



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESTUDIO HISTOLOGICO DEL TESTICULO DEL PEZ**

**Sphoeroides annulatus (BOTETE)**

**T E S I S**

Que para obtener el título de:

**B I O L O G O**

P r e s e n t a :

**CARLOS ESTEBAN DURAN MAGALLANES**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## I N D I C E .

I. <u>ANTECEDENTES.</u>	
a) Clasificación taxonómica. ....	1
b) Algunas características de la anatomía externa de <u>Spheroides annulatus</u> . ....	1
c) Distribución geográfica.....	1
d) Importancia de la especie <u>S. annulatus</u> . ....	2
e) Descripción anatómica del aparato reproductor masculino de los peces. ....	2
f) Estructura histológica del testículo en algunas especies... de peces.....	3
g) Espermatogénesis. ....	4
h) Características de las células del testículo. ....	7
i) Endocrinología. ....	12
II. <u>OBJETIVOS.</u> .....	14
III. <u>MATERIAL Y METODO.</u> .....	15
IV. <u>RESULTADOS.</u> .....	18
V. <u>DISCUSION Y CONCLUSIONES.</u> .....	33
VI. <u>BIBLIOGRAFIA.</u> .....	38

## I. ANTECEDENTES.

### a) Clasificación taxonómica:

Phylum	Chordata
Subphylum	Vertebrata
Superclase	Gnathostomata
Clase	Osteichthyes
Subclase	Actinopterygii
Orden	Tetraodontidae
Familia	Tetraodontidaeae
Género	<u>Spheroides</u>
Especie	<u>S. annulatus</u> (Jenyns, 1843) (11).

### b) Algunas características de la anatomía externa de S. annulatus.

Su cuerpo es alargado y robusto, de espinas suaves, capaces de inflarse considerablemente. El dorso es marrón oscuro con líneas amarillas más o menos definidas, delimitando áreas circulares o elípticas que ocupan una posición longitudinal sobre el dorso (3, 1). Las aletas son fusiformes, las anales y dorsales presentan 8 radios y son cortas. Los orificios nasales presentan 2 aberturas de cada lado y carecen de tentáculos o tubos (3, 1, 7).

### c) Distribución geográfica.

Se localizan desde el Golfo de California y la Bahía Magdalena, B.C. hasta las costas de Perú e Islas Galápagos (Millet, 1966).

Viven en habitats arenosos y estuarinos y en ríos del Pacífico americano (Castro Aguirre, 1940), se congregan cerca

de la desembocadura de los ríos y penetran en ellos, aunque se desconoce hasta qué distancia pueden hacerlo (4, 14). También se localizan en arrecifes a lo largo de la zona de rompientes y aguas someras cerca de la costa (7).

Las localidades mexicanas en las cuales se localizan son: Esteros Algodorus, Son., laguna adyacente a la bahía de Chamela, Jal. (Ricker, 1954), río de Tehuantepec, Oax., laguna Oriental, Oax. y Mar Muerto, Chis. (7).

d) Importancia de la especie S. annulatus.

Esta especie se consume como alimento localmente en los lugares donde se captura, pero no se distribuye a nivel nacional, debido a que está incluida en la familia Tetraodontidae, que se caracteriza porque sus miembros presentan toxinas venenosas, llamadas tetraodotoxinas (TTX) en diferentes partes del cuerpo (Hoar, 1969; Goe, 1953). En el caso del botete, las presentan sólo en el hígado.

Dentro de la cadena trófica, juega un papel importante debido a que se alimenta de pequeños camarones, que es un producto importante para el consumo, causando un deterioro en la economía de los pescadores (7).

Su temporada de captura es de febrero a junio, sin embargo, no se conoce su ciclo de vida, ni su abundancia (7).

e) Descripción anatómica del aparato reproductor masculino de los peces.

La mayoría de los peces teleósteos presentan una actividad sexual continúa en el año, otros presentan un ciclo reproductor estacional.

La mayoría de los teleósteos presentan 2 testículos, aunque algunas especies presentan solo uno, debido a que se fusionan como en Lebistes reticulatus (2). Los testículos están en la región posterior de la cavidad abdominal, en posición ventrolateral con respecto a la vejiga natatoria y suspendidos por un mesorquio.

Los testículos son ovalados y su grosor disminuye gradualmente en su final posterior, en donde cada uno de los testículos se continúa con el conducto espermático común, el que se comunica con la papila urogenital (16, 2).

El color de los testículos puede ser blanco, crema, amarillo castaño o pigmentado (Gasterotus aculatus), como una señal de madurez sexual (Swarup, 1958).

En varias observaciones se indica que los testículos pueden variar en forma, vascularización y coloración durante las estaciones del año (16, 12, 10).

f) Estructura histológica del testículo en algunas especies de peces.

Los testículos son 2 sacos incluidos en la túnica albugínea, que es una bolsa de tejido conjuntivo con abundantes fibras elásticas y colágenas (16).

Dentro de cada testículo existe tejido conjuntivo central que forma una serie de septos que se unen a la pared testicular, dividiéndolo en lóbulos o tubos seminíferos. Este tejido conjuntivo consiste de fibroblastos, macrófagos, islas de células de Leydig (Greesik, 1973), vasos y tejido adiposo (16).

Los lóbulos están estrechamente empaquetados, presentan formas y tamaños diferentes, cada lóbulo contiene varios quis-

tes de células germinales que pueden estar en varios estados de maduración y cada uno funciona como una unidad espermática (16, 12). En Ciclóstomos y Elasmobránquios, la espermatogénesis también ocurre sincrónicamente dentro de pequeños quistes.

Las fibras musculares son escasas, en cambio, las fibras elásticas son abundantes en todo el testículo, su distribución es importante para la expulsión de los espermatozoides, ya que carecen de un órgano eyaculador y en la reducción del testículo después de su distensión (16).

g) Espermatogénesis.

Durante este proceso, el tamaño del testículo se incrementa notablemente debido al aumento en el número de espermatogonias en diferenciación y al aumento del tejido conjuntivo que les rodea.

La espermatogénesis en peces óseos es de tipo quístico, este proceso de maduración se da de la periferia al centro del testículo (2, 15), de manera que los quistes del centro del testículo completan su maduración más rápidamente y forman los primeros espermatozoides (16), de manera que las etapas más tempranas de la espermatogénesis se observan en los testículos más pequeños, en donde los lóbulos tienen generalmente espermatogonias primarias que se ubican en el perímetro del testículo, así, los lóbulos que contienen las etapas más avanzadas van siendo empujadas hacia el área central (10).

Se presenta un incremento en la división de las espermatogonias primarias, una parte de ellas se dividen para formar las espermatogonias secundarias, las cuales son retenidas dentro de la pared del quiste y solamente en estados de espermatidas y espermatozoides se rompe la pared del quiste para liberarlos en la luz de los túbulos (16, 10).

Turner, 1919 y Lehry, 1967, clasifican el ciclo sexual de manera semejante, coincidiendo en sus características fundamentales. Estas 2 clasificaciones se presentan a continuación:

Turner divide al ciclo de Perca flavence en los siguientes estadios:

1. Estado de reposo y período de migración,
2. Período de proliferación y crecimiento,
3. Período de transformación en espermatogonias,
4. Espermatogonias,
5. Sinapsis y divisiones de maduración y
6. Espermátidas y espermatozoides.

Este trabajo es un estudio de variación volumétrica del testículo de la perca, en la cual el tamaño mínimo se encuentra a principios del verano y el aumento de tamaño es brusco y rápido alcanzando su máximo a fines de noviembre, cuando el peso del testículo es 60 veces mayor que el peso mínimo.

El cordón de células germinativas que anualmente suministra elementos al testículo está situado al centro del órgano, las células germinales migran siguiendo exteriormente las paredes de los lóbulos y ubicándose en la periferia; a partir de entonces, el testículo está ocupado de células germinales que se transforman en espermatogonias que forman los quistes. El comienzo del aumento del tamaño del testículo coincide con la formación de espermatogonias, no hay período de crecimiento antes de la maduración. La espermatogénesis es en los primeros días de otoño, al comienzo de la disminución anual de la temperatura, mientras que el comienzo de la disminución estacional del testículo es a principios de marzo, lo que coincide con el aumento de temperatura en el agua (16).

