# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Laboratorio de Histología Animal Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia

ESTUDIO MORFOHISTOLÓGICO DEL ENCÉFALO DEL GATUZO MUSTELUS SCHMITTI SPRINGER, 1939 (CHONDRICHTHYES, TRIAKIDAE) EN RELACIÓN A SU ESTILO DE VIDA.



### **ALUMNA: CONTE, ORNELLA**

DIRECTORA DE TESIS: MOYA, ANA CAROLINA

BAHÍA BLANCA, FEBRERO DE 2024



## UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA

# Estudio morfohistológico del encéfalo del gatuzo *Mustelus schmitti* Springer, 1939 (Chondrichthyes, Triakidae) en relación a su estilo de vida.

Tesis de grado presentada como requisito para optar por el grado de Licenciado en Ciencias Biológicas

Directora Dra. Moya, Ana Carolina

**BAHÍA BLANCA** 

Conte Ornella

Alumna Conte, Ornella

ARGENTINA

Febrero 2024

#### **Agradecimientos**

Dedico esta tesis:

- Al departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur por permitir la realización de toda mi carrera, el presente trabajo y por darme la oportunidad de ser ayudante alumna.
- A las instituciones que subsidiaron esta tesis: el Consejo Interuniversitario Nacional (CIN) por haberme otorgado la beca que permitió la realización de esta tesis y a la Secretaría General de Ciencia y Tecnología (SGCyT) de la Universidad Nacional del Sur, a través del PGI 24/B286, dirigido por la Dra. María Constanza Díaz Andrade.
- A Caro y Connie por acompañarme desde el principio y enseñarme siempre con la mayor predisposición.
- Al Lic. Juan Manuel Piscicelli por su valiosa contribución al proporcionarnos ejemplares obtenidos en concursos de pesca. Estos ejemplares fueron fundamentales para llevar a cabo el análisis anatómico del gatuzo.
- A mis amigas de toda la vida, con las que cuento para todo y han estado en cada paso y cada logro.
- A los amigos que me dio la universidad, con los que nunca faltaron las risas, los mates y las tardes interminables de estudio.
- A mi familia que siempre estuvo y esta para apoyarme, animarme e impulsarme a dar siempre lo mejor de mí.
- A todas las personas que me acompañaron en este camino, las que se quedaron y las que no: gracias por cambiarme y hacerme crecer. Siempre van a ser parte de quien soy.

### INDICE

RESUMEN
INTRODUCCIÓN
OBJETIVO GENERAL
OBJETIVOS ESPECÍFICOS
MATERIALES Y MÉTODOS:11
Área de estudio:11
Muestreo y procesamiento del material:11
RESULTADOS:
Bulbos y rosetas olfativas:13
Telencéfalo:14
Diencéfalo:15
Saco vasculoso e hipófisis:15
Mesencéfalo:16
Metencéfalo:16
Mielencéfalo:17
DISCUSIÓN:
CONCLUSIONES:
FIGURAS26
TABLAS
BIBLIOGRAFÍA:

#### **RESUMEN**

Los Condrictios presentan una morfología del sistema nervioso central homóloga a la de los tetrápodos, por lo cual son un excelente modelo para el estudio evolutivo del encéfalo en los vertebrados en relación a hábitats específicos. La morfología del sistema nervioso está estrechamente relacionada con las adaptaciones al entorno. Yopak (2012) estableció dos tipos cerebrales (*cerebrotypes*), observando las variaciones en los tamaños relativos de las distintas regiones del encéfalo. Por un lado, describió el denominado "tipo cerebral asociado a arrecife" (*reef-associated cerebrotype*) y el "tipo cerebral batial" (*bathyal cerebrotype*).

*Mustelus schmitti* es un tiburón pequeño, costero y bentopelágico endémico del Océano Atlántico Sudoccidental. Es una especie explotada por pesquerías comerciales y artesanales que utiliza como área de reproducción y cría el estuario de Bahía Blanca y que actualmente se encuentra catalogada por la IUCN como "en peligro crítico".

El estudio de M. schmitti revela que su encéfalo es similar al de otros Condrictios. En sus órganos olfativos se encontraron alrededor de 40 laminillas primarias en cada roseta olfativa, con una disposición lamelar paralela tipo II. El epitelio olfativo contiene células basales, células de soporte ciliadas, células receptoras olfativas con microvellosidades, células caliciformes e ionocitos. Se observó una reacción positiva de las células caliciformes y las células de soporte a AB pH 2,5 y PAS. En los bulbos olfativos se distinguieron tres estratos: nervioso, glomerular y granular. El telencéfalo, de tamaño mediano, contiene células piramidales, neuronas de pequeño tamaño y células gliales. El quiasma óptico y el núcleo preóptico están bien desarrollados. En el diencéfalo, se identificaron el epitálamo y el hipotálamo, este último asociado anatómica y funcionalmente a la hipófisis y al saco vasculoso. En la hipófisis se encontraron tres lóbulos: neurointermedio, dorsal y ventral, siendo este último localizado en la base del neurocráneo y rodeado de tejido conectivo. Los lóbulos neurointermedio y dorsal presentan células cromófilas y cromófobas. El *tectum* óptico es pequeño, con cuatro capas bien definidas. El cerebelo presenta una capa granular interna, una capa de células de Purkinje y una capa molecular externa. El índice de foliación cerebelosa varía a nivel macro y microscópico. La médula oblonga está bien desarrollada, alargada y tubular, con fibras nerviosas plexiformes.

*Mustelus schmitti* presenta un tipo cerebral "combinado" con características del "tipo cerebral asociado a arrecife" (buen desarrollo del telencéfalo y de los lóbulos del hipotálamo) y del "tipo cerebral batial" (bajo índice de foliación cerebelosa, gran desarrollo de las rosetas olfativas y buen desarrollo de la médula oblonga).

Este trabajo aporta información clave sobre la morfología general del encéfalo, la hipófisis y las estructuras olfativas de *M. schmitti*, permitiendo vincular sus características con los entornos particulares en los que esta especie habita. Este estudio plantea un punto de partida para futuros análisis moleculares más específicos y para avanzar con investigaciones sobre la fisiología de los sistemas nerviosos, endocrinos y sensoriales de los peces.

#### **INTRODUCCIÓN**

Los Condrictios son peces que se caracterizan por poseer un esqueleto cartilaginoso (frecuentemente calcificado), mandíbula bien desarrollada con presencia de dientes duros y escamas placoideas. Constituyen el grupo más antiguo y ecológicamente diverso de peces Gnatostomados y, probablemente, el más exitoso entre ellos, en términos de historia evolutiva. Son un grupo pequeño, con aproximadamente 1250 especies, que habitan todos los océanos del mundo, incluyendo estuarios y ríos y están ampliamente distribuidos, desde aguas costeras hasta mares profundos (Compagno, 1990; Ebert *et al.*, 2013; Cuevas & Michelson, 2023). Exhiben una gran diversidad en cuanto a hábitos alimenticios, reproductivos y de comportamiento (Compagno, 1990; Montero & Austino, 2018), además de sistemas sensoriales complejos, encéfalos relativamente grandes y adaptaciones osmorreguladoras especializadas (Smeets *et al.*, 1983; Klimley, 2013; Rodriguez-Moldes *et al.*, 2020).

La presencia de estos peces se registra desde el Silúrico tardío o principios del Devónico, hace aproximadamente 450 millones de años, hasta la actualidad (Grogan *et al.*, 2012; Coates *et al.*, 2018). La clase Chondrichthyes se agrupa en dos subclases: Holocephali y Elasmobranchii. Esta última comprende a la subdivisión Selacoidea (con 9 órdenes, 34 familias, 105 géneros y 509 especies de tiburones) y a la subdivisión Batoidea (con 6 órdenes, 24 familias, 88 géneros y 630 especies de rayas y chuchos) (Weigmann, 2016). La exitosa historia evolutiva y la diversificación de este grupo pueden atribuirse, en parte, al desarrollo de fertilización interna, viviparidad y de diferentes estrategias reproductivas, que pueden incluir desde la oviparidad hasta la viviparidad y el desarrollo de placentas. Las crías al emerger, ya sea por parición en especies vivíparas o por eclosión en especies ovíparas, se encuentran adaptados al ambiente externo y pueden alimentarse por sí mismos (McMillan, 2007; Grogan *et al.*, 2012; Long *et al.*, 2009).

La gran mayoría de los condrictios desempeñan papeles fundamentales en las cadenas tróficas de los ecosistemas marinos al actuar como depredadores tope. Sus funciones abarcan desde el control del tamaño y dinámica de las poblaciones de especies presas y la conexión de las redes tróficas a través de diversos hábitats, siendo útiles como indicadores de la salud de los ecosistemas (Ruiz-García *et al.*, 2023). A pesar de su importancia, la vulnerabilidad de estos animales se acentúa debido a su lento crecimiento, madurez sexual tardía y baja fecundidad, factores que los hacen particularmente susceptibles a las actividades humanas (Cortés, 2000; Ruiz-García *et al.*, 2023). La pesca, seguida de la pérdida y degradación del hábitat, del cambio climático y la contaminación, representan amenazas significativas para estos peces (Dulvy *et al.*, 2021). La disminución de las poblaciones de Condrictios altera la estructura y el funcionamiento de los ecosistemas marinos, lo que conduce a la pérdida de biodiversidad y productividad (Ruiz-García *et al.*, 2023). Es por esto que, aunque los Condrictios exhiben una gran diversidad y distribución en los ecosistemas marinos, constituyen el grupo de vertebrados más amenazados de ese ecosistema, de los cuales un 37% de las especies se encuentran clasificadas bajo alguna de las categoría de amenaza definidas por la Lista Roja de la Unión

#### Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (Cuevas & Michelson, 2023).

La morfología del sistema nervioso en los peces, está estrechamente relacionada con las adaptaciones al entorno. La diversidad de hábitats acuáticos y los estilos de vida de estos animales han llevado a una variedad de adaptaciones neuroanatómicas que les permiten sobrevivir y prosperar en diferentes condiciones ambientales (Yopak *et al.*, 2007; Yopak, 2012). Los Condrictios presentan una morfología del sistema nervioso central homóloga a la de los tetrápodos, con un *bauplan* del encéfalo en el que se puede distinguir una parte anterior, compuesta por telencéfalo (al cual se unen los bulbos y rosetas olfativas por medio de un pedúnculo) y diencéfalo, una parte media denominada mesencéfalo y una parte posterior conformada por el metencéfalo (cerebelo y aurículas) y el mielencéfalo (médula oblonga o bulbo raquídeo) (Smeets *et al.*, 1983; Mull *et al.*, 2020). Esta característica sitúa a los peces cartilaginosos como excelentes modelos para el estudio evolutivo de los sistemas nerviosos de los vertebrados en relación a hábitat específicos (Yopak, 2012; Collin *et al.*, 2015; Yopak *et al.*, 2019; Rodríguez-Moldes *et al.*, 2020).

