

LA ATRESIA EN *Stegastes partitus* (POEY, 1868) (ACTINOPTERYGII: POMACENTRIDAE) COMO INDICADOR DE IMPACTO AMBIENTAL.

Yureidy Cabrera Páez ¹ *; Consuelo Aguilar Betancourt ¹, Gaspar González-Sansón ¹, Fernanda Antonelli ²

(1) Centro de Investigaciones Marinas, Universidad de La Habana, Calle 16 No. 114, Playa, CP 11300, Ciudad Habana, Cuba

(2) Dpto de Morfología, Universidad Estatal de Campinas, Ave. Roxo Moreira No. 410, Distrito Barão Geraldo, Sao Paulo, Brasil

(*) Autor correspondiente: E-mail: ycabrera@cim.uh.cu

RESUMEN

El objetivo general de la investigación fue evaluar los efectos a nivel ovárico que provoca la contaminación proveniente de tierra en la especie *Stegastes partitus*, haciendo énfasis en el proceso de la atresia. Fueron analizados histológicamente los ovarios de 12 peces provenientes de tres sitios con diferente grado de contaminación de la zona arrecifal del litoral habanero: la entrada de la bahía de La Habana, BR, la desembocadura del río Almendares, RIO, y un sitio de referencia, C30. Se obtuvieron diferencias significativas entre sitios en cuanto a la aparición de oocitos atrésicos vitelogénicos. El RIO presentó valores significativamente más altos, mientras que en BR y C30 la frecuencia de estos fue mucho menor. El índice gonadosomático, por el contrario, tuvo valores más bajos en la zona de RIO. En RIO se encuentran los mayores índices de atresia y de centros melanomacrofágicos, unido a los menores valores del índice gonadosomático, esto pudiera ser reflejo de las condiciones ambientales degradadas en este sitio, particularmente la contaminación. En este trabajo se describen por primera vez para *S. partitus*, tres estadios de la atresia. El inicial se caracteriza por la ruptura de la envoltura nuclear del oocito y por el ondulamiento de la zona radiata; el intermedio caracterizado por la fusión de algunos glóbulos de vitelo y porque las células foliculares presentan características fagocíticas y el estadio final donde hay pérdida total de la zona radiata. En este último, además, aparecen los cuerpos melanomacrofágicos.

Palabras clave: oocitos; histología; atresia; contaminación; *Stegastes partitus*; ASW, Cuba.

ABSTRACT

Effect caused by contamination come from land at ovarian level in *Stegastes partitus* is evaluated, making emphasis in the process of atresia. A histological analysis was performed with 12 fish ovaries coming from three places with different contamination degrees of Havana coast: Havana bay entrance, BR, Almendares river outlet, RIO, and a reference place, C30. Significant differences were obtained among places considering the appearance of vitellogenic atretic oocytes. RIO presented significantly higher number of vitellogenic atretic oocytes while in BR and C30 the frequency of it was smaller. Gonadosomatic index, on the contrary, had lower values at RIO. The highest incidence of atretic oocytes and melanomacrophage centers in RIO, as well as the lowest values in the gonadosomatic index, could be a result of degraded environmental conditions. It has been described for the first time, three stages of the atresia in *Stegastes partitus*. At the initial stage there is a breakdown of the oocyte's nuclear membrane and zone radiata starts to be irregularly convoluted. At the intermediate stage the follicle cells have phagocytic characteristics and there is a fusion of some yolk globules; the final stage was determined by the total loss of zone radiata and the appearance of melanomacrophage bodies.

Key words: oocytes; histology; atresia; contamination; *Stegastes partitus*; ASW, Cuba

Dentro de las comunidades de vertebrados que se desarrollan en el ecosistema arrecifal, las comunidades de peces son las más diversas y complejas (Caley, 1995; González-Sansón *et al.*, 1997) y han sido utilizadas como indicadores de la calidad ambiental (Adams, 1990; Aguilar y González-Sansón, 2000; Aguilar *et al.*, 2000). La exposición a contaminantes puede provocar un estrés determinado en la fisiología y morfología de los peces, que se puede reflejar en los índices organosomáticos y morfométricos (Munkittrick *et al.*, 1994; Kime, 1995; Chellappa *et al.*, 1999).

El órgano más usado para estimar la salud de un pez es la gónada, ya que la calidad de sus células germinales es un buen indicador del potencial reproductivo real del pez (Bruslé *et al.*, 1998). La disminución de la capacidad reproductiva en peces teleósteos ha sido asociada con el efecto de varios contaminantes (Bresch, 1982). La atresia es el proceso por el cual los oocitos se degeneran progresivamente y son reabsorbidos antes de alcanzar la madurez. Puede ocurrir como un proceso fisiológico natural o como resultado de condiciones naturales desfavorables (Jobling *et al.*,

2002). La alta incidencia de atresia puede indicar la presencia de contaminantes en el agua (Jobling *et al.*, 2002). El objetivo de esta investigación fue la evaluación de los efectos que provoca la contaminación proveniente de tierra a nivel ovárico en la especie *Stegastes partitus*, haciendo énfasis en el proceso de la atresia.