Lehry estudió el ciclo estacional de Clarias batrachus y lo dividió en 5 fases por la apariencia histológica del testículo:

1. Fase de descanso y rehabilitación. Comienza a mediados de octubre extendiéndose hasta diciembre cuando los testículos son traslúcidos y reducidos en tamaño, los lóbulos son pequeños con tejido conjuntivo denso, vasos sanguíneos y células intersticiales. Esta fase se caracteriza por la proliferación de espermatogonias, lo que incrementa el tamaño de los lóbulos.
2. Fase de lenta espermatogénesis. Desde febrero hasta abril. El tamaño de los lóbulos se incrementa gradualmente con una notable reducción de tejido conjuntivo, en el cual las células intersticiales son raramente vistas. Los quistes de espermatogonias se incrementan, espermatocitos primarios y raramente secundarios son observados en la mayoría de los lóbulos.
3. Fase de rápida espermatogénesis. Se da en mayo y junio. Los testículos pierden su translucidez y su volumen se incrementa rápidamente. Aumenta el diámetro de los lóbulos, así como el número de células intersticiales. La espermatogénesis está en su máximo y los lóbulos se llenan con quistes de células en todos los estados de maduración, predominan los espermatocitos y espermátidas, con reducido número de espermatozoides.
4. Fase de madurez. Se extiende desde julio a principios de septiembre. Los testículos se vuelven opacos, adquieren su máximo tamaño y los lóbulos su máximo diámetro, con un marcado número de células intersticiales. Esta fase se caracteriza por la presencia de masas de espermatozoides, así como de grupos de células germinales primordiales en las márgenes del testículo.

5. Fase de expulsión. Se da desde mediados de septiembre hasta octubre. Los espermatozoides son expulsados y los testículos se reducen de tamaño y se transparentan. Esta fase presenta una compactación de los lóbulos y reducción de su tamaño, el tejido conjuntivo de los septos es denso y aumenta la vascularización y la vacuolización de las células intersticiales. Durante la involución, las células germinales primordiales son inactivas (12).

Los cambios espermatogénicos pueden ser englobados en ondas espermatogénicas, que son un período de actividad que llega a la espermiación, esto puede ser equivalente a una estación reproductiva en peces de climas templados (10).

#### h) Características de las células del testículo.

##### Células germinales primordiales.

Se encuentran en una matriz de tejido conjuntivo y varían en forma y tamaño, la mayoría está en reposo y algunas formas irregulares indican su estado de migración. Las que están en reposo son esféricas, con citoplasma hialino o reticular, el núcleo varía en forma de esférica a oval, con la cromatina dispersa en la periferia y con un prominente nucléolo; mientras que las células germinales en migración, se encuentran a lo largo del septum entre los lóbulos, son elongadas e irregulares, con movimientos amiboideos, durante su migración incrementan levemente su número y su núcleo es más hialino y pequeño (16).

##### Espermatogonias.

Presentan un núcleo de gran tamaño (8 a 10  $\mu$ ), con una conspicua membrana nuclear, fina cromatina reticular y con citoplasma denso. En subsecuentes estados, la membrana nuclear y el nucléolo desaparecen y los cromosomas se observan como

pequeños hilos, cuando la división mitótica termina surgen los espermatocitos primarios (12). El tamaño de las espermatogonias disminuye en el curso de la fase de multiplicación, en la cual el tamaño medio es de  $3.25 \mu$ , mientras que el tamaño de los quistes que contienen las diferentes generaciones aumentan progresivamente. Las primeras generaciones de espermatogonias se identifican por el tamaño de su núcleo, mientras que las de las últimas generaciones se distinguen por el tamaño de los quistes (2).

#### Espermatocitos primarios.

Cumplen el período de crecimiento incrementando gradualmente su tamaño hasta la fase paquítena y después se reducen. En la fase leptótena se diferencian de las espermatogonias por su núcleo más grande y los filamentos cromosómicos individuales. En la fase cigótena la red de cromatina se hace más densa por condensación de los cromosomas, que se aparean por la formación del complejo sinaptonémico, el cual se forma por completo en la fase paquítena. La fase diplótena se caracteriza por la acumulación periférica de los cromosomas. La división meiótica continúa y se forman los espermatocitos secundarios (4).

#### Espermatocitos secundarios.

Aparecen con los cromosomas más contraídos que los espermatocitos primarios y son comúnmente vistos en un mismo quiste con los espermatocitos primarios (16, 12, 2). Los espermatocitos secundarios son más pequeños que los primarios y son de corta duración. Se dividen, realizándose la segunda división de la meiosis, originando a las espermatidas (16, 12).

#### Espermátidas.

Se caracterizan por su tamaño pequeño y su cromatina densa, en estados posteriores la membrana nuclear desaparece y la cromatina se observa difusa. En su maduración cambian de

forma, de acuerdo con este cambio hay distintos tipos de esper  
mátidas:

- a) Espermátidas redondas (S1). El núcleo es denso, con forma de una semiesfera, con una ligera depresión en el centro.
- b) Espermátidas alargadas (S2). La cromatina tiene forma de bastoncillos ligeramente curvos, está en uno de los polos del núcleo.
- c) Espermátidas lanceoladas (S3). Presentan un alargamiento en un extremo del núcleo, tomando la forma de una lanza.
- d) Espermátidas insertadas en las células de Sertoli (S4). En el curso de la fase S2 y S3, las espermátidas son orientadas hacia la periferia, colocándose alrededor de las células nodrizas. Esta fase se puede dividir en 2 períodos:
  - S4a. Eliminación de la gota citoplásmica y
  - S4b. El citoplasma es completamente eliminado, el núcleo se hace más denso y se forman los espermatozoides (16, 2).

### Espermatozoides.

Son pequeños, móviles, con una pequeña cabeza y cola (12). Los espermatozoides maduros tienen una cabeza de forma a  
rriñonada, una pieza media y una corta cola. Las cabezas apuntan en una misma dirección, mientras que las colas son movidas al mismo tiempo formando masas que parecen paracaídas, entonces, los espermatozoides están listos para ser expulsados (16, 12).

### Células de Sertoli.

Son descritas en el testículo de algunas especies de pe

ces por: Matheus, 1950; Frantini, 1953; Botte y Chietti, 1962; Lagios, 1965 y Pandey, 1969. Estas células se localizan en la periferia de los quistes, ubicadas en intervalos a lo largo de la membrana basal, con grupos de espermatogonias entre ellas (9). Son prominentes, con núcleo alargado en las primeras etapas de la espermatogénesis y esférico durante la espermiogénesis, con finas granulaciones de cromatina (9).

Las células de Sertoli del teleósteo Orizias latipes, observadas al microscopio electrónico, presenta características citológicas homólogas a las de mamíferos (5), constituyen el epitelio quístico.

El epitelio quístico es escamoso simple, en el comienzo de la espermiogénesis, posteriormente se hace columnar. Son células relativamente pobres en organelos, en el epitelio escamoso, mientras que las del epitelio columnar son ricas en organelos, con numerosos gránulos de glucógeno, regular retículo endoplásmico y evidencias de fagocitosis (5).

La citología de las células de Sertoli supone 3 funciones:

Nutritiva, indicada por la abundancia de gránulos de glucógeno implicados en la nutrición de las espermátidas.

Fagocítica, indicada por el contenido de vacuolas para la degeneración del cuerpo residual. Vaupel, 1929, afirma esta función para las células del epitelio quístico del guppy.

Hormonal, indicada por la actividad esteroidogénica del retículo endoplásmico; esta función ha sido postulada en las células del epitelio quístico de los tiburones (Collenot y Ozon, 1969; Wardle-Simpson, 1967) y de un salmón (Wiebe, 1969), basados en observaciones histoquímicas de la actividad de esteroides-deshidrogenasa (12).

Estas funciones propuestas para las células de Sertoli, se supone que son similares a las de las células de la granulosa de los folículos ováricos de mamíferos (8).

### Células de Leydig.

Forman grupos de células similares a las descritas por Leydig años atrás en los testículos de mamíferos. Están en el tejido intersticial de los alvéolos y túbulos seminíferos de muchos peces, especialmente alrededor de los vasos sanguíneos, también se localizan en la túnica albugínea y en el conducto espermático (10, 12).

Están bien identificadas en ciclóstomos (Chuffi-Botte, 1962; Hoar, 1969), en elasmobranquios (Marshall, 1960; Chuffi y Etal, 1961; Chiefft, 1962, 1967), en peces pulmonados (Marshall, 1960), así como en diferentes teleósteos de los géneros Gasterostus, Tilapia, Salialebiste y Cymetogaster (9).

Las células de Leydig son largas, con núcleo esférico u oval, el núcleo a menudo parece vacuolado por el contenido lipídico (8).

Craing - Bennet (1931), correlaciona el ciclo estacional de las células intersticiales con las características sexuales secundarias. La vacuolización de las células de Leydig vista después del desove, se atribuye a que su contenido se utiliza para el desarrollo de las células germinales; Rai (1965), ha notificado la vacuolización y desintegración de las células de Leydig y de las células periféricas del lóbulo durante la fase activa de Tor tor (12).

