



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO**

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
IZTACALA

**Descripción Histológica del Testículo  
de Chirostoma jordani**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

BIOLOGO

P R E S E N T A

**RODOLFO CARDENAS REYGADAS**

LOS REYES IZTACALA

1982



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

### AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Es realmente sorprendente el número de personas que intervienen tanto directa como indirectamente en la realización de algún trabajo por más modesto que sea. Obviamente, -- deseo el no cometer ninguna omisión, y si eso sucede, pido de antemano sinceras disculpas por ella.

Quiero agradecer primeramente a mi Director de Tesis M.C. JORGE TOLOSA SANCHEZ, por la paciente labor realizada, por el tiempo dedicado y ese gran esfuerzo.

También a la DRA. ELSA CALLEJA QUEVEDO, Jefe de -- Asignatura de Histología-Embriología, por las facilidades para realizar el Trabajo en su Laboratorio, por sus revisiones al manuscrito y por los desinteresados consejos y opiniones.

A la BIOL. SILVIA HERNANDEZ BETANCOURT, por la ayuda brindada en las colectas, así como la revisión del manuscrito y sus valiosas aportaciones.

Al M. en C. HECTOR BARRERA ESCORCIA y al BIOL. JOSE ANTONIO MEVRAN CAMACHO, por la revisión del Trabajo original y sus preciados comentarios.

Al P. de B. RAMON CISNEROS B. por su colaboración - en el Trabajo Fotográfico.

Al BIOL. JOSE ANTONIO MARTINEZ PEREZ y al P. de B. ESMARAGDO JIMENEZ N. por su colaboración en las colectas y - ayuda técnica prestada.

Al personal de la Asignatura de Histología-Embriología P. de B. JOSE DEL CARMEN BENITEZ F., P. de B. MARTIN MARTINEZ T. P. de B. GABRIELA PEREZ C., P. de B. LAURA COLIN B., P. de B. LETICIA VERDIN T. y al SR. MOISES ROMERO, por la ayuda y consejos brindados.

Al personal del Acuario de la E.N.E.P. Iztacala, en especial a su asesor P. de B. MARIO CHAVEZ ARTEAGA, por las facilidades brindadas para el mantenimiento de los organismos utilizados en este Trabajo.

Al P. de B. ENRIQUE GODINEZ C. Director del Vivario de la E.N.E.P. Iztacala, por las facilidades brindadas.

A la SRA. SILVIA LANDA R., por su trabajo mecanográfico.

A mis amigos extramuros LIC. JOSE LEIVA GARCIA, SR. -- JORGE MARES C. y SR. ALBERTO LECHON V., por el gran apoyo moral.

Y el último agradecimiento, en forma muy especial para MI MADRE, MIS HERMANAS, MIS SOBRINOS y a PATY, por su diario apoyo y su confianza que fue un estímulo valiosísimo para el autor.

A todos ellos, muchas gracias y la dedicación de este Trabajo.

RODOLFO CARDENAS REVGADAS.

*A la Memoria de mi PADRE.*

INDICE

	PAGS. :
INTRODUCCION -----	1
MATERIAL Y METODOS -----	10
RESULTADOS -----	12
DISCUSION -----	28
CONCLUSIONES -----	34
BIBLIOGRAFIA -----	35

## DESCRIPCION HISTOLOGICA DEL TESTICULO DE

### Chirostoma jordani

INTRODUCCION: El estudio de la gametogénesis ha sido de gran interés desde su descubrimiento. Dichos estudios - han permitido entre otras cosas aumentar la eficiencia reproductiva de las especies animales explotadas por el hombre y - la del hombre mismo.

En vista del interés zoológico y la importancia económica de los teleósteos, no es de extrañarnos que el estudio de la gametogénesis se haya aplicado también a este grupo de organismos, y que durante las últimas dos décadas, se tengan ya, una mayor cantidad de reportes, tanto del testículo como del ovario de los peces (Dodd 1972). A pesar de lo anterior, sólo algunas de las aproximadamente 20,000 especies de teleósteos han sido estudiadas. Tomando en cuenta esto, Dodd (1972) ha expresado que el material hasta la fecha publicado aunque extenso, es insuficiente para realizar generalizaciones.

