Descripción macroscópica e histológica de las gónadas de pez león (*Pterois volitans*)

Ingrid Julieth Estrada Galindo

Trabajo dirigido por Diana Bustos Montes y Arturo Acero Pizarro

Noviembre de 2018

Agradecimientos

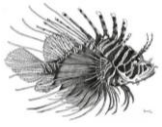
Al Instituto de Estudios en Ciencias del Mar – CECIMAR de la Universidad Nacional de Colombia – sede Caribe por brindar espacios académicos para la formación de profesionales en el área ambiental marina. A la Bióloga Marina Diana Bustos por su disposición e interés en el desarrollo de este documento y por su orientación en los aspectos reproductivos de esta especie. Al profesor Arturo Acero Pizarro por su atención y disposición para dirigir el trabajo de grado del cual se entrega este documento como producto. A la Bióloga Sarith Salas, quien orientó la identificación histológica. Al Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras – INVEMAR por prestar sus instalaciones y equipos para la toma de fotografías y análisis de las gónadas de pez león. Al grupo de ecología y biología marina de la Universidad Jorge Tadeo Lozano por acogerme y permitirme participar en sus actividades de evaluación de ejemplares de esta especie.

A los financiadores de la tesis doctoral de Diana Bustos, titulada "Influencia del potencial reproductivo en el éxito de la invasión del pez león (*Pterois volitans*) en el Caribe" de la cual se toma la información: Instituto de Estudios en Ciencias del Mar – CECIMAR; Universidad Nacional de Colombia - Sede Caribe; Universidad Jorge Tadeo Lozano - Sede Santa Marta; Corporación Centro de Excelencia en Ciencias Marinas – CEMarin; Fundación de Ciencia y Tecnología Colombia-Alemana – FUNCYTCA; Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación – COLCIENCIAS. Y a las entidades colaboradoras: Universidad de Cartagena; Parque Nacional Natural Corales de Profundidad; Reef Shepherd Dive Center; Makarela; Seak; y Programa de Liderazgo para la Conservación en el Caribe – CliC.

Introducción

El pez león (*Pterois volitans*) es una especie originaria del océano Pacífico, distribuida desde el sur de Japón, oriente de Indonesia y norte de Australia hasta el oriente de la Polinesia Francesa (Schofield *et al.,* 2018). Es una especie introducida en Florida, Estados Unidos, hacia finales de 1990, presentando un rápido establecimiento en el Atlántico occidental (Albins y Hixon, 2008, Morris *et al.,* 2011). El pez león presenta características tróficas y reproductivas que hacen que su presencia en el Caribe represente una amenaza para los ecosistemas marinos en los que habita, por lo que se requiere conocer con detalle los aspectos biológicos que rigen el comportamiento y distribución de esta especie, de manera que haya un insumo para la construcción de un plan de manejo y control efectivo.

En el presente trabajo se describe brevemente la anatomía macroscópica de las gónadas de pez león y se detallan las características histológicas de cada fase de la reproducción de esta especie. Se espera que este documento facilite la identificación de las diferentes fases de desarrollo reproductivo del pez león en el Caribe colombiano.



Metodología

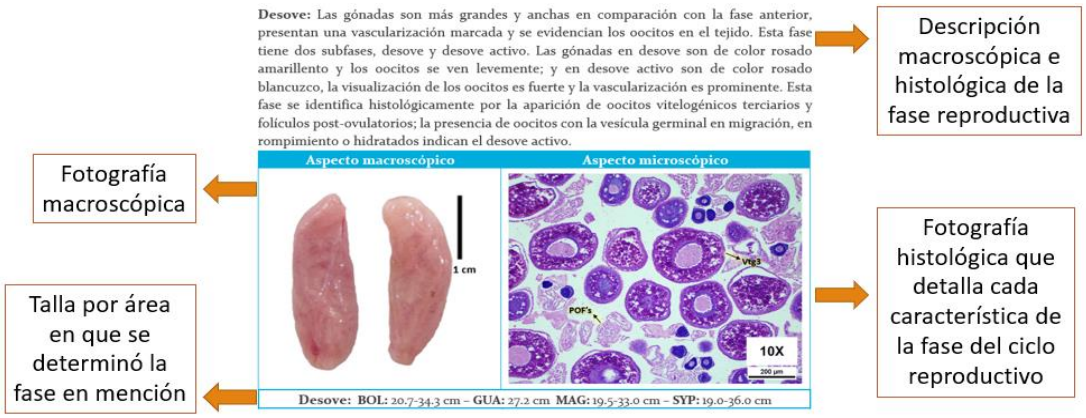
La descripción de las gónadas se realizó con base en especímenes diseccionados bajo la tesis doctoral titulada "Influencia del potencial reproductivo en el éxito de la invasión del pez león (*Pterois volitans*) en el Caribe" llevada a cabo entre 2015 y 2018. Se fotografiaron las gónadas a nivel macroscópico, acompañadas de una cinta métrica para tener una escala de referencia. De igual forma, se realizó la observación directa de gónadas en disecciones de algunos especímenes.