El encéfalo de los Condrictios es alargado y se encuentra contenido en el neurocráneo, que lo protege. Está separado de éste por una meninge muy vascularizada, compuesta por una única membrana, denominada comúnmente "meninge primitiva" (Kardong, 1999). El encéfalo y sus estructuras asociadas presentan una organización lineal. En primer lugar, encontramos las estructuras olfativas pares, localizadas en la parte rostro-ventral de la cabeza y en contacto con el agua. Las mismas están formadas por una roseta, un bulbo y un pedúnculo olfatorio, que contacta con el telencéfalo (Ferrando et al., 2016). El telencéfalo está formado por dos grandes hemisferios cerebrales (que varían su tamaño y desarrollo en las distintas especies) y por un telencéfalo impar. El telencéfalo es seguido por el diencéfalo, que se encuentra formado por tres regiones: el epitálamo, el tálamo y el hipotálamo. Asociado al hipotálamo, se encuentra la glándula pituitaria o hipófisis. Este es un órgano endocrino, que consta de dos partes (la adenohipófisis y la neurohipófisis) con distintas funciones y distintos orígenes embriológicos y estructurales. En la mayoría de los peces cartilaginosos, la adenohipófisis se divide en una *pars* intermedia alargada, que se entrelaza con la neurohipófisis para conformar el lóbulo neurointermedio y una pars distalis, que se compone del lóbulo dorsal y de un lóbulo ventral, que puede o no estar presente (Ball & Baker, 1969; Green, 1951; Acher et al., 1999). El mesencéfalo es una región formada por dos estructuras, el tectum óptico en la zona dorsal y el tegmento en la zona ventral. Por otra parte, el cerebelo es una estructura en forma de cúpula que puede presentar distintos grados de circunvoluciones y pliegues según la especie (Yopak et al., 2007; Lisney et al., 2008). Por último, en la parte más caudal del encéfalo, se encuentra la médula oblonga, que es una estructura alargada y muy conservada dentro de los Condrictios (Kardong, 1999; Smeets et al., 1983).

Una amplia variabilidad morfológica del encéfalo se ha documentado, en diferentes especies de peces cartilaginosos, tanto en lo que respecta al tamaño relativo como a la complejidad de las

estructuras encefálicas (Lisney & Collin, 2006; Yopak, 2012; Yopak et al., 2019). Esta variabilidad se ha relacionado con diferentes aspectos, como la filogenia, el hábitat, el tipo de reproducción y la ecología, entre otros (Northcutt, 1989; Rodríguez-Moldes et al., 2020). No obstante, la mayoría de estos estudios se centra en el análisis de los patrones de macroanatomía encefálica y solo unos pocos analizan la organización de la microanatomía para explorar más en profundidad estas relaciones. El análisis histológico complementa los estudios macroanatómicos sobre las vías neuronales, implicadas en una variedad de procesos fisiológicos relacionados con el olfato, la maduración sexual, los modos reproductivos y la selección del hábitat (Northcutt, 1977; Hofmann, 1999; Hofmann & Northcutt, 2012; Camilieri-Asch et al., 2021). Yopak (2012) estableció dos tipos cerebrales (cerebrotypes), observando las variaciones en los tamaños relativos de las distintas regiones del encéfalo. Por un lado, describió el denominado "tipo cerebral asociado a arrecife" (reef-associated cerebrotype), presente normalmente en condrictios bentopelágicos o pelágicos, con encéfalos de gran tamaño, gran desarrollo del telencéfalo y un alto índice de foliación del cerebelo. Por otro lado, definió el "tipo cerebral batial" (bathyal cerebrotype), presente en especies bento-demensales, con encéfalo de pequeño tamaño, un mesencéfalo y una médula oblonga bien desarrollados, un telencéfalo reducido y un cerebelo con baja foliación.

*Mustelus schmitti*, también conocido como gatuzo, es un tiburón costero pequeño, bentopelágico, perteneciente al orden Carcharhiniformes (Fig. 1). De las 8 familias que componen el orden, *M. schmitti* pertenece a la familia Triakidae, que abarca alrededor de 46 especies pertenecientes a 9 géneros. Esta especie es endémica del Océano Atlántico Sudoccidental, distribuyéndose desde Rio de Janeiro, Brasil (22°54´S) hasta Puerto Deseado, en Argentina (47°45´S) (Fig. 2). Se lo encuentra desde aguas costeras, hasta profundidades de 120 metros (Menni, 1985). Frecuenta estuarios, bahías protegidas y golfos para parir y criar (López Cazorla, 1987; Chiaramonte & Pettovello, 2000; Colautti *et al.*, 2010; Molina, 2013). Este tiburón exhibe un comportamiento migratorio, generando una gran preocupación respecto a su conservación, en todo su rango de distribución (Massa *et al.*, 2006; Molina & López Cazorla, 2011).

En cuanto a su reproducción, se describe al gatuzo como una especie vivípara aplacentaria con histotrofía limitada (Galíndez *et al.*, 2010; Orlando *et al.*, 2015), con un ciclo reproductivo anual y una gestación de 11 a 12 meses, teniendo en promedio cuatro crías por camada (1-16 embriones), que nacen a finales de primavera o principios del verano (Cortés, 2007; Chiaramonte & Pettovello, 2000; Sidders *et al.*, 2005; Galíndez *et al.*, 2010; Bernasconi *et al.*, 2022). Como áreas de reproducción y puesta se conocen el estuario de Bahía Blanca, Bahía Anegada en la Reserva de San Blas, Bahía Engaño y Puerto Deseado en la Patagonia (Chiaramonte & Pettovello, 2000; Molina & López Cazorla, 2011).

*Mustelus schmitti* es un carnívoro oportunista, cuya dieta se compone, en ejemplares adultos, de invertebrados bentónicos, principalmente cangrejos, peces y, en menor proporción, isópodos y

poliquetos; mientras que en los estadios juveniles se alimentan principalmente de euphausiáceos, cangrejos e isópodos (Chiaramonte & Pettovello, 2000; Molina & Lopez Cazorla, 2011).

En Brasil, Uruguay y Argentina, *M. schmitti* es explotada por las pesquerías comerciales y artesanales. En Argentina, es la especie de tiburón con mayor frecuencia de captura, concentrándose las mayores abundancias en el ecosistema costero bonaerense, donde operan buques pesqueros que realizan pesca de arrastre multiespecífica (Bernasconi *et al.*, 2022). La presión pesquera, especialmente en zonas de parición y cría, amenazan la supervivencia de la especie, actualmente catalogada como "en peligro crítico" por la IUCN (Pollom *et al.*, 2020).

Los peces cartilaginosos revisten una gran importancia al ser un punto de conexión entre los agnatos y los vertebrados óseos, siendo el primer grupo en exhibir una morfología encefálica homóloga a los tetrápodos. Es por esto que, estudiar la macro y microanatomía del sistema nervioso de los Condrictios no solo amplía nuestro conocimiento fundamental sobre la biología de estas especies, sino que también tiene implicancias importantes para la conservación, el manejo de recursos y la comprensión de la evolución de los vertebrados. Este trabajo tiene como objetivo ampliar y contribuir al conocimiento de la morfología general del encéfalo, la hipófisis y las estructuras olfativas de *M. schmitti*, con el propósito de comprender cómo diversos aspectos de su morfohistología se vinculan, entre otros factores, con los entornos particulares en los que esta especie habita.

#### **OBJETIVO GENERAL**

Aportar nuevos conocimientos sobre la morfología del sistema nervioso central de *Mustelus schmitti*, a partir del estudio anatómico, histológico y citológico del encéfalo y estructuras asociadas, en ejemplares adultos.

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Analizar la anatomía general del encéfalo de *Mustelus schmitti*, incluyendo a las estructuras olfativas (bulbos y rosetas olfativas).

Realizar un estudio morfohistológico de las diferentes regiones que conforman el encéfalo.

Determinar y verificar macro y microscópicamente el índice de foliación cerebelosa.

Caracterizar la morfología de la hipófisis.

Relacionar las características anatómicas y morfohistológicas del encéfalo y las estructuras olfativas, con el hábito de vida de la especie.

Comparar los resultados obtenidos con lo observado en otros elasmobranquios.

#### **MATERIALES Y MÉTODOS:**

#### Área de estudio:

El estuario de Bahía Blanca se encuentra en el sudeste de la provincia de Buenos Aires, extendiéndose desde los 38° 45`y los 35° 10`de latitud Sur, hasta los 61° 45`y los 62° 30`de longitud Oeste (Fig. 3). Constituye un área surcada por abundantes canales entramados que desembocan en el canal principal de navegación. En su costa norte se encuentran ubicados asentamientos urbanos (General D. Cerri, Ingeniero White, Punta Alta y Bahía Blanca) y puertos pesqueros (Cuatreros, Galván, Ingeniero White, Rosales y Belgrano). Por otra parte, en su costa sur se encuentran numerosas islas e islotes, cuyos límites varían según el estado de la marea (IADO-UNS, 2008).

Las mareas tienen un régimen semi-diurno e hiper-sincrónico con una amplitud de 3-3,5 metros (IADO-UNS, 2008). Los estuarios constituyen áreas de transición entre los ambientes marinos y los ambientes de aguas continentales (Perillo & Piccolo, 2004). El estuario de Bahía Blanca se clasifica dentro de los esturios de planicie costera, el cual cumple una función fundamental en la vida y desarrollo de los peces ya que representa un área de alimentación y cría. Es uno de los ambientes protegidos más importantes de la costa de la provincia de Buenos Aires (Perillo, 2004). La ictiofauna se compone aproximadamente de 30 especies correspondientes a 20 familias. Entre las especies presentes, las de mayor interés económico son la pescadilla (*Cynoscion guatucupa*), la corvina (*Micropogonias furnieri*), el gatuzo (*Mustelus schmitti*), el lenguado (*Paralichthys orbignyanus*) y el pejerrey (*Odonthestes argentinensis*) (Lopez Cazorla, 2004).

#### Muestreo y procesamiento del material:

Los ejemplares utilizados para el estudio fueron recolectados de muestreos realizados en el puerto Galván, Tres Brazas y plantas frigoríficas de la región, durante el periodo comprendido entre octubre de 2018 y noviembre de 2022. Los animales fueron obtenidos y manipulados de acuerdo al protocolo de bioética aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CICUAE-BByF-UNS; Res. CDBByF 716).

Para el presente trabajo se seleccionaron siete individuos maduros. Para la determinación del estadio de madurez se siguieron los criterios establecidos por Sthemann (2002) y Serra-Pereira et al. (2011). De cada animal se registró el sexo, la longitud total (LT; mm) y el peso total (PT; g) (Tabla 1).

Una vez obtenidas las muestras, se llevó a cabo la disección del encéfalo y de las estructuras olfativas. En algunos casos, se extrajo el encéfalo junto con la base del neurocráneo para poder extraer la hipófisis completa y determinar la ubicación del lóbulo ventral (Fig. 4 a y b).

Los encéfalos completos se fijaron en formol en solución acuosa al 10% o en solución de Bouin. Ambos fijadores se prepararon con agua de mar filtrada, para evitar cambios de volumen en las muestras debido a variaciones en la osmolaridad de las soluciones. La fijación se llevó a cabo durante aproximadamente 24 horas. En el laboratorio, el material fijado se procesó de acuerdo a las técnicas histológicas de rutina. La deshidratación se realizó en una serie de alcoholes de concentración creciente (70°, 80°, 90°, 95° etílico-butílico (1:1) y butílico). Luego, se procedió a realizar la inclusión en parafina sintética, bajo estufa, a una temperatura constante de 60°. En un primer paso, se llevó a cabo la impregnación de las piezas en un baño de butil-parafina (1:10), durante 3 horas aproximadamente, para reemplazar el alcohol butílico. Luego se realizaron 2 baños en parafina pura, para concluir en la inclusión definitiva y realización del taco. Éstos fueron realizados utilizando anillos de inclusión y prestando particular atención en la orientación de las muestras.

Los tacos fueron cortados en un micrótomo rotatorio Leica RM 2145. Los cortes obtenidos de 5-7 µm de espesor, se montaron sobre portaobjetos previamente albuminados y se dejaron secar en estufa por 24 horas.

A los preparados obtenidos, se les realizaron coloraciones topográficas generales (Tricrómico de Masson y Hematoxilina-Eosina), histoquímicas especiales que permitieron detectar la presencia de glucopolisacaridos neutros y ácidos (reacción del ácido periódico de Schiff (PAS), Alcian Blue pH 2,5 (AB) y PAS-AB) y específicas para tejido nervioso (Nissl).