MATERIALES Y METODOS

Se capturaron peces procedentes de tres sitios de arrecifes costeros del sublitoral de Ciudad de La Habana entre abril y mayo del 2002. Los sitios de muestreo fueron: la entrada de la bahía de La Habana (BR, 23° 8.864 'N 82° 21.576 'W), la desembocadura del río Almendares (RIO, 23° 8.250 'N 82° 24.565 'W) y en un sitio de referencia ubicado en Miramar (C30, 23° 7.587 'N 82° 25.793 'W). Las capturas se realizaron aleatoriamente en los tres sitios considerando la fase lunar y el horario para disminuir la variación ambiental. Según Aguilar y González-Sansón (2000), los tres sitios están afectados por las mismas condiciones climáticas y características geomorfológicas (Tabla 1), pero se diferencian en el origen e intensidad de la contaminación. Estudios realizados en BR y RIO han señalado la presencia de metales pesados en el agua y los sedimentos, así como altas concentraciones de nitrógeno amoniacal, indicadores clásicos de contaminación urbana e industrial (Beltrán *et al.*, 2000; Borroto, 2000). En el sitio de referencia, C30, no existe ninguna fuente notable de contaminación (Aguilar y González-Sansón, 2000).

Los peces fueron capturados con jamos de malla plástica tejida de una abertura de 1 milímetro. Las capturas se realizaron a una profundidad entre 10 y 12 metros. Los individuos fueron trasladados vivos al laboratorio donde fueron medidos y pesados. Para esto se utilizó un ictiómetro graduado (mm) y una balanza analítica de 1mg de precisión respectivamente. Mediante la observación macroscópica de las gónadas se determinó su sexo.

Basado en el índice gonadosomático y en el desarrollo macroscópico de las gónadas, se escogieron las gónadas maduras de 12 hembras en cada sitio. Estas fueron fijadas en solución Bouin por 48-72 horas a temperatura ambiente y posteriormente se preservaron en etanol al 70% para su tratamiento histológico. Los ovarios fueron incluidos en bloques de parafina y cortados (8µm) con un micrótopo. Las diversas secciones se montaron en portaobjetos, se tiñeron mediante la técnica tricrómica de Mallory (Pantin, 1962) y

fueron examinadas al microscopio. Con un objetivo de 10X se contaron todos los oocitos atrésicos por campo; para esto fueron seleccionadas ocho secciones al azar en cada ovario. Para la clasificación de los folículos atrésicos se utilizó un microscopio acoplado a una cámara fotográfica digital. Los oocitos identificados fueron divididos en vitelogénicos y no vitelogénicos considerando la presencia o no de vitelo. Se clasificaron además, según el grado de desarrollo de la atresia. Se cuantificó la cantidad de cuerpos melanomacrofágicos presentes en los cortes.

A partir de los datos obtenidos se calculó el índice gonadosomático (IGS), donde PG es el peso de la gónada y PSV es el peso sin víscera.

$$\text{IGS} = (\text{PG} / \text{PSV}) \times 100$$

Para determinar la significación de las diferencias observadas entre sitios en el número medio de los centros melanomacrofágicos se realizó un análisis de varianza no paramétrico unifactorial (Kruskal-Wallis). En los casos en que las diferencias fueron significativas, se aplicó la prueba de Nemenyi (Zar, 1996). Para analizar las diferencias en el IGS y en el número medio de oocitos atrésicos se utilizó un análisis de varianza paramétrico con una vía de clasificación y efectos fijos, seguido de la prueba Student - Newman-Keuls (SNK). La determinación de diferencias significativas en la frecuencia de los oocitos atrésicos se realizó con la ayuda de la prueba de Chi-Cuadrado (X^2). En todos los casos se fijó un nivel de significación de 0.05.

RESULTADOS

En este trabajo se describen tres estadios de la atresia para *Stegastes partitus*, tomando como base la clasificación de Miranda *et al.* (1999). El estadio inicial se caracteriza por presentar un núcleo irregular. En algunas ocasiones se observa la ruptura de la envoltura nuclear y los nucléolos dispersos en el citoplasma. La zona radiata sufre determinados daños que incluyen ondulamiento y desigual diámetro. Las células foliculares sufren un proceso de hipertrofia y la pérdida parcial de las células de la capa granulosa. Este último proceso ocurren tanto en oocitos vitelogénicos como no vitelogénicos. En el caso de los oocitos vitelogénicos pueden observarse, además, algunos glóbulos de vitelo fusionados (Fig. 1 a,b).