En Tilapia nigra, los cambios de estas células se reflejan por el incremento en su número, en su tamaño y en su concentración de lípidos, a partir de los estados más avanzados de la espermatogénesis hasta la espermiación (10).

En las etapas más avanzadas de la espermatogénesis el tamaño de las células intersticiales fué  $6.43 \pm 0.28 \mu$  y el tamaño promedio del núcleo fué  $3.2 \pm 0.12 \mu$ ; con poco citoplasma, límite celular pobremente definido, pero no hay evidencia que sean secretoras en este estadio. Las células intersticiales aumentan su tamaño hasta un promedio de  $8.89 \pm 0.29 \mu$  con un diámetro nuclear promedio de  $4.4 \pm 0.15 \mu$ , en la fase previa a la espermiación, durante este tiempo hay incremento en el depósito de lípidos de la célula. El máximo desarrollo de las células intersticiales ocurren durante la espermiación, cuando su tamaño se incrementa a  $10 \pm 14 \mu$  y su tamaño nuclear a  $4.07 \pm 0.68 \mu$  y los depósitos alcanzan su máxima densidad (10).

La presencia y función de las células de Leydig en teleósteos, pueden tener un origen linfático propuesto por Craig-Bennet, 1931, en Gasterotus aculatus, que en los primeros estadios aparecen cerca de los vasos sanguíneos.

Marshall y Lofts, 1956 y 1957, presentan que en algunos teleósteos Exos lucius, Salvelinus willizhbii y Libea sp., falta un verdadero intersticio de células intersticiales y le dan el nombre de células periféricas del lóbulo (12).

#### h) Endocrinología.

Durante la gametogénesis intervienen 2 hormonas provenientes de la hipófisis del pez: una es semejante a la FSH y es el principio activo cuando la actividad espermática se eleva, en este tiempo el tejido intersticial es inactivo; la otra hormona es semejante a la LH, Pickfor y Atz, 1957; Dodd, 1960 y Knobil y Sandeler (1963), señalan que la hipófisis del pez es rica en esta hormona y alcanza su máximo nivel durante la espermiación, cuando la actividad espermatogénica es baja y el tejido intersticial se encuentra activo (10, 15).

Numerosos estudios hechos en teleósteos muestran la respuesta del pez a las hormonas hipofisiarias purificadas de mamíferos y, a la vez, la respuesta a las hormonas del pez en tetrápodos (10, 15).

Las células de Leydig, al ser estimuladas por la hormona LH, producen testosterona, la cual se encarga de determinar los caracteres sexuales masculinos. En algunos peces la testosterona está relacionada con muchos aspectos del comportamiento reproductivo como la migración, el cortejo, la construcción de nidos, la cópula y el cuidado de las crías (15).

Estos aspectos muestran que la hipófisis del pez ejerce su influencia sobre la espermatogénesis, ya sea en forma directa o a través del tejido intersticial (10, 15, 8).

## II. OBJETIVOS.

1. Contribuir al conocimiento de la histología del aparato reproductor masculino de una especie de la fauna mexicana.
2. Hacer un estudio histológico de las variaciones del testículo de la especie estudiada, durante tres etapas del ciclo reproductor anual.
3. Aportar elementos de estudio histológico del testículo de la especie estudiada en el ciclo reproductor, que permita su mejor uso y explotación.

### III. MATERIAL Y METODO.

Se realizaron disecciones de 5 individuos machos del bo tete (Spheroides annulatus), para estudiar tres etapas de su ciclo reproductor anual: 1 individuo de la primera etapa; 2 de la segunda etapa y 2 de la tercera etapa. Fueron colectados en la Bahía de San Blas, Nay., en donde se registraron las medidas morfométricas, las cuales se muestran en la Tabla 1.

Se tomaron fotografías de los testículos de cada uno de los ejemplares; posteriormente se procedió a seguir los pasos de las técnicas histológicas (6), las cuales se describen a continuación:

Los testículos fueron fijados en Bouin durante 96 hs., posteriormente fueron cambiados a formol al 10% durante 48 hs. se lavaron en agua corriente para quitar el exceso de fijador y deshidratarlos en alcoholes graduales de 40°, 50°, 70°, 80°, 96° y 100°, con un tiempo promedio de 2 hs. en cada uno; posteriormente se colocaron en xilol y aceite de cedro.

Se incluyeron en parafina para tinciones de anilinas y en gelatina para la impregnación argéntica de la siguiente manera:

Inclusión en parafina. Se hicieron 3 cambios de 60 min. cada uno, el primero se hizo en una mezcla de xilol-parafina (1:1) y los dos siguientes en parafina pura. Los cortes se hicieron en un microtomo de parafina con un grosor de 10  $\mu$ . Se aplicaron 2 tinciones con anilinas: Hematoxilina-Eosina y Tri-crómica de Masson.

Inclusión en gelatina. Se usaron 3 concentraciones: 15%, 20% y 30%, se colocaron los bloques en formol al 10% para endurecer e insolubilizar la gelatina, se lavaron en agua corriente y se cortó en microtomo de congelación con un grosor

de 10  $\mu$ ., los cortes se colocaron nuevamente en formol al 10%. Se aplicó la técnica de doble impregnación en caliente de Río-Hortega virada con cloruro de oro; también se aplicó la impregnación de plata, que es una modificación al método antiguo de Cajal (1908) y de una doble impregnación de Cajal, para cortes que habían sido incluidos en parafina (13).

Una vez teñidos, impregnados y montados los cortes, se procedió a la observación en un Fotomicroscopio Zeiss III, concluyendo con la toma de fotografías utilizando película para negativos en color Kodak 135, 100 ASA.

TABLA 1. CARACTERISTICAS MORFOMETRICAS DE LOS ORGANISMOS COLECTADOS

Organ.	Longitud total. (cm)	Longitud estandar (cm.)	Ancho del pez. (cm)	Peso total. (gr)	Peso de gónada (gr)	Grado de madurez.	Mes de colecta.
1	30.75	25.0	7.0	680	1	I	Febrero.
2	30.0	25.0	6.0	683	3.4	II	Abril.
3	31.2	25.0	5.0	681	3.5	II	Mayo.
4	36.0	29.5	11.0	1437	162	V	Agosto.
5	35.0	30.0	11.5	1439	160	V	Julio.

#### IV. RESULTADOS.

La posición de los testículos corresponde a la descripción hecha por Turner (1919) y Lehry (1967), para especies óseas, ocupan una posición ventrolateral con respecto a la vejiga natatoria; las diferencias en su forma y su tamaño durante los cambios estacionales observados en las 3 etapas de los testículos, también coinciden con las descripciones hechas por los autores mencionados.

A gran aumento, la túnica albugínea que reviste al testículo presenta una capa gruesa de tejido conjuntivo, con abundantes fibras de colágena, entre las cuales se distinguen núcleos alargados correspondientes a los fibroblastos, así como también pequeños paquetes de fibras musculares circulares y vasos sanguíneos de diferentes diámetros, localizados irregularmente a lo largo de la túnica. En la región cercana al canal deferente, la túnica albugínea presenta los mismos elementos histológicos pero en mayor proporción (Fig. 3).

El tejido intersticial que rodea a los túbulos seminíferos abundantes fibras de colágena arregladas irregularmente y, en ocasiones, entremezcladas con las células de Leydig y vasos sanguíneos, generalmente de pequeño calibre. También los quistes espermatogénicos están rodeados por una delgada capa de tejido conjuntivo.

Las células de Leydig, localizadas en el tejido intersticial, entre los lóbulos seminíferos, se presentan generalmente en forma individual; su forma es ovalada, su citoplasma presenta finas granulaciones acidófilas y su núcleo está ubicado centralmente o ligeramente excéntrico, con cromatina densa (Fig. 13).

Los testículos estudiados en las tres etapas del ciclo reproductor presentan tres zonas bien definidas: una zona periférica, una intermedia y una central, las cuales van siendo diferentes histológicamente, conforme transcurre la espermatogénesis. A continuación se mencionan las características histológicas de cada una de estas tres zonas, ilustrándose a menor aumento (78 X), con el objeto de mostrar una imagen panorámica y poner en evidencia las diferencias que estas tres zonas presentan en cuanto a la disposición y tipos celulares presentes, a la amplitud de los lóbulos, a la cantidad de tejido intersticial y en ocasiones, a su relación con la túnica albugínea; y se ilustran a mayor aumento (500 X), para mostrar las características con mayor detalle de los diferentes tipos celulares y de sus relaciones entre sí y con el tejido intersticial.

Zona periférica: Figs. 1, 6, 14 (78 X) y Figs. 4, 9 (500 X).