La observación de los preparados se llevó a cabo en un microscopio óptico Nikon AFM. Las fotografías fueron tomadas con una cámara digital Olympus Camedia wide zoom, Mod. C7070, conectadas a un microscopio óptico Olympus BX 51, así como también con una cámara Leica ICC50W conectada a un microscopio óptico Leica DM500.

Para calcular el índice de foliación cerebelosa se utilizó un método semi-cuantitativo de clasificación visual desarrollado por Yopak *et al.* (2007) (Tabla 2), en el que se evalúa macroscópicamente las foliaciones asignándole un valor de 1 a 5, donde 1 corresponde a cerebelos que presentan superficies lisas y pocos surcos, y 5 a cerebelos con numerosas circunvoluciones y pliegues con surcos profundos. Además de esta evaluación macroscópica, se realizó un análisis microscópico para comparar y validar ambas técnicas.

Para el conteo de laminillas primarias se analizaron las rosetas olfativas, utilizando una lupa para su observación macroscópica y cortes histológicos transversales, de las mismas rosetas olfativas, para su observación microscópica.

#### **RESULTADOS:**

El encéfalo de *M. schmitti* presenta una organización lineal, conformada por cinco regiones, donde, desde rostral a caudal, encontramos: el telencéfalo, diencéfalo, mesencéfalo, metencéfalo (cerebelo y aurículas) y mielencéfalo (médula oblonga) (Figs. 5 a, 5 b y 6). Los bulbos olfativos no se encuentran compactados al encéfalo, sino que están dirigidos hacia adelante, unidos a la región craneal del telencéfalo por medio de los pedúnculos o tractos olfativos (Figs. 5 a y b). Los bulbos olfativos, a su vez, se encuentran estrechamente asociados a las rosetas olfativas, que desembocan en las narinas ventrales (Figs. 7 a y b).

Estructura macroscópica y microscópica del encéfalo y estructuras asociadas:

#### Bulbos y rosetas olfativas:

Las estructuras olfativas son globosas y alargadas, localizadas en cápsulas cartilaginosas a cada lado del encéfalo, las cuales presentan una abertura en la parte rostro-ventral de la cabeza, que conecta con las narinas, permitiendo el contacto directo del epitelio olfativo con el medio externo (Figs. 7 a y b). Cada estructura está compuesta por una roseta, un bulbo y un pedúnculo olfativo. Este último conecta con la región antero-ventral de cada hemisferio cerebral (Figs. 5 a y b). La roseta está conformada por un rafe central que es una estructura de tejido cartilaginoso hialino y aproximadamente 40 lamelas o laminillas primarias (20 de cada lado del rafe), con una disposición paralela, dispuestas en dos filas opuestas ancladas por el extremo proximal al rafe central, formando de esta manera una estructura sacular. Los bordes libres de las laminillas, en lados opuestos del rafe, se acercan entre sí pero no se encuentran (Fig. 7 b). El bulbo continúa a la roseta, presentando una estructura maciza y redondeada de 5 mm de largo y 11,3 mm de ancho, aproximadamente, desde la cual se proyecta el pedúnculo olfativo, muy corto, de una longitud aproximada de 1,5 mm (Figs. 5 a y b).

Histológicamente, toda la roseta olfativa de *M. schmitti* se encuentra cubierta de una cápsula de tejido conectivo, donde se puede observar que la región distal de las lamelas primarias se encuentra adherida a la misma (Figs. 8 a y b). Estas lamelas o laminillas primarias son alargadas, con pliegues o laminillas secundarias sin ramificaciones. Las laminillas primarias se encuentran insertas en el rafe. Las laminillas primarias y los pliegues secundarios están revestidos por un epitelio estratificado cilíndrico ciliado (epitelio olfativo) y por debajo de este, se encuentra una lámina propia de tejido conectivo laxo con numerosos vasos sanguíneos (Figs. 8 d, e y f). El epitelio olfativo presenta los siguientes tipos celulares: células basales (CB), células de soporte ciliadas (CSC), células receptoras olfativas con microvellosidades (CRO), ionocitos (I) y células caliciformes (CC) (Figs. 8 d y e). En la parte inferior, formando la primera capa celular adyacente a la lámina basal, se distinguen las células basales de pequeño tamaño, redondeadas, en proliferación, con núcleos aplanados y un nucléolo conspicuo. Las células de soporte recorren toda la extensión del epitelio y son el tipo celular más

abundante. Las mismas se caracterizan por ser células cilíndricas ciliadas, con núcleos ovalados de disposición apical, con heterocromatina en parches centrales y bordeando la carioteca. La región apical de estas células es positiva para AB pH 2,5 y PAS (Figs. 8 e y f). Las células receptoras olfativas (o neuronas sensitivas) presentan microvellosidades y núcleos redondeados, con un nucléolo evidente. Estas células se ubican en la zona media del epitelio, por debajo de los núcleos de las células de soporte y por encima de las células basales. Las células caliciformes son típicas y reaccionan positivamente para las tinciones de AB pH 2,5 y PAS (Figs. 8 d, e y f). Los ionocitos son células de gran tamaño y alargadas, que atraviesan toda la extensión del epitelio; su citoplasma se colorea pálidamente con la eosina y su núcleo es redondeado y eucromático (Fig. 8 d).

La lámina propia subyacente al epitelio está conformada por tejido conectivo laxo, vasos sanguíneos y *fila olfatoria*, que forma manojos de axones en la base de las laminillas primarias, continuando su recorrido hacia los bulbos olfativos (Fig. 8 b).

En los bulbos se pueden distinguir tres estratos distintos:

-Un *estrato nervioso*, en el que se observan fibras nerviosas provenientes de las células receptoras (Fig. 8 c);

-Un *estrato glomerular*, donde se observan haces nerviosos esféricos, denominados glomérulos (Fig. 8 c), donde se encuentran las fibras nerviosas de las células receptoras, junto con las dendritas de las células mitrales. También, en este estrato se observan células mitrales dispersas (Fig. 8 c (inserto));

-Un estrato granular, donde se observan numerosas células granulares (Fig. 8 c).

#### Telencéfalo:

En el telencéfalo se pueden identificar dos hemisferios cerebrales y el telencéfalo impar. Los hemisferios cerebrales son un par de estructuras grandes, redondeadas, bulbosas y simétricas, que se conectan entre sí por una comisura media (Fig. 9 a). Ambos hemisferios se continúan hacia la región caudal en una estructura impar, denominada telencéfalo impar, que alberga al ventrículo impar. Su borde posterior se delimita por el quiasma óptico y el núcleo preóptico (Fig. 9 a).

Los hemisferios y el telencéfalo impar presentan una matriz densa que contiene una gran abundancia de células. Las mismas no tienen posiciones claramente definidas, excepto en una franja ventral, que atraviesa los hemisferios de manera longitudinal (Fig. 9 a). En esta franja, se encuentran neuronas muy próximas entre sí, que miden alrededor de 10  $\mu$ m, son redondeadas y con núcleos bien definidos, en los que se pueden observar uno o dos nucléolos y parches de heterocromatina (Figs. 9 b y c). En el resto de la matriz, las células se encuentran más dispersas. Se pueden identificar células de la neuroglia (5  $\mu$ m), redondeadas y fuertemente coloreadas (Fig. 9 b), células piramidales (22,5  $\mu$ m), caracterizadas por un núcleo redondeado, donde se observan granulaciones de heterocromatina y un nucléolo evidente (Fig. 9 d) y células granulosas (5 µm), con núcleos redondeados y fuertemente coloreados (Fig. 9 b).

El quiasma óptico se localiza en la parte postero-ventral del telencéfalo y se presenta como una estructura compacta y ovalada, compuesta por fibras nerviosas. El núcleo preóptico se encuentra justo por encima del quiasma óptico y está compuesto por fibras nerviosas empaquetadas, que se ramifican hacia la parte dorsal, llegando hasta el mesencéfalo (Fig. 10).

#### Diencéfalo:

El diencéfalo consta de tres regiones principales que, de dorsal a ventral, son: el epitálamo, el tálamo y el hipotálamo. Sin embargo, a nivel histológico solamente se pudo observar el hipotálamo (Figs. 6 y 12 a) y una estructura globosa que correspondería al epitálamo (Figs. 6 y 11 a).

El epitálamo es una estructura redondeada, situada por encima del hipotálamo y por delante del *tectum* óptico. En su periferia, se encuentran numerosas neuronas y células de la neuroglia, mientras que en su centro se agrupan fibras nerviosas, que se dirigen hacia el mesencéfalo (Figs. 11 a y b).

El hipotálamo se ubica en una posición ventral y es una estructura par, alargada y bien desarrollada (Fig. 5 b). Histológicamente se observa un estroma con una alta densidad de células neurosecretoras y con un espacio central, correspondiente al ventrículo medio o tercer ventrículo (Fig. 12 a). Las neuronas presentes en el hipotálamo tienen núcleos redondeados, con nucléolos evidentes y granulaciones de heterocromatina. También se observan células de la neuroglia, pequeñas (Fig. 12 b). Este órgano está estrechamente relacionado, morfológica y funcionalmente, con el lóbulo neurointermedio de la hipófisis, el cual está asociado, a su vez, al saco vasculoso o *saccus vasculosus* (Fig. 13 a).

#### Saco vasculoso e hipófisis:

El saco vasculoso es una estructura sacular, ovalada, con paredes delgadas y festoneadas. Está revestido por un epitelio compuesto por células cilíndricas bajas, similares a las células ependimales, en cuyas membranas apicales se pueden observar especializaciones globosas (células de *coronet*) y células de posición basal, con núcleos redondeados. En la parte externa del saco vasculoso, se encuentra un estroma fibrovascular, donde predominan los capilares (Fig. 13 b).

La hipófisis es una glándula endócrina que se divide en dos regiones: la *pars intermedia*, que conforma el lóbulo neurointermedio y la *pars distalis*, que se subdivide en dos lóbulos (el lóbulo dorsal y el lóbulo ventral) (Fig. 13 a).

El lóbulo neurointermedio es una estructura compuesta de fibras nerviosas, entremezcladas con el tejido glandular. Se identifican dos tipos celulares, las células cromófilas y las cromófobas; estas últimas se encuentran en menor cantidad. Ambos tipos celulares presentan núcleos ovalados, con uno o más nucléolos y se organizan en lóbulos de estructura acinar, separados entre sí por tejido conectivo altamente vascularizado (Fig. 13 c).

El lóbulo dorsal y el lóbulo ventral de la *pars distalis* se componen de cordones y grupos de células ovales, rodeadas de tejido conectivo muy vascularizado, dando, cada uno, el aspecto de una estructura sacular. El lóbulo dorsal se extiende hacia la zona rostral cerca del piso infundibular y está compuesto por células cromófilas y cromófobas, similares a las encontradas en el lóbulo neurointermedio (Fig. 13 d). Por otro lado, se pudo identificar el lóbulo ventral asociado al piso del neurocráneo, inmerso en la capa fibrosa del pericondrio (Fig. 13 a). Este parece estar aislado, sin tener ninguna conexión con el lóbulo dorsal y el lóbulo neurointermedio de la glándula. Las células que lo componen son cilíndricas bajas, dispuestas en dos o tres estratos. En los lóbulos dorsal y ventral se observaron secreciones AB pH 2,5 (+) (Figs. 13 d (inserto) y e (inserto)).

#### Mesencéfalo:

El mesencéfalo se compone del *tectum* óptico y el tegmento. El *tectum* óptico, ubicado en la parte dorsal, comprende dos lóbulos simétricos. Ventral a éste puede observarse el tegmento (Figs. 5 a y 6).