El estadio intermedio de la atresia se identifica por la desintegración o fragmentación de la zona radiata. Existe una tendencia a la fusión de

Tabla 1. Algunas variables significativas relacionadas con el bentos en las estaciones de muestreo utilizadas para los análisis biológicos en especies seleccionadas. Tomado de Guardia y González-Sansón, 2000 y Guardia *et al.*, 2001).

Variable	Estaciones			Comentarios
	BR	RIO	C30	
Índice de rugosidad (Método de la cadena)	1.2	1.1	1.2	Prácticamente no varía, por lo que no es un factor importante en la comparación
Número de especies de coral	3	11	17	Mayor número de especies, mayor densidad de corales, colonias más grandes y cubrimiento mayor son todos indicadores de una mejor condición ambiental en los arrecifes de coral
Densidad de corales (col/m ²)	0.4	2.3	6.3	
Tamaño de los corales (cm)	10.3	15.4	25.8	
Cubrimiento por corales (%)	0.0	0.6	6.5	
Densidad de esponjas (ind/m ²)	11.2	2.0	5.9	En general, se debe esperar mayor densidad de esponjas y menor densidad de gorgonáceos en sitios eutrofizados
Densidad de gorgonáceos (ind/ m ²)	0.3	0.1	2.1	Se debe esperar mayor crecimiento de las algas en sitios eutrofizados. Ambos son considerados buenos indicadores de contaminación orgánica
Cubrimiento por algas (%)	62.8	97.1	45.6	
Cubrimiento por poliquetos (%)	35.2	0.0	0.0	
Cubrimiento por cianobacterias (%)	6.8	0.0	0.0	

algunos glóbulos de vitelo. Las células foliculares presentan características fagocíticas por invadir el vitelo y en muchos casos puede llegar a la pérdida de las células foliculares (Fig. 1 c,d).

El estadio final de la atresia se caracteriza por ser una estructura bastante compacta, aunque pueden encontrarse algunas vacuolas dispersas en el folículo. Este estadio se observa la pérdida total de la capa de células foliculares y de la zona radiata, seguida de la reabsorción del vitelo (Fig. 1e). Se pueden encontrar, además, los centros melanomacrofágicos de color amarillo claro (Fig. 1f).

Al analizar las variaciones entre sitios en cuanto al IGS, se encontraron diferencias significativas ($F_{2,32}=6.14$, $p=0.006$). El valor del IGS fue mucho menor en RIO con respecto a BR y C30 (Fig. 2). El sitio de referencia (C30) presentó un valor más alto comparado con BR. Cuando se realizó la prueba de comparaciones múltiples no se obtuvieron resultados concluyentes.

El número de folículos atrésicos en RIO es significativamente mayor ($F_{2,33}=43.8$, $p<0.001$), con respecto a BR y C30 (Fig. 3). De los 514 oocitos atrésicos examinados, 280 (54.5%) se encontraron en estadio vitelogénico. Esta proporción varió al examinar los tres sitios por separado

(Fig. 4). En BR y C30, predominaron los no vitelogénicos (70% y 80% respectivamente), mientras que en RIO, la mayor parte de los atrésicos se encontró en estadio vitelogénico (83%). Estas diferencias resultaron significativas ($X^2_{2g.l.}=176.8$, $p<0.001$).

Al analizar los estadios de atresia dentro de cada sitio se encontraron diferencias significativas ($X^2_{2g.l.}=231.8$, $p<0.001$), (Fig. 5). En RIO, se observó un gran número de oocitos vitelogénicos atrésicos con una mayor frecuencia de aparición de los mismos en estadio final, seguido del estadio intermedio. BR y C30 presentaron un patrón muy similar entre sí; el mayor número de oocitos vitelogénicos atrésicos se encontraron en estadio inicial, observándose muy pocos en estadio final.

La incidencia de aparición de los centros melanomacrofágicos por sitio reportó diferencias significativas ($H_{2,36}=8.905$; $p=0.012$). RIO presentó el mayor número de centros melanomacrofágicos en comparación con BR y C30; entre estos dos últimos no se encontraron diferencias (Fig. 6).