Por otra parte, se hizo histología a las gónadas de diversos ejemplares y al finalizar el proceso se tomaron fotografías de cada fase del ciclo reproductivo (Hembras: inmaduro, desarrollo, desove, regresión y regeneración. Machos: Inmaduro y maduro). Para algunas fases del ciclo se obtuvieron cortes histológicos y fotografías macroscópicas de los mismos ejemplares (Hembras: Desarrollo temprano y desove. Machos: Maduro). En total, se analizaron 15 individuos de pez león colectados en cinco departamentos del Caribe colombiano (Tabla 1).

Tabla 1. Departamentos de donde provienen las muestras examinadas.

Departamento	Abreviación
Bolívar	BOL
La Guajira	GUA
Magdalena	MAG
San Andrés, Providencia y Santa Catalina	SYP
Sucre	SUC

La clasificación y descripción de cada fase del ciclo reproductivo se realizó según Brown-Peterson *et al.* (2011) para hembras y machos. Sin embargo, para los machos se simplificó en dos fases, las fases de inmaduro y desarrollo se clasificaron como inmaduro; y las tres fases restantes se agruparon en estado maduro. Adicionalmente, se estableció el ámbito de talla por área en el que se encuentran los individuos durante cada fase del ciclo de acuerdo con la determinación histológica. De esa manera, se realizó una ficha de características de cada fase como se muestra a continuación:



Descripción

HEMBRAS

El pez león es una especie ovípara, que presenta desove asincrónico por lotes a lo largo del año (Morris, 2009). El aparato reproductivo de la hembra está conformado por órganos fusiformes bilobulados, ubicados en la región postero-dorsal de la cavidad corporal (Morris *et al.*, 2011). Cada lóbulo presenta un sistema circulatorio de venas y arterias que se ubica en el centro de este y lo atraviesa de forma longitudinal (Koya y Muñoz, 2007; Morris *et al.*, 2011). El estroma ovárico se dispone radialmente alrededor del sistema vascular, y la cavidad ovárica se ubica en la periferia del ovario, siendo clasificado como cistovario tipo II-3 (Koya y Muñoz, 2007). A continuación, se detallan las características macroscópicas y microscópicas del aparato reproductivo en cada fase de desarrollo del pez león en el Caribe colombiano.

TIPOS DE OOCITOS

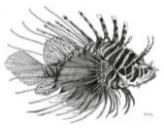
Cada fase del ciclo reproductivo se caracteriza por la presencia de células sexuales en diferentes estados. En la figura 1 se muestra cada uno de ellos en orden de aparición durante el ciclo reproductivo y a continuación se describen.

Oogonia: Las oogonias son células que se encuentran aisladas o agrupadas sin una distribución particular en la gónada (Peredo y Sobarzo, 1993 como se cita en Valdebenito *et al.*, 2011). Son altamente basófilas, por lo que su coloración es fuerte y hace difícil diferenciar el núcleo del citoplasma.

Nucléolo cromatina: Dicho estado se da posterior a la división mitótica de la oogonia (Lowerre-Barbieri *et al.*, 2011). Allí ocurre una redistribución de los cromosomas en todo el núcleo (Valdebenito *et al.*, 2011), se observa un solo nucléolo y existe una capa de células planas que empieza a formar el folículo (Montoya-López *et al.*, 2006). En esta fase el núcleo tiene poca afinidad con el colorante, pero el citoplasma y el nucléolo se mantienen fuertemente basófilos.

Perinuclear: En esta fase el oocito ha aumentado de tamaño y hay proliferación de nucléolos hacia la periferia del nucleoplasma (Montoya-López *et al.*, 2006; Valdebenito *et al.*, 2011). Los oocitos en esta fase tienden a formar agrupaciones (Montoya-López *et al.*, 2006).

Alveolo cortical: Dentro del citoplasma aparecen vesículas que corresponden a los alveolos corticales (Montoya-López *et al.*, 2006), estos no presentan afinidad hacia ningún colorante por lo que su apariencia es de espacios vacíos. Adicionalmente, las células foliculares tienden a ser cúbicas en esta fase (Montoya-López *et al.*, 2006). El tamaño de los oocitos de



crecimiento primario (nucléolo cromatina, perinuclear y alveolo cortical) varía entre 20-165 µm (Morris *et al.,* 2011).

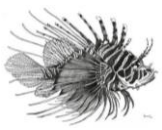
Vitelogénesis primaria: Al iniciar esta fase el tamaño del oocito aumenta progresivamente debido a la acumulación de vitelo (Valdebenito *et al.,* 2011). En el oocito se observan gránulos de vitelo ubicados en el citoplasma periférico, la vesícula germinal se ubica en el centro y presenta múltiples nucléolos periféricos.

Vitelogénesis secundaria: En esta fase los gránulos de vitelo son más abundantes, de mayor tamaño y se encuentran dispersos en el citoplasma, dirigiéndose hacia el núcleo. Sin embargo, no abarcan completamente el oocito. Así mismo, el complejo folicular presenta una mayor estructuración, las células foliculares son más cúbicas y es posible que haya dos capas, se forma la zona pelúcida conformada por unos canales que aparentemente comunican el oocito con células foliculares (Montoya-López *et al.*, 2006).