Histológicamente, se pueden identificar las distintas capas que componen el *tectum* óptico, que son, desde el exterior al interior:

- Una capa externa de gran espesor (750  $\mu$ m), donde se observan pocas células dispersas y algunas fibras. Se pueden distinguir neuronas piramidales y células de la neuroglia (Figs. 14 a y b).

- Una capa de fibras nerviosas, con un espesor de 162,5 µm (Figs. 14 a y c).

- Una capa de 100  $\mu$ m de espesor aproximadamente, compuesta por dos o tres estratos de neuronas de gran tamaño, con núcleos redondeados y un nucléolo evidente (Figs. 14 a y c), y

- Una capa interna de células cilíndricas bajas, de 17,5  $\mu$ m de grosor, que tapizan el ventrículo (Figs. 14 a y c).

#### Metencéfalo:

El cerebelo se compone de un cuerpo central impar y un par de aurículas a cada lado. A simple vista, presenta una superficie lisa, donde se observan únicamente dos surcos que delimitan un lóbulo rostral, caudal y posterior (Fig. 5 a). En los cortes histológicos, se pudieron observar pliegues (*folia*)

profundos externos (Fig. 6). En cuanto a la microarquitectura del cerebelo, se pueden distinguir tres capas organizadas, de adentro hacia afuera, de la siguiente manera (Fig. 15 a):

1) una *capa granular interna*, densamente poblada por pequeñas neuronas de aproximadamente 5 μm de diámetro, con un núcleo intensamente basófilo, denominadas células granulares. En esta capa se observan células de mayor tamaño, semejantes a las células de Golgi. La característica distintiva de esta capa es la alta densidad de células, que se encuentran muy próximas entre sí. Los axones de las células se proyectan hacia la capa de células de Purkinje (Fig. 15 b).

2) La *capa de células de Purkinje*: está conformada por células de Purkinje, que se disponen en una o dos hileras. Son células basófilas, voluminosas y de forma piriforme, con un tamaño promedio de alrededor de 25  $\mu$ m. Sus núcleos son eucromáticos y presentan uno o dos nucléolos evidentes. Las dendritas de estas células son muy ramificadas y se proyectan hacia la capa molecular (Fig. 15 c).

3) La *capa molecular externa*: presenta escasos somas neuronales y una matriz que contiene a las dendritas de las células de Purkinje, así como interneuronas dispersas, de gran tamaño, con núcleos eucromáticos (Fig. 15 d).

Según el índice de foliación cerebelosa propuesto por Yopak *et al.* (2007), la evaluación del cerebelo de *M. schimitti* se sitúa en el grado 1. Sin embargo, si consideramos los pliegues detectados a nivel histológico, este índice podría considerarse como grado 2.

#### Mielencéfalo:

La medula oblonga, o bulbo raquídeo, es la parte más caudal del encéfalo y se presenta como una extensión piramidal de la médula espinal (Figs. 5 a y 6). Tiene una estructura alargada y tubular, bien desarrollada en la que se observan numerosas fibras nerviosas con una distribución plexiforme (Fig. 16).

#### **DISCUSIÓN:**

El estilo de vida de muchos organismos se refleja en la organización del sistema nervioso central. Los peces cartilaginosos representan el primer grupo taxonómico que presenta un encéfalo homólogo al de otros vertebrados, por lo que su estudio es valioso desde el punto de vista evolutivo, de relación hábitat-especie y de variabilidad morfológica y fisiológica, a lo largo de los diferentes taxones de los Vertebrados (Iwaniuk & Hurd, 2005; Yopak *et al.*, 2007; Yopak, 2012). Este estudio desarrolla, por primera vez, un análisis morfohistológico del encéfalo, hipófisis y estructuras olfativas de *M. schmitti*, ofreciendo la posibilidad de comprender la relación entre estos órganos y el modo de vida de esta especie endémica del Océano Atlántico Sur.

El olfato desempeña un papel integral en los peces cartilaginosos. Es utilizado para la localización de presas, la identificación de individuos de la misma especie, la detección de depredadores, la navegación y, probablemente también, en el apareamiento (Rasmussen & Schmidt, 1992; Kajiura *et al.*, 2005; Edrén & Gruber, 2005). Estudios previos han revelado que el tamaño y la forma de las rosetas olfativas, están estrechamente relacionados con el hábitat y el estilo de vida de los animales (Meredith & Kajiura, 2010; Cox *et al.*, 2012; Yopak *et al.*, 2015; Simonitis & Marshall, 2023).

En *M. schimitti*, la estructura general de la roseta olfativa, es similar a la de otros elasmobranquios (Takami *et al.*, 1994; Schluessel *et al.*, 2008; Ferrando, 2010; 2015; Dymek *et al.*, 2021). La organización de las lamelas olfativas presenta una "*disposición lamelar paralela tipo II*", caracterizada por tener un canal principal casi separado, con un canal de entrada y uno de salida, como la que describe el tiburón *Heterodontus zebra* (Cox, 2012). Este tipo de disposición, se encuentra típicamente en especies de tiburones que nadan activamente, pero no a gran velocidad, lo que concuerda con el estilo de vida bentopelágico del gatuzo. Este tipo de disposición lamelar permite una mayor interacción entre las moléculas odorantes y las células sensoriales del epitelio olfativo (Cox, 2012). Por otro lado, la organización lamelar registrada en la especie, difiere de la organización radial de las lamelas olfativas observada en algunos peces cartilaginosos bentónicos y varios peces óseos. Esta organización lamelar radial puede limitar el número de lamelas olfativas debido a la geometría radial lo cual a su vez conllevaría una restricción de la superficie olfativa disponible (Cox, 2008; Howard *et al.*, 2013).

El número de laminillas primarias en las rosetas olfativas varía entre las especies y puede considerarse una característica específica de las mismas (Ferrando *et al.*, 2016). Esta variación interespecífica parece estar relacionada con el estilo de vida, más que con la filogenia (Meredith, 2011). Por lo general, las especies bentopelágicas suelen presentar un mayor número de laminillas primarias (Simonitis & Marshall, 2023). En el caso de *M. schimitti*, el número de laminillas en cada roseta olfativa es similar al encontrado en especies del género *Orectolobus sp.* (Theiss *et al.*, 2009) y

*Negaprion brevirostris* (Meredith, 2011) y supera la cantidad de laminillas observadas en especies bentónicas, como *Torpedo marmorata* (Ferrando *et al.*, 2019), *Urobatis jamaicensis* y *Raja eglanteria* (Meredith, 2011). La cantidad de laminillas primarias de *M. schmitti* sugiere una capacidad olfativa bien desarrollada, en concordancia con su estilo de vida (Ferrando *et al.*, 2016). Además, el alto número de laminillas primarias, junto con un gran desarrollo de los pliegues secundarios, aumenta la superficie olfativa, lo cual conlleva un incremento de receptores olfativos (Mora García, 2018; Simonitis & Marshall, 2023). Esto fue observado en *M. schmitti*, por lo que estos factores podrían estar asociados a un sentido del olfato altamente desarrollado, lo que le brindaría una ventaja en el entorno estuarial y costero en el que habita, donde la presencia de materiales en suspensión limita la visión y el olfato cobraría mayor importancia.

La roseta olfativa presenta un epitelio olfativo bien desarrollado, que tapiza las lamelas primarias y los pliegues secundarios y en el cual se identificaron la mayoría de los tipos celulares hallados en otras especies de elasmobranquios (Theisen *et al.*, 1986; Theiss *et al.*, 2009; Ferrando *et al.*, 2016; Dymek *et al.*, 2021), a excepción de las neuronas en cripta, que no pudieron ser observadas en *M. schmitti* debido a su distribución aleatoria y difícil localización (Ferrando *et al.*, 2016). A diferencia de lo hallado en teleósteos, las células receptoras olfativas presentan únicamente microvellosidades, que serían las principales especializaciones en el sentido del olfato. Esta característica es compartida por todos los Condrictios (Theiss *et al.*, 2009) y es una condición peculiar única entre los vertebrados que podría representar un punto crucial en la evolución de los peces cartilaginosos como principales depredadores de los ecosistemas marinos (Ferrando & Gallus, 2013). De todas maneras, quedan aún muchos aspectos relacionados con este sentido que están poco estudiados entre los Condrictios (Dymek *et al.*, 2021).

Tanto las células de soporte como las células caliciformes producen secreciones AB+ y PAS+; esto mismo fue observado en otros tiburones como *Squalus acanthias* y *Scyliorhinus canicula* (Theisen *et al.*, 1986). Las células caliciformes secretan moco y están presentes en el epitelio olfatorio de la mayoría de los Condrictios (Theisen *et al.*, 1986; Schluessel *et al.*, 2008; Ferrando *et al.*, 2009). Las secreciones AB y PAS positivas evidencian la presencia de mucopolisacáridos neutros y ácidos que forman una capa mucosa sobre el epitelio, permitiendo la captación de químicos disueltos (Mora García, 2018). La presencia de estas secreciones, tanto en las células caliciformes como en las células de soporte, sugiere una alta producción de moco en *M. schimitti*, brindando una mayor capacidad para captar moléculas odoríferas.

Por otro lado, los ionocitos son células similares a las células de cloruro presentes en las branquias de los peces óseos y se encuentran en la mayoría de las especies de elasmobranquios estudiados y en peces óseos de agua dulce, siendo muy poco frecuente en tetrápodos (Ferrando, 2008). Este tipo celular está involucrado en la regulación iónica del moco olfativo, un papel muy importante, ya que cualquier cambio en la composición iónica de este moco puede afectar la respuesta a los

distintos olores (Ferrando, 2008; Ferrando et al., 2016).

La organización del bulbo olfativo es similar en todos los Vertebrados, presentando cuatro capas: la nerviosa, la glomerular, la mitral y la granular. Sin embargo, en *M. schmitti*, al igual que en otros elasmobranquios, la capa mitral suele no estar bien definida y se entremezcla con la capa glomerular (Meredith, 2011; Ferrando *et al.*, 2016; Aicardi *et al.*, 2020). El bulbo olfativo está funcional y anatómicamente asociado a la roseta olfativa, a través de las células receptoras olfativas (ubicadas en el epitelio). Estas proyectan sus axones hacia el bulbo olfativo, formando la capa nerviosa y los glomérulos de la capa glomerular, donde conectan dichos axones con las dendritas de las células mitrales. En el bulbo olfativo se procesa la información sobre las distintas clases de olores y cada olor genera un patrón espacial de activación glomerular (Ferrando *et al.*, 2016; Aicardi *et al.*, 2020). Un bulbo olfativo bien definido y desarrollado, como el que presenta *M. schmitti*, podría relacionarse con una gran capacidad para discriminar y detectar olores (Meredith, 2011).

El telencéfalo es una de las regiones más variables del encéfalo de los vertebrados. Su tamaño puede ser un indicativo de la complejidad del comportamiento de un animal (Lisney & Collin, 2006). En el caso de los Condrictios, aquellas especies que exhiben una mayor sociabilidad, estrategias sofisticadas de caza y navegación y que habitan entornos complejos, tienden a tener un telencéfalo más grande. Por otro lado, las especies solitarias que viven en entornos menos complejos tienden a tener telencéfalos más pequeños (Lisney & Collin, 2006; Yopak, 2012; Yopak *et al.*, 2019). Esta región desempeña un papel fundamental en la integración de la información sensorial, principalmente la información olfativa y el control de conductas complejas (Northcutt, 1977; Yopak, 2012) y, por esta razón, está sometida a una fuerte presión selectiva, dando como resultado las variaciones en el tamaño (Yopak, 2012). En el caso de *M. schimitti*, se observó que su telencéfalo es de tamaño mediano, lo que concuerda con su estilo de vida bentopelágico en hábitats poco complejos.