DISCUSIÓN

En esta investigación se describen por primera vez tres estadios de atresia para la especie estudiada. Miranda *et al.* (1999) y Hunter y Macewicz (1985)

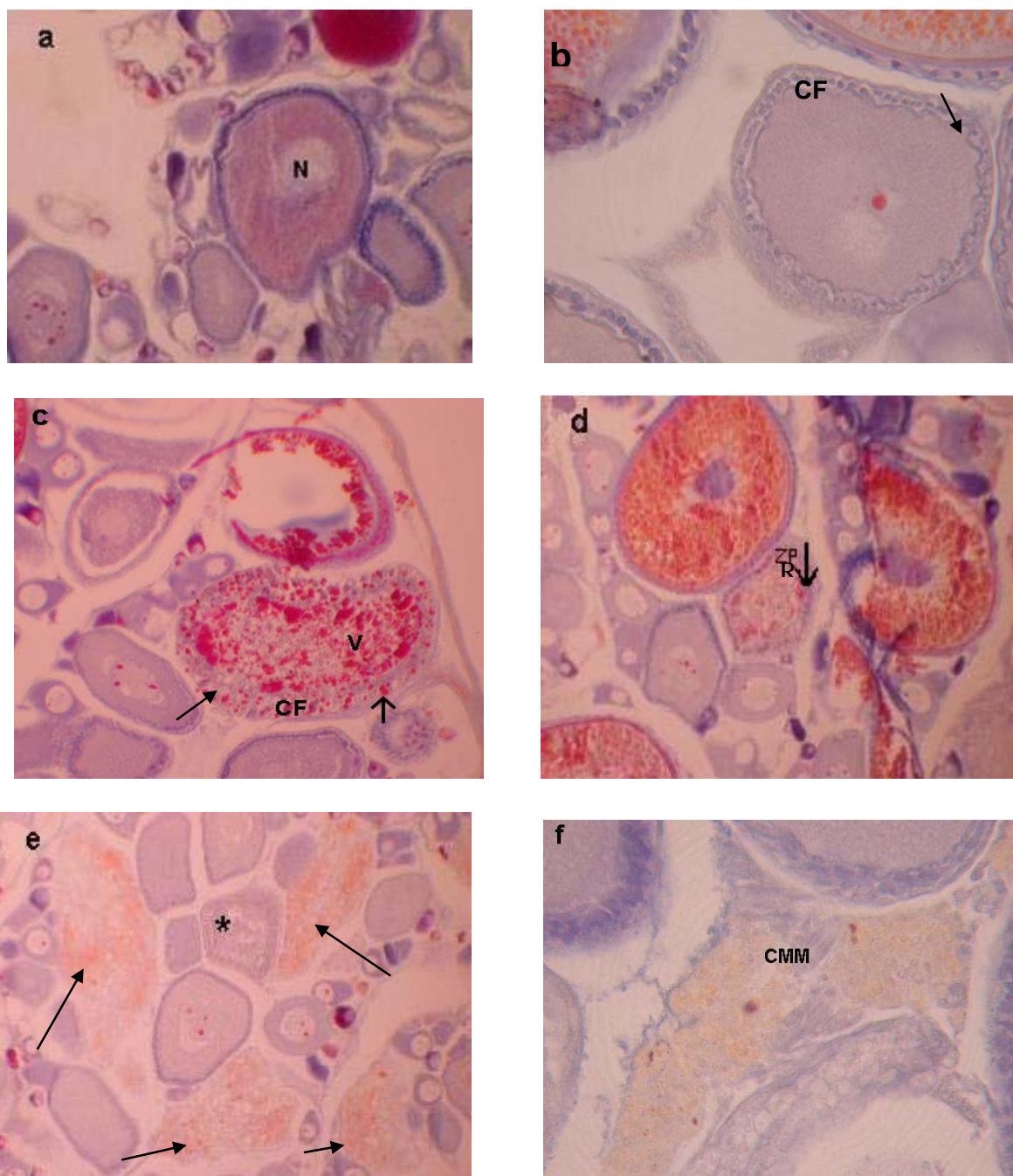


Fig.1. Secciones histológicas de ovarios donde se aprecian oocitos en diferentes estadios de la atresia. 1a: estadio inicial de la atresia en un oocito vitelogénico, se observa núcleo (N) en estado avanzado de degradación (10x). 1b: estadio inicial de la atresia en un oocito no vitelogénico (40x). La zona radiata (ZR) muestra cierto ondulamiento (flecha) y las células foliculares (CF) aparecen hipertrofiadas (CF). 1c: estadio intermedio de la atresia (10x); se observan algunos gránulos de vitelo (V) en las células foliculares (flechas). 1d: estadio intermedio de la atresia más avanzado que el 1c (10x); se muestra la desintegración parcial de la zona radiata (flecha). 1e: estadio final de la atresia. Reabsorción completa de la zona radiata y de las células foliculares (10x) apuntados con las flechas negras. Oocito atrésico no vitelogénico (asterisco). 1f: estadio final de la atresia con la presencia del centro melanomacrofágico (CMM, 40x).

