

Estimación de la Fecundidad por Lotes de la Doncella de Pluma (Perciformes: Labridae) del Golfo de México a Través del Uso de un Método Estereológico

Batch Fecundity Estimation of Hogfish (Perciformes: Labridae) from the Gulf of Mexico Using a Stereological Method

Estimation de la Fécondité Fractionnée du Labre Capitaine (Perciformes: Labridae) du Golfe du Mexique à travers de la Utilisation D'une Méthode Stéréologique

VIRGINIA NÓH-QUIÑONES¹, JULIAN RENE TORRES VILLEGAS², THIERRY BRULÉ DEMAREST¹,
JORGE LUIS MONTERO MUÑOZ¹ y URIEL FERNANDO VALDEZ MONTIEL²

¹Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Departamento de Recursos del Mar, Unidad Mérida, Antigua Carretera a Progreso, km 6, Apartado Postal 73 Cordemex, Código Postal 97310, Mérida, Yucatán, México.

²Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del Instituto Politécnico Nacional, Departamento de Pesquerías y Biología Marina, Av. Instituto Politécnico Nacional s/n Col. Playa Palo de Santa Rita, Apartado Postal 592, Código Postal 23096, La Paz, B.C.S., México.

RESUMEN EXTENDIDO

Los métodos estereológicos y el procesamiento digital de imágenes permiten protocolizar las observaciones histológicas y analizar la dinámica de las poblaciones celulares incluidas en un órgano. Estos métodos constituyen herramientas poderosas para analizar la forma y función de los tejidos. Sus ventajas son reducción del tiempo de proceso, inocuidad y posibilidades de obtener indicadores que de otra manera sería imposible. El propósito del presente estudio fue estimar la fecundidad por lote de *Lachnolaimus maximus*, el único lábrido de importancia comercial del Banco de Campeche al Sur del Golfo de México, empleando la técnica del disector estereométrico apoyado por el procesamiento digital de imágenes.

Los especímenes fueron capturados mensualmente con arpón y por buceo con compresora, en mayo y octubre de 2013 y de enero a agosto de 2014, a lo largo de la costa norte de la Península de Yucatán, en aguas someras (6 a 22 m de profundidad), adyacentes a los puertos pesqueros de Celestún, Dzilam de Bravo y Rio Lagartos. Un total de 204 hembras (rango de talla: 17 - 38 cm longitud furcal; rango de peso: 114 - 1061 g peso total) clasificadas en sub-fase de desove activo (OH y/o OFM en los ovarios) (Brown-Peterson et al. 2011) fueron seleccionadas para la estimación de la fecundidad. Las hembras con presencia de FPO recientes (Fitzhugh y Hettler 1995) en sus ovarios fueron descartadas para eliminar cualquier sesgo posible de subestimar el valor de fecundidad. Con base en los resultados del patrón de distribución de los ovocitos en las gónadas de *L. maximus* (Noh Quiñones et al. 2016 En prensa), para cada hembra seleccionada se obtuvo una muestra de ovario, a partir de la región media del ovario izquierdo. La fecundidad por lotes (FL: número de ovocitos emitidos por desove) se estimó con el disector estereométrico aplicando el método del ovocito hialino propuesto por Hunter et al. (1985). La aplicación del disector estereométrico como unidad de muestreo implicó realizar dos cortes histológicos seriados (disector a y b) de cada muestra de ovario separados por una distancia de 170 µm; dicha distancia fue determinada a partir del diámetro promedio que presentaron los ovocitos hialinos en fresco (513 ± 59 µm; n = 30). Las preparaciones histológicas fueron teñidas con Tricromo en un tiempo y fueron destinadas para el análisis de procesamiento digital de imágenes. A partir de los cortes histológicos, se capturaron imágenes digitales a cada disector utilizando el programa Zen Lite 2012. Un total de 408 imágenes fueron analizadas mediante el programa Image-Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics, Inc.). El número de ovocitos hidratados por unidad de volumen presentes en cada disector fue estimado según el criterio de Andersen (2003) por procesamiento digital, mediante un muestreo de contornos compuesto por 3 cuadrantes (Figura 1A). Posteriormente, un análisis espectral (binarización) se llevó a cabo para cada superficie del disector a y b, donde estaban contenidos todos los ovocitos seleccionados en cada uno de los cuadrantes (Figura 1B), seguidamente, la superposición de las máscaras binarias generadas para cada disector permitió identificar los ovocitos repetidos en ambas superficies (Figura 1C). Finalmente, se contabilizaron únicamente los ovocitos que no aparecieron repetidos en ambas superficies del disector (Figura 1D).