El estudio histológico y citológico del telencéfalo es complejo en los seláceos por varias razones, entre las que se pueden destacar: la distorsión topográfica de los grupos celulares, debida a la migración lateral extrema de los bulbos olfativos; la reducción extrema de los ventrículos laterales, perdiendo puntos de referencia; y migraciones de grupos celulares, lejos de su posición periventricular. Esto genera que los límites de varios grupos celulares sean indefinidos en tiburones adultos (Northcutt *et al.*, 1988). En el estudio histológico llevado a cabo, se pudieron identificar células piramidales que cumplen un papel crucial en la integración de señales, células pequeñas que posiblemente estén relacionadas en circuitos locales y células de la glía (Smeets *et al.*, 1983; Marso & Anadón, 1993; Hofmann, 1999). La franja ventral de células encontrada en ambos hemisferios posiblemente se corresponda con el área superficial basal, la cual recibe información del *pallium* lateral y del bulbo olfativo, estando más desarrollada en especies con un buen sentido del olfato (Northcutt, 1977; Smeets *et al.*, 1983; Yopak, 2012).

En los vertebrados, el diencéfalo es una estructura altamente conservada, que se divide en tres regiones distintas: el epitálamo, el tálamo y el hipotálamo (Northcutt, 1989; Yopak, 2012). El epitálamo comprende el órgano pineal y los núcleos habenulares, que son relativamente constantes en diferentes especies de vertebrados, sin variaciones significativas (Northcutt, 1989). El hipotálamo desempeña un papel fundamental en la regulación del sistema endocrino, actuando como una interfaz entre este sistema y el encéfalo. Anatómicamente, en los Condrictios, este es un órgano particularmente agrandado y diferenciado (Santos-Durán et al., 2015). A nivel histológico, se pudo observar que el hipotálamo de M. schimitti presenta una estrecha relación con la hipófisis y el saccus vasculosus, los cuales a su vez, están íntimamente conectados en el lóbulo neurointermedio de la hipófisis. El gran desarrollo del hipotálamo podría estar relacionado con un control más preciso de la osmolaridad en esta especie (Acher et al., 1999; Hazon et al., 2003), permitiéndole a este animal enfrentar las fluctuaciones en la salinidad del agua, destacando la adaptación de los mismos a ambientes cambiantes. En los condrictios que viven en entornos estuariales, la importancia de esta característica es notable, debido a las marcadas variaciones en la salinidad del agua. Esto se debe a que los estuarios son zonas donde se encuentran las aguas continentales y marinas, generando fluctuaciones significativas en la salinidad (Perillo, 2004).

La hipófisis juega un papel crucial en la regulación del sistema reproductivo, el crecimiento y el equilibrio hormonal corporal (Ball & Baker, 1969; Trudeau & Somoza, 2020). Presenta células neurosecretoras altamente conservadas a lo largo de los Vertebrados, pertenecientes al sistema hipotálamo-hipófisis (Rodriguez-Moldes *et al.*, 2020). Este órgano, que se presenta particularmente agrandado y diferenciado en las especies bentopelágicas como *M. schmitti*, establece una conexión entre el encéfalo y el sistema endócrino (Yopak, 2012; Santos- Durán *et al.*, 2015). En el caso de *M. schmitti*, se lograron identificar los tres lóbulos que conforman la hipófisis: el neurointermedio, el dorsal y el ventral. En esta especie parece no haber conexión entre el lóbulo ventral y el resto de la hipófisis, encontrándose en la base del condrocráneo, rodeado por tejido conectivo. Una disposición similar de este lóbulo fue observada en otros Condrictios, como *Scyliorhinus torazame* (Uchida *et al.*, 2016). El conocimiento sobre el lóbulo ventral en los elasmobranquios es limitado y sigue siendo objeto de investigación. Debido a su complicada localización anatómica, es difícil definir su conexión con el hipotálamo y la forma en que es regulada esta región (Knowles *et al.*, 1975; Trudeau & Somoza, 2020).

Estudios experimentales han demostrado que, en los elasmobranquios, el lóbulo ventral es el responsable de secretar gonadotropinas, como la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) y de la producción y liberación de hormonas que facilitan las respuestas de los peces a los cambios osmóticos (Ball & Baker, 1969; Lovejoy *et al.*, 1992; Uchida *et al.*, 2016). Así mismo, los otros dos lóbulos hipofisarios también presentan función endocrina: el lóbulo dorsal secreta hormona de crecimiento (GH) y hormona estimulante de los melanocitos (MSH), mientras que el lóbulo neurointermedio produce MSH (Trudeau & Somoza, 2020). Si bien se necesitan estudios

inmunohistoquímicos específicos para detectar la producción de cada una de estas hormonas por parte de las células de la hipófisis, la identificación a nivel histológico de las células cromófilas y cromófobas en la hipófisis de *M. schmitti*, confirman la actividad secretora y la posible producción de las hormonas mencionadas. Además, la secreción positiva a la coloración histoquímica de AB en la superficie de las células del lóbulo ventral, indicaría la secreción de glucopolisacáridos que posiblemente participen en conjunto con la producción de gonadotropinas.

El saco vasculoso es un órgano circunventricular situado en el suelo del hipotálamo descripto en Elasmobranquios y Teleósteos. El saco vasculoso se ha relacionado con diversas funciones como la osmorregulación, la función endocrina y la regulación del fotoperiodo en peces óseos (Nakane *et al.*, 2013; Nakane & Yoshimura, 2019). Parece desempeñar un papel integral en la modulación de la actividad neuronal, mediante proyecciones neuronales del saco vasculoso hacia el *nucleus saccus vaculosus* y otras regiones del encéfalo de los tiburones. Esta regulación por parte del saco vasculoso es clave para controlar procesos fisiológicos y comportamentales en estos animales (Sueiro *et al.*, 2007).

En *M. schmitti* el saco vasculoso es un órgano bien desarrollado y con una conexión íntima con la hipófisis. En él se distinguen las células de *coronet* y otro tipo celular, que parecen ser células en contacto con el líquido cefalorraquídeo (CSF-c). Las células de *coronet* desempeñan un papel importante en la regulación de la homeostasis y la función del líquido cefalorraquídeo, estableciendo contacto directo con los vasos sanguíneos y participando en procesos relacionados con la regulación iónica y la homeostasis del calcio en el encéfalo de los peces (Sueiro *et al.*, 2007). Distintos tipos de CSF-c han sido descriptos en el saco vasculoso de los elasmobranquios, que desempeñan roles específicos en la modulación de la actividad neuronal y la transmisión de señales neuroquímicas, entre ellos, neuronas GABAérgicas, neuronas monoaminégicas y células neurosecretoras (Sueiro *et al.*, 2007). Estos tipos celulares que no se pudieron distinguir en este trabajo. La diversidad celular de este órgano refleja su importancia funcional en la integración de señales sensoriales, la regulación de la homeostasis interna y la coordinación de respuestas adaptativas en el encéfalo de los condrictios (Molist *et al.*, 1992; Sueiro *et al.*, 2007).

El mesencéfalo de *M. schmitti* se compone de dos estructuras: el *tectum* óptico y el tegmento. El tegmento es una región anatómica altamente conservada en los Vertebrados., Recibe información de la médula espinal y del *tectum*. Por otro lado, el *tectum* óptico recibe información visual de la retina y distintas áreas del sistema nervioso central, como la médula espinal y desempeña un papel fundamental en el procesamiento de información multisensorial (Northcutt, 1977; Yopak, 2012; Yopak *et al.*, 2019). Histológicamente, el *tectum* óptico muestra variabilidad en el número y disposición de sus capas de fibras y células en los Condrictios. En *M. schimitti*, se identificaron cuatro capas distintas, características de los Seláceos (Northcutt, 1977). Este número de capas es inferior en comparación con otras especies como *Gunglymostoma cirratum*, que presenta cinco capas (Yopak, 2012). Se observó también que el *tectum* óptico es relativamente pequeño en comparación con especies pelágicas, como *Alopias superciliosus* e *Isurus oxyrinchus* (Yopak, 2012). Las especies bentónicas o bentopelágicas como *Scyliorhinus microcephalus* o *Scyliorhinus pacificus* (Yopak, *et al.*, 2019), presentan mesencéfalos pequeños, similares en tamaño al de *M. schmitti*. La complejidad y el tamaño relativo del *tectum* óptico podrían estar relacionados con la importancia del sentido de la vista en el comportamiento de las especies. Aquellas que dependen principalmente de otros sentidos no visuales para la caza y la supervivencia, presentan mesencéfalos pequeños, mientras que las especies que dependen en gran medida de la visión para sobrevivir, presentan mesencéfalos muy desarrollados (Yopak, 2012; Yopak *et al.*, 2019). En el caso de *M. schmitti*, el mesencéfalo no presenta un gran desarrollo, por lo que la visión parece no ser un sentido crucial para su supervivencia, lo cual concuerda con el ambiente de alta turbidez del estuario de Bahía Blanca donde habita y coincide a su vez, con un gran desarrollo de la roseta olfativa, siendo el olfato el sentido predominante.

El cerebelo en los Condrictios desempeña funciones claves en la coordinación de la locomoción, la integración sensoriomotora y la captura de presas (Yopak & Mongomery, 2008; Collin *et al.*, 2015). Morfológicamente, el cuerpo del cerebelo varía en tamaño, convolución y simetría, entre los elasmobranquios, desde una superficie cerebelosa lisa, hasta pliegues profundos (Lisney *et al.*, 2008; Puzdrowski & Gruber, 2009; Yopak *et al.*, 2016). El aumento del tamaño y mayores índices de foliación del cerebelo permiten aumentar su superficie, a la vez que se reduce la longitud de las conexiones neuronales (Yopak *et al.*, 2019). Las variaciones interespecíficas en el tamaño y en la foliación cerebelar parecen no estar relacionadas con la filogenia, sino con adaptaciones a diferentes hábitats y comportamientos. Estas adaptaciones se asocian a un alto índice de foliación cerebelar y un mayor tamaño del cerebelo, con altos niveles de actividad, mayor complejidad del hábitat, especializaciones conductuales y habilidades cognitivas (Yopak, 2012). Estas características mencionadas permiten agrupar a las distintas especies de peces cartilaginosos dentro de grupos ecológicos, que exhiben niveles similares de foliación (Northcutt, 1977; New, 2001; Yopak *et al.*, 2007; Rodriguez-Moldes *et al.*, 2020).

Macroscópicamente, *M. schmitti* presenta un cerebelo con una superficie lisa dividida por dos surcos, lo que forma un lóbulo rostral, uno caudal y uno posterior. Esta estructura es característica de los tiburones galeomorfos (New, 2001). El índice de foliación de *M. schmitti* se encuadra en un nivel dos, similar al de especies como *Deania calcea, Centroscymnus owstoni* e *Hydralagus novaezealandiae* (Yopak & Montgomery, 2008). Este patrón es característico de especies bentónicas o bentopelágicas (Yopak & Montgomery, 2008), asociadas a bajos niveles de actividad y estrategias de depredación menos activas (Yopak & Montgomery, 2008; Yopak, 2012; Rodríguez-Moldes *et al.*, 2020) como es el caso de *M. schmitti*, un tiburón bentopelágico que se alimenta de cangrejos y poliquetos.

Es importante resaltar que el análisis histológico del cerebelo permitió modificar la posición

de *M. schmitti* en el índice de foliación, al observarse mayor cantidad de pliegues en la superficie que no eran apreciables a simple vista. Esto resalta la importancia del estudio histológico para determinar un índice de foliación más riguroso y preciso que puede estar oculto cuando se analiza únicamente el índice de foliación macroscópica.

En este estudio, se lograron identificar las distintas capas del cerebelo, incluyendo las células características de cada una. Se destaca que la organización básica y los tipos celulares presentes en el cerebelo muestran notables similitudes entre los Vertebrados, lo que sugiere una estructura filogenéticamente conservada (New, 2001).