Vitelogénesis terciaria: El oocito tiene mayor tamaño y se caracteriza por la abundancia de gránulos de vitelo ocupando todo el citoplasma. Además, se pueden evidenciar gránulos lipídicos (Morris *et al.,* 2011; Valdebenito *et al.,* 2011). El tamaño de los oocitos de crecimiento secundario (vitelogénicos) varía entre 130 – 500 µm (Morris *et al.,* 2011).

Hidratado: Esta fase se caracteriza por el aumento marcado en el tamaño del oocito (Valdebenito *et al.,* 2011). En el microscopio se nota una aclaración en la coloración de los gránulos y un aumento en el tamaño de estos.

Migración de la vesícula germinal: La vesícula germinal empieza a migrar hacia el polo animal para expulsar el cuerpo polar (Morris *et al.,* 2011; Valdebenito *et al.,* 2011), por lo que se observa la vesícula germinal dirigida hacia un extremo del oocito. El tamaño del oocito en esta fase es mayor a 500 µm (Morris *et al.,* 2011).



FICHA DE RESUMEN DE LOS ESTADOS DE LOS OOCITOS DURANTE EL CICLO REPRODUCTIVO

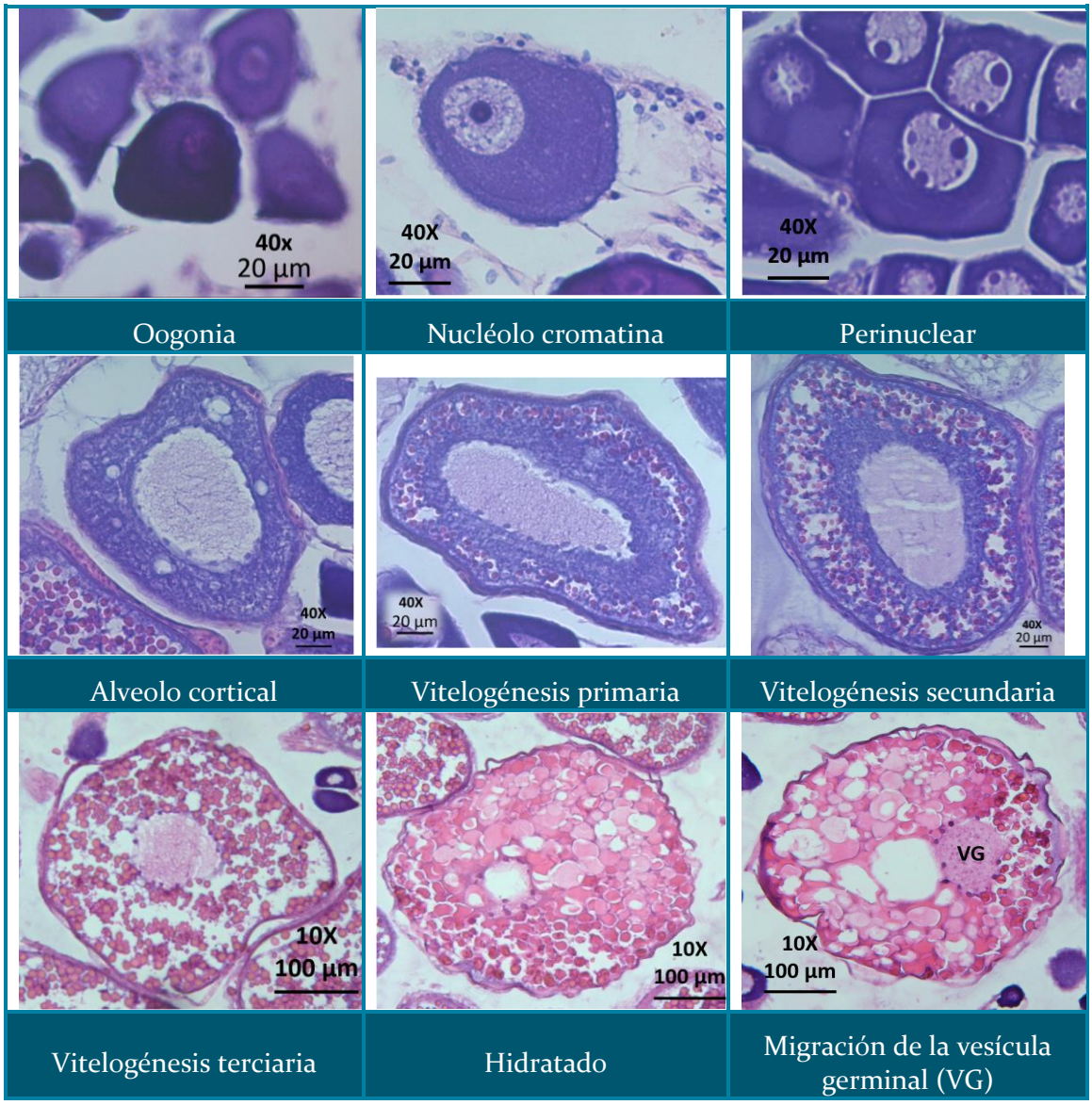


Figura 1. Fotografías de los diferentes estados de los oocitos de pez león (*Pterois volitans*).