Los lóbulos seminíferos se encuentran muy compactos entre sí, debido a que existe escaso tejido conjuntivo entre ellos, los vasos sanguíneos y las células de Leydig también son escasos. Las células más abundantes que se observan en los lóbulos de esta zona son las espermatogonias, las cuales obliteran por completo la luz de los lóbulos.

Zona intermedia: Figs. 2, 7 (78 X), Fig. 15 (200 X) y Figs. 5, 10, 11, 19 (500 X).

Los lóbulos se encuentran más separados entre sí, debido a la presencia de mayor cantidad de tejido conjuntivo, en el cual se pueden observar células de Leydig y fibras de colágena, así como vasos sanguíneos de diferentes diámetros (Fig. 13 - 1250 X).

En el interior de los lóbulos se observan quistes con células en distintas etapas de la espermatogénesis, dentro de

las cuales podemos mencionar en mayor abundancia espermatoцитos primarios, observándose una luz bien definida en el centro de los lóbulos, en donde se presentan escasos espermatozoides.

Zona central: Fig. 3 (78 X), Figs. 8, 17 (200 X) y Figs. 12, 21 (500 X).

Los lóbulos se encuentran muy separados entre sí, con una amplia luz en su interior conteniendo principalmente masas de espermatozoides. Entre los lóbulos de encuentran grandes prolongaciones de tejido conjuntivo con gran cantidad de fibras de colágena que se prolongan en forma de lengüetas o trabéculas, entre este tejido se localizan células de Leydig.

#### Características de las células del testículo.

Espermatogonias: Fueron observadas frecuentemente en los quistes ubicados en la zona periférica del testículo; son células de gran tamaño, de forma redondeada, con citoplasma hialino y un núcleo central redondeado, en el cual se puede observar un nucléolo y cromatina dispersa (Figs. 4, 9, 10, 13).

Espermatocitos de primer orden: Se observaron frecuentemente en los quistes ubicados en la zona intermedia del testículo; son células de gran tamaño, con un prominente núcleo bien definido que presenta su cromatina muy evidente.

Se observaron algunas figuras meióticas: núcleos con el material cromatínico poco visible (Profase I temprana) y núcleos con cromosomas muy densos e irregulares ocupando todo el núcleo (Profase I tardía) (Figs. 22 y 23).

Espermatocitos de segundo orden: No se observaron en ninguna de las tres etapas del ciclo reproductor, ya que es una fase que se realiza en forma muy rápida.

Espermátidas: Se observaron frecuentemente en los quistes localizados en la zona intermedia y en la zona central, en compañía de quistes que contienen espermatocitos primarios y masas de espermatozoides; muestran un menor tamaño que las células de las etapas anteriores de la espermatogénesis; su núcleo es central y redondo con material cromatínico muy denso (Figs. 19, 20, 23, 24).

Espermatozoides: Generalmente se observan en la zona central del testículo, formando masas en la luz de los lóbulos. Son pequeños, con bien definidas cabeza y cola, las cabezas se observan apuntando hacia una misma dirección y las colas forman una especie de ramillete que semejan a un paracaídas; el núcleo es redondo con densa cromatina (Figs. 16, 17, 20, 21, 24).

Células de Sertoli: Generalmente son de gran tamaño y tienden a presentar forma redondeada, su citoplasma es hialino, su núcleo es prominente, con finas granulaciones y en la parte central se observa un nucléolo. Estas células se localizan a lo largo de la membrana basal de los lóbulos, cerca de las espermatogonias y de los espermatocitos de primer orden (Figs. 11, 18, 22).

Figs. 1, 2 y 3.

Edo. de maduración I.

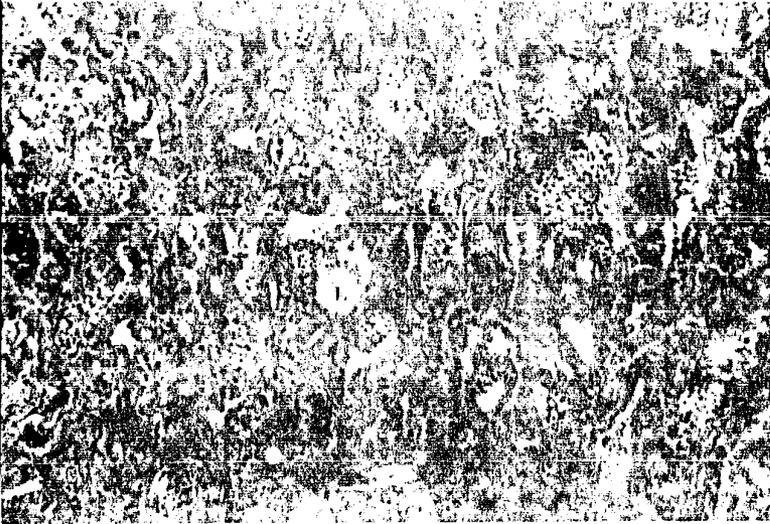


Fig. 1. Zona periférica.  
Con lóbulos seminíferos (l), la mayoría compactos con escaso tej. conj. (Tc).

Tec. Masson. 78 X



Fig. 2. Zona intermedia.

Con lóbulos seminíferos (l), con mayor cantidad de tej. conj. (Tc), túnica albugínea (Ta), con fib. colágenas (C).

Tec. Masson. 78 X



Fig. 3. Zona central.

Con luz amplia en los lóbulos: (l), mayor cantidad de tej. conj. (Tc), túnica albugínea (Ta), con vasos sang. (V), fib. colágenas (C) y musculares (m).

Tec. Masson. 78 X

Figs. 4 y 5.

Edo. de maduración I.

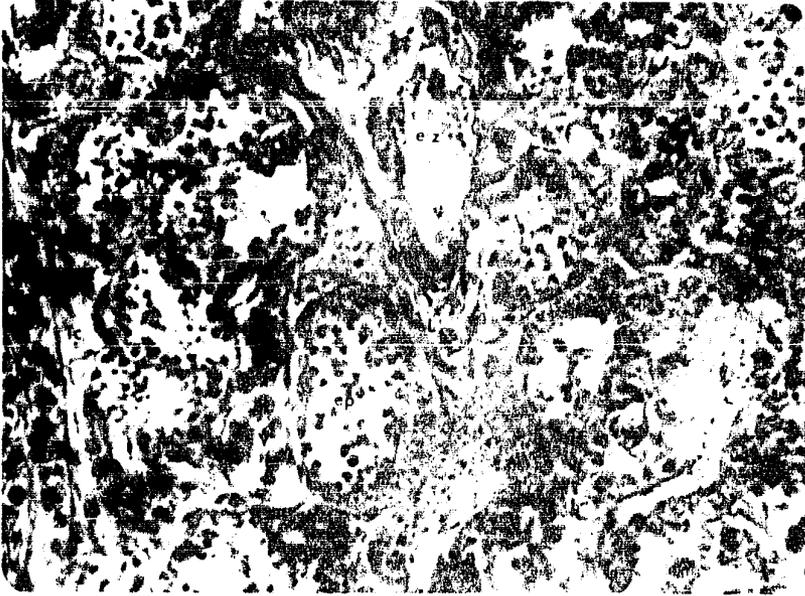


Fig. 4. Zona periférica.

Tej. conj. (Tc), vasos sang. (V), espermatogonias (E), espermatocitos los. (ep), espermatozoides (ez), cels. de Leydig (L).

Tec. Masson. 500 X

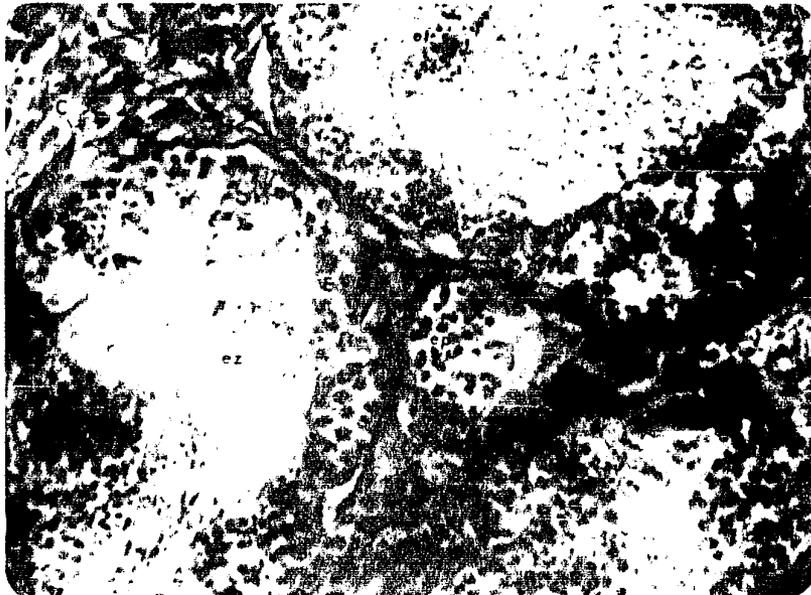


Fig. 5. Zona intermedia.

