

EFECTO DEL PESTICIDA CARBOFURANO EN OVARIO DE TENCA (*Tinca tinca* L.): ENSAYO DE EXPOSICIÓN CONTINUADA

D. Hernández Moreno^{1*}, M. Pérez López¹, V. Roncero Cordero², F. Soler Rodríguez¹, T.J. Roy Pérez³.

Unidades de ¹Toxicología, ²Anatomía Patológica y ³Reproducción.
Facultad de Veterinaria de Cáceres. Avda de la Universidad s/n. 10071 Cáceres.
*e-mail: davidhm@unex.es

Resumen

El presente estudio se llevó a cabo a fin de evaluar la influencia del carbofurano (CF), un plaguicida n-metil carbamato, sobre la gónada femenina de tenca (*Tinca tinca* L). Se realizó un ensayo experimental de exposición continuada durante 40 días a concentraciones no letales de CF utilizando tencas distribuidas en tres tanques en base a grupo control (C, n=15) y grupos de animales expuestos a CF a concentraciones de 10 mg/l (D1; n=12) y 100 mg/l (D2, n=12). A intervalos de 10 días se realizó el sacrificio de tres individuos de cada grupo. Tras la obtención de los datos del peso corporal se procedió a la extracción y pesaje de las gónadas, con posterior fijación y procesado de las mismas para su estudio histológico.

El índice gonadosomático (GSI) de los peces controles se incrementó progresivamente, mientras que en los peces expuestos este GSI no se modificó significativamente, e incluso manifestó una disminución al final de la experiencia. Las observaciones histológicas de los ovarios revelaron la presencia de un mayor número de oocitos alterados en los grupos D1 y D2, siendo la atresia, degeneración, vacuolización, retracción citoplasmática y nuclear las principales lesiones evidenciadas en las hembras sometidas al efecto tóxico de CF.

Palabra clave: carbofurano, plaguicida, pez, ovario, tenca.

Abstract: Effect of the pesticide Carbofuran on tench (*Tinca tinca* L.) ovary: Assay of continuous exposition. The present study was developed in order to evaluate the influence of carbofuran (CF), a n-methyl-carbamate pesticide, on tench (*Tinca tinca* L.) female gonad. An experimental assay of 40-days continuous exposition was realized, with no-lethal carbofuran concentrations, and by using tenchs distributed in three sinks according to the following distribution: control group (C, n=15), and CF-exposed animals to concentrations of 10 mg/l (D1, n=12) and 100 mg/l (D2, n=12). Each 10

days, three individuals of each group were scarified. After measuring body weight, gonads were dissected and weighed, and lately were fixed and processed for their histological study.

The gonado-somatic index (GSI) of control fish showed a progressive increasing all along the experience, whereas in exposed animals this GSI did not show any significant modification, and even tended to decrease at the end of the experience. The histological examination of ovaries revealed altered oocytes of D1 and D2 groups, with atresia, degeneration, vacuolization, and both cytoplasmic and nuclear retraction as main modifications in females submitted to the toxic effect of CF.

Keywords: carbofuran, pesticide, fish, ovary, tench.

Introducción.

Las descargas indiscriminadas a los ecosistemas acuáticos de plaguicidas a partir de las actividades agrícolas, los efluentes industriales u otras fuentes antropogénicas, pueden afectar a organismos no diana de estos agentes químicos, provocando graves pérdidas económicas y ecológicas tanto a los seres humanos como al conjunto del medio ambiente (Adhikari *et al.*, 2004). Uno de estos agentes potencialmente peligrosos es el Carbofurano (2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-benzofuranil metilcarbamato) (CF). Se trata de un plaguicida sistémico, perteneciente a la familia de los carbamatos, utilizado como insecticida, acaricida y nematocida de amplio espectro (Gupta, 1994) en gran cantidad de actividades agrícolas y ganaderas. Diversos estudios han aportado evidencias sobre la toxicidad del CF en peces de ensayo expuestos oralmente a este plaguicida (Adhikari *et al.*, 2004; Dembélé *et al.*, 2000), si bien son escasos los que aportan resultados sobre sus efectos sobre las gónadas como disruptor endocrino (Chatterjee *et al.*, 1997; Ram *et al.*, 2001; Chandra *et al.*, 2004) y hasta la fecha ninguno ha sido realizado en la Tenca (*Tinca tinca* L), una especie característica de los cursos fluviales y aguas retenidas de los climas mediterráneos.