Inmaduro: Las gónadas en estado inmaduro se caracterizan por ser de color rosado pálido o traslúcido, tiene forma alargada y tubular. Su textura es consistente, con poco desarrollo vascular y los oocitos no son visibles a simple vista. Histológicamente se compone principalmente de oocitos de crecimiento primario en estado nucléolo cromatina, perinuclear, y oogonias. Además, la pared ovárica es delgada.

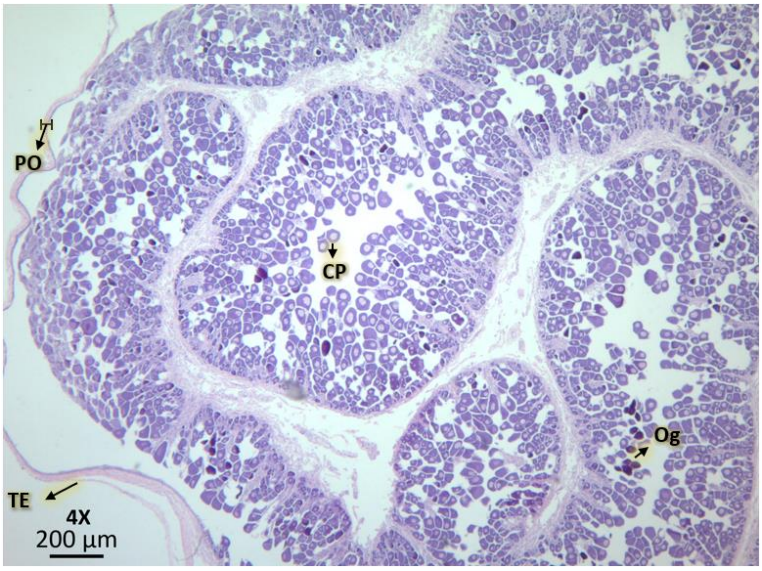
Aspecto macroscópico	Aspecto microscópico
	
BOL: 15.5-21.0 cm	**MAG:** 9.6-22.0 cm **SYP:** 15.5-19.9 cm

Figura 2. Características macroscópica y microscópica de la fase inmadura de gónadas en pez león (*P. volitans*). En el corte histológico se observan los oocitos de crecimiento primario (CP), las oogonias (Og), la pared ovárica (PO) delgada y una capa de tejido epitelial simple (TE). Tinción hematoxilina-eosina.

Desarrollo: Son gónadas de color rosado, de forma tubular y gruesas. Su textura se mantiene consistente, presentan más de desarrollo vascular en comparación con la fase anterior, los oocitos siguen sin ser visibles a simple vista. Un corte histológico de esta fase se caracteriza por la abundancia de oocitos con desarrollo de alveolos corticales y vitelogénicos uno y dos, correspondiendo a oocitos de crecimiento secundario. En esta fase se puede distinguir dos subfases, una de desarrollo temprano, caracterizada por la aparición de los primeros oocitos alveolo cortical acompañados de oocitos de crecimiento primario; y otra de desarrollo tardío, con presencia de oocitos vitelogénicos primarios y secundarios.

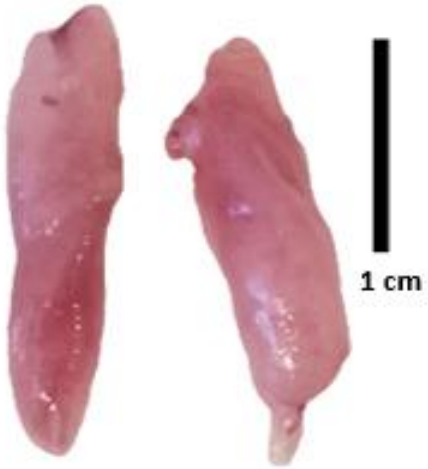
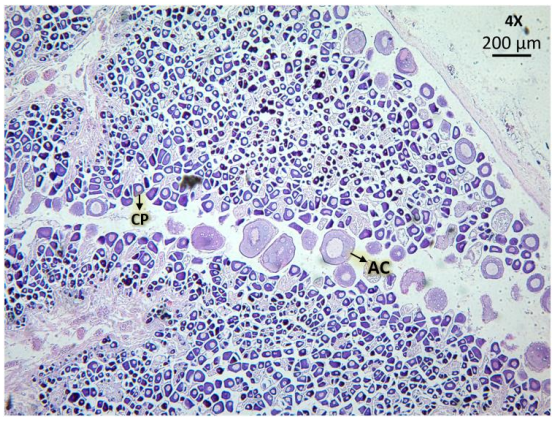
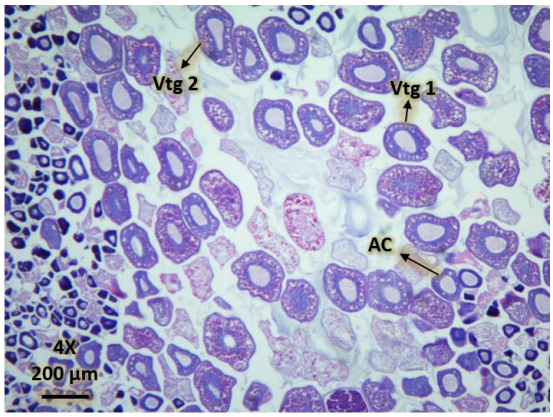
Aspecto macroscópico	Aspecto microscópico
	 **Temprano: BOL:** 18.0-25.0 cm – **GUA:** 19.5-22.7 cm – **MAG:** 17.8-22.0 cm – **SYP:** 18.0-22.0 cm  **Tardío: SYP:** 27.0-30.0 cm – **MAG:** 22.6-24.1 cm - **BOL:** 20.0-31.0 cm