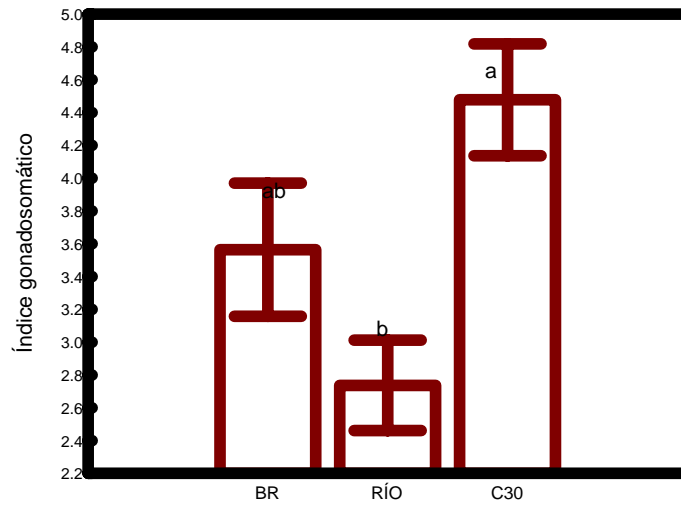


Fig. 2. Valores medios y error estándar de la media del IGS para cada sitio de muestreo (BR: Boya Roja; RIO: desembocadura del río Almandares; C30: Calle 30).

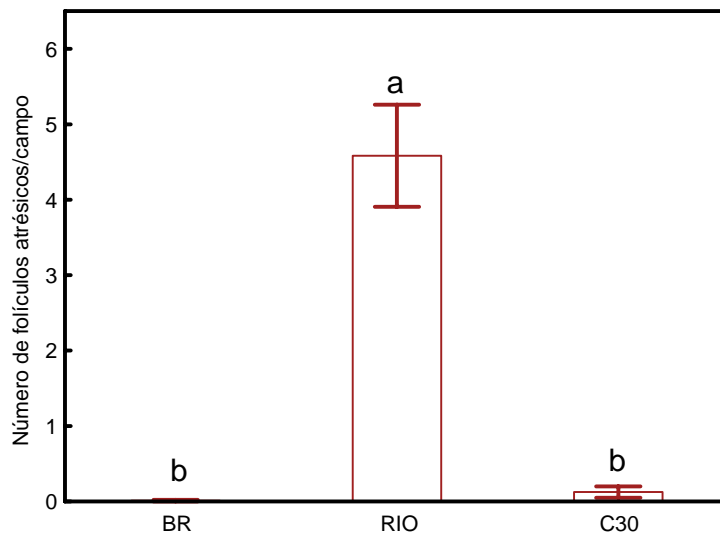


Fig. 3 Valor medio y error estándar del número de folículos atrésicos por campo en los tres sitios de estudio (BR: Boya Roja; RIO: desembocadura del río Almandares; C30: Calle30).

describen cuatro estadios de la atresia para las especies *Leporinus reinhardti*, *Astyanax bimaculatus lacustris* y *Engraulis mordax*, respectivamente. Estos se corresponden con el estadio inicial, intermedio, avanzado y final. Miranda *et al.* (1999) observaron características fundamentales en el estadio final de la atresia como la presencia de granulocitos y fragmentación de la membrana basal (estructura ubicada entre la capa de células foliculares y la teca) en las especies *Leporinus reinhardti* y *Astyanax bimaculatus lacustris*. Esto fue imposible de observar en este trabajo, dada la imposibilidad de utilizar microscopia electrónica.

Considerando que en el estadio final sólo se pudo observar los cuerpos melanomacrofágicos, se decidió unirlos con el avanzado y se llamó "final".

Los primeros signos de la atresia corresponden a la hipertrofia de las células foliculares, seguida de la fragmentación o pérdida de la zona radiata y núcleo irregular o ruptura de la envoltura nuclear en oocitos vitelogénicos. Esto coincide con lo descrito por otros autores en otras especies (Hunter y Macewicz, 1985; Mayer *et al.*, 1988; Rizzo y Bazzoli, 1995; Linares-Casenove *et al.*, 2002).

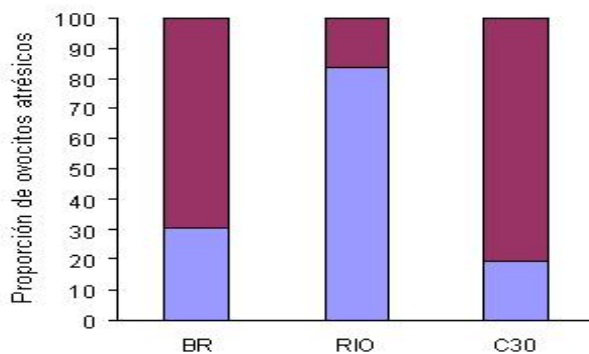


Fig.4. Proporción de oocitos atrésicos calculados para cada sitio (BR: Boya Roja; RIO: Almendares; C30: Calle30). ■ No vitelogénicos ■ Vitelogénicos

