

## ESTIMACION DE LA FECUNDIDAD PARCIAL DEL CORNO (*Odontesthes smitti*) MEDIANTE LOS METODOS GRAVIMETRICO Y ESTEREO-METRICO \*

GUSTAVO J. MACCHI<sup>1</sup>

**ABSTRACT:** Macchi, G.J. 1993. Batch fecundity estimation in the silverside (*Odontesthes smitti*) by gravimetric and stereometric methods. *Revista de Biología Marina, Valparaíso* 28(2): 349-357.

The microscopical analysis of ripening ovaries of *Odontesthes smitti* (Silverside) showed different oocyte batches, which is characteristic of multiple spawners.

Fecundity estimations using gravimetric and stereometric methods showed no significant differences for this species. Batch fecundity values ranged from 4500 to 17000 oocytes for individuals between 290 - 390 mm of total length. Relationships between fecundity vs. length, total and gonadal weight respectively, presented a better fit with the exponential regression model.

**Key words:** *Odontesthes smitti*, batch fecundity, gravimetry, stereometry, Argentina.

**RESUMEN:** Macchi, G.J. 1993. Estimación de la fecundidad parcial del corno (*Odontesthes smitti*) mediante los métodos gravimétrico y estereométrico. *Revista de Biología Marina, Valparaíso* 28(2): 349-357.

El análisis microscópico de los ovarios en maduración de *Odontesthes smitti* (corno) evidenció varias generaciones de ovocitos en vitelogénesis, lo cual es característico de los desovantes por camadas.

Se realizaron estimaciones de la fecundidad parcial en esta especie mediante dos metodologías (gravimetría y estereometría); la comparación de los resultados no evidenció diferencias significativas entre las mismas. La fecundidad parcial varió entre 4500 y 17000 ovocitos para individuos comprendidos entre 290 y 390 mm de longitud total. Las relaciones fecundidad vs. longitud, peso total y peso gonadal presentaron en todos los casos un mejor ajuste con el modelo de regresión exponencial.

**Palabras claves:** *Odontesthes smitti*, fecundidad parcial, gravimetría, estereometría, Argentina.

### INTRODUCCION

Los métodos utilizados para calcular la fecundidad de los peces se basan en la extracción de muestras de tejido ovárico,

a partir de las cuales se determina el número total de ovocitos. Para este fin usualmente se emplean técnicas gravimétricas y volumétricas (Mac Gregor 1966, May 1967, Bageñal 1969, Macer

<sup>1</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas- Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero.

CC. 175, Playa Grande S/N, Mar del Plata (7600), Argentina.

\* Contribución INIDEP N° 888

1974, Hunter & Goldberg 1980). El principal inconveniente que plantean estas metodologías, es la gran exactitud que exige la medición de las muestras cuando se trabaja con pequeñas porciones de tejido (Cassia *et al.* 1979).

El método estereométrico está basado en el "principio de Delesse", el cual establece que la fracción de volumen de un componente en un tejido, es proporcional a su fracción de área en una sección transversal (Emerson *et al.* 1990). Teniendo en cuenta este principio, se determinan una serie de parámetros que incluyen el número y la proporción de ovocitos presentes en un corte histológico del ovario; luego la fecundidad se estima a partir de la ecuación de Weibel & Gomez (1962). Christiansen *et al.* (1972 y 1973) aplicaron este método con cortes de tejido gonadal incluidos en parafina y verificaron su exactitud mediante la fabricación de cilindros con un número conocido de ovocitos. Una variante de este método fue desarrollada por Christiansen & Weiss (1974) realizando desgastes por congelación, cuya ventaja es la pequeña variación de forma y volumen experimentada por el tejido ovárico durante el procesamiento. Emerson *et al.* (1990), mejoraron el método al trabajar con resinas de inclusión y realizar secados rápidos del material que evitan la retracción por deshidratación.

En el presente trabajo se estima la fecundidad parcial en el corno (*Odontesthes smitti*), empleando los métodos gravimétrico y estereométrico. Los resultados obtenidos son comparados con el fin de establecer probables diferencias entre las técnicas.