Figura 3. Fotografía macroscópica y microscópica en la fase de desarrollo en gónadas de pez león (*P. volitans*). Se observa las fases de desarrollo temprano y desarrollo tardío. Se detallan los alveolos corticales (D) y los ovocitos vitelogénicos primarios y secundarios €. Tinción hematoxilina-eosina.

Desove: Las gónadas son más grandes y anchas en comparación con la fase anterior, presentan una vascularización marcada y se evidencian los oocitos en el tejido. Esta fase tiene dos subfases, desove y desove activo. Las gónadas en desove son de color rosado amarillento y los oocitos se ven levemente; y en desove activo son de color rosado blancuzco, la visualización de los oocitos es fuerte y la vascularización es prominente. Esta fase se identifica histológicamente por la aparición de oocitos vitelogénicos terciarios y folículos post-ovulatorios; la presencia de oocitos con la vesícula germinal en migración, en rompimiento o hidratados indican el desove activo.

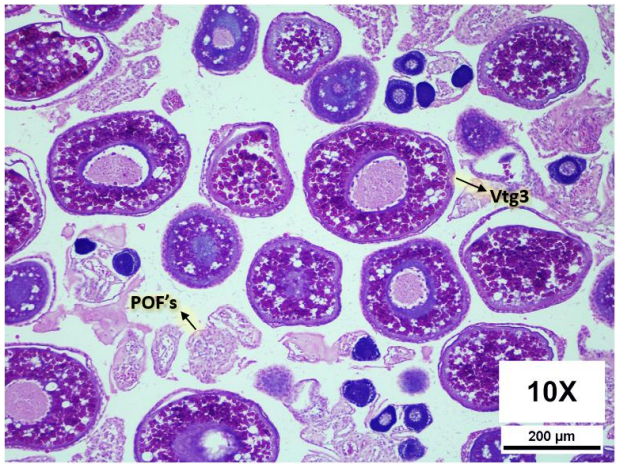
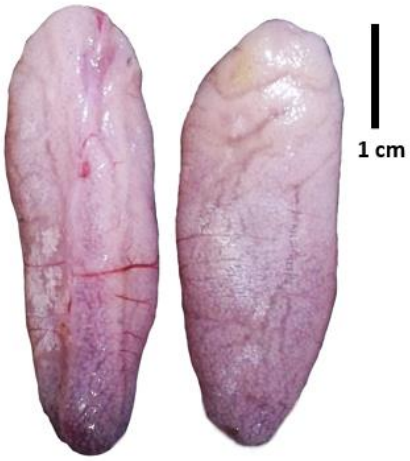
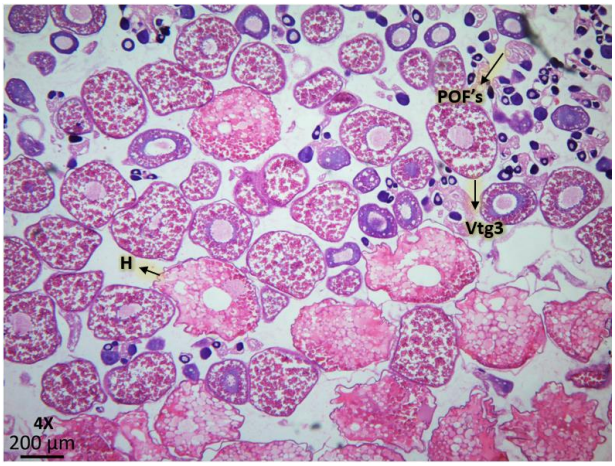
Aspecto macroscópico	Aspecto microscópico
	
Desove: BOL: 20.7-34.3 cm – **GUA:** 27.2 cm **MAG:** 19.5-33.0 cm – **SYP:** 19.0-36.0 cm	
	
Desove activo: BOL: 24.5-31.0 cm – **GUA:** 32.0-36.4 cm **MAG:** 20.0-36.0 cm – **SUC:** 26.8 cm – **SYP:** 25.0-31.6 cm	

Figura 4. Fotografías macroscópicas y microscópicas en la fase de desove en gónadas de pez león (*P. volitans*). En los cortes histológicos se puede observar los oocitos en vitelogénesis terciaria (Vtg3), los folículos post-ovulatorios (POF's) y los oocitos hidratados (H). Tinción hematoxilina-eosina.