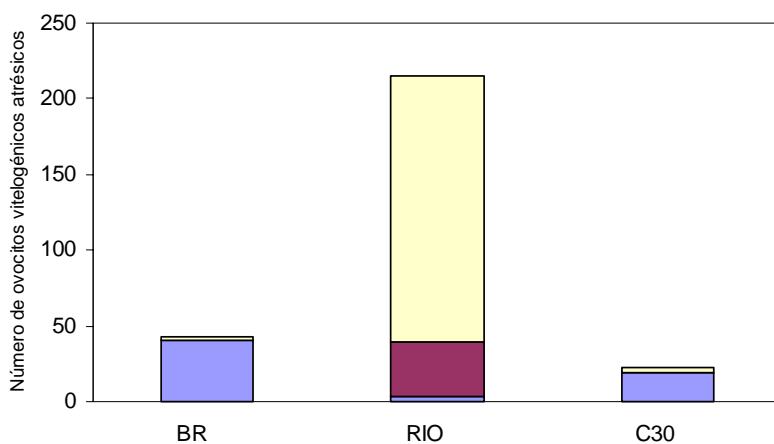


Fig. 5. Número de oocitos vitelogénicos atrésicos, calculado para cada sitio de muestreo (BR: Boya Roja; RIO: desembocadura del río Almendares; C30: Calle 30). ■ Estadio final ■ Estadio intermedio ■ Estadio inicial.

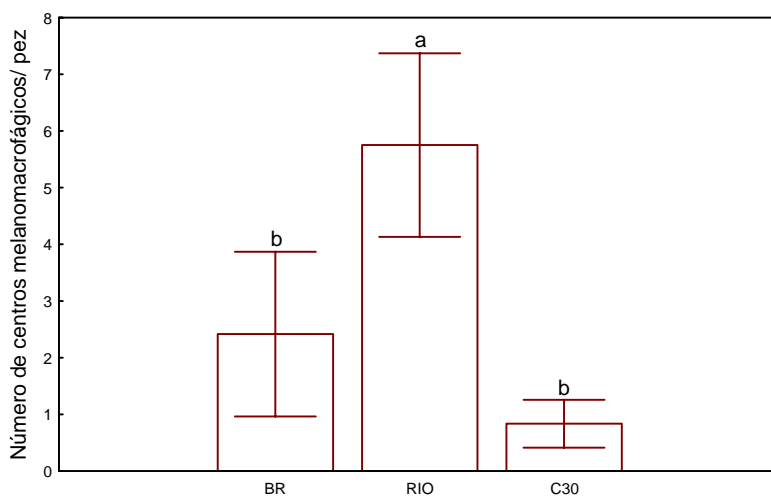


Fig. 6. Valor medio y error estándar de los centros melanomacrofágicos en los sitios de muestreo. (BR: Boya Roja; RIO: desembocadura del río Almendares; C30: Calle 30).

Los valores bajos del IGS de los individuos que habitan en RIO, se corresponden con el elevado número de oocitos atrésicos encontrados. Al realizar el SNK para los valores de este índice, no se pudo verificar que las diferencias entre los sitios estudiados fueran significativas debido a la superposición de los grupos de medias. Es posible que el número de observaciones no sea suficiente para detectar estas diferencias. Se ha planteado que el IGS es particularmente útil para evaluar el estado de la salud reproductiva de los peces (Corsi *et al.*, 2003). Este índice se puede ver afectado por la presencia de determinados compuestos en el medio acuático que en dosis pequeñas contribuyen a la disminución del tamaño de la gónada y disminuyen el IGS. Entre estas sustancias podemos citar el cadmio (Sing, 1989), el plomo (Thomas, 1988) y el amonio (Dey y Bhattacharya, 1989).

Un resultado importante fue la verificación de diferencias significativas en cuanto a la incidencia de oocitos atrésicos en los sitios estudiados. Son numerosos los factores que causan la atresia. Estos incluyen la presencia de biocidas, cambios de temperatura, hambruna, fotoperiodo (Guraya, 1986) y estrés (Linares-Casenave *et al.*, 2002). En este caso, la mayor incidencia de oocitos atrésicos en RIO pudiera deberse a la agresividad de determinados compuestos en el ambiente marino. Morales *et al.* (1995), encuentran concentraciones más altas de nitritos y nitratos al Este del río. El amonio también resultó más abundante cerca del río y de la bahía, lo cual evidencia procesos de eutrofización. Los efectos son mucho más agresivos en RIO que en BR. Esto pudiera deberse a la presencia de determinadas industrias adyacentes al río Almendares que vierten al agua cantidades no determinadas de diversos compuestos como el cloro, que al llegar al agua, pudiera contribuir a la formación de compuestos organoclorados (dioxinas) que son considerados como disruptores endocrinos que afectan la función reproductiva en los peces (Munkittrick *et al.*, 1994; Newman, 1998).