En este sentido, los trabajos más reciente en Toxicología parecen mostrar que el análisis detallado de las alteraciones histológicas provocadas por los más diversos xenobióticos en la estructura de los órganos reproductores puede ser una valiosa herramienta para identificar cuáles de estos potenciales contaminantes ambientales pueden desarrollar sus efectos deletéreos como posibles disruptores endocrinos (Van Der Ven *et al.*, 2003; Wolf *et al.*, 2004).

Siendo la tenca un recurso autóctono de primera magnitud en la acuicultura regional de Extremadura y por todo lo anteriormente expuesto, el objetivo del presente trabajo ha sido el investigar los efectos de concentraciones no letales de CF en la reproducción de tencas, recurriendo para ello al estudio histológico de la gónada femenina y a la evolución del índice gonadosomático (GSI).

Material y Métodos

Tras un periodo inicial de aclimatación de los animales de 10 días, se realizó un ensayo experimental de exposición continuada durante 40 días a concentraciones no letales de CF utilizando tencas distribuidas en tres tanques de 160 litros, de acuerdo a la siguiente distribución:

- Grupo C, control (n=15)
- Grupo D1, expuesto a una concentración de CF de 10 µg/l (n=12)
- Grupo D2, expuesto a una concentración de CF de 100 µg/l (n=12)

A intervalos regulares de 10 días tres individuos aleatorios de cada grupo establecido fueron anestesiados con una solución de Tricaino-metano-sulfonato (MS-222; Aldrich Chemical Company). Tras la obtención de los datos del peso corporal, se realizó el sacrificio de los animales, procediendo a la extracción y pesaje de las gónadas, y calculando posteriormente el índice gonadosomático (GSI) de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{GSI} = [\text{peso gónada (g)} / \text{peso corporal (g)}] \times 100$$

Para el estudio histológico los ovarios fueron fijados en una solución de glutaraldehído al 5 % en tampón fosfato 0'1 M, pH 7'2 durante 24-48 horas, deshidratados en un gradiente ascendente de series de etanol e incluidos en parafina. Posteriormente los cortes histológicos de 5 µm fueron montados en portaobjetos, secados al aire y teñidos con hematoxilina-eosina (H-E) para su examen estructural, utilizando a tal fin un fotomicroscopio Nikon-Optiphop con cámara fotográfica acoplada Nikon FX-35 A.

Resultados y Discusión

El índice gonadosomático (GSI) de los peces controles se incrementó progresivamente a lo largo de toda la experiencia, mientras que en los peces expuestos al plaguicida este GSI no se modificó significativamente, e incluso manifestó una disminución al final de la experiencia (Figura 1).