La médula oblonga es el componente más caudal del sistema nervioso central y actúa como una estación de relevo entre el cerebro y la médula espinal (Yopak, 2012). En el caso de *M. schimitti* la médula oblonga se encuentra bien desarrollada, lo que es típico de tiburones batiales bentopelágicos, como *Centroselachus crepidater* y *Proscymnodon plunketi* (Yopak, 2012). Una médula oblonga bien desarrollada podría estar relacionada con un mayor desarrollo de sentidos no visuales (como los sentidos electrorreceptores y la línea lateral), útiles en estrategias de depredación que implican desplazarse por encima del sustrato (Yopak & Montgomery, 2008; Yopak, 2012).

La morfología encefálica general de *M. schimitti* sugiere un tipo cerebral "combinado". El buen desarrollo del telencéfalo y los lóbulos del hipotálamo asociarían a *M. schimitti* con un "tipo cerebral asociado a arrecife", mientras que el bajo índice de foliación cerebelosa tanto macroscópica como microscópica, junto con una medula oblonga alargada y bien desarrollada y un gran desarrollo de las rosetas y bulbos olfativos, lo asocian al "tipo cerebral batial".

El estudio del sistema nervioso central de los peces cartilaginosos permite explorar y comprender la evolución de las capacidades sensoriales, motoras y cognitivas de los Vertebrados. Los análisis morfohistológicos realizados en este trabajo aportan información clave para investigar la fisiología de los sistemas nervioso, endocrino y sensorial de los peces y plantea un punto de partida para futuros análisis moleculares más específicos. A su vez, este estudio aporta nuevos conocimientos sobre la neurobiología de *M. schmitti*, un tiburón de gran interés económico, con una elevada frecuencia de captura de nuestra región. Sumado a esto, al encontrarse "en peligro crítico" es fundamental ampliar el conocimiento sobre la especie para generar estrategias de conservación y manejo más eficaces.

#### **CONCLUSIONES:**

- → La anatomía del sistema nervioso central y las estructuras asociadas de *M. schmitti* es concordante con lo descripto en otros elasmobranquios.
- La roseta olfativa presenta una disposición lamelar paralela tipo II, con un epitelio olfativo donde se identificaron las células típicas: células basales, células de soporte ciliadas, células receptoras olfativas, células caliciformes e ionocitos.
- El bulbo olfativo se encuentra funcional y anatómicamente asociado a la roseta olfativa y presenta tres estratos: nervioso, glomerular y granular.
- El telencéfalo presenta un tamaño mediano donde las células no presentan ubicaciones bien definidas, identificándose células piramidales, neuronas de pequeño tamaño y células de la glía.
- El diencéfalo se divide en: el epitálamo que es una estructura redondeada en cuyo centro se agrupan fibras nerviosas que se dirigen al mesencéfalo y el hipotálamo que se encuentra bien desarrollado formando dos lóbulos.
- El hipotálamo de M. schmitti presenta una estrecha relación con la hipófisis y con el saco vasculoso.
- → La hipófisis de *M. schmitti* se encuentra agrandada y bien desarrollada. Se distinguen tres lóbulos: el lóbulo neurointermediario, el lóbulo dorsal y el lóbulo ventral.
- Se identificó y describió el lóbulo ventral localizado en la base del condrocráneo, rodeado por tejido conectivo y aislado de los otros lóbulos. Presentó secreción positiva para AB pH 2,5.
- En el lóbulo neurointermedio y en el lóbulo dorsal se identificaron células cromófobas y células cromófilas.
- El saco vasculoso es una estructura sacular ovalada con paredes delgadas y festoneadas, con un epitelio cilíndrico bajo con especializaciones en la membrana apical.
- El *tectum* óptico se ubica en la parte dorsal y está formado por dos lóbulos simétricos.
   Histológicamente se distinguen cuatro capas: una externa, una capa de fibras, una capa interna y una capa de células ependimales que recubren el ventrículo.
- El cerebelo presenta tres capas: una capa granular interna, una capa de células de Purkinje y una capa molecular externa.
- Macroscópicamente el índice de foliación es de grado 1: sin embargo, considerando el nivel histológico el cerebelo de *M. schmitti* es de grado 2.
- La médula oblonga se encuentra alargada y bien desarrollada. Presenta numerosas fibras nerviosas con una distribución plexiforme.
- El tipo cerebral de *M. schmitti* es combinado. El desarrollo del telencéfalo y de los lóbulos del hipotálamo lo asocian al "tipo cerebral asociado a arrecife", mientras que el bajo índice de foliación cerebelosa junto con la medula oblonga y rosetas olfativas bien desarrolladas lo asocian al "tipo cerebral batial".

#### **FIGURAS**:



Fig. 1. Hembra adulta de *Mustelus schmitti*. a) Vista dorsal. b) Vista ventral. *Escala*: 10 cm.
Fig. 2. Mapa de la distribución de *Mustelus schmitti*. Tomado de Cuevas & Michelson, 2023.



Fig. 3. Mapa del Estuario de Bahía Blanca. Foto tomada con Google Earth.Fig. 4. a y b) Fotos tomadas durante la realización de disecciones a los ejemplares.





**Fig. 5**. Anatomía del sistema nervioso central de *M. schmitti*. **a**) Vista dorsal **b**) vista ventral. *Escala*: 10 mm.

Fig. 6. Vista de corte sagital del encéfalo de *M. schmitti* donde se pueden distinguir las distintas regiones del mismo. *Escala*: 1000  $\mu$ m.

Referencias: Au: auricula; BO: bulbo olfatorio; Ce: cerebelo; Di: diencéfalo; Ep: epitálamo; H:

hipotálamo; Me: médula espinal; Mo: médula oblonga; RO: roseta olfativa; Te: telencéfalo; TO: tectum óptico. Asteriscos: negro: Núcleo preóptico; rojos: pedúnculo olfativo; azul: aurículas; verde: nervios ópticos; amarillo: hipófisis y saco vasculoso. Coloración: Tricrómico de Masson.



**Fig. 7. a)** Vista ventral de la región craneal de *M. schmitti*, marcando la fosa nasal izquierda. **b)** Vista ventral de la roseta olfativa donde se puede observar la disposición de las dos hileras de laminillas primarias a lo largo del rafe central. *Escala*: 10 mm (a); 5 mm (b).

Referencias:; CC: cápsula de tejido conectivo; L1: laminilla primaria; RC: rafe central.



**Fig. 8.** Estructuras olfativas. **a)** Corte sagital del órgano olfativo donde se puede observar su amplia unión al bulbo olfativo. **b)** Detalle de la base de las laminillas primarias donde se conecta la roseta olfativa al bulbo olfativo **c)** Bulbo olfativo donde se distingue los distintos estratos que lo componen. Inserto: detalle de la capa glomerular donde se observa la presencia de células mitrales. *Escala*: 500  $\mu$ m (a); 150  $\mu$ m (b); 250  $\mu$ m (c).

**Referencias:** BO: bulbo olfativo; CGI: capa glomerular; CGr: capa granular; CN: capa nerviosa; FO: fila olfativa; RO: roseta olfativa; L1: laminillas primarias; Flechas: negras: pliegues secundarios; rojas: células mitrales.



**Fig. 8. d**) Detalle del epitelio olfativo donde se observan sus células tipicas. e) Epitelio olfativo donde se observan células caliciformes e ionocitos. f) Epitelio olfativo donde se evidencia la presencia de mucopolisacáridos (Con la coloración PAS f) y con la coloración AB g)) en las células caliciformes y en las células de soporte ciliadas. *Escala*: 20  $\mu$ m (d); 50  $\mu$ m (e, f y g).

**Referencias:** Flechas: azul: células de soporte ciliadas; gris: células basales; roja; células receptoras olfativas con microvellosidades; naranja: ionocitos; negra: células caliciformes.

<u>Coloración</u>: Hematoxilina y eosina (d y e); PAS (f) y AB (g).



**Fig. 9. a)** Corte longitudinal del encéfalo de *M. schmitti* donde se observar en detalle la estructura del telencéfalo y su unión al resto del encéfalo. **b, c y d)** Detalle de las células del telencéfalo *Escala*: 800  $\mu$ m (a); 30  $\mu$ m (b, c y d).

**Referencias:** HC: hemisferio del telencéfalo; NPo: núcleos preópticos; TI: Telencéfalo impar; asterisco: ventrículo; flechas: roja: meninge primitiva; negra: células de la neuroglia; verde: neurona; azul: neurona piramidal.

<u>Coloración:</u> Nissl (**b**), Tricrómico de Masson (**a, c y d**).



**Fig. 10.** Detalle del quiasma óptico y del núcleo preóptico cuyas fibras nerviosas se dirigen al *tectum* óptico. *Escala:* 500 µm.

**Fig. 11.** Epitálamo **a**) Estructura general. **b**) Detalle donde se observan las células que lo conforman. *Escala*: 200 μm (a) 50 μm (b).

**Fig. 12.** Hipotálamo. **a**) Estructura general. **b**) Detalle de las células. *Escala:* 500 μm (a); 50 μm (b). *Referencias: NPo: núcleo preóptico; QO: quiasma óptico; TO: tectum óptico; Fechas: Azul: células de la neuroglia; negras: neuronas.* 



**Fig. 13.** Hipófisis y saco vasculoso. **a**) Vista general. **b**) Detalle del epitelio del saco vasculoso. **c**) Detalle del lóbulo neurointermediario. **d**) Detalle del lóbulo dorsal. *Inserto*: Detalle del lóbulo dorsal donde se observa una secreción de mucopolisacaridos en la cavidad interna. **e**) Detalle del lóbulo

ventral. *Inserto:* Detalle del lóbulo ventral donde se observa una secreción de mucopolisacaridos en la cavidad interna. *Escala:* 500  $\mu$ m (a); 30  $\mu$ m (b) 50  $\mu$ m (c, d y e).

**Referencias:** LD; lóbulo dorsal; LNI: lóbulo neurointermedio; LV: lóbulo ventral; SV: saco vasculoso; flechas: azul: células cromófobas; gris: células basales; negra: células de coronet; verde: células cromófilas.

Coloración: Tricrómico de Masson (a, b, c, d y e); AB (inserto d y e).



**Fig. 14.** *Tectum* óptico. **a**) Vista general. **b**) Detalle de la capa externa donde se observan células dispersas junto con fibras nerviosas. **c**) Detalle de las tres capas más internas del *tectum* óptico. *Escala*: 100 μm (a) 50 μm (b y c).

**Referencias:** CC: capa celular; CCe: capa de células ependimarias; CEx: capa externa; CF: capa de fibras nerviosas.



**Fig. 15.** Cerebelo. **a**) Vista general. **b**) Detalle de la capa granular interna donde se ven las células granulares y células similares a células de Golgi. **c**) Detalle de la capa de células de Purkinje. **d**) Detalle de la capa molecular externa donde se observan interneuronas y dendritas de las células de Purkinje. *Escala:* 100 μm (a y d); 50 μm (b y c).

**Referencias:** CGI: capa granular interna; CMEx: capa molecular externa; CP: capa de células de Purkinje; circulo punteado: células de Purkinje; Flechas: azul: dendritas de células de Purkinje; gris: interneuronas; negra: células de Golgi. Coloración: Tricrómico de Masson



Fig. 16. Médula oblonga donde se observan las fibras nerviosas con disposición plexiforme. *Escala*:
500 μm.

*Referencias: MO: médula oblonga.* <u>*Coloración:*</u> Tricrómico de Masson.