Los testículos en teleósteos son órganos pares y de forma elongada, unidos a la pared corporal por una membrana serosa denominada mesorquio. En la pared posterior, presentan un conducto, el cual en la mayoría de las especies estudiadas abandona el testículo para unirse con su homólogo del lado -- opuesto y formar el conducto espermático común el cual llega al poro o apertura genital. En muchas especies ambos testículos presentan la misma longitud mientras que en otras, uno de los testículos puede ser más corto (Samwall R. y Khanna S.S. 1972).

Histológicamente el testículo de los peces presenta una organización mucho más variada que la de los tetrápodos, y generalmente suele decirse que está constituido por cistos, -

túbulos o alveolos, células intersticiales o de Leydig y células de sostén o de Sertoli.

Hoar (1968) describe el testículo de los teleósteos como una estructura que presenta gran cantidad de pequeños --conductos (vasos eferentes) que penetran en el cuerpo del órgano tanto ventral como lateralmente, y forman un sistema de drenaje de complejidad variable. (Fig. 1).



Fig. 1. Esquema de Testículo de Pez teleósteo donde se señala los túbulos o alveolos (A), vasos eferentes (V.E.) y Conducto Espermiático.

En algunas especies estos túbulos son extremadamente cortos y penetran muy poco en el páncrema testicular, mientras que en otras penetran a tal grado, que forman un extenso sistema que puede llegar hasta la periferia del testículo.

Existen testículos que son referidos como alveolares (Poecilidos) los cuales se caracterizan por presentar alveolos en lugar de túbulos. El alveolo es una estructura con mayor --diámetro que el túbulo. También entre los peces hay testículos referidos como tubulares (Fundulus), los cuales son semejantes a los de los tetrápodos.

En contraste con los tetrápodos las células germinales en teleosteos no siempre se presentan a todo lo largo del túbulo o alvéolo seminífero (según sea el caso). En los testículos de tipo alveolar a partir de la proliferación de las células germinales se desprenden grupos de espermatogonias, que a medida que van sufriendo los procesos de maduración propios de la espermatogénesis, se van desplazando hacia los vasos eferentes y de ahí a los conductos espermáticos. (Fig. 2).



FIG. 2. Esquema de la Migración del Cisto al Vaso Eferente.

Las espermatogonias que originalmente resultaron de la proliferación de las células germinales permanecen unidas entre sí y limitadas por una membrana citoplásmica que generan las células de sostén, durante todo el proceso de maduración. A este conjunto de células se les conoce con el nombre de nidos o cistos celulares. Durante la maduración, todas las células de un cisto están aproximadamente en el mismo estado de desarrollo, pero el grado de sincronía varía en las diferentes especies.

En los testículos tubulares los grupos de células ger-

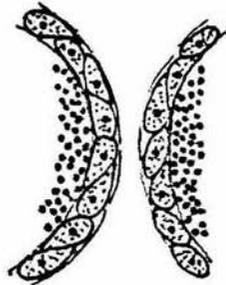
minales son particularmente evidentes, presentándose en forma de paquetes, hacia la porción ciego de los túbulo seminíferos, pero muchas de ellas migran o se desplazan por las paredes de los túbulo.

Gresik E.W., Quirk J.G., y Hamilton J.B. (1973), describen a las células del epitelio cístico de *Oryzias latipes*, como un epitelio plano simple, relativamente pobre en organelos, - que se transforma en epitelio columnar simple durante la espermiogénesis y que está involucrado en actividades como la fagocitosis, síntesis de esteroides y nutrición de las espermátides. Finalmente señalan que son comparables a las células de Sertoli de los mamíferos.