Regresión: Macroscópicamente se caracterizan por ser ovarios flácidos con vasos sanguíneos prominentes (Brown-Peterson *et al.*, 2011). Histológicamente se observan oocitos en atresia, folículos post-ovulatorios, y oocitos en diferentes estados de desarrollo (Brown-Peterson *et al.*, 2011).

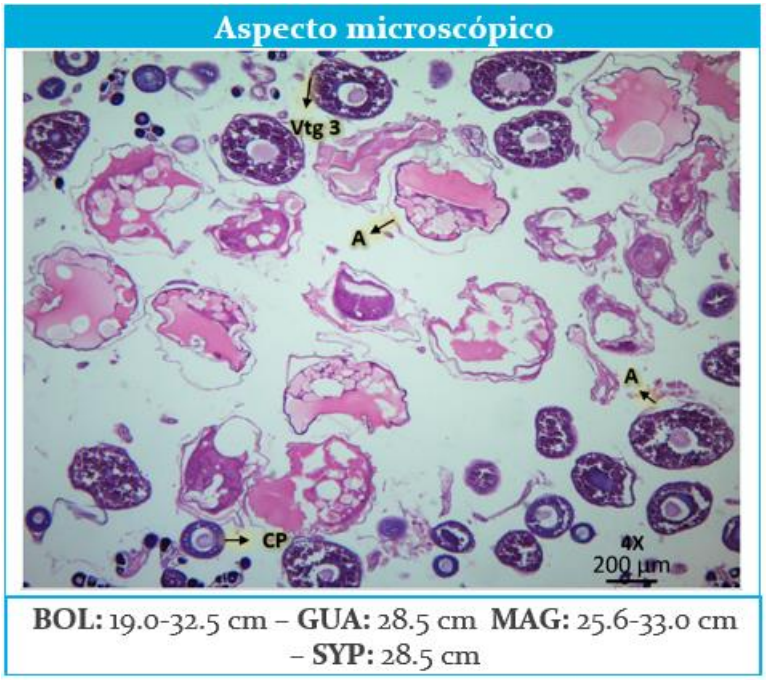


Figura 5. Fotografías microscópicas en la fase de regresión en gónadas de pez león (*P. volitans*). En el corte histológico se puede observar los oocitos vitelogénicos e hidratados en atresia (A), y oocitos en diferentes estados (CP y Vtg 3). Tinción hematoxilina-eosina.

Regeneración: Su aspecto macroscópico es pequeño y con vasos sanguíneos reducidos (Brown-Peterson *et al.,* 2011). Un corte histológico de esta fase es muy similar a la fase inmaduro, ya que se caracteriza por la presencia de oogonias y oocitos en crecimiento primario. Sin embargo, existen algunos rasgos que permiten distinguirlas. El primer carácter para tener en cuenta puede ser la pared ovárica, la cual es notablemente más gruesa en la fase de regeneración. Además, en esta fase se observa mayor espacio intersticial entre los oocitos, hay bandas musculares y se presenta atresia (Brown-Peterson *et al.,* 2011).

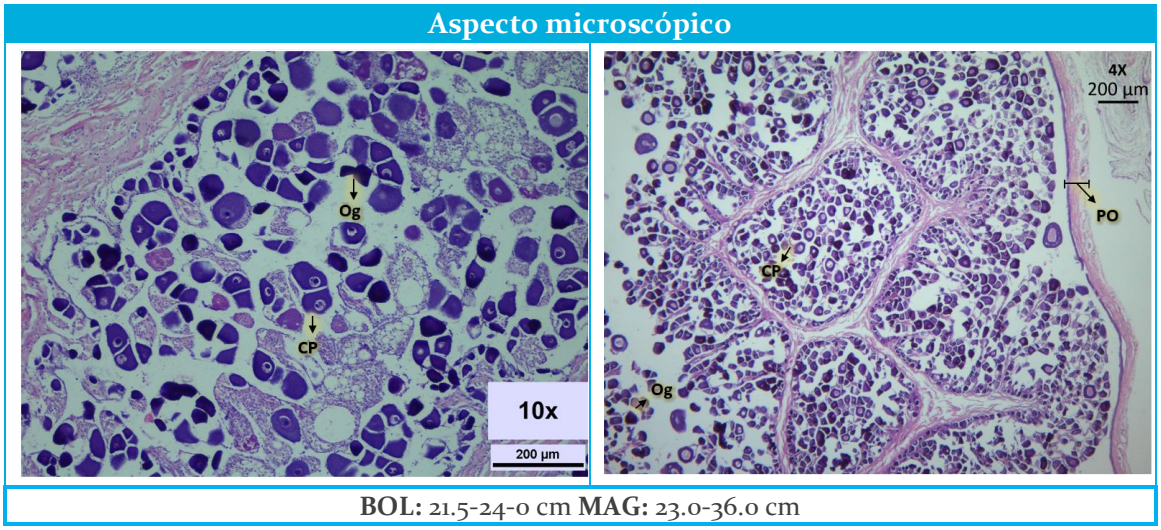


Figura 6. Fotografías microscópicas en la fase de regeneración en gónadas de pez león (*P. volitans*). En el corte histológico se puede observar oogonias, oocitos en crecimiento primario y el grosor de la pared ovárica. Tinción hematoxilina-eosina.