## MATERIALES Y METODOS

Las muestras se obtuvieron de la pesca de línea realizada en el área de Mar del Plata (Argentina, 38° S - 57° 30'W), durante los meses de julio - agosto de 1989 y agosto de 1991, que es cuando esta especie se encuentra en actividad reproductiva.

Se analizaron macroscópicamente 59 hembras, siendo seleccionados 25 ejemplares maduros (con ovocitos mayores de 1 mm) para el cálculo de la fecundidad. Se determinó la longitud total (Lt), peso total (Pt) y peso gonadal (Pg) de cada individuo. Los ovarios fueron fijados en formalina al 10% neutralizada.

Se extrajeron tres muestras de tejido gonadal, de las cuales una fue utilizada para determinar la fecundidad por gravimetría, otra se incluyó en parafina para la obtención de cortes histológicos, coloreados con hematoxilina-eosina y la última se procesó por congelación y desgaste, según Christiansen & Weiss (1974).

Para estimar la fecundidad por estereometría se emplearon los cortes en parafina, siguiendo la metodología aplicada por Macchi & Christiansen (1992), y los desgastes en congelación. En ambos casos el número de ovocitos por unidad de volumen se estimó mediante la ecuación de Weibel & Gomez (1962):

$$NV = \frac{1}{\beta} \times \frac{N_0^{3/2}}{Vv^{1/2}}$$

donde:

NV = número de ovocitos por unidad de volumen.

$N_0$  = número de ovocitos por unidad de área.

Vv = densidad volumétrica de los ovocitos.

$\beta$  = coeficiente de forma.

La cuantificación se realizó teniendo en cuenta únicamente a los ovocitos de la camada más madura, obteniendo una estimación de la fecundidad parcial.

Los resultados de cada metodología fueron comparados mediante un ANOVA de dos factores sin réplicas, tomando a los distintos métodos como bloques aleatorizados (Sokal & Rohlf 1969). Se realizaron regresiones entre la fecundidad parcial (F) y los parámetros longitud total, peso total y peso gonadal. El ajuste de los modelos se testeó mediante los criterios de error medio cuadrático y

error medio relativo, y se efectuó un análisis de residuales con el fin de establecer probables anomalías en el ajuste.

## RESULTADOS

### DESCRIPCION DEL OVARIO DE *Odontesthes smitti*

Los ovarios en maduración del corno presentan varias generaciones de ovocitos en distintos estadios de vitelogénesis (Fig. 1). Esta imagen es característica de aquellas especies que efectúan puestas parciales, evacuando más de una camada de ovocitos a lo largo de la estación reproductiva.

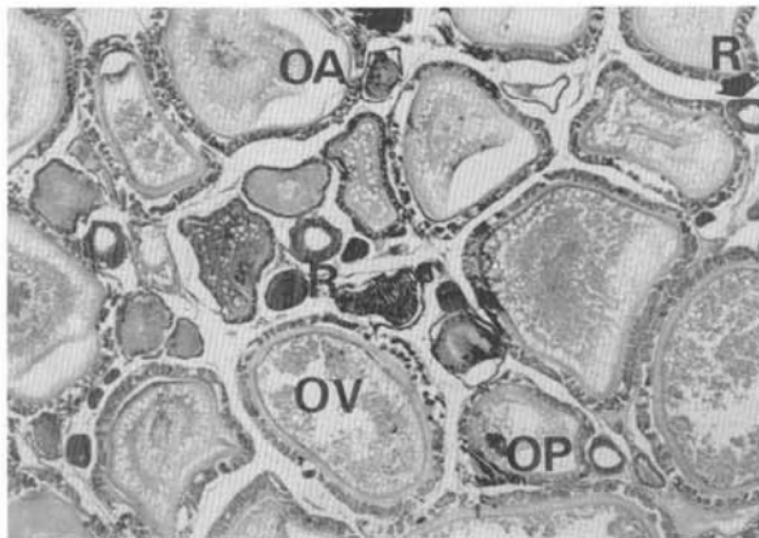


Fig. 1. Ovario de *Odontesthes smitti* en maduración. Se observan ovocitos en distintas fases de vitelogénesis, junto con elementos de reserva previtelogenéticos (R) ( $\times 40$ ). OP, ovocitos en vitelogénesis primaria incipiente; OA, ovocitos en vitelogénesis primaria avanzada; OV, ovocitos vitelados.