Células similares a las descritas por Leydig en los testículos de mamífero, han sido identificadas entre los alvéolos y túbulo seminíferos de los peces (Hoar 1963). Con la técnica de Hematoxilina y Eosina, se observan como células grandes, - con núcleo oval o esférico, y citoplasma vacuolado. Mediante el uso de técnicas histológicas especiales para evidenciar lípidos, es posible determinar que las vacuolas son inclusiones lipídicas. Por técnicas histoquímicas se ha determinado (Varon 1966), en el citoplasma de estas células, la presencia de la enzima  $\Delta^5-3\beta$  hidroxisteroide deshidrogenasa, la cual se sabe participa en la síntesis de hormonas esteroides. En ciertos teleosteos las células de Leydig o intersticiales se encuentran localizadas en el tejido intersticial como sucede en los mamíferos, en cambio en otros las células productoras de hormonas esteroides se localizan hacia la pared de los túbulo seminíferos incluidas dentro de los límites de su membrana basal.

(Fig. 3).

FIG. 3. Esquema de la -  
Localización de  
Células Limitan-  
tes del Lóbulo  
en algunos te--  
leósteos. (Toma  
do del Marshall  
and Lofts 1956).



Los primeros en reportar este tipo de organización -- fueron Marshall A.J. y Lofts B. (1956), y les llamaron "células limitantes del lóbulo". Aparentemente la única diferencia entre las células intersticiales o de Leydig y las células limitantes del lóbulo, es su localización, pues en características histo-- químicas parecen ser similares.

Upadhyay S.N. y Guraya S.S. (1973), han descrito las células germinales en: *Notopterus notopterus*, *Labeo rahita*, *Labeo ganeis* y otras especies de la siguiente manera:

Las espermatogonias resultan de la transformación de las células germinales, presentan un núcleo grande que contiene un nucleólo prominente. El material cromatínico está en forma de cuerpos discretos. El citoplasma es poco abundante y acidófilo, con cuerpos lipídicos sudanófilos.

Los espermatoцитos primarios se originan de las espermatogonias, presentan un núcleo vesicular de gran tamaño y en posición excéntrica. Un nucleólo sudanófilo está presente -- también, pero no es observable fácilmente porque el espermato-- cito se divide rápidamente. La cromatina está en forma de fi-- lamentos, usualmente dispersos a través del núcleo. El cito-- plasma de los espermatoцитos primarios muestra cuerpos lipídi-- cos, que están constituidos por fosfolípidos. El citoplasma -- muestra también, la presencia de lipoproteínas y Acido ribonu-- cleico (R.N.A.) dispersos.

Los espermátocitos secundarios resultan de la división meiótica del espermátocito primario. Los espermátocitos secundarios son relativamente más pequeños en tamaño que los espermátocitos primarios. El patrón de distribución de la cromatina en el núcleo es similar al observado en el espermátocito primario. El nucleólo no es observable ya que son células que se dividen rápidamente. Los componentes citoplásmicos y reacciones histoquímicas del espermátocito secundario son básicamente los ya descritos para el espermátocito primario, ya que también muestran la presencia de algunos cuerpos fosfolipídicos, mitocondrias granulares y algunos lípidos difusos, consistentes en lipoproteínas; en el citoplasma también se detecta la presencia de ácido ribonucleico (R.N.A.).

Las espermátides se originan de la segunda división meiótica que sufre el espermátocito secundario, son mucho más pequeñas que los espermátocitos y pueden considerarse dos tipos: - las jóvenes y las maduras.

El núcleo de la espermátide joven es de forma más o menos oval, la cromatina está en forma de cuerpos discretos, y da una reacción positiva para las pruebas de Acido Desoxirribonucleico (D.N.A.) y proteínas. El nucleólo no ha podido ser observado en el núcleo de las espermátides. El citoplasma muestra unos pocos cuerpos lipídicos sudanófilos, constituidos por lipoproteínas. Los gránulos mitocondriales son más prominentes en este estadio, y presentan mayor afinidad a la tinción con Sudán negro B, que los gránulos mitocondriales de las espermatogonias y espermátocitos. El citoplasma es positivo a la reacción de R.N.A. no se ha observado gránulos o vacuolas positivas al Acido Peryódico de Schiff (PAS), en el citoplasma de las espermátides jóvenes. Ninguna estructura como el aparato de Golgi o el cuerpo cromatóide ha podido ser determinada en este estadio de la espermatogénesis.