MACHOS

Inmaduro: Son órganos pequeños, delgados y de coloración clara (Brown-Peterson *et al.*, 2011). Su aspecto histológico se caracteriza por la homogeneidad en espermatocitos. Adicionalmente, los lóbulos de los individuos inmaduros no tienen lumen o se encuentra desarrollándose (Brown-Peterson *et al.*, 2011).

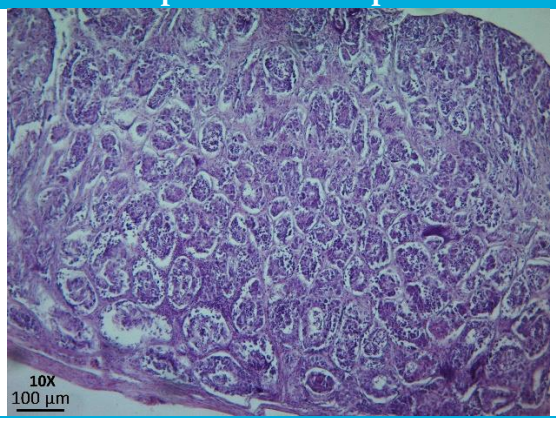
Aspecto microscópico

BOL: 17.0-23.6 cm – **MAG:** 16.0 – 25.5 cm – **SUC:** 18.2 cm – **SYP:** 16.0 – 27.0 cm

Figura 7. Fotografía microscópica en la fase inmaduro en gónadas de pez león (*P. volitans*). Tinción hematoxilina-eosina.

Maduro: Las gónadas en esta fase son de color rosado a pardo, son relativamente gruesas y alargadas, de textura consistente. Histológicamente hay diferenciación celular, se observan espermatocitos en diferentes estados y espermatozoides en el lumen (Brown-Peterson *et al.*, 2011).

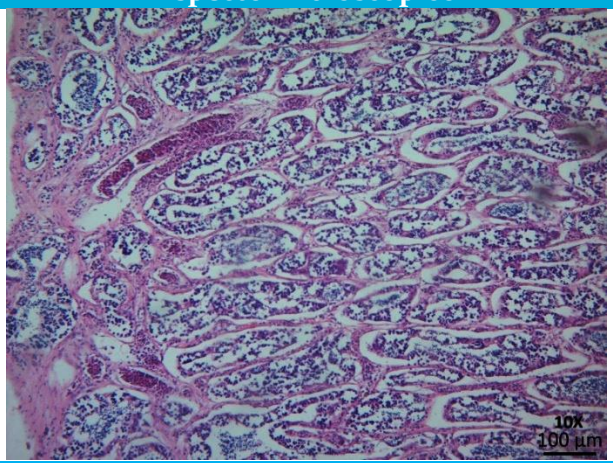
Aspecto macroscópico	Aspecto microscópico
	
BOL: 19.0–42.0 cm – **GUA:** 22.0-40.0 cm **MAG:** 22.3-43.7 – **SUC:** 31.1–39.5 cm – **SYP:** 20.0-41.0 cm	

Figura 8. Fotografías macroscópica y microscópica en la fase maduro en gónadas de pez león (*P. volitans*). Tinción hematoxilina-eosina.

Referencias

Albins M. y Hixon M. 2008. Invasive Indo-Pacific lionfish *Pterois volitans* reduce recruitment of Atlantic coral-reef fishes. Mar Eco Prog Ser. 367:233-238.

Brown-Peterson N., Wyanski D., Saborido-Rey F., Macewicz B. y Lowerre-Barbieri S. 2011. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. Marine and Coastal Fisheries. 3(1):52-70.

Koya Y. y Muñoz M. 2007. Comparative study on ovarian structures in scorpaenids: posible evolutional process of reproductive mode. Ichthyol Res. 54:221:230.

Lowerre-Barbieri S., Brown-Peterson N., Murua H., Tomkiewicz J., Wysanski D. y Saborido-Rey F. Emerging Issues and Methodological Advances in Fisheries Reproductive Biology. Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Managament, and Ecosystem Science. 3:32-51.

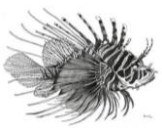
Montoya López A., Tabares C., Echeverri A., Arboleda L., y Olivera-Ángel M. 2006. Descripción anatómica e histológica de las gónadas en Sabaleta (Brycon henni, Eigenmann 1913). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 19(2):187-195.

Morris J. 2009. The Biology and Ecology of the Invasive Indo-Pacific Lionfish. North Carolina State University. Raleigh, North Carolina.