La atresia de los oocitos vitelogénicos aparece como parte del proceso reproductivo (Ball, 1960). Al final del desove un 2-10% de los oocitos vitelogénicos dejan de experimentar el proceso de ovulación/ maduración, para sufrir un proceso de degeneración y reabsorción convirtiéndose en oocitos atrésicos (Mayer *et al.*, 1988). Esta puede ocurrir en cualquier estadio de desarrollo de los oocitos aunque es más común encontrarlo durante la vitelogénesis y las fases postovulatorias de la

maduración (Cinquitti y Renaldi, 1987). En RIO se observó una incidencia de atresia mayor de lo normal, en oocitos vitelogénicos y un elevado número de folículos atrésicos vitelogénicos en estadio final. En los otros dos sitios, la aparición de folículos atrésicos vitelogénicos es significativamente menor (la mayor incidencia fue en folículos no vitelogénicos). Existe una variedad de compuestos químicos en el ambiente acuático que pueden interferir con el control hormonal, en la diferenciación sexual y reproducción del pez (Kime, 1998).

Por último, se observó un incremento de centros melanomacrofágicos o cuerpos amarillos en RIO. El origen, función y destino de los centros melanomacrofágicos permanecen confusos (Antoneli, 2004). Grier y Taylor (1998) plantean que las grandes cantidades de centros melanomacrofágicos se debe al incremento del número de folículos atrésicos, lo cual se ajusta a los resultados encontrados en nuestra investigación.

En resumen, existen evidencias de que el desarrollo gonadal está muy afectado en RIO. En este sitio se encuentran los mayores índices de atresia y de centros melanomacrofágicos, lo cual se puede considerar como un reflejo de las condiciones ambientales degradadas. *Stegastes partitus* puede ser usada como indicadora de procesos que pudieran estar ocurriendo en otras especies que están siendo consumidas por el hombre.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dra. Fernanda Lo Nostro por su gran ayuda en la identificación de las fotos.

REFERENCIAS

- Adams, M.S. (1990): Status and use of biological indicators for evaluating the effects of stress on fish. In biological indicators of stress in fish (S. Adams, ed.) *Americ. Fish. Soc. Symp.* 8. *Bethesda Maryland*: 1-8.
- Aguilar, C. y G. González-Sansón (2000): Influencia de la contaminación de la Bahía de La Habana (Cuba) sobre las asociaciones de peces costeros. 1. Abundancia y diversidad. *Rev. Invest. Mar.* 21(1-3): 60-70.
- Aguilar, C., G. González-Sansón, E. de la Guardia, A.M. Suárez, J. Trelles y J. Angulo (2000): Inventario de los componentes más comunes de la flora y la fauna del arrecife de coral costero de la Caleta de San Lázaro, región noroccidental de