Espermátide madura (espermiogénesis):

Con el subsiguiente desarrollo de la espermátide, el -

citoplasma y sus componentes se desplazan, hacia la parte posterior al núcleo. Debido a estos cambios, la membrana nuclear en su región anterior entra en contacto con la membrana plasmática. Al finalizar, el sitio donde la membrana nuclear y la membrana plasmática están en contacto, denota la parte anterior del espermatozoide. Simultáneamente el contenido del núcleo comienza a -- condensarse. Como resultado de estos cambios, el núcleo se empieza a teñir homogéneamente. El citoplasma y sus componentes gradualmente se desplazan a la región posterior del núcleo. Después de estos eventos, los gránulos mitocondriales se asocian en la -- región posterior al núcleo. Al mismo tiempo parecen fusionarse -- unas con otras para terminar formando grandes esferas que se tiñen más intensamente con Suddán negro B que los gránulos mitocondriales de etapas más tempranas. Estas esferas mitocondriales -- pueden ser llamadas condrioesferas.

El citoplasma y algunos componentes de la espermátide, parecen ser retenidos en la pieza media del espermatozoide. Conforme se diferencia la espermátide, el flagelo se forma en su -- citoplasma. Finalmente las espermátides se transforman en espermatozoides, los cuales muestran una considerable reducción en el volumen nuclear.

El espermatozoide maduro presenta los siguientes componentes:

- A) Cabeza.
- B) Pieza media.
- C) Flagelo.

A).- La cabeza del espermatozoide es de forma oval o esférica, y está completamente formada por el núcleo. La cromatina se encuentra sumamente condensada, por lo cual se observa como una estructura densa. La cabeza muestra una reacción positiva al reactivo de Feulgen y a la prueba de Bromofenol azul, que la tiñe intensa y homogéneamente, indicando la presencia de D.N.A. y proteínas. El acro soma es una estructura Pas Positiva en los mamífes

ros y está ausente en todos los peces teleosteos - estudiados (Upadhyay S.N. y Guraya S.S. 1973).

- B).- El tamaño de la pieza media varía con respecto a los espermatozoides de las distintas especies. La pieza media, está formada de condrioesferas, que se tiñen de color negro y se encuentran aparentemente formadas por la coalecencia de los gránulos mitocondriales descritos para el estudio anterior. Las condrioesferas contienen una gran cantidad de lipoproteínas y sólo algunos fosfolípidos libres.
- C).- El flagelo o tallo del espermatozoide, se origina del citoplasma de la espermatide, durante la espermiogénesis, se tiñe ligeramente con Sudan negro B. (Upadhyay S.N. y Guraya S.S. 1973).

Hyder (1972) señala que entre los factores que parecen influir en la maduración de los gametos están, períodos de luz-oscuridad, temperatura ambiental y la lluvia, sin embargo deja abierta la posibilidad de que otros factores (como variaciones de salinidad, pH, etc.), pudieran influir en dicho proceso.

Se dice (Austin 1972), que estos factores influyen sobre el centro hipotalámico, el cual produce hormonas liberadoras (RH), las cuales viajan a través del sistema porta-hipofisiario a la adenohipófisis sobre la cual actúan regulando su actividad. La adenohipófisis a su vez secreta hormonas gonadotrópicas que estimulan la maduración del testículo.

El mecanismo hormonal de maduración no se tiene aún bien establecido.