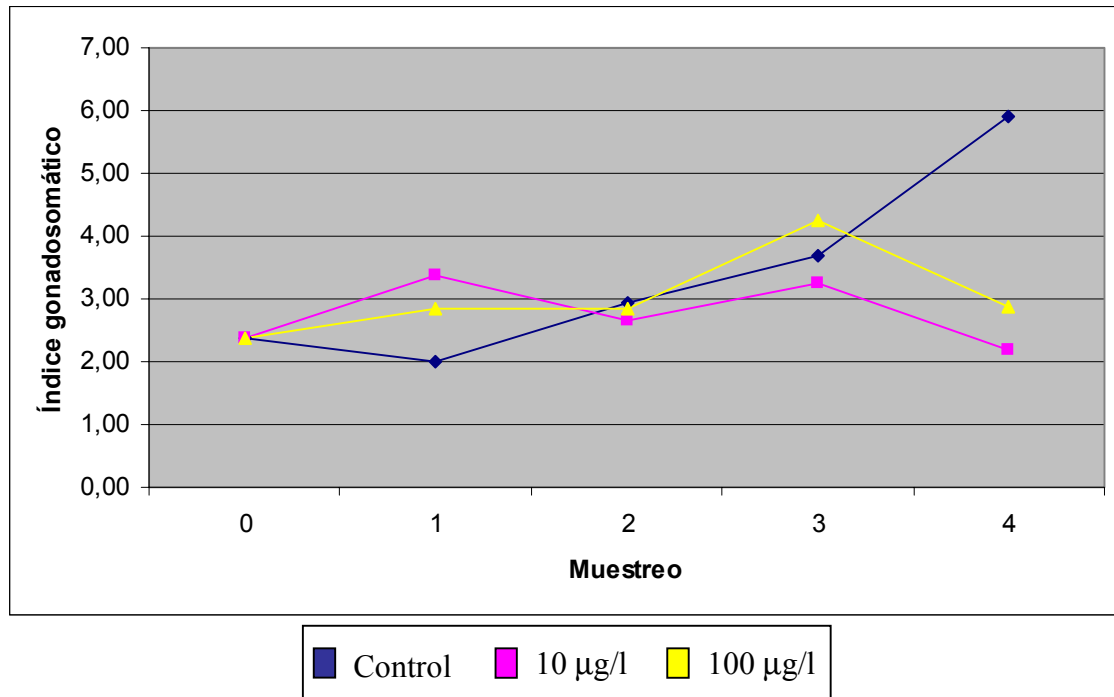


Figura 1. Evolución del Índice Gonadosomático a lo largo de la experiencia.

A la hora de interpretar los resultados del examen histopatológico, conviene tener en consideración que la principal característica morfológica de normalidad en un ovario de tenca sexualmente activo es la presencia de un rango completo de oocitos en las diferentes etapas de maduración (oogonias, oocitos previtelogénicos y maduros o vitelogénicos (Chandra *et al.*, 2004), tal como se observa en la Imagen 1A. Este hecho indica el desarrollo folicular y la vitelogénesis, siendo el predominio de oogonias y oocitos inmaduros lo que caracteriza a un ovario no desarrollado (Imagen 1B).

Dicho patrón histológico mostraron las gónadas de los grupos de tencas control, con mayor o menor grado de desarrollo, a lo largo de los consecutivos días de muestreo. En contraste con estos datos, las observaciones histológicas de los ovarios de los grupos tratados D1 y D2 revelaron la presencia de un incremento en el número de oocitos alterados, siendo la severidad de los cambios degenerativos más pronunciada con el aumento de la concentración del plaguicida (Imágenes 2A y 2B). Este hecho se relacionaría con las alteraciones observadas en estudios similares centrados en otras especies piscícolas, donde se ha podido comprobar que en los animales expuestos los ovarios mostraron un intenso retardo en el desarrollo y crecimiento, evidenciado con un

marcado descenso del GSI y la predominancia de oocitos inmaduros con degeneración nucleocitoplasmática de magnitud variable (Chandra *et al.*, 2004).

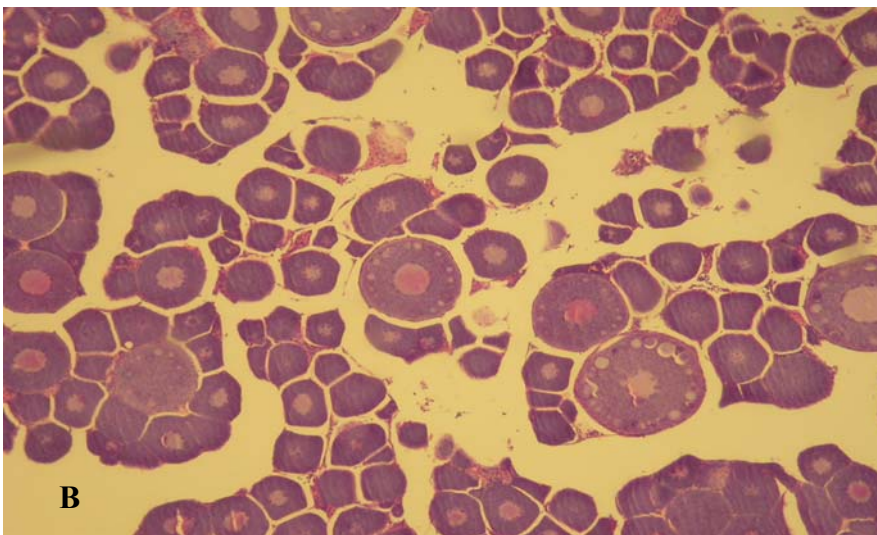
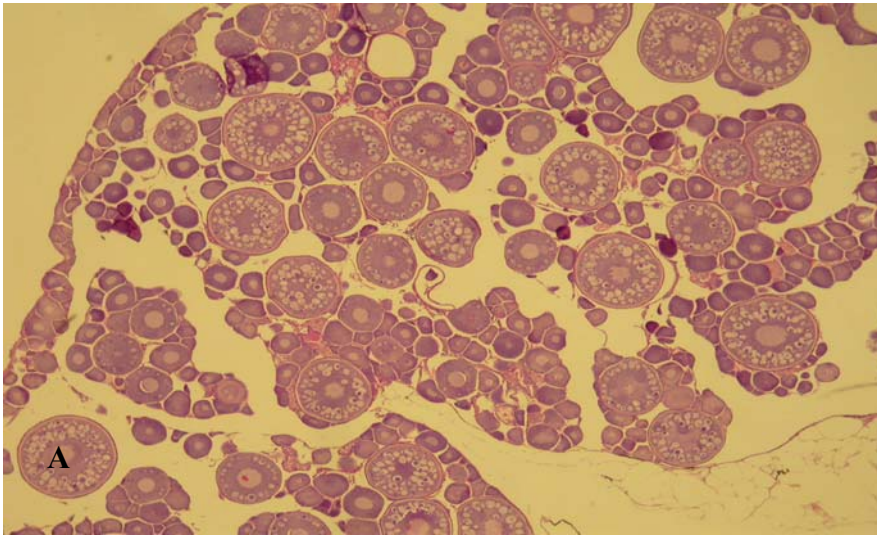