Túnica albugínea (Ta), fib. colágenas (C), tej. conj. (Tc), quistes (q); espermatogonias (E), espermatocitos los. (ep), espermatidas (et), espermatozoides (ez).

Tec. Masson. 500 X

Figs. 6, 7 y 8.

Edo. de maduración II.

Fig. 6. Zona periférica.

Lóbulos compactos (l),  
escaso tej. conj. (Tc),  
vaso sang. (V).

Tec. Masson. 200 X

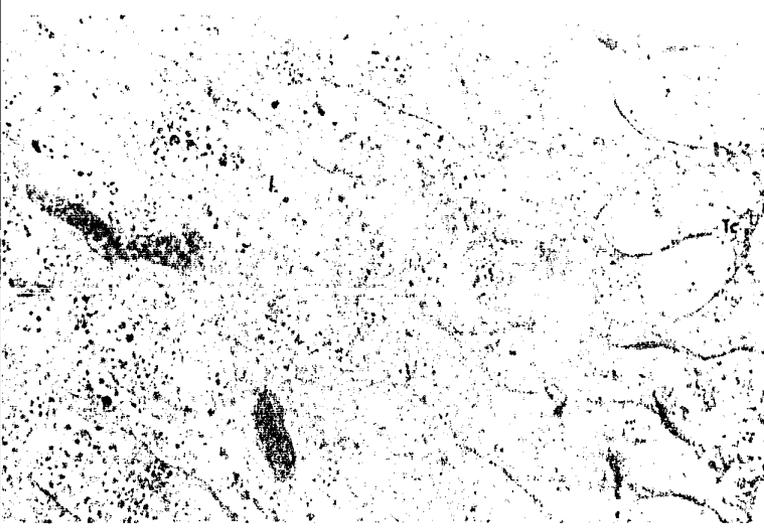


Fig. 7. Zona intermedia.

Lóbulos (l) más separados  
por mayor cantidad de tej.  
conj. (Tc), vasos sang.  
(V), fib. colágenas (C).

Tec. Masson. 78 X

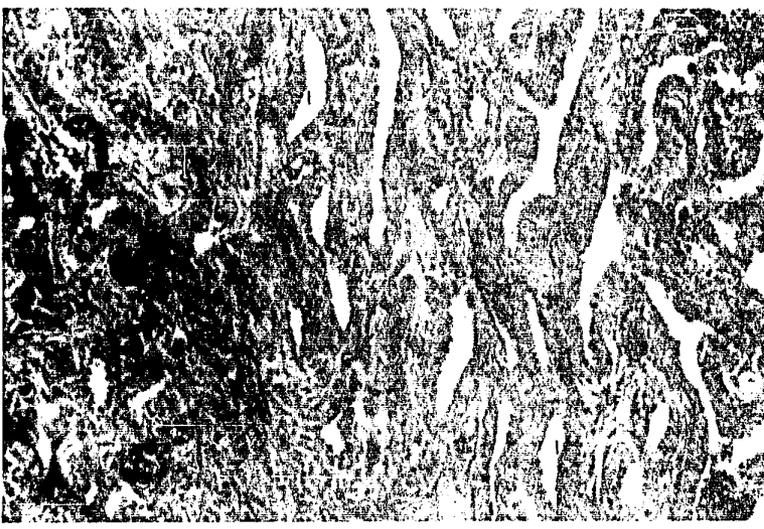


Fig. 8. Zona central.

Lóbulos (l) con amplia  
luz, tej. conj. (Tc) en  
mayor cantidad, quistes  
(q) en diferentes esta-  
dos de maduración.

Tec. Masson. 200 X



Figs. 9 y 10.

Edo. de maduración II.

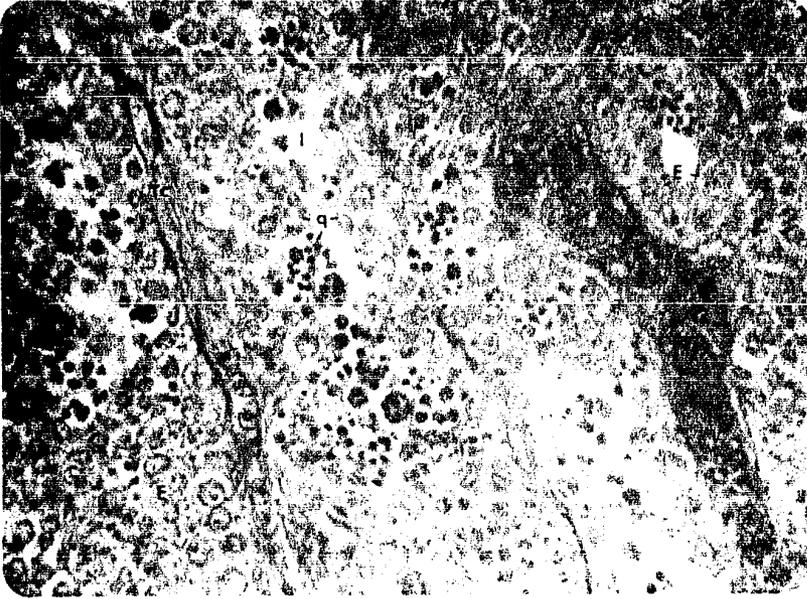


Fig. 9. Zona periférica.

Lóbulos (l) compactos con quistes (q) en diferentes estados de maduración, tej. conj. (Tc), vasos sang. (V), espermatogonias (E).

Tec. Masson. 500 X

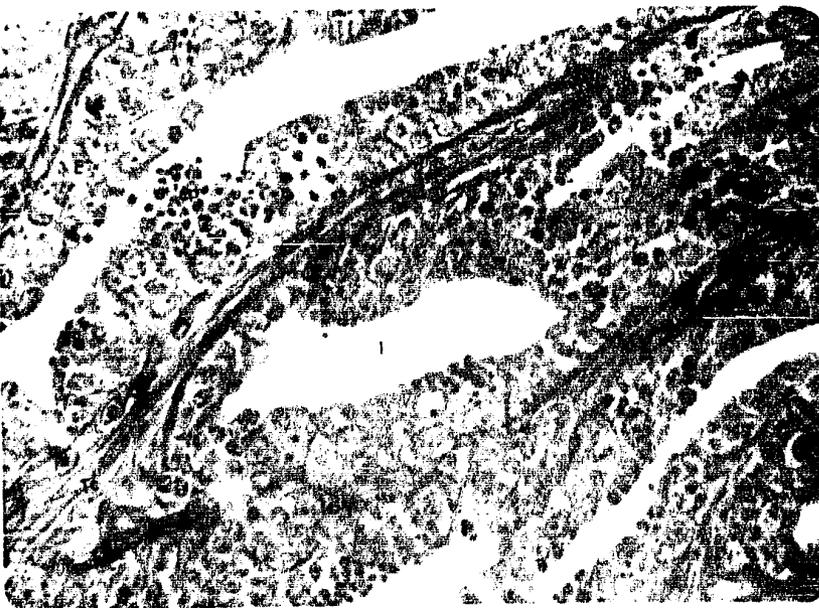


Fig. 10. Zona intermedia.

Lóbulos amplios (l), tej. conj. (Tc), vasos sang. (V), fib. colágenas (C), espermatogonias (E), espermatoцитos Ios. (ep).

Tec. Masson. 500 X

Figs. 11 y 12.

Edo. de maduración 11.



Fig. 11. Zona intermedia.

Lóbulos amplios (l), tej. conj. (Tc), vasos sang. (V), quistes (q) en diferentes estados de maduración, fib. colágenas (C), espermatogonias (E), espermatoцитos ios. (ep), espermátidas (et), cels. de Sertoli (S).

Tec. Masson. 500 X



Fig. 12. Zona central.

Lóbulos con amplia luz (l), tej. conj. (Tc), vasos sang. (V), fib. colágenas (C), quistes (q) en diferentes estados de maduración, espermatogonias (E), espermatoцитos ios. (ep), espermátidas (et).