#### CONSIDERACIONES SOBRE EL GENERO EN ESTUDIO.

En México, el género Chirostoma, ha sido tradicionalmente un grupo de peces utilizado ampliamente para la alimentación humana, desde tiempos prehispánicos. Dicho género es endémico y lo encontramos distribuido en los estados de México, Michoacán, Guanajuato, Jalisco e Hidalgo; e incluye especies tan conocidas como lo son el pez blanco (Chirostoma estor), y los diversos ti-

pos de charales (Ch. jordani, Ch. bartoni, Ch. chapalae). Hasta el momento los trabajos realizados con Chirostoma, han sido en su mayoría de sistemática (Cuesta Terrón 1931, Alvarez del Villar -- 1957), reclasificación (Barbour 1976), Biología del género (Soliz zano Preciado 1961, 1963), y distribución geográfica (Alvarez del Villar 1957) y parámetros ambientales en los que se desarrolla el Ch. jordani.

Como hasta la fecha no se ha reportado ningún trabajo -- relacionado con la gónada del charal, el objetivo del presente -- trabajo es realizar la descripción histológica del testículo de Chirostoma jordani.

#### MATERIAL Y METODO:

Se tomaron dos lotes de peces (26 organismos c/u colectados en las presas de Taximay Edo. de México y Corrales Hgo., durante el mes de Junio de 1980.

Las colectas se realizaron con un chinchorro charalero (abertura de malla 1/4 de pulgada) de 30 metros de longitud. Los organismos colectados fueron sacrificados y fijados en formol -- neutro al 10%. Posteriormente se midió su longitud patrón con un calibrador de plástico y se procedió a la disección para la obtención de los testículos, que también fueron medidos.

Algunos órganos se procesaron de rutina para su inclusión en parafina (Luna L.G. 1968), mientras que otros se procesaron para su inclusión en gelatina (Martoja R. y Martoja M. 1970).

Con los fragmentos incluidos en parafina, se hicieron cortes a 7 micras de grosor, los cuales se desparafinaron, se rehidrataron y se tiñeron con los siguientes métodos: Hematoxilina y Eosina (que se utilizó como método de tinción rutinario), Lillie para ácidos nucleicos (para detección del acrosoma) (Luna L. G. 1968); Impregnación argéntica de Gomori (para distinción entre las fibras de colágena y fibras reticulares), Método de Unna-Tanzer (para distinción de las fibras elásticas de las colágenas y reticulares) (Martoja R. y Martoja M. 1970); Hematoxilina Ácido -- fosfotúngstico (PTAH, para detección de nervios) (Lillie R.D. y Fullmer H.M. 1976); Verde de metilo-pironina de Unna-Pappenheim (Distinción entre D.N.A. y R.N.A.) (Bark H.C.; Lillie R.D. y Fullmer H.M. 1976); posteriormente se deshidrataron con alcoholes graduados, se aclararon con xilol y se montaron en resina sintética.

Los fragmentos incluidos en gelatina se cortaron a 15 micras de grosor, y fueron teñidos con Sudán Rojo B (para detección de lípidos) (Martoja R. y Martoja M. 1970) y se montaron en gelatina glicerínada.

En los cortes de testículo teñidos con Hematoxilina y Eosina se midieron los tamaños de las células germinales y células del tejido intersticial (15 células de cada tipo por corte, -

cuatro cortes por organismo y veintiocho organismos).

Para ello se utilizó un microscópio Carl Zeiss Mod. FO-MY III auxiliado por un ocular graduado American Optical y un porta-objetos (Carl Zeiss Mod. B-3741) graduado de un milímetro con 100 divisiones numeradas de veinte en veinte.

### RESULTADOS:

Los testículos en el charal Chirostoma jordani son órganos pares y elongados, de forma prismática ya que presentan un vértice hacia la región dorsal y dos vértices en la porción ventral (uno medial y otro lateral). Ambos testículos se unen en su región posterior a un conducto que se fusiona más caudalmente y desemboca en el poro genital el cual se localiza hacia la porción ventro-posterior del animal.