### TABLAS

#### INFORMACIÓN DE LOS EJEMPLARES COLECTADOS

N° DE EJEMPLAR	FECHA	UBICACIÓN	SEXO	LT (mm)	PT (g)	MATERIAL OBTENIDO
1025	22/11/2022	Pto Galván	F (♀)	578	570	-Encéfalo e hipófisis con neurocráneo - Órganos olfativos
1024	22/11/2022	Pto Galván	F (♀)	566	460	-Encéfalo
1023	29/10/2022	Pto Galván	F (♀)	270	185	-Encéfalo -Órganos olfativos
1022	29/10/2022	Pto Galván	F (♀)	430	325	-Encéfalo e hipófisis con neurocráneo -Órganos olfativos
1021	29/10/2022	Pto Galván	M (්)	470	330	-Encéfalo -Órganos olfativos
975	05/10/2018	3 Brazas	F (♀)	440	215	-Encéfalo e hipófisis con neurocráneo
974	05/10/2018	3 Brazas	<mark>M</mark> (ථි)	360	150	-Encéfalo

#### Tabla 2

	ÍNDICE DE FOLIACIÓN CEREBELOSA SEGÚN YOPAK et al., 2007; 2012.					
	Grado	Nivel de desarrollo del cerebelo				
1		Sin foliación, superficie cerebelosa lisa, con simetría cerebelar				
2		Foliación mínima, surcos poco profundos que corren paralelos entre				
		sí sin ramificaciones				
3		Foliación moderada, surcos poco profundos a moderados, ligera				
		ramificación				
4		Muy foliada, surcos moderados a profundos y ramificados con				
		simetría cerebelar				
5		Extremadamente foliada, surcos profundos y ramificados, secciones				
		cerebelosas distintivas y asimetría cerebelar.				

#### **BIBLIOGRAFÍA:**

- Acher, R., Chauvet, J., Chauvet, M. T. & Rouille, Y. (1999). Unique evolution of neurohypophysial hormones in cartilaginous fishes: Possible implications for urea-Based osmoregulation. J. Exp. Zool. (284), 475–484.
- Aicardi, S., Amaroli, A., Gallus, L., Di Blasi, D., Ghigliotti, L., Betti, F., Vacchi, M. & Ferrando, S. (2020). Quantification of neurons in the olfactory bulb of the catsharks *Scyliorhinus canicula* (Linnaeus, 1758) and *Galeus melastomus* (Rafinesque, 1810). *Zool.* (141).
- Ball, J.N. & Baker, B.I. (1969). The pituitary gland: anatomy and histophysiology. En: Hoar, W.S. & Randall, D.J. (Eds.), Fish physiology. (Vol. II, pp. 1-93). Academic press.
- Bernasconi, J.F., Coller, M., Suarez, M., Perier, R. & Di Giácomo, E. (2022). Características de historia de vida del tiburón gatuzo, *Mustelus schmitti*, en el Golfo San Matías, Argentina. *Rev. Biol. Mar. Ocean.* (57), 1-20.
- Camilieri-Asch, V., Caddy, H., Hubbard, A., Rigby, P., Doyle, B., Shaw, J.A., Mehnert, A., Partridge, J.C., Yopak, K.E. & Collin, S.P. (2021). Multimodal imaging and analysis of the neuroanatomical and functional organisation of primary olfactory imputs in *C. punctatum*. *Front. Neuroanat.* (14).
- Chiaramonte, G.E. & Pettovello, A.D. (2000). The biology of *Mustelus schmitti* in southern Patagonia, Argentina. J. Fish Biol. (57), 930-942.
- Coates, M.I., Finarelli, J.A., Sansom, I.J., Andrev, P.S., Criswell, K.E., Tietjen, K., Rivers, M.L. & La Riviere, P.J. (2018). An early chondrichthyan and the evolutionary assembly of a shark body plan. *Proc. Royal Soc. B.* (285).
- Colautti, D., Baigún, C., López, C.A., Llompart, F., Molina, J.M., Suquele P. & Calvo, S. (2010). Population biology and fishery characteristics of Smoothhound *Mustelus schmitti* in Anegada Bay, Argentina. *Fish. Res.* (106) 351–357.
- Collin, S.P., Kempster, R.M. & Yopak, K.E. (2015). How elasmobranch sense their environment. En: Shadwick, R.E., Farrell, A.P. & Brauner, C.J. (Eds.). Physiology of Elasmobranch Fishes: Structure and Interaction with Environment. Elsevier B.V. (pp. 19-99).
- Compagno, L.J.V. (1990). Alternate life history styles of cartilaginous fishes in time and space. *Environ. Biol. Fish.* (28) 33-75.
- Cortés, E. (2000). Life History patterns and correlations in sharks. Fish. Sci. 8(4), 299-344.
- Cortés, F. (2007). Sustentabilidad de la explotación del gatuzo *Mustelus schmitti*, en el ecosistema costero bonaerense (34-42°S). [Tesis de grado, Universidad Nacional de Mar del Plata].
- Cox, J. P. (2008). Hydrodynamic aspects of fish olfaction. J. R. Soc. Interface. 5(23), 575-593.
- Cox, J.P.I. (2012).Ciliary function in the olfactory organs of sharks and rays. *Fish and Fisheries*. 14(3), 364-390.
- Cuevas, J.M. & Michelson, A.M. (2023). Estado actual del conocimiento sobre condrictios en la Reserva Natural de Usos Múltiples Bahía San Blas, provincia de Buenos Aires.
- Dulvy, N.K., Pacoureau, N., Rigby, C.L., Pollom, R.A., Jabado, R.W., Ebert, D.A., Finicci, B.,

39

Pollock, C.M., Cheok, J., Derrick, D. H., Herman, K.B., Sherman, C.S., Vanderwright, W.J., Lawson, J.M., Walls, R.H.L., Carlson, J.K., Charvet, P., Bineesh, K.K., Fernando, D.,..., Simpferdorfer, C.A. (2021). Overfishing drives over one-third of all sharks and rays toward a global extinction crisis. *Curr. Biol.* (31), 4773-4787.

- Dymek, J., Muñoz, P., Mayo-Hernandez, E., Kuciel, M. & Zuwała, K. (2021). Comparative analysis of the olfactory organs in selected species of marine sharks and freshwater batoids. *Zool. Anz.* (294), 50-61.
- Ebert, D.A., Fowler, S. & Compagno, L. (2013). Sharks of the World: A Fully Illustrated Guide. Wild Nature Press.
- Edrén, S. M. C., & Gruber, S. H. (2005). Homing ability of young lemon sharks, Negaprion brevirostris. *Env. Biol. of Fish.*, 72, 267-281.
- Ferrando, S. (2008). Ionocytes in the olfactory epithelium of developing *Raja clavata*. *Ital. J. Zool*. (75), 233-236.
- Ferrando, S., Gambardella, C., Ravera, S., Bottero, S., Ferrando, T., Gallus, L., Manno, V., Salati, A.P., Ramoino, P. & Tagliafierro, G. (2009). Immunolocalization of G-protein alpha subunits in the olfactory system of the cartilaginous fish *Scyliorhinus canicula*. *Anat. Rec. Adv. Integr. Anat. Evo. Biol.* (292), 1771–1779.
- Ferrando, S., Gallus, L., Gambardella, C., Ghigliotti, L., Ravera, S. & Vallarino, M. (2010). Cell proliferation and apoptosis in the olfactory epithelium of the shark *Scyliorhinus canicula*. J. *Chem. Neuroanat.* (40), 293–300.
- Ferrando, S. & Gallus, L. (2013). Is the olfactory system of cartilaginous fishes a vomeronasal system?. *Front. Neuroanat.* 7(37), 1-4.
- Ferrando, S., Gallus, L., Ghigliotti, L., Vacchi, M., Amaroli, A., Nielsen, J., Christiansen, J.S. & Pisano, E. (2016). Anatomy of the olfactory bulb in Greenland shark *Somniosus microcephalus* (Bloch & Schneider, 1801). *J Appl Ichthyol.* (39), 1399-1409.
- Ferrando, S., Amaroli, A., Gallus, L., Aicardi, S., Di Blasi, D., Vacchi, M. & Ghigliotti, L. (2019). The olfactory organ of *Torpedo marmorata* (Risso, 1810): morphology, histology, and nos-like immunoreactivity. BELPS. (1), 9-16.
- Galíndez, E., Díaz-Andrade, M. C., Moya, A. C. & Estecondo, S. (2010). Morphological changes in the pregnant uterus of the smooth hound dogfish *Mustelus schmitti* (Springer, 1939) (Gatuzo) (Condrichthyes, Triakidae). Microscopic study and phylogenetic reproductive implications. *Int. J. Morphol.*, 28(4), 1003-10.
- Green, J.D. (1951). The comparative anatomy of the hypophysis, with special reference to its blood supply and innervation. *Am. J. Anat.* (88), 233-311.
- Grogan, E.D., Lund, R. & Greenfest-Allen, E. (2012). The origin and relationships of early Chondrichthyes. En: Carrier, C., Musick, J.A. & Heithaus, M.R. (Eds.). Biology of sharks and their relatives. CRC Press, USA, (pp. 3-29).
- Hazon, N., Wells, A., Pillans, R.D., Good, J.P., Anderson, W.G. & Franklin, C.E. (2003). Urea based

osmoregulation and endocrine control in elasmobranch fish with special reference to euryhalinity. *Comp. Biochem. Physiol.* (136B), 685-700.

- Hofmann, M.H. (1999). Nervous system. En: Hamlett, W.C. (Ed.). Sharks, Skates and Rays. The biology of Elasmobranch Fishes. The John Hopkins University Press, Baltimore. (pp. 273-299).
- Hofmann, M.H. & Northcutt, R.G. (2012). Forebrain organization in elasmobranchs. *Brain Behav. Evolut.* (80), 142-151.
- Howard, L.E., Holmes, W.M., Ferrando, S., Maclaine, J.S., Kelsh, R.N., Ramsey, A., Abel, R.L. & Cox, J.P.L. (2013). Functional nasal morphology of chimaerid fishes. J. Morphol. 274 (9), 987-1009.
- IADO-UNS. (2008). Programa de Monitoreo de la Calidad Ambiental de la Zona Interior del Estuario de Bahía Blanca.
- Iwaniuk, A.N. & Hurd, P.L. (2005). The evolution of cerebrotypes in birds. *Brain Behav. Evolut.* (65), 215-230.
- Kajiura, S. M., Forni, J. B. & Summers, A. P. (2005). Olfactory morphology of carcharhinid and sphyrnid sharks: does the cephalofoil confer a sensory advantage? J. Morphol. (264), 253– 263.
- Kardong, K. (1999). Vertebrados. Anatomía comparada, función, evolución. McGraw-Hill Interamericana, USA.
- Klimley, A.P. (2013). Brain organization and intelligence. En: Klimley, A.P. Biology of sharks and rays (pp. 239-262). The University of Chicago Press.
- Knowles, F., Vallrath, L. & Meurling, P. (1975). Cytology and neuroendocrine relations of the pituitary of the dogfish, *Scyliorhinus canicula*. Proc. R. Soc. Lond. (191), 507-525.
- Lisney, T.J. & Collin, S.P. (2006). Brain morphology in large pelagic fishes: a comparison between sharks and teleosts. J. fish biol. (68), 532-554.
- Lisney, T.J., Yopak, K.E., Montgomery, J.C. & Collin, S.P. (2008). Variation in brain organization and cerebellar foliation in chondrichthyans: Batoids. Brain Behav Evolut. (72) 262-282.
- Long, J.A., Trinajstic, K. & Johanson, S. (2009). Devonian anthrodire embryos and the origin of internal fertilization in vertebrates. *Nature*. (457), 1124-1127.
- López Cazorla, A.C. (1987). Contribución al conocimiento de la ictiofauna marina del área de Bahía Blanca. [Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata.]
- Lopez Cazorla, A.C. (2004). Peces. En: Piccolo, M.C. & Hoffmeyer, M.S. (Eds.). Ecosistema del Estuario de Bahía Blanca (3ra ed., pp. 191-202). IADO.
- Lovejoy, D.A., Fischer, W.A., Ngamvongchon, S., Craig, A.G., Nahorniak, C.S., Peter, R.E., Rivier, J.E. & Sherwood, N.M. (1992). Distinct sequence of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in dogfish brain provides insight into GnRH evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci.* U.S.A. (89), 6373-6377.