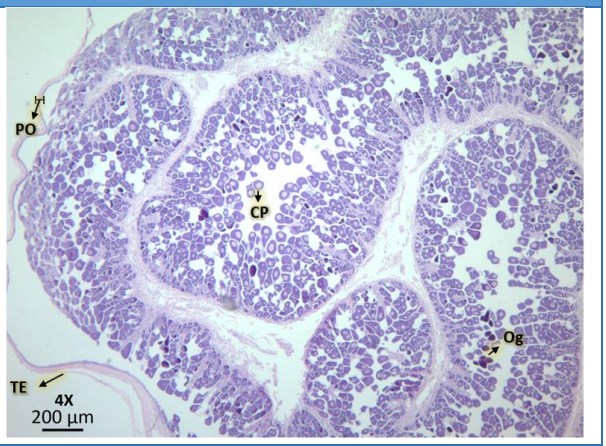
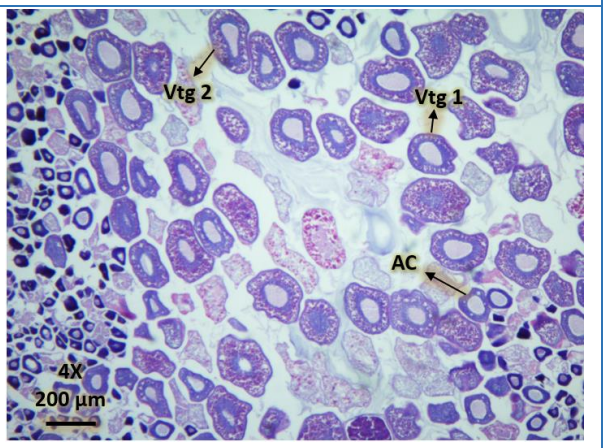
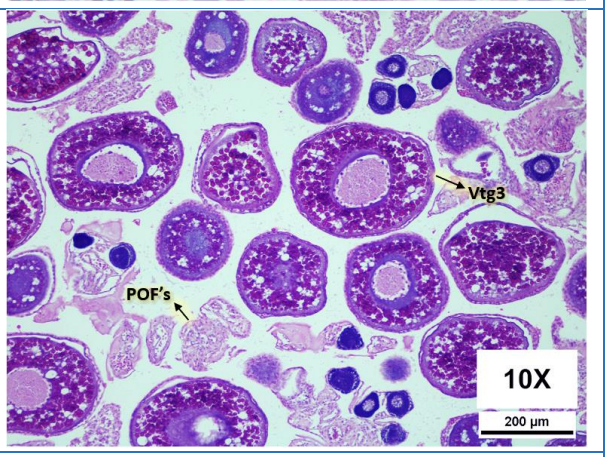
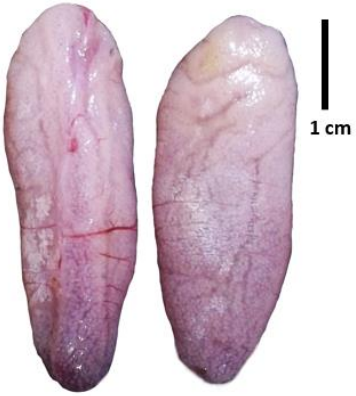
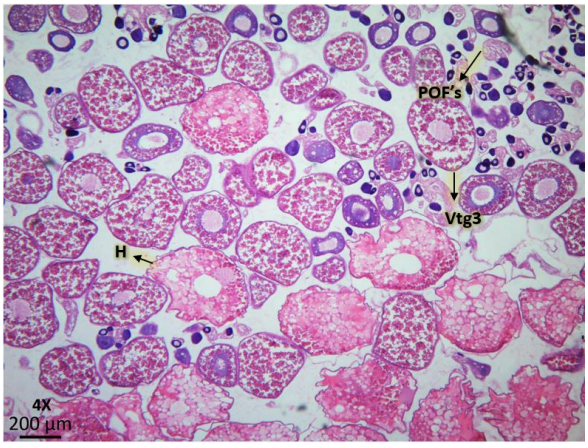
Morris J., Sullivan C. y Govoni J. 2011. Oogenesis and spawn formation in the invasive lionfish, *Pterois miles* and *Pterois volitans*. Scientia Marina. 75(1):147-154.

Schofield P., Morris J., Langston J., y Fuller P. 2018. *Pterois volitans/miles*: U.S. Geological Survey, Nonindigenous Aquatic Species Database, Gainesville, FL. Obtenido de: https://nas.er.usgs.gov/queries/FactSheet.aspx?speciesID=963.

Valdebenito I., Palva L., y Berland M. 2011. Atresia folicular en peces teleósteos: una revisión. Arch Med Vet. 43:11-25.



FICHA RESUMEN DE LAS FASES DEL CICLO REPRODUCTIVO EN PEZ LEÓN (*Pterois volitans*)

Aspecto macroscópico	Aspecto microscópico
	
Inmaduro	
	
Desarrollo	
	
Desove	
	
Desove activo	