Tec. Masson. 500 X

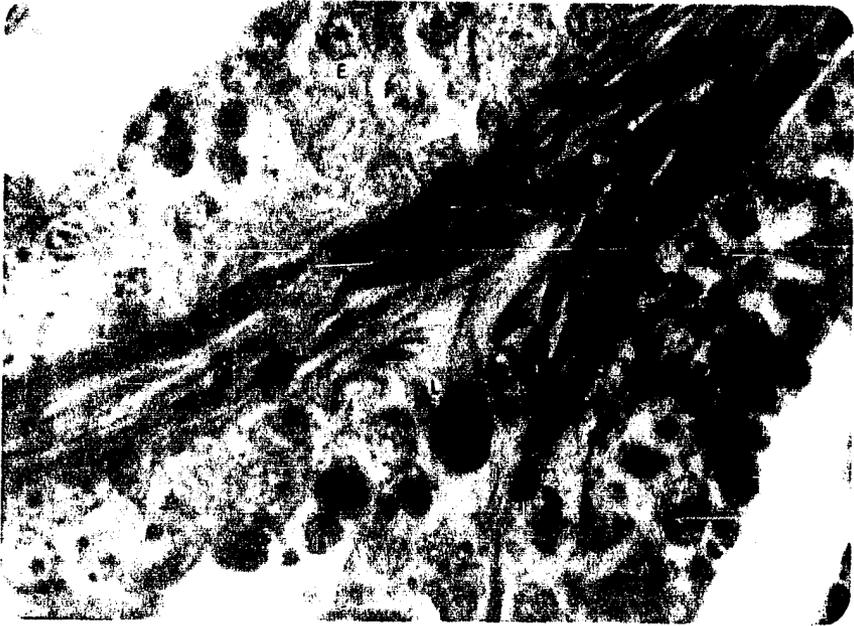


Fig. 13. Edo. de maduración II. Zona intermedia.  
Fib. colágenas (C), fib. musculares (m), cels. de  
Leydig (L), espermatogonias (E), espermatocitos  
los. (ep).

Tec. Masson. 1250 X

Figs. 14 y 15.

Edo. de maduración V.

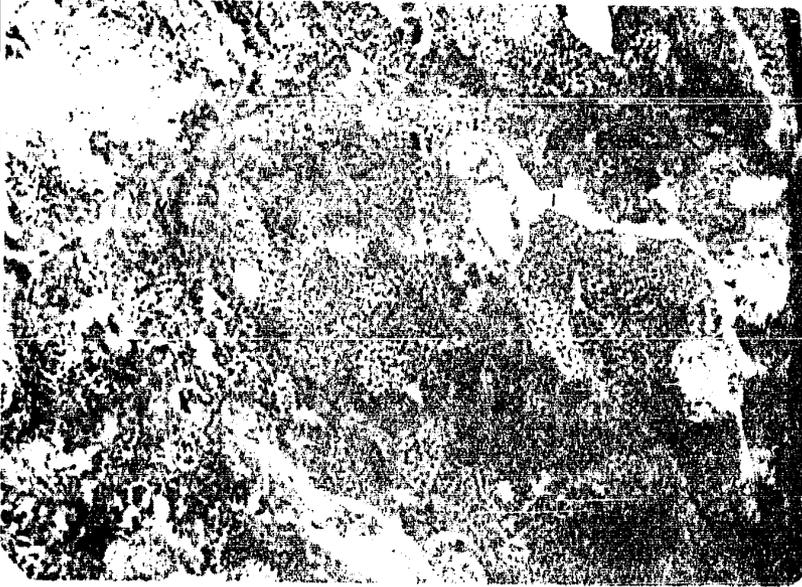


Fig. 14. Zona periférica.

Lóbulos amplios (l), va-  
sos sang. (V).

Tec. H-E. 200 X

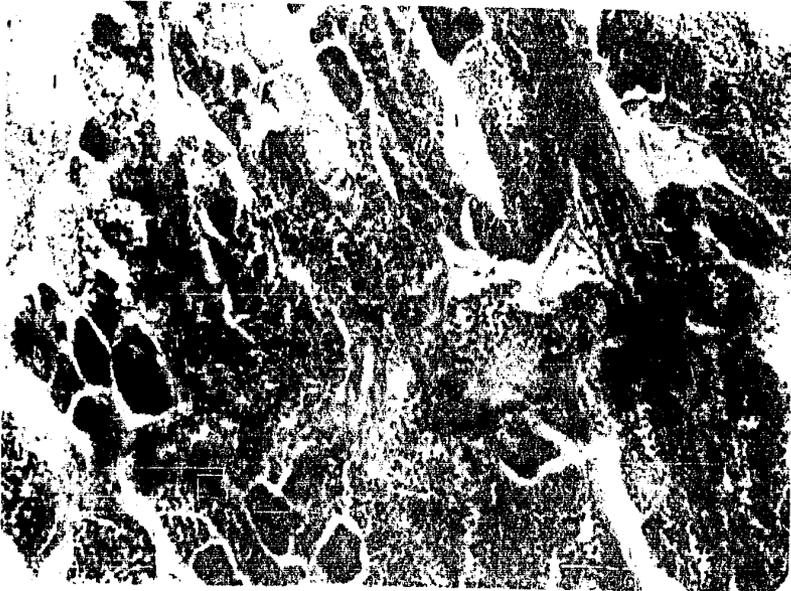


Fig. 15. Zona intermedia.

Lóbulos más amplios (l),  
tej. conj. (Tc), vasos  
sang. (V).

Tec. H-E. 200 X

Figs. 16 y 17.

Edo. de maduración V.



Fig. 16. Zona intermedia.

Lóbulos con amplia luz (l), con masas de espermatozoides (ez), tej. conj. (Tc), quistes (q) en diferentes estados de maduración, vasos sang. (V), espermátidas (et).

Tec. H-E. 200 X



Fig. 17. Zona central.

Masas de espermatozoides (ez), tej. conj. (Tc).

Tec. H-E. 200 X

Figs. 18 y 19.

Edo. de maduración V.

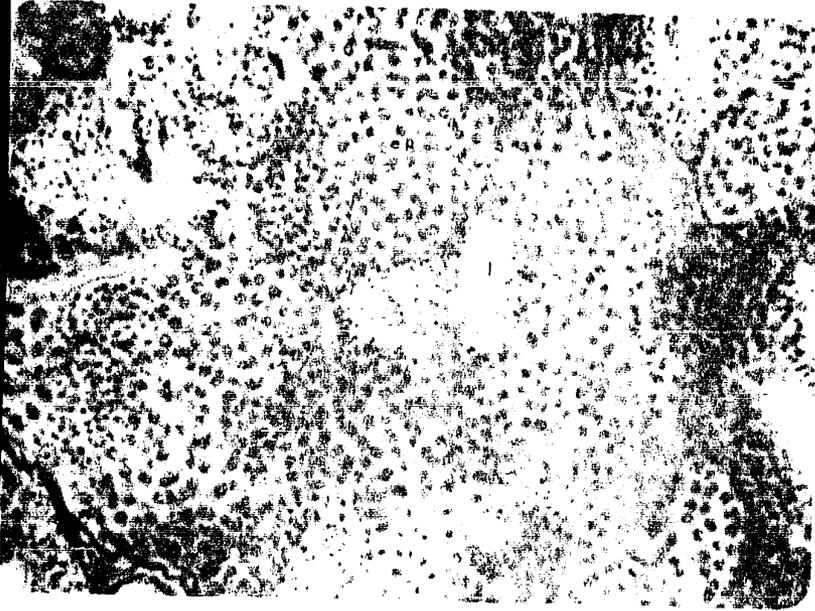


Fig. 18. Zona periférica.

Lóbulos compactos (l),  
escaso tej. conj. (Tc),  
cels. de Sertoli (S),  
espermato-citos los. (ep),  
espermátidas (et).

Tec. H-E. 500 X



Fig. 19. Zona intermedia.

Vasos sang. (V), tej.  
conj. (Tc), espermato-  
citos los. (ep), esper-  
mátidas (et), esperma-  
tozoides (cz).

Tec. H-E. 500 X

Figs. 20 y 21.

Edo. de maduración V.

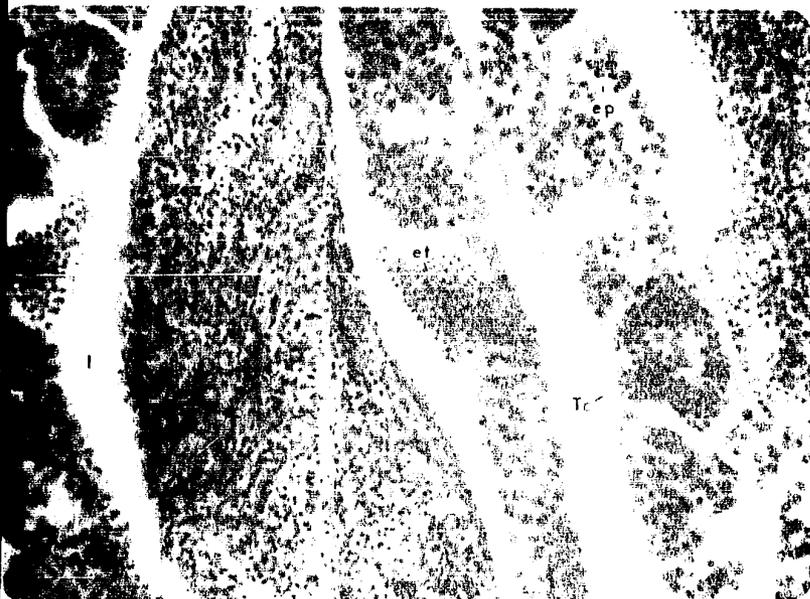


Fig. 20. Zona intermedia.