Teniendo en cuenta esta característica, para estimar la fecundidad parcial

se utilizaron únicamente ovarios en maduración total, debido a que los ovocitos

a ser expulsados se diferencian fácilmente del resto de las camadas. En este estadio, los componentes más desarrollados tienen un diámetro promedio de 1900  $\mu\text{m}$  con el citoplasma cargado de vitelo (Fig. 2A); la vesícula germinativa se desintegra y la zona radiata (membrana pelúcida) alcanza su máximo desarrollo con un grosor de 65  $\mu\text{m}$ .

En los ovarios procesados por congelación y desgaste, al igual que en la inclusión en parafina, los ovocitos no experimentan variaciones de forma o volumen (Fig. 2B), lo que hace posible aplicar las dos variantes para el cálculo de la fecundidad por estereometría.

#### CALCULO DE LA FECUNDIDAD PARCIAL.

En la Tabla 1 se presentan los datos de número de ovocitos por gramo de ovario obtenidos por gravimetría y estereometría. El análisis de varianza realizado para la comparación evidenció que no hay diferencias significativas entre los métodos (Tabla 2). La comparación intramétodos dió diferencias altamente significativas, las cuales se debieron a variaciones en el número de ovocitos por unidad de peso, originadas probablemente en la diferencia de tamaño de los componentes maduros para los distintos ejemplares.

Tabla 1. Datos de número de ovocitos por gramo de ovario obtenidos por los métodos gravimétrico y estereométrico (con parafina y congelación), en el corno (*Odontesthes smitti*).

GRAVIMETRICO		ESTEREOMETRICO			
		Congelación		Parafina	
302	391	306	386	264	317
329	434	419	429	378	348
265	287	301	239	246	296
516	483	511	423	557	442
606	528	646	518	686	547
344	475	339	413	314	472
319	728	253	754	368	669
326	491	322	523	282	541
440	482	361	455	363	548
294	414	291	404	291	463
336	338	282	369	249	370
288	664	315	656	226	663
460		378		440	
$\bar{X}$	422		414		413
S	123		140		128

Tabla 2. Resultado del ANOVA realizado para comparar las estimaciones de fecundidad en *Odontesthes smitti*, obtenidas por gravimetría y estereometría (con parafina y congelación).

Fuentes de variación	Grados de libertad	F	Probabilidad	
Intra - métodos	24	40,36	0,0000	**
Entre - métodos	2	0,46	0,6356	(ns)

\*\* Diferencia altamente significativa.  
(ns) Diferencia no significativa.