- Marso, M. J. & Anadón, R. (1993). Golgi study of the telencephalon of the small-spotted dogfish Scyliorhinus canicula L. J. Comp. Neurol. (333), 485-502.
- Massa, A.M., Hozbor, N., Chiaramonte, G.E., Balestra, A.D. & Vooren, C.M. (2006). *Mustelus schmitti*. The IUCN Red List of Threatened Species 2006: e.T60203A12318268.
- McMillan, D. B. (2007). Fish histology. Female Reproductive Systems. Springer, Dordrecht, The Netherlands. (pp.598).
- Menni, R.C. (1985). Distribución y biología de Squalus acanthias, Mustelus schmitti y Galeorhinus vitaminicus en el Mar Argentino en agosto-septiembre de 1978 (Chondrichthyes). Revista del Museo de la Plata (nueva serie) sección zoología. (13) 151-182.
- Meredith, T.L. (2011). Anatomy and physiology of the elasmobranch olfactory system. [Tesis de doctorado, Florida Atlantic University].
- Meredith, T.L. & Kajiura, S.M. (2010). Olfactory morphology and physiology of elasmobranchs. J. *Exp. Biol.* (213), 3449–345.
- Molina, J. M. (2013). La comunidad íctica de Bahía Anegada: estructura, composición, dinámica estacional y aspectos biológicos. [Tesis doctoral, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.]
- Molina, J.M. & Lopez Cazzorla, A. (2011). Trophic ecology of *Mustelus schmitti* (Springer, 1939) in a nursery area of northern Patagonia. J. Sea Res. 65(4), 381-389.
- Molist, P., Rodriguez-Moldes, I. & Anadón, R. (1992). Immunocytochemical and electronmicroscopic study of the elasmobranch nucleus sacci vasculosi. *Cell Tissue Res.* (270), 395-404.
- Montero, R. & Autino, A. (2018). Sistemática y filogenia de los vertebrados con énfasis en la fauna argentina. Tercera edición. Editorial independiente, San Miguel de Tucumán, Argenina.
- Mora García, L. (2018). Análisis de estructuras sensoriales de tiburones y rayas (Chondrichthyes: Elasmobranchii) pelágicos y bentónicos. [Tesis de grado, Universidad autónoma de baja California Sur].
- Mull, C.G., Yopak, K.E. & Dulvy, N.K. (2020). Maternal investment, ecological lifestyle and Brain evolution in sharks and rays. *Amer. Naturalist*. (195).
- Nakane, Y., Ikegami, K., Iigo, M., Ono, H., Takeda, K., Takahashi, D., Uesaka, M., Kimijima, M., Hashimoto, R., Arai, N., Suga, T., Kosuge, K., Abe, T., Maeda, R., Senga, T., Amiya, N., Azuma, T., Amano, M., Abe, H.,... Yoshimura, T. (2013). The saccus vasculosus of fish is a sensor of seasonal changes in day length. *Nat. Commun.* (4), 2108.
- Nakane, Y. & Yoshimura, T. (2019). Photoperiodic regulation of reproduction in vertebrates. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* (7), 173-194.
- New, J.G. (2001). Comparative neurobiology of the elasmobranch cerebellum: theme and variations on a sensorimotor interface. En: Tricas, T.C. & Gruber, S.H. (Eds.). The behavior and sensory biology of elasmobranch fishes: an anthology in memory of Donald Richard Nelson. Developments in Environmental Biology of Fishes. (20), 3-108.

- Northcutt, R.G. (1977). Elasmobranch central nervous system organization and its possible evolutionary significance. *Am. Zool.* (17), 411-429.
- Northcutt, R. G., Reiner, A. & Karten, H. J. (1988). Inmunohistochemical study of the telencephalon of the spiny dogfish, *Squalus acanthias*. J. Comp. Neurol. (277), 250-267.
- Northcutt, R.G. (1989). Brain variation and phylogenetic trends in elasmobranch fishes. J. Exp. Zool. Sup. (2), 83-100.
- Orlando, P., González-Castro & M., Mabragaña, E. (2015). New insights to discriminate between *Sympterygia acuta* (Garman, 1877) and *Sympterygia bonapartii* (Müller & Henle, 1841) (Rajidae) of the Southwest Atlantic Ocean: on the use of geometric morphometrics and spinulation patterns. J. Appl. Ichthyol. (31) 381-389.
- Perillo, G. M.E. & Piccolo, M. C. (2004). ¿Qué es el estuario de Bahía Blanca? *Ciencia Hoy*, 14(81), 8-15.
- Perillo, G.M.E. (2004). ¿Por qué Bahía Blanca es un estuario? En: Piccolo, M.C. & Hoffmeyer, M.S. (Eds.). Ecosistema del Estuario de Bahía Blanca (3ra Ed., pp. 191-202). IADO.
- Pollom, R., Barreto, R., Charvet, P., Chiaramonte, G.E., Cuevas, J.M., Herman, K., Montealegre-Quijano, S., Motta, F., Paesch, L. & Rincon, G. (2020). *Mustelus schmitti*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020.
- Puzdrowski, R.L. & Gruber, S. (2009). Morphologic features of the cerebellum of the Atlantic stingray, and their possible evolutionary significance. *Integr. Zool.* (4), 110-122.
- Rasmussen, L. E. L., & Schmidt, M. J. (1992). Are sharks chemically aware of crocodiles?. In *Chem.Sig. in Vert.* 6 (pp. 335-342). Boston, MA: Springer US.
- Rodríguez-Moldes, I., Santos-Durán, G.N., Pose-Méndez, S., Quintana- Urzainqui, I. & Candal, E. (2020). The brain of cartilaginous fishes. En: Kass, J.H. (Ed.). Evolutionary Neuroscience. (2da Ed., pp. 101-123) Elsevier.
- Ruiz-García, D., Raga, J.A., March, D., Colmenero, A.I., Quattrocchi, F., Company, J.B., Recasens, L. & Barría, C. (2023). Spatial distribution of the demersal chondrichthyan community from the western Mediterranean trawl bycatch. *Front. Mar. Sci.* (10).
- Santos-Durán, G.N., Menuet, A., Lagadec, R., Mayeur, H., Ferreiro-Galve, S., Mazan, S., Rodríguez-Moldes, I. & Candal, E. (2015). Prosomeric organization of the hypothalamus in an elasmobranch, the catshark *Scyliorhinus canicula*. *Front. Neuroanat.* 9,(37).
- Schluessel, V., Bennett, M.B., Bleckmann, H., Blomberg, S. & Collin, S.P. (2008). Morphometric and ultrastructural comparison of the olfactory system in elasmobranchs: the significance of structure–function relationships based on phylogeny and ecology. *J Morph.* (269), 1365-1386.
- Serra-Pereira, B., Figueiredo, I. & Gordo, L.S. (2011). Maturation of the gonads and reproductive tracts of the thornback Ray *Raja clavata*, with comments on the development of a standardized reproductive terminology for oviparous elasmobranchs. *Mar. Coast. Fish* (3), 160-175.
- Sidders, M.A., Tamini, L.L., Perez, J.E. & Chiaramonte, G.E. (2005). Biología reproductiva del gatuzo *Mustelus schmitti* (Springer, 1939) (Chondrichthyes, Triakidae) en el área de Puerto

Quequén, Provincia de Buenos Aires. Rev. Mus. Argentino Cienc. Nat. 7(1), 89-101.

- Simonitis, L. E. & Marshall, C. D. (2023). Microstructure of the Bonnethead shark (*Sphyrna tiburo*) Olfactory rosette. *J. Soc. Integrat. Comparat. Biol.* 1-13.
- Smeets W.J.A.J., Nieuwenhuys, R. & Roberts, B.L. (1983). The Central Nervous System of Cartilaginous Fishes: Structural and Functional Correlations. New York: Springer.
- Sthemann, M.F.W. (2002). Proposal of a maturity stages scale for oviparous and viviparous cartilaginous fishes (Pisces, Chondrichthyes). *Arch. Fish. Mar. Res.* (50), 23-48.
- Sueiro, C., Carrera, I., Ferreiro, S., Molist, P., Adrio, F., Anadón, R. & Rodríguez-Moldes, I. (2007). New Insights on saccus vasculosus evolution: A developmental and immunohistochemical study in elasmobranchs. *Brain Behav. Evolut.* (70), 187-204.
- Takami, S., Luer, C.A. & Graziadei, P.P.C. (1994). Microscopic structure of the olfactory organ of the clearnose skate, *Raja eglanteria*. *Anat. Embryol.* (190), 211-230.
- Theisen, B., Zeiske, E. & Breucker, H. (1986). Functional morphology of the olfactory organs in the spiny dogfich (*Squalus acanthias* L.) and the small-spotted catshark (*Scyliorhinus canicula* L.). Acta Zool. (67), 73-86.
- Theiss, S.M., Hart, N. S. & Collin, S. P. (2009). Morphological indicators of olfactory capability in wobbegong sharks (Orectolobidae, Elasmobranchii). *Brain Behav. Evol.* (73), 91-101.
- Trudeau, V.L. & Somoza, G.M. (2020). Multimodal hypothalamo-hypophysial communication in the vertebrates. *Gen. Comp. Endocrinol.* (293), 113475.
- Uchida, K., Inoue, N., Yokoyama, Y., Uchida, Y., Hyodo, H. & Kagawa, H. (2016). Identification of three glycoprotein hormones from the pituitary gland of cloudy catshark, *Scyliorhinus torazame*. International Symposium on Fish Endocrinology Gothenburg, Sweden. Conference Book, p. 66.
- Weigmann, S. (2016). Annotated checklist of the living sharks, batoids and chimaeras (Chondrichthyes) of the world, with a focus on biogeographical biodiversity. *J. Fish Biol.* (88), 837-1037.
- Yopak, K.E., Lisney, T.J., Collin, S.P. & Montgomery, J.C. (2007). Variation in brain organization and cerebellar foliation in Chondrichthyans: Sharks and Holocephalans. *Brain Behav. Evolut.* (69), 280-300.
- Yopak, K.E. (2012). Neuroecology of cartilaginous fishes: the functional implications of brain scaling. *J. Fish Biol.* (80), 1968-2023.
- Yopak, K.E., Lisney, T.J. & Collin, S.P. (2015). Not all sharks are "swimming noses": variation in olfactory bulb size in cartilaginous fishes. *Brain Struct. Funct.* (220), 1127-1143.
- Yopak, K.E., Galinsky, V.L., Berquist, R.M. & Frank, L.R. (2016). Quantitative classification of cerebellar foliation in cartilaginous fishes (Class: Chondrichthyes) using three-dimensional shape analysis and its implications for evolutionary biology. *Brain Behav. Evolut.* (87), 252– 264.
- Yopak, K.E., McMeans, B.C., Mull, C.G., Feindel, K.W., Kovacs, K.M., Lydersen, C., Fisk, A.T. &

Collin, S.P. (2019). Comparative brain morphology of the Greenland and pacific sleeper sharks and its functional implications. Scientific reports, *Nature*. (9), 10022.

Yopak, K.E. & Montgomery, J.C. (2008). Brain organization and specialization in Deep-Sea Chondrichthyans. *Brain Behav. Evolut.* (71), 287-304.