Imagen 1. *A) Ovario normal desarrollado de tenca control (H-E, x 4). B) Ovario normal poco desarrollado de tenca control (H-E, x10).*

Las principales lesiones evidenciadas en las hembras sometidas al efecto tóxico de CF fueron la atresia (Imagen 3A), degeneración, presencia de folículos vacíos, retracción citoplasmática (Imagen 3B) y retracción nuclear (Imagen3C).

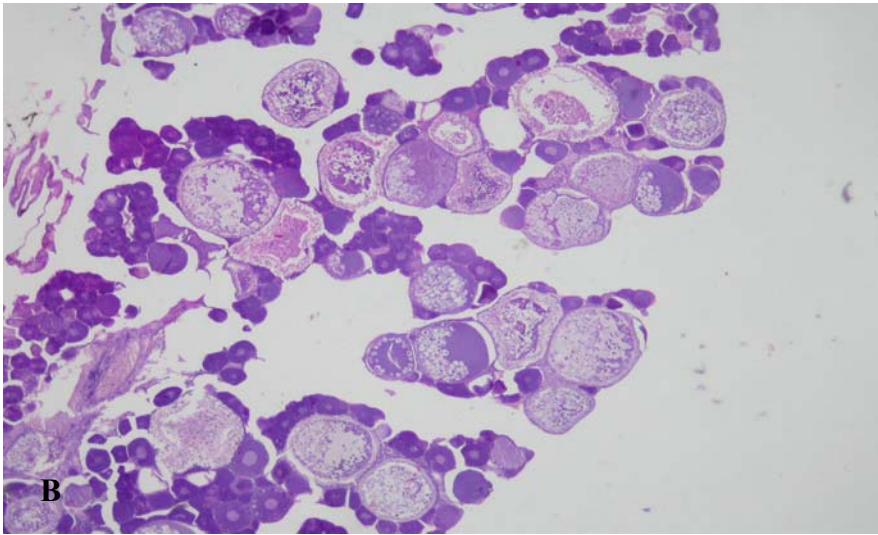
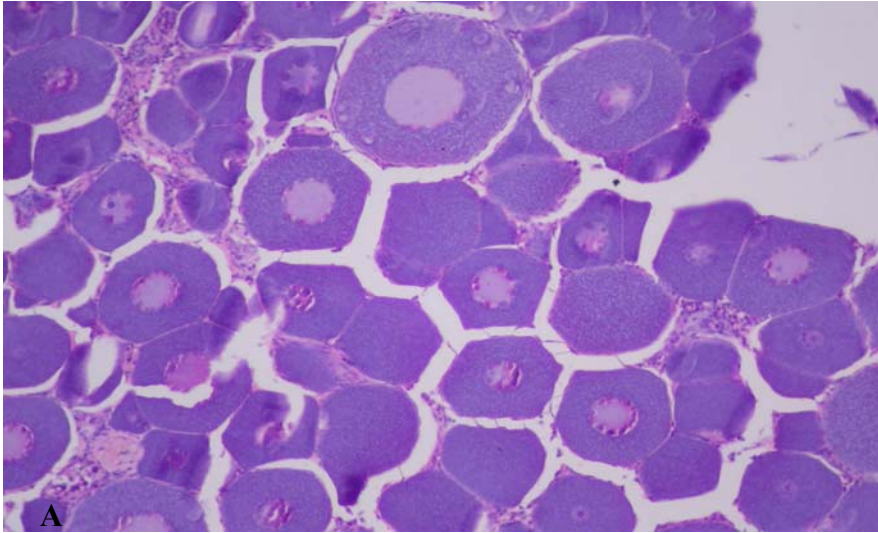