- Cuba, en el período de 1996 a 1998. *Rev. Invest. Mar.* 21(1-3): 53-59.
- Antoneli, F. (2004): Papel dos melanomacrógagos na inversão de sexo em *Synbranchus marmoratus* (Teleostei, Synbranchiformes, Synbranchidae). Brasil, Universidad Estatal de Campinas, *Trabajo de Diploma*, 70 pp.
- Ball, J. (1960): Reproduction in female bony fished. In hormones in fish I. *Symposium of the zoological society of London*. No 1: 105-137.
- Beltrán, J., A. Martín y H. Mancebo (2000): Control y evaluación de la calidad ambiental de la bahía de La Habana y el litoral adyacente. Ministerio de Ciencia, Tecnología y medio Ambiente, CIMAB, Cuba, 5 pp.
- Borroto, J.P. (2000): Modelo de calidad del agua en el Río Almendares. *Informe final de proyecto*. ISCTN: 3 pp.
- Bresch, H. (1982): Investigation of the long-term action of xenobiotics of fish with special reference to reproduction. *Ecotox. Env. Saf.* 6: 102-112.
- Bruslé, J., S. Bruslé-Sicard and B. Fourcault (1998): Gonads of groupers (Serranidae) from Mururoa and Hao (French Polynesia) used as indicators of the quality of the coral reef environmental: Histological and ultrastructural aspects. *Cybium* 22(4): 371-382.
- Caley, M.J. (1995): Community dynamics of tropical reef fishes: Local patterns between latitudes. *Mar. Ecol.* 129: 17- 18.
- Chellapa, S., F.A. Huntingford, R.H. Strang and R.Y. Thomson (1999): Condition factor and hepatosomatic index as estimates of energy status in male tree spined sticklebac. *J. Fish Biol.* 47: 775- 787.
- Cinquitti, R. and L. Renaldi (1987): Changes in the gonadal histology of *Padagogobius martensi* (Pisces Gobiidae) during the reproductive cycle. *Bull. Zool.* 54 : 233-241.
- Corsi, I., M. Mariottini, C. Sensini, L. Lancini and S. Focardi (2003): Cytochrome P450, acetylcholinesterasa and gonadal histology of evaluating contaminant exposure levels in fishes from a highly eutrophic brackish ecosystem: Orbetello Lagoon, Italy. *Mar. Pollution Bull.* 46: 203-212.
- Dey, S. and S. Bhattacharya (1989): Ovarian damage to *Channa punctatus* after chronic exposure to low concentrations of elsan, mercury and ammonia. *Ecotox.. Env. Saf.* 17: 247- 257.
- González-Sansón, G., C. Aguilar, J. Angulo y C. González (1997): Variación espacial y estacional de la ictiofauna en un arrecife de coral costero de la región noroccidental de Cuba. II. Diversidad. *Rev. Invest. Mar.* 18(3): 233-241.
- Guardia, E. y G. González-Sansón (2000): Asociaciones de corales, gorgóneas y esponjas del sublitoral habanero al oeste de la bahía de la Habana I: Gradiente ambiental. *Rev. Invest. Mar.* 21(1-3): 1-8.
- Guardia, E., P. González y J. Trelles (2001): Macrobentos del arrecife coralino adyacente al Río Almendares, Habana Cuba. *Rev. Invest. Mar.* 22(3): 167-178.
- Grier, H.J. y R.G. Taylor (1998): Testicular maturation and regression in the common snook. *J. Fish Biol.* 53: 521-542.
- Guraya, S.S. (1986): Follicular (or oocyte) atresia. *En: The Cell and Molecular Biology of Fish Oogenesis* (Sauer, H.W., ed), Basel: Karger, pp: 169-180.
- Hunter, J. and B. Macewicz (1985): Rates of atresia in the ovary of captive and wild northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fish. Bull.* 83(2): 119-136.
- Jobling, S., N. Beresford, M. Nolan, T. Rodgers-Gray, G. C. Brighty, J. Sumpter and C. Tyler (2002): Altered sexual maturation and gamete production in wild Roach (*Rutilus rutilus*) living in rivers that receive treated sawage effluents. *Biol. Reproduction* 66: 272-281.
- Kime, D. (1995): The effects of pollution on reproduction in fish. Review in fish *Biol. Fish.* 5: 52-96.
- Kime, D.E. (1998): *Disruption of liver function*. In: *Endocrine disruption in fish*. Kluwer Academic Publishers, Boston, Dordrecht, London, pp: 201-246.
- Linares-Casenave, J., J. Van Eenennaam and S. Doroshov (2002): Ultrastructural and histological observations on temperatura-induced follicular ovarian atresia in the white sturgeon. *J. Appl. Ichthyol.* 18: 382-390.

- Mayer, I., S. Shackley and J. Ryland (1988): Aspects of the reproductive biology of the bass, *Dicentrarchus labrax* L.I. An histological and biochemical study of oocyte development. *J. Fish Biol.* 33: 609-622.
- Miranda, A., N. Bazzoli, E. Rizzo and Y. Sato (1999): Ovarian follicular atresia in two teleost species: a histological and ultraestructura study. *Tissue & Cell* 31(5): 480-488.
- Morales, A., H. Rondon, D. López, G. Díaz, L. Rubiera y A. Cervato (1995): *Estudios de las causas que originan las penetraciones del mar en el malecón habanero y principales características hidroquímicas y dinámicas de las aguas del litoral*. Informe Científico Técnico. Especialidad de Oceanografía. Proyecto: Malecón Habanero (mayo 1995). GeoCuba, Estudios Marinos, 42 pp.
- Munkittrick, K.R., G.J. Van Der Kraak, M.E. Mc Master, C.B. Pratt, M.R. Van Den Hewvel and M.R. Serous (1994): Survey of receiving water environmental impacts associated with discharges from pulp mills. Gonad size, liver size, hepatic erod activity and plasma six steroid levels in white sucker. *Env.Toxicol. Chem.* 13 (7): 1089- 1101.
- Newman, M.C. (1998): *Fundamentals of ecotoxicology*. Lewis publishers. USA: 103- 163.
- Pantin, C.F.A. (1962): *Notes on Microscopical Techniques for Zoologists*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Rizzo, E. and N. Bazzoli (1995): Follicular atresia in curimatá- pioa *Prochilodus affinis* Reinhar dt,1874 (Pisces Characiformes). *Rev. Brasil Biol.* 55: 697-703.
- Sing, H. (1989): Interaction of xenobiotics with reproductive endocrine functions in a protogynous teleost, *Monopterus albus*. *Mar. Env. Res.* 28: 285-289.
- Thomas, P. (1988): Reproductive endocrine function in female Atlantic croaker exposed to pollutants. *Mar. Env. Res.* 24: 179-183.
- Zar, J.H. (1996): *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, New Jersey, 3ra Ed.; 662p.

Aceptado: 23 de abril del 2009