Previo a la estimación de la fecundidad, se evaluó la magnitud del proceso de retracción ocurrida en los ovarios durante el tratamiento histológico, etapa metodológica obligatoria en el uso de técnicas estereológicas, con el fin de evitar subestimar los valores de fecundidad de la especie. El porcentaje de retracción se calculó determinando el volumen de 30 ovarios desarrollados, antes y después de aplicar el tratamiento histológico, para posteriormente calcular un factor de corrección al valor del volumen fresco del ovario. La estimación de dicho factor es una primera aproximación a una de las fuentes de sesgo existentes en los cálculos estereológicos, como lo es el tamaño de las células que se pretenden medir. El porcentaje promedio estimado de retracción fue del $18.8 \pm 3.9\%$. Para cada una de las hembras seleccionadas y analizadas anteriormente (n = 204), se efectuó una corrección en el volumen de sus ovarios frescos. Una vez aplicado el factor de corrección, se procedió a estimar la fecundidad individual de cada una de las hembras maduras no desovantes analizadas. La fecundidad se estimó a partir de la fórmula propuesta por Andersen (2003) para estimar el número de células en un tejido donde: el número de ovocitos estimado en el ovario ($estN$) es igual al número de ovocitos por unidad de volumen ($estNv$) por el volumen del tejido de referencia (ovario) ($estNref$). Por otro lado, se establecieron relaciones lineales, logarítmicas y polinomiales (GAM) entre la fecundidad por lotes (FL) (y) y las variables biométricas (x) de longitud furcal (Lf; cm), peso

total (Pt; g), peso somático (Ps; g), peso eviscerado (Pev; g) y el peso de las gónadas (Pg; g). Las regresiones fueron estimadas por el método de los mínimos cuadrados y los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el software de Infostat (Versión 2010). La fecundidad promedio por lotes estimada fue de $17,106 \pm 13,849$ ovocitos. El valor mínimo de fecundidad por lotes observado fue de 1,699 ovocitos y el máximo de 66,418 ovocitos. Para la fecundidad relativa se estimó un valor promedio de 45 ± 128 ovocitos por gramo, con un rango de 4 a 143 ovocitos por gramo. La relación que mejor ajuste tuvo entre la FL y dichas variables biométricas fue de tipo polinomial (GAM) $FL = b + f(x)$, observándose el mejor ajuste entre la FL/Pg ($R^2 = 0.70$) (Tabla 1). Los valores de fecundidad por lotes obtenidos son similares a los reportados por otros autores (Collins and McBride 2015; FL mínima $x = 1,700 - 64,600$ ovocitos; $n = 44$), para la zona este del Golfo de México y Sur de Florida. La posibilidad de relacionar los procesos de producción y de reclutamiento de los ovocitos en el ovario se encuentra en debate por diferentes autores que estudian especies con fecundidad indeterminada, lo que implica realizar estimaciones cuantitativas que pueden hacerse por métodos estereométricos. Probar estas técnicas permite obtener información para buscar alternativas viables para estudiar la producción de ovocitos en especies tropicales.

PALABRAS CLAVES: Fecundidad, disector estereométrico, *Lachnolaimus maximus*, Golfo de México.

Tabla 1. Relaciones lineales, logarítmicas y polinomiales (GAM) entre fecundidad por lotes (FL) y longitud furcal (Lf; cm), peso total (Pt; g), peso somático (Ps; g), peso del pez eviscerado (Pev; g) y peso de las gónadas (Pg; g) para las hembras de *Lachnolaimus maximus* ($n = 204$) colectadas en el Banco de Campeche al Sur del Golfo de México, entre mayo y octubre de 2013, y entre enero y agosto de 2014.

Ecuación	R ²
Lineal $FL = a + bx$	
$FL = -43447.55 + 2458.54 (Lf)$	0.31
$FL = -1707.83 + 56.42 (Pt)$	0.33
$FL = -1015.93 + 56.42 (Ps)$	0.30
$FL = -411.26 + 58.27 (Pev)$	0.29
$FL = 481.45 + 1669.54 (Pg)$	0.66
Log-Log $\text{Log } FL = a + b \text{ Log } x$	
$FL = -1.04 + 3.28(Lf)$	0.36
$FL = 2.70 + 1.17(Pt)$	0.40
$FL = 2.86 + 1.15(Ps)$	0.38
$FL = 3.05 + 1.13(Pev)$	0.37
$FL = 7.22 + 1.05(Pg)$	0.66
GAM $FL = b + f(x)$	
$FL = 9.63 + f(Lf)$	0.40
$FL = 9.61 + f(Pt)$	0.46
$FL = 9.62 + f(Ps)$	0.43
$FL = 9.63 + f(Pev)$	0.42
$FL = 9.54 + f(Pg)$	0.70

a =intersepto, b = pendiente, r^2 = coeficiente de determinación.