Imagen 2. *A) Ovario alterado con oocitos anucleados (H-E, x20). B) Ovario alterado desarrollado de tenca del grupo D2 (H-E, x20).*

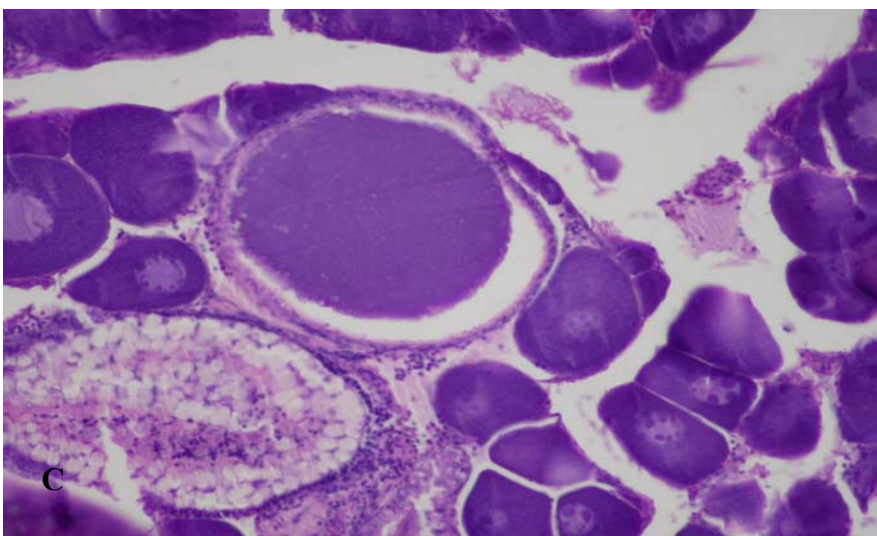
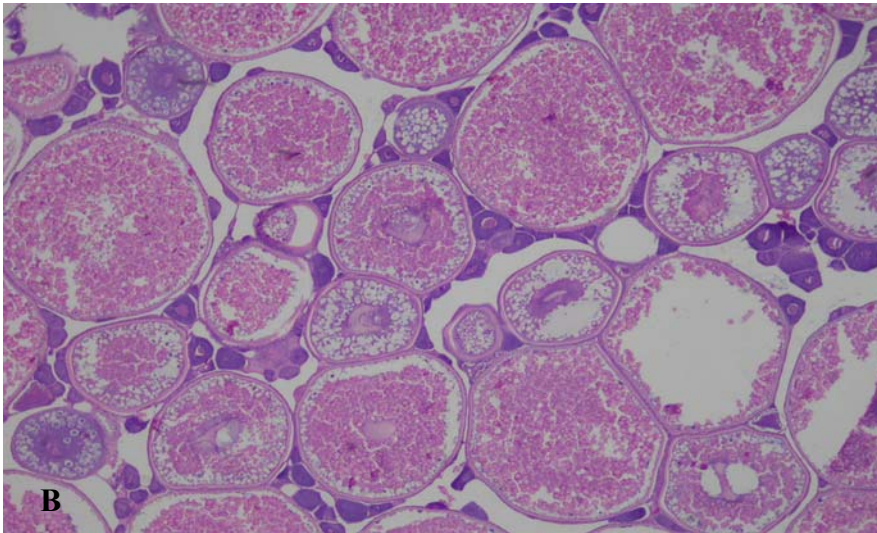
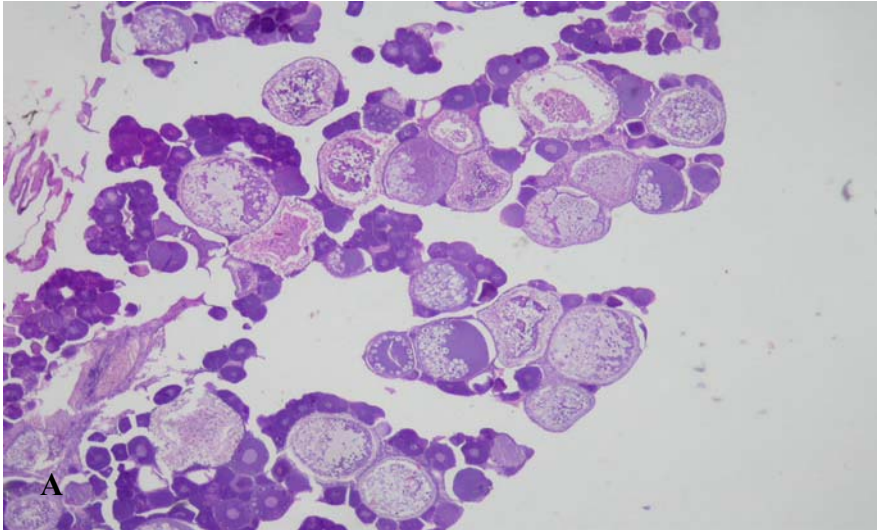


