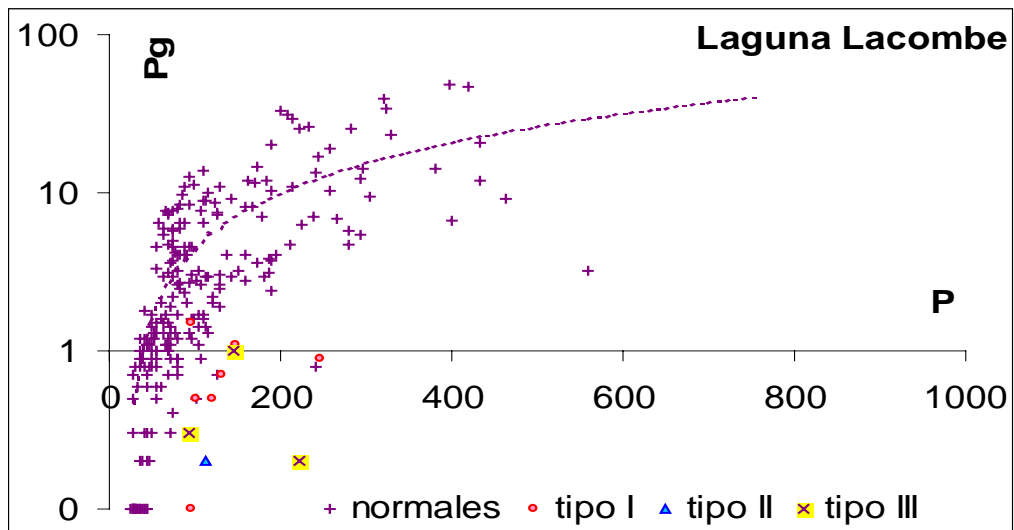
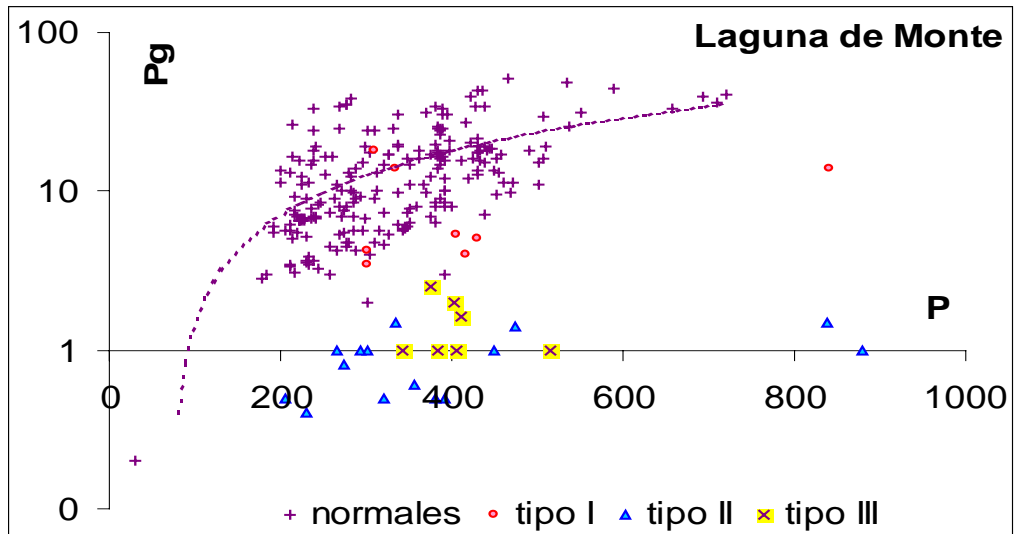


Figura 8. Peso gonadal (Pg) en función del peso (P) en *O. bonariensis* de la laguna de Monte y Lacombe. Tipo I: hembras parcialmente estériles; Tipo II: machos parcialmente estériles; Tipo III: indefinidos; esterilidad total.