Lóbulos amplios (l), tej. conj. (Tc), espermato-  
citos los. (ep), espermáti-  
das (et), espermatozoides  
(cz).

Tec. H-E. 500 X

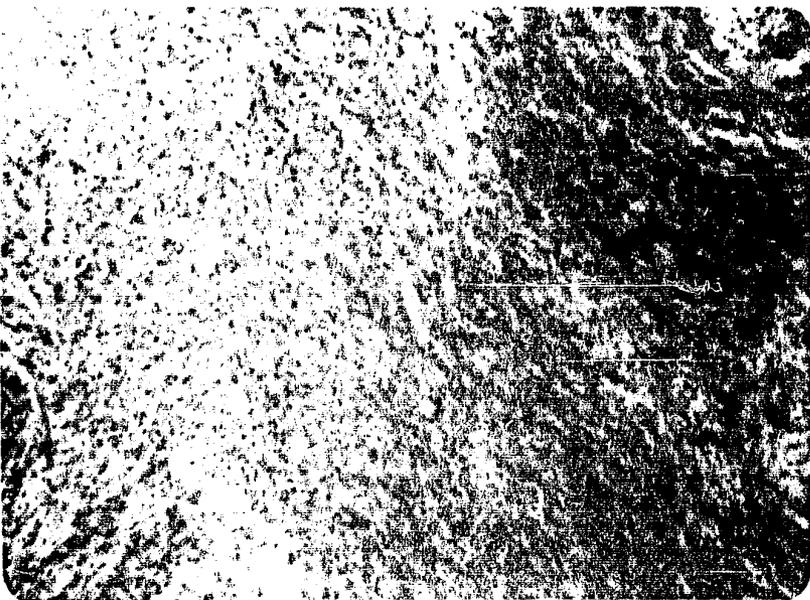


Fig. 21. Zona central.

Masas de espermatozoi-  
des (ez).

Tec. H-E. 500 X

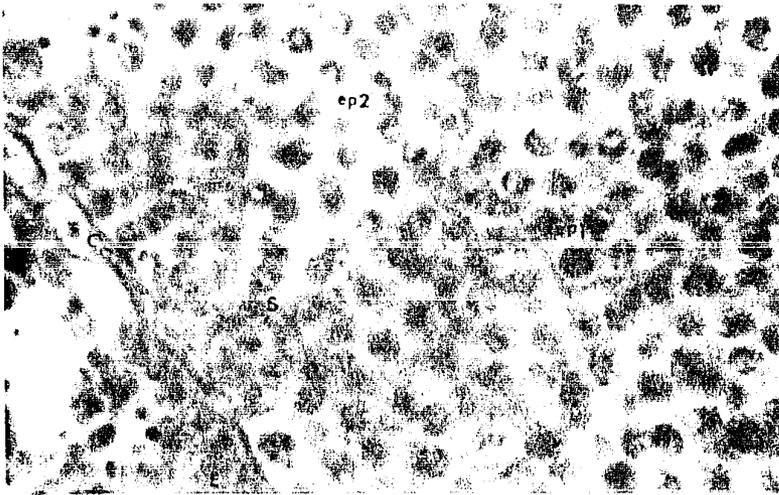


Fig. 22.  
Cels. de Sertoli (S),  
fib. colágenas (C), es-  
permatogonias (E), es-  
permatocitos los. en  
profase I temprana (ep1),  
y profase I tardía (ep2).  
Tec. H-E. 1250 X

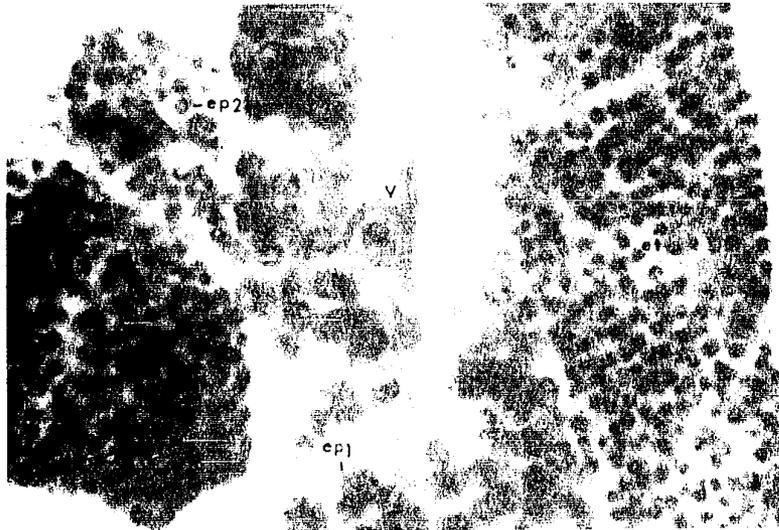


Fig. 23.  
Vasos sang. (V), es-  
permatocitos los. en profa-  
se I temprana (ep1), y  
profase I tardía (ep2),  
espermátidas (et).  
Tec. H-E. 1250 X

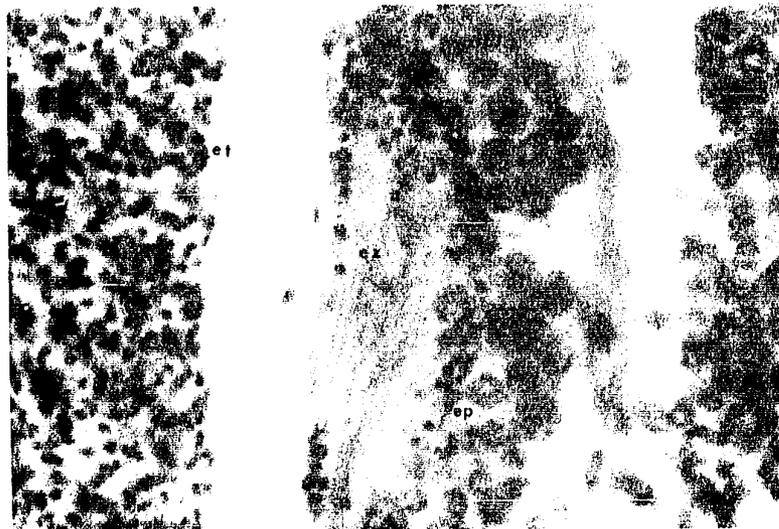


Fig. 24.  
Espermatocitos los. (ep),  
espermátidas (et), es-  
permatozoides (ez).  
Tec. H-E. 1250 X

## V. DISCUSION Y CONCLUSIONES.

La descripción anatómica del aparato reproductor del botete, coincide con los trabajos hechos por Turner en Perca flavence (1919) y Lehry en Clarias batrachus (1967).

En base a los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede afirmar que, durante los meses de julio y agosto, los testículos de la especie trabajada, presentan una amplia actividad espermatogénica, puesta de manifiesto en las observaciones microscópicas, con la enorme cantidad de espermatozoides que se encuentran en el testículo; en consecuencia, se observa un gran aumento de peso y volumen en el testículo durante estos meses. Es muy evidente la diferencia del testículo colectado en agosto (162 gr.), en relación al testículo colectado en febrero (1 gr.).

En el caso de la hembra de esta misma especie, descrito en el estudio hecho por Gomar, O. (1984) "Ovario de pez botete (S. annulatus) aspectos histológicos", menciona que la época de desove de esta especie, corresponde probablemente al verano, lo cual coincide con la etapa de madurez observada en el macho cuando la actividad espermatogénica es muy grande. Estos resultados permiten afirmar que es durante el verano cuando ambos organismos, hembra y macho, se encuentran sexualmente maduros y, por lo tanto, es en esta época cuando se da la reproducción de esta especie.

Cabe mencionar que el proceso de espermatogénesis en la especie S. annulatus es de tipo quístico y de forma asincrónica, lo cual coincide con los estudios hechos en otras especies de peces óseos. Este proceso se realiza de la periferia al centro del testículo, dentro del cual se observan tres zonas bien definidas: periférica, intermedia y central; en ellas, los lóbulos seminíferos van variando de tamaño, formas y contenidos de tipos celulares; esto fué observado en los testículos de

las tres épocas del año, pero fué mucho más notorio en los testículos colectados en agosto, en los cuales corresponde a V el grado de madurez.