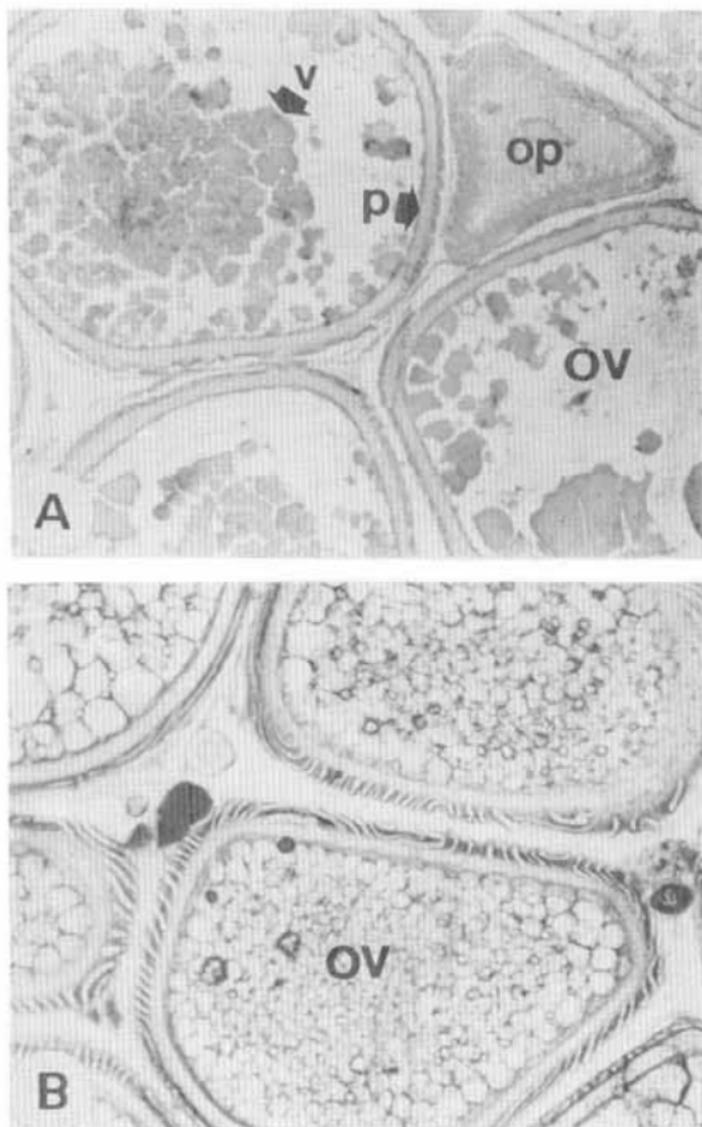


Fig. 2. Ovario de *Odontesthes smitti* en madurez total procesado con la técnica de inclusión en parafina (H-E) (A), y con la variante de congelación y desgaste (B) (x40). OV, ovocito maduro; v, vitelo; p, membrana pelúcida; OP, ovocito en vitelogénesis primaria incipiente.

Tomando en cuenta estos resultados, la fecundidad parcial individual fue estimada promediando los valores obtenidos mediante las distintas técnicas.

Las regresiones entre la fecundidad parcial y las variables longitud total, peso total y peso gonadal, presentaron en todos los casos un mejor ajuste al modelo de regresión exponencial. Las ecuaciones que expresan dichas relaciones son:

$$F = 426,5 \times e^{0,0089L}, r = 0,76$$

$$F = 2985,8 \times e^{0,0036P_t}, r = 0,83$$

$$F = 5154,0 \times e^{0,0219P_g}, r = 0,76$$

En las figuras 3, 4 y 5 se grafican las regresiones entre la fecundidad parcial y las tres variables mencionadas. El análisis de residuales no evidenció anomalías en el ajuste de los modelos. Sin embargo, para la relación fecundidad vs. longitud total no se pudieron registrar datos en un amplio rango de tallas que va de 290 a 320 mm y de 360 a 380 mm. Por tal razón, es probable que el ajuste encontrado varíe con la incorporación de nueva información para esas clases de longitud.

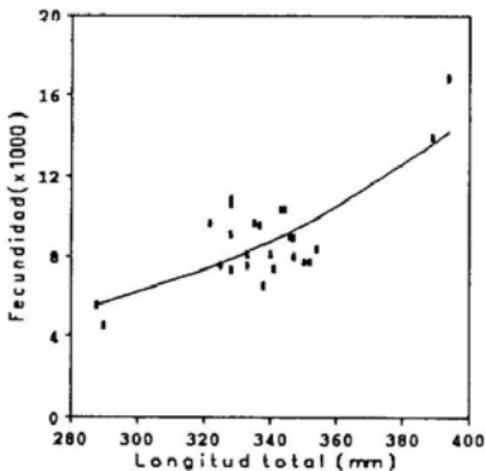


Fig. 3. Relación entre la fecundidad parcial y la variable longitud total en *Odontesthes smitti*.