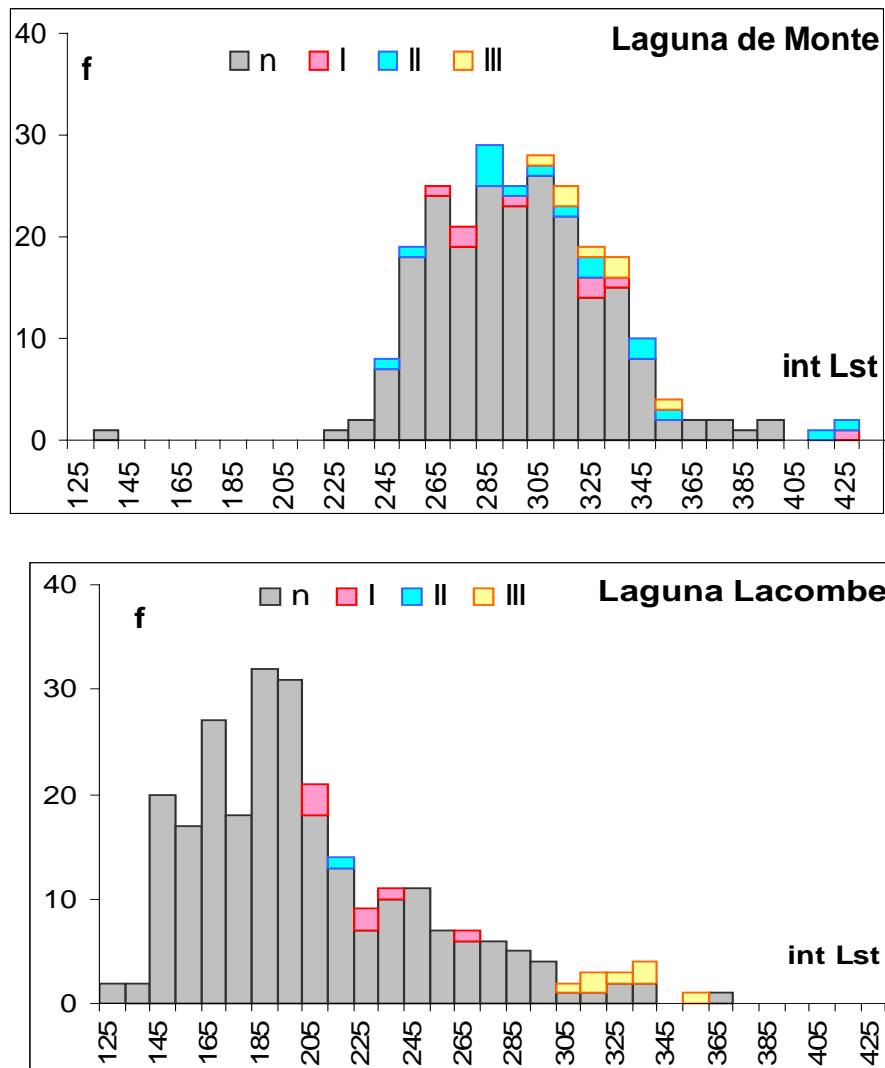


Figura 9. Frecuencia de distribución por intervalos de talla en los ejemplares de *O. bonariensis* de Monte y Lacombe. n: ejemplares con gónadas normales; tipo I: hembras parcialmente estériles; tipo II: machos parcialmente estériles; tipo III: indefinidos; esterilidad total.