Es importante mencionar que las tres zonas que se observaron en los testículos, pueden corresponder a las ondas espermatogénicas descritas por Hyder (1970) en Tilapia nigra y que, en el caso de S. annulatus, la zona periférica corresponde a la onda espermatogénica primaria, ya que se encuentra caracterizada por mostrar los lóbulos seminíferos completamente llenos de espermatogonias y con escaso tejido conjuntivo; mientras que las zonas intermedia y central, corresponden a la segunda onda espermatogénica, ya que presentan una amplia luz en los lóbulos, con abundantes masas de espermatozoides y mayor cantidad de tejido conjuntivo, permitiendo así la separación de los lóbulos.

Cabe mencionar que el proceso de espermatogénesis observado en S. annulatus, en las tres épocas del año coinciden con algunas fases observadas en el estudio del ciclo estacional de Clarias batrachus, hecho por Lehry (1967), donde la fase de lenta espermatogénesis se extiende desde febrero hasta abril; en el caso de S. annulatus, el testículo obtenido en febrero corresponde a dicha fase, pues presenta características histológicas semejantes. La fase de rápida espermatogénesis en C. batrachus, observada durante mayo y junio; en S. annulatus corresponde a los ejemplares obtenidos en abril y mayo, en ellos se presentan características histológicas semejantes como son: incremento en el tamaño de los lóbulos, en los cuales se observan quistes con células en todos los estados de maduración, pero se encuentran en mayor número espermatoцитos y espermátidas. Mientras que la fase de madurez mostrada en C. batrachus desde julio hasta principios de septiembre, corresponde a los testículos de S. annulatus obtenidos en julio y agosto, caracterizados por presentar un amplio diámetro en los

l6bulos, as4 como la presencia de masas de espermatozoides, adem4s es en esta 6poca cuando los test4culos adquieren su m4ximo tama1o, especialmente en el mes de agosto.

En el test4culo obtenido en febrero, se observan abundantes espermatogonias, en particular en la zona perif6rica; se podr4a decir que esto se debe a que el test4culo se encuentra en la fase de lenta espermatog6nesis. En cambio, la diversidad de los espermatocitos primarios, los cuales fueron mejor observados en los test4culos obtenidos en los meses de abril y mayo, muestran que se encontraban en una etapa m4s avanzada de la espermatog6nesis, que ser4a la de r4pida espermatog6nesis. Mientras que las masas de espermatozoides observadas en los test4culos obtenidos en julio y agosto, se debe a que se est4 realizando la fase de madurez.

Podr4amos concluir en base a los resultados obtenidos en el estudio de C. batrachus y en las observaciones histol6gicas de S. annulatus, que ambas especies presentan un ciclo espermatog6nico semejante, con la etapa de reproducci3n durante el verano.

Es importante mencionar que no se observ3 la etapa de espermatocitos secundarios, consideramos que esto pudo deberse a que pueden haberse confundido con los espermatocitos primarios, los cuales presentan diversos tama1os y caracter4sticas celulares. Otro aspecto que impidi3 su identificaci3n es que esta fase se realiza muy r4pidamente y no es com4n encontrarlos. Otro elemento que dificult3 su observaci3n est4 en relaci3n con la escasa descripci3n que los diversos autores hacen de este tipo celular.

La forma caracter4stica de los espermatozoides, es una cabeza y una cola bien definidas, en el caso de S. annulatus, la cabeza es ligeramente alargada y, en relaci3n a su posici3n,

están hacia una misma dirección y las colas hacia el extremo contrario; al encontrarse en masas en esta posición, da el aspecto de un paracaídas abierto.

La túnica albugínea demostró ser semejante en su estructura histológica a la descrita para la especie P. flavence, en la cual se menciona que está compuesta de tejido conjuntivo con fibras elásticas y de colágena; en el caso de S. annulatus se observó una capa regular de tejido conjuntivo con fibras colágenas, sin embargo, las fibras elásticas son escasas. También se observaron paquetes de fibras musculares, que al igual que los vasos sanguíneos, se distribuyen irregularmente a lo largo de la túnica albugínea.

El número de muestras utilizadas en el presente trabajo no es representativo estadísticamente, pero permitió observar cambios en el testículo durante el ciclo reproductor de esta especie, analizándose el testículo en una etapa de mínima actividad (Febrero), en una de máxima actividad (Agosto) y en una etapa intermedia (Abril). Estas 3 etapas muestran los cambios que se presentan en el testículo durante su actividad espermatogénica. En este sentido consideramos necesario completar estas observaciones con el análisis de la reducción del testículo en el otoño para definir las características histológicas de esta etapa y completar el estudio del ciclo anual. Consideramos también necesario apoyar estas observaciones con un mayor número de ejemplares, especialmente de la primera etapa.

La técnica tricrómica de Masson proporcionó un vistoso contraste entre las fibras de colágena que se tiñen de azul, los eritrocitos en rojo, las granulaciones de las células de Leydig en amarillo claro, las células germinales en tabaco claro y los espermatozoides en negro, lográndose un claro contraste entre el núcleo y el citoplasma.

Con la técnica de Hematoxilina-Eosina, se mostró de manera más amplia las características generales del proceso de espermatogénesis.

Fué clara la utilidad de la aplicación de una técnica argéntica: la doble impregnación en caliente de Rio-Hortega vi rada en cloruro de oro; dicha técnica permitió observar fibras intersticiales, de los diferentes tipos que se encuentran en el tejido conjuntivo, como son las colágenas, reticulares y e-lásticas, sin embargo, esta técnica no mostró detalladamente los diferentes tipos celulares.

Con la técnica argéntica aplicada en cortes incluidos en parafina se observaron las fibras colágenas en el tejido in tersticial de color tabaco oscuro, así como los detalles de las células germinales, en particular de los espermatoцитos primarios, cuyos núcleos se impregnaron intensamente tomando una coloración tabaco oscuro, pudo observarse además, una di-versidad de estas células, así como de las espermátidas y de los espermatozoides.

---

\* \* \* \* \*

VI.-BIBLIOGRAFIA.

- 1.-Anónimo. Catálogo de peces marinos mexicanos. S.I.C. Pesca. México. 1976.
- 2.-Billar R. 1969. Espermatogenesis en Poecilia reticulata. Ann. Biol. Anin. Bioch. Biophys. 9:251-271 .
- 3.-Castro-Aguirre, José Luis. 1976. Catálogo sistemático de los peces marinos que penetran a las aguas continentales de México con aspectos Zoogeográficos y Ecológicos. Pesca. México.1976.
- 4.-Dickson Hoense and Richard H. Morre. 1977. Fishes of the Gulf of the México, Texas, Louisiana and adjacent waters. Texas University Press.
- 5.-Edwards W. Gresik, J. Gerard Quirk. 1972. Fine structure of the Sertoli cells of the testis of teleost Orizias latipes. J. Endocrinol. 44:555-566.
- 6.-Estrada, F.E.,L. Peralta, P.Rivas M. 1982. Manual de Técnicas Histológicas. Act. Ed,S.A. México. 7-139.
- 7.-Gomar-Chavarria O.I.1984. Tesis. Ovario de pez, botete (Sphoeroides annulatus) aspectos histológicos. México. 1-50.
- 8.-Gottfried.H. 1967. On the histology of the interstitium and occurrence of the steroids in the Sticklaback (Gasterotus aculatus). Acta. Endocrinology. 56:1-15 .
- 9.-Hoar. S.W. 1969. Reproduction, in:(Hoar and Randall Ed.).Fish Physiology. Academic Press. London. 3:1-59.
- 10.Hyder M. 1970. Histological studies on the testis of pond specimens of Tilapia nigra (Guther) Piscis:Cicleadal and their implicatio of the pititary-testis relation heps. Gen. Comp. - Endocrinal 14. 198-211.
- 11.Lagher, K.F. and J.E. Bardach and Ryther. 1962.Ichthyology . Ed. John Willey I Sans. Inc. 280-285.

- 12.-Lehry G.K. 1967. The annual cycle in the testis of the -  
Catfishes Clarias batrachus. L.Acta. Anat. 67:134-154.
- 13.-Méndez, M.U. 1981. Tesis. Estudio histológico comparado -  
de la retina en cinco vertebrados. México. 1-78.
- 14.-Miller J. and N. Hea. 1972. Guide to the Coastal Marine-  
Fishes of the California. California Fish Bulletin 157 .  
Marine Resources Region .
- 15.-Moris David. 1980. Vertebrata endocrinology. Fehiger Phyla  
delphia. 115-121.
- 16.-Turner. C.L. 1919. The seasonal cycle in the espermery of-  
the perch. J.Morph. 32.:681-711.