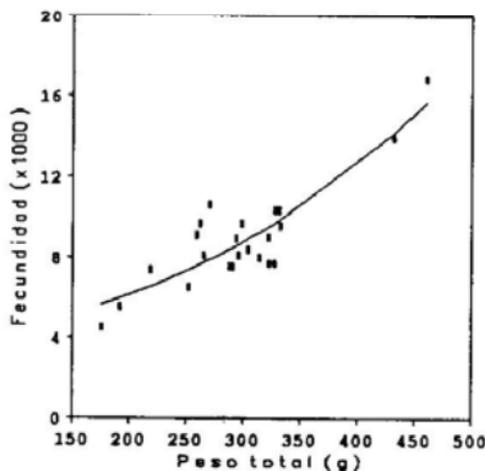


Fig. 4. Relación entre la fecundidad parcial y la variable peso total en *Odontesthes smitti*.

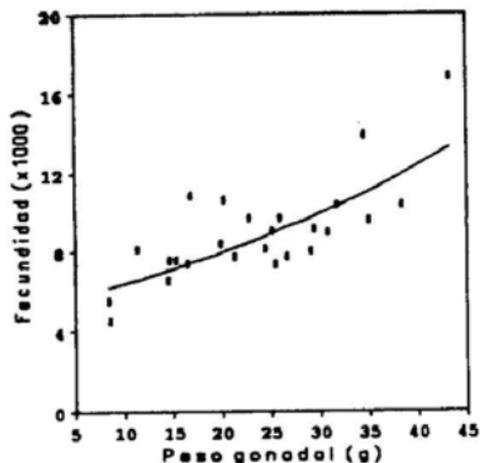


Fig. 5. Relación entre la fecundidad parcial y la variable peso gonadal en *Odontesthes smitti*.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

El análisis microscópico de los ovarios en maduración de *Odontesthes smitti* evidenció la existencia de distintas camadas de ovocitos en vitelogénesis, lo cual sugiere que esta especie presenta un mecanismo de puesta parcial. Esto ha sido observado en otras especies de la familia, consideradas desovantes múltiples, tal es el caso en *Menidia menidia* (Conover 1985). Esta característica, brinda la posibilidad de estimar la fecundidad parcial contando los ovocitos de la camada más avanzada en el estadio de madurez total, previo al desove (Hunter & Goldberg 1980).

Distintos autores han evaluado las metodologías empleadas para la estima-

ción de la fecundidad en los peces, con el objeto de establecer cuál es la más adecuada. Christiansen & Weiss (1974) compararon los métodos estereométrico, gravimétrico y volumétrico en la pescadilla de red (*Cynoscion striatus*) y obtuvieron diferencias en los resultados. Sin embargo, estos autores se inclinaron por la estereometría, debido a que los datos obtenidos presentaban el menor coeficiente de variación. Cassia *et al.* (1979) compararon los valores de fecundidad por gravimetría y estereometría en la sarraca (*Brevoortia aurea*). En este caso los resultados fueron estadísticamente similares con ambos métodos, pero se consideró al segundo más ventajoso por su menor porcentaje de error. Isaac-Nahum *et al.* (1988) realizaron una comparación similar en *Sardinella brasiliensis* y obtuvieron diferencias no significativas a un nivel de confianza del 1%. Emerson *et al.* (1990) emplearon los métodos estereométrico, volumétrico y por conteo automático de ovocitos en *Clupea harengus* y *Solea solea*, obteniendo valores de fecundidad similares.

Los resultados del presente trabajo indican que no hay diferencias significativas entre los métodos gravimétrico y estereométrico, empleados para calcular la fecundidad de *Odontesthes smitti*. Esto sugiere que los valores obtenidos representan una buena estimación de este parámetro, dado que por ambas metodologías se llega a resultados similares. Aun así, la técnica gravimétrica se consideró más ventajosa en este caso, debido a que es más económica y exige poca manipulación del material. Además, en esta especie los ovocitos maduros son de gran tamaño y se diferencian fácilmente de las

otras camadas, permitiendo su separación en forma directa sin el empleo del fluido de Gilson.