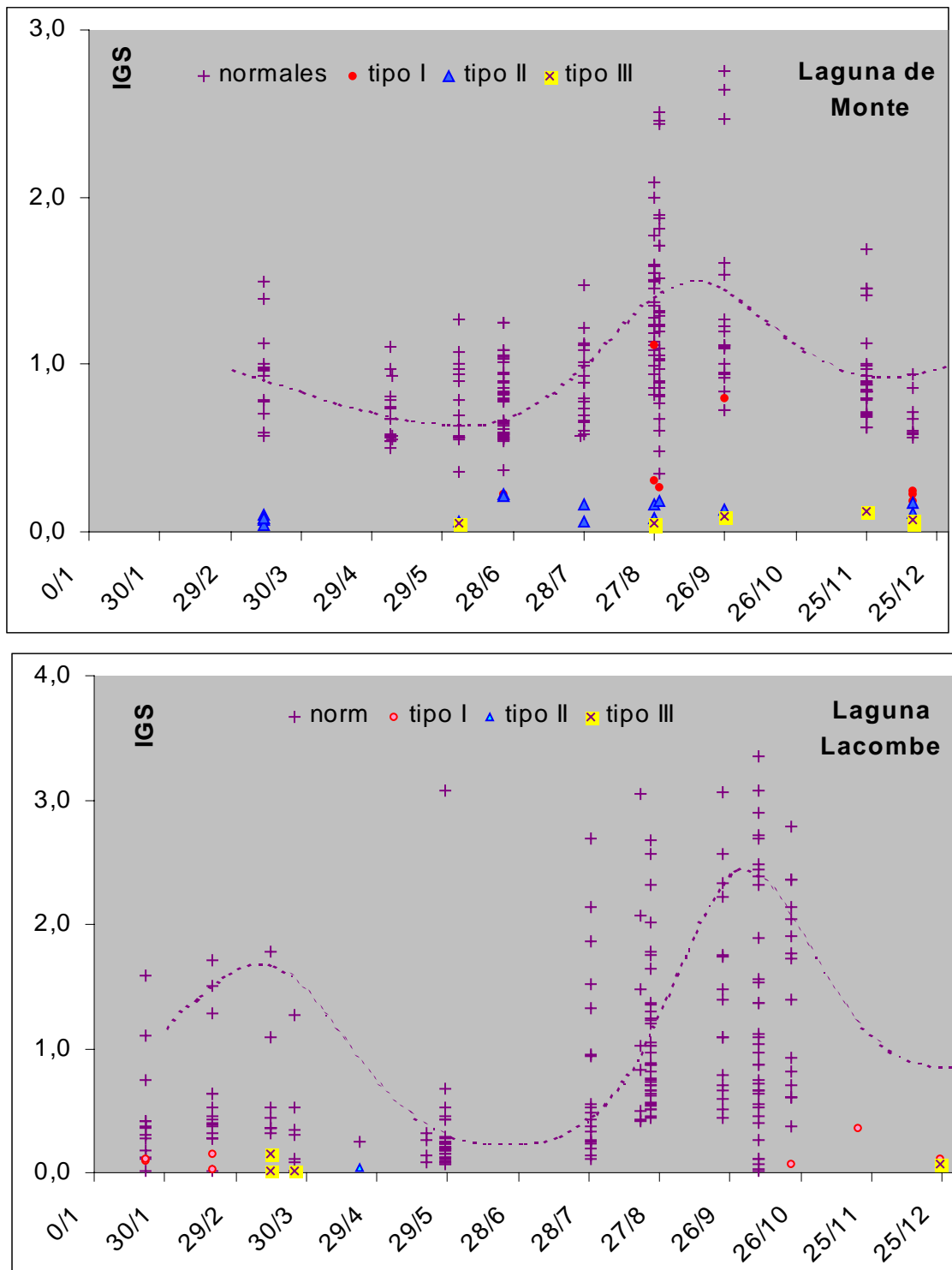


Figura 10. Variación del índice gonadosomático (IGS) en los ejemplares de *O. bonariensis* de Monte y Lacombe. n: ejemplares con gónadas normales; Tipo I: hembras parcialmente estériles; Tipo II: machos parcialmente estériles; Tipo III: indefinidos; esterilidad total.

Tabla I. Parámetros estadísticos del peso gonadal de los ejemplares de *O. bonariensis* capturados en la laguna de Monte.

LAGUNA DE MONTE	hembras normales	machos normales	Tipo I	Tipo II	Tipo III
Media	17,9	6,1	8,5	0,9	1,4
Error típico	0,81077	0,32014	2,02335	0,09169	0,23079
mediana	16	5,7	5,2	1	1
moda	6,8	3	---	1	1
DS	10,02862	2,47981	5,72289	0,36674	0,61062
varianza	100,573	6,149	32,751	0,134	0,372
mínimo	5,5	2,0	3,5	0,4	1,0
máximo	51,6	12,1	17,8	1,5	2,5
n	153	60	8	16	7
Nivel de confianza (95%)	1,6018	0,6406	4,78445	0,19542	0,56473

Tabla II. Parámetros estadísticos del peso gonadal de los ejemplares de *O. bonariensis* capturados en la laguna Lacombe.

LAGUNA LACOMBE	hembras normales	machos normales	Tipo I	Tipo II	Tipo III
Media	8,9	1,7	0,8	0,2	0,4
Error típico	0,89666	0,16224	0,17301	1,43E-29	2,11E-01
mediana	6,3	1,2	0,7	0,2	0,3
moda	2,9	0,1	0,5	---	---
DS	9,48937	1,68603	0,45774	---	0,42106
varianza	90,04820	2,84271	0,20952	---	0,17729
mínimo	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
máximo	48,7	9,1	1,5	0,2	1,0
n	112	108	7	1	4
Nivel de confianza (95%)	1,77679	0,32162	0,42334	---	0,67000