Imagen 3. *A) Oocitos de tenca atrésicos y degenerados (H-E, x20). B) Oocito vacío, retracción citoplasmática, (H-E, x20). C) Oocito con retracción nuclear (H-E, x40).*

Conclusiones

Las observaciones derivadas del análisis histológico sugieren que el plaguicida Carbofurano es capaz de inducir cambios morfológicos degenerativos en el ovario incluso a bajas concentraciones no letales. Dichas modificaciones a nivel celular del órgano en cuestión pueden ser indicativas del efecto adverso sobre la reproducción de la hembra.

Éstos son los primeros hallazgos que se presentan en la tenca (*Tinca tinca* L.), lo que nos motiva a seguir investigando en los mecanismos de acción del CF como disruptor endocrino.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a la Junta de Extremadura, que financió la realización del presente estudio a través del proyecto 2PR04A021.

Bibliografía

- Adhikari S., Sarkar B., Chatterjee A., Mahapatra C.T., Ayyappan S. (2004). Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 58: 220–226.
- Chandra S., Ram R.N., Sing I.J. (2004). First ovarian maturity and recovery response in common carp, *Cyprinus carpio* after exposure to carbofuran. *J. Environ. Biol.* 25(3): 239-249.
- Chatterjee S., Dutta A.B., Ghosh R. (1997). Impact of carbofuran in the oocyte maturation of Catfish, *Heteropenustes fossilis* (Bloch). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 32(4): 426-430.
- Dembélé K., Haubruge E., Gaspar C. (2000). Concentration effects of selected insecticides on brain acetylcholinesterase in the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 45: 49-54.
- Gupta R.C. (1994). Carbofuran toxicity. *J. Toxicol. Environ. Health.* 43(4): 383-418.
- Ram R.N., Singh I.J., Singh D.V. (2001). Carbofuran induced impairment in the hypothalamo-neurohypophyseal-gonadal complex in the teleost, *Channa punctatus* (Bloch). *J. Environ. Biol.* 22(3): 193-200.

- Van Der Ven L.T., Wester P.W., Vos J.G. (2003). Histopathology as a tool for the evaluation of endocrine disruption in zebrafish (*Danio rerio*). *Environ. Toxicol. Chem.* 22(4): 908-913.
- Wolf J.C., Dietrich D.R., Friederich U., Caunter J., Brown A.R. (2004). Qualitative and quantitative histomorphologic assessment of fathead minnow *Pimephales promelas* gonads as an endpoint for evaluating endocrine-active compounds: a pilot methodology study. *Toxicol. Pathol.* 32(5): 600-612.