La fecundidad parcial del corno calculada por los métodos gravimétrico y estereométrico, varió entre 4500 y 17000

ovocitos para un rango de tallas entre 290 y 390  $\mu\text{m}$  de Lt. Dado que no se conocen en la literatura otras estimaciones del potencial reproductivo para esta especie, no fue posible efectuar comparaciones con resultados de otros autores.

#### AGRADECIMIENTOS

Agradezco al personal técnico del laboratorio de Histología del INIDEP por el procesamiento del material y a la Sra. Marcela Tobio por el revelado y copiado de las fotomicrografías. Hago extensivo este agradecimiento al Dr. Harald E. Christiansen por la lectura crítica del manuscrito.

#### LITERATURA CITADA

- Bagenal, T.B. 1969. The relationship between food supply and fecundity in brown trout, *Salmo trutta* L. *Journal of Fish Biology* 1: 167-182.
- Cassia, M.C.; Ciechowski, J.D. & H.E. Christiansen. 1979. Estudios sobre la reproducción y fecundidad de la saraca, *Brevoortia aurea* (Agassiz, 1824). Hildebrand, 1948 (Pisces: Clupeidae) y la comparación de dos métodos utilizados. *Physis* 38(94): 39-46.
- Christiansen, H.E. & 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* 33(37): 453-458.
- Christiansen, H.E.; Brodsky, S.R. & M.E. Cabrera. 1972. Posibilidades de la aplicación de una técnica estereométrica en la determinación de la fecundidad y en los cálculos de los procesos de reabsorción ovocitaria en invertebrados marinos. *Anales de la Sociedad Científica Argentina* 194: 279-298.
- Christiansen, H.E.; Brodsky, S.R. & M.E. Cabrera. 1973. La microscopía aplicada con criterio poblacional en el estudio de las gonadas de los vertebrados e invertebrados marinos. *Physis* 32(85): 467-480.
- Conover, D.O. 1985. Field and laboratory assessment of patterns in fecundity of a multiple spawning fish: The Atlantic silverside, *Menidia menidia*. *Fishery Bulletin* 83(3): 331-341.
- Emerson, L.S.; Greer Walker, M. & P.R. Witthames. 1990. A stereological method for estimating fish fecundity. *Journal of Fish Biology* 36: 721-736.
- Hunter, J.R. & S.R. Goldberg. 1980. Spawning incidence and batch fecundity in northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fishery Bulletin* 77(3): 641-653.
- Isaac-Nahum, V.J.; Cardoso, R. de D.; Servo G. & C.L. del B. Rossi-Wongtchowski. 1988. Aspects of the spawning biology of the Brazilian sardine, *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879) (Clupeidae). *Journal of Fish Biology* 32: 383-396.

- Macchi, G.J. & H.E. Christiansen. 1992. Estimación de la fecundidad en corvina rubia (*Micropogonias furnieri*) mediante la aplicación del método estereométrico. *Frente Marítimo* 12: 17-22.
- Macer, C.T. 1974. The reproductive biology of horse mackerel, *Trachurus trachurus* (L) in North Sea and English Channel. *Journal of Fish Biology* 6: 415-438.
- Mac Gregor, J.S. 1966. Fecundity of the Pacific hake, *Merluccius productus* (AYRES). *California Fish and Game* 52(2): 111-116.
- May, A.W. 1967. Fecundity of Atlantic cod. *Journal of Fisheries Research Board of Canada* 24(7): 1531-1551.
- Sokal, R.R. & F.J. Rohlf. 1969. *Biometry. The principles and practice of statistic in biological research*. San Francisco: W.H. Freeman. 776 pp.
- Weibel, E.R. & D.M. Gomez. 1962. A principle for counting tissue structures on random section. *Journal of Applied Physiology* 17: 343-348.