BIBLIOGRAFIA

- BILLARD, R.; BRY, C.; GUILLET, C. 1981. Stress, environment and reproduction in teleost fish. In: **"Stress and Fish"**, A.D. Pickring, Ed. London: Academic Press, p.185-208.
- CORNEJO, A.M. 2002. Anormalidades en gónadas de pejerrey, *Odontesthes bonariensis* (PISCES, ATHERINOPSIDAE) en lagunas de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Biociências*, Porto Alegre, Brasil, v. 10, nº 1: 43-56.
- FREEMAN, H.C.; UTHE, J.F.; SANGALANG, G. 1980. The use of steroid hormone metabolism studies in assessing the sub lethal effects of marine pollution. **Rapports et Procès-Verbaux des Réunions Conseil International pour l'Exploration de la Mer**. Copenhagen, n. 179, 1980. p. 16-22.
- GARCÍA ROMEU, F. 1964. Sobre un caso de hermafroditismo en el pejerrey *Basilichthys bonariensis*. **Agro**, Publicación Técnica, Año VI, n. 10, p. 40-43.
- GERKING, S.D. 1980. Fish reproduction and stress. In: ALI, M.A. (Ed.) **Environmental Physiology of Fishes**. New York: Plenum, p. 569-587.
- HIBIYA, T. 1982. **An atlas of fish histology**. Normal and Pathological features., Tokyo, Kodansha. 147 p.
- LAM, T.J. 1983. Environmental influences on gonad activity in fish. In: W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson (eds). **Fish Physiology**, New York: Academic Press, v.IXB. Reproduction: behaviour and fertility control. p. 65-116.
- LAMBERT, J.G.D.; JANSSEN, P.A.H. 1995. A long term study of the effects of polluted sediment on the annual reproductive cycle of female flounder, *Platichthys flesus*. In: Goetz, F.; Thomas, P. (eds.) **Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish**. Austin, TX: FishSympm '95. p. 176-178.
- LOUBENS, G.; OSORIO, F. 1988. Observations sur les poissons de la partie bolivienne du lac Titicaca. III. *Basilichthys bonariensis* (Valenciennes, 1835) (Pisces, Atherinidae). **Revue d'Hydrobiologie Tropicale**, Paris. v.21, n. 2, p. 153-177.
- LOUGE, E.B., RENZI, M.A., PEREZ, M.A. MARTINEZ, P.A., CHRISTIANSEN, H.E. 1994. Aplasia gonadal en *Merluccius hubbsi* y su relación con la edad. **Atlántica**, Rio Grande, 16:201-208.
- SCOTT, D.B.C. Environmental timing and the control of reproduction in teleost fish. **Symposia of Zoological Society of London**, London, n 44, 1979. p. 105-132.

- STRUSSMANN, C.A.; PATIÑO, R. Temperature manipulation of sex differentiation in fish. In: Goetz, F.; Thomas, P. (eds.). **Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish**, Austin, TX: FishSympm '95, 1995. p. 153-157.
- STRUSSMANN, C.A.; TAKASHIMA, F.; TODA, K. Sex differentiation and hormonal feminization in pejerrey, *Odontesthes bonariensis*. **Aquaculture**, Amsterdam, n. 139, 1996. p. 31-45.
- STRUSSMANN, C.A.; SAITO, T.; TAKASHIMA, F. Heat-induced germ cell deficiency in the teleosts. *Odontesthes bonariensis* and *Patagonina hatcheri*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v. 119A, n. 2, 1998. p. 637-644.
- STRUSSMANN, C.A.; PATIÑO, R. Sex determination, Environmental. In: E. Knobil and J.D. Neill, Eds. **Encyclopaedia of Reproduction**. London, Academic Press v. 4, 1999. p. 402-409.
- THOMAS, P. Effects of Arochol 1254 and cadmium on reproductive endocrine function and ovarian growth in Atlantic croaker. **Marine Environmental Research**, Barking. n. 28, 1989. p. 499-503.
- VAN DER KRAAK, G.; MCMASTER, M.E.; MUNKITTRICK, K.R. Application of reproductive physiological testing to understand the mechanisms of environmental endocrine disruptors. **Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish**. In: Goetz, F.; Thomas, P. (eds.). Austin, TX: FishSympm '95, 1995. p.173-175.
- VON WESTERNHAGEN, H.; DETHLEFSEN, V.; CAMERON, P.; JANSSEN, D. Chlorinated hydrocarbons residues in gonads of marine fish and effects on reproduction. **Sarsia**, Bergen, n. 72, 1987. p. 419-422.