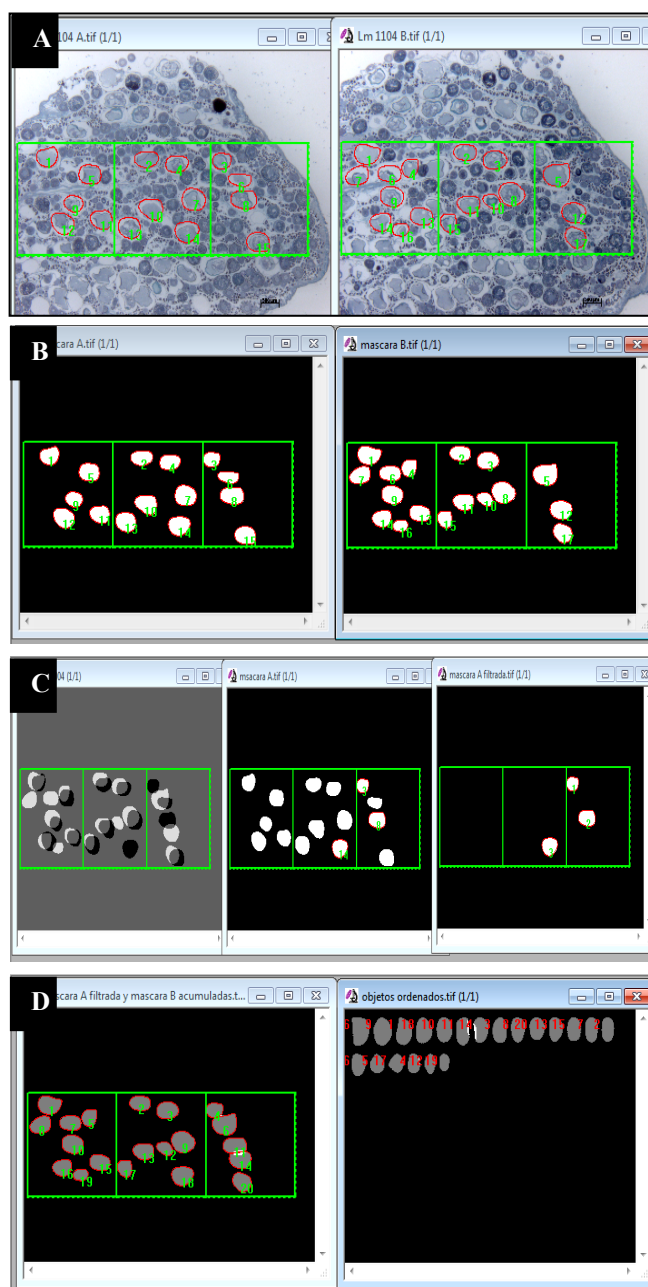


Figura 1. Aplicación del disector estereométrico A) Muestreo de contornos compuesto de tres cuadrantes para cada disector (a y b), se muestra las partículas delimitadas y enumeradas en cada disector, B) binarización de cada superficie de disector, se muestran todos los ovocitos seleccionados, C) Imágenes del disector a y b superpuestas, se muestran los ovocitos repetidos en ambas superficies y la selección de los ovocitos no repetidos en una sola superficie de disector, D) Conteo de los ovocitos hidratados, se muestra la máscara binaria final filtrada únicamente con los ovocitos no repetidos y todos los ovocitos muestreados en los tres cuadrantes, ordenados de mayor a menor área.

LITERATURA CITADA

- Andersen, T.E. 2003. Unbiased stereological estimation of cell numbers and volume fractions: the disector and principles of point counting. Paginas 11 - 18 en: O.S. Kjesbu, J.R. Hunter y P.R. Withames (eds.) *Modern Approaches to Assess Maturity and Fecundity of Warm and Cold Water Fish and Squids*. Fisker og Havet **12**. 149 pp.
- Brown-Peterson, N., D. Wyanski, F. Saborido-Rey, B. Macewicz y S. Lowerre-Barbieri. 2011. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science* **3**(1):52-70.
- Fitzhugh, G.R. y H.W. Hettler. 1995. Temperature influence on postovulatory follicle degeneration in Atlantic menhaden, *Brevoortia tyrannus*. *Fishery Bulletin* **93**:568-572.
- Hunter, J.R., N.C.H. Lo y R.J.H. Leong. 1985. Batch fecundity in multiple spawning fishes. Paginas 67 - 78 en: R. Lasker (ed.) *An Egg Production Method for Estimating Spawning Biomass of Pelagic Fish: Application to the Northern anchovy (Engraulis mordax)*. United States Department of Commerce, National Oceanic and Atmospheric Administration, National Marine Fisheries Service, Technical Report 36, Seattle, Washington USA .
- Nóh Quiñones, V.E., J.R. Torres Villegas, T. Brulé, J.L. Montero Muñoz y U.F. Valdez Montiel. [En prensa]. Oocyte distribution within and between ovary lobes is largely homogeneous in *Lachnolaimus maximus* (Perciformes: Labridae). *International Journal of Tropical Biology and Conservation*.