Dichos órganos están ubicados hacia las zonas dorso-laterales del cuerpo, y unidos a la cavidad corporal por un mesorquio dorsal el cual presenta escasa pigmentación en forma de manchas negras distribuidas de manera homogénea por toda la superficie. Una vez liberados del mesorquio estos órganos son de color blanquecino.

La longitud patrón media de los animales utilizados en el presente trabajo fue de  $4.016 \pm 0.359$  cm. La longitud media de ambos testículos fue de  $0.924 \pm 0.126$  cm., siendo mayor el testículo izquierdo cuya longitud media fue de  $0.765 \pm 0.123$  cm., mientras que la del derecho fue de  $0.885 \pm 0.116$  cm. La menor medida registrada en las gónadas de Ch. jordani se presentó en un pez cuya longitud patrón fue de 3.46 cm., la longitud del testículo derecho fue de 0.61 cm., la del izquierdo fue de 0.70 cm. La mayor longitud testicular se presentó en un pez cuya longitud patrón fue 4.78 cm., la longitud del testículo izquierdo fue de 1.27 cm., y la del testículo derecho 1.09 cm. El testículo derecho de mayor longitud fue de 1.18 cm. y se presentó en un pez cuya longitud patrón fue de 5.22 cm. (Tabla I).

Mediante el uso de la prueba estadística de coeficiente de correlación se encontró que existe una correlación altamente significativa entre el tamaño del pez y el tamaño de los testículos, así como entre el tamaño de ambas gónadas.

TABLA I

Registro de las medidas de la longitud patrón, longitud del testículo derecho y longitud del testículo izquierdo.

( Longitud dada en centímetros )

Longitud patrón	L. test. Der.	L. test. Izq.
3.43	0.77	0.81
3.46	0.61 *	0.70 *
3.50	0.78	0.85
3.60	0.68	0.74
3.64	0.71	0.82
3.64	0.78	0.87
3.64	0.81	0.85
3.68	0.74	0.81
3.68	0.79	0.85
3.72	0.84	0.96
3.73	0.81	0.85
3.78	0.89	0.94
3.79	0.89	0.94
3.82	0.81	0.92
3.82	0.85	0.93
3.85	0.83	0.90
3.86	0.86	0.91
3.87	0.76	0.87
3.88	0.97	1.04
3.88	0.98	1.10
3.89	0.81	0.88
3.90	0.79	0.88
3.91	0.81	0.85
3.95	0.78	0.84
3.96	0.85	0.88
3.96.	0.92	0.95

TABLA I ( CONTINUACION )

Longitud patrón	L. Test. Der.	L. Test. Izq.
3.98	0.77	0.87
3.98	0.90	0.97
4.00	0.93	0.99
4.01	0.82	0.89
4.03	0.91	0.93
4.05	0.86	1.01
4.05	0.90	1.00
4.05	1.12	1.19
4.07	1.05	1.09
4.09	0.99	1.05
4.10	0.91	0.96
4.11	0.85	1.05
4.11	1.04	1.15
4.13	0.87	0.93
4.15	0.90	1.02
4.17	0.94	1.01
4.20	0.89	0.93
4.21	0.98	1.03
4.32	0.90	1.06
4.34	1.00	1.10
4.45	0.90	1.08
4.70	1.00	1.10
4.78	1.09	1.27 *
4.82	1.06	1.11
4.90	1.14	1.20
5.22	1.18 *	1.24

La observación de cortes transversales a bajo aumento, nos permite apreciar que estos órganos son lobulados ( de tres a cinco lóbulos por testículo ), lo que le da también al corte, -- una apariencia triangular. Al centro del testículo, se aprecian un par de vasos sanguíneos, siendo uno de ellos, una arteria que procede de una ramificación de la aorta dorsal. El otro vaso sanguíneo que se observa tiene las características histológicas de una vena, la cual desemboca en la vena cardinal posterior. Se -- presenta también con una ubicación similar un conducto deferente sobre el cual vierten su contenido los túbulo menores del testículo.

En todos los testículos estudiados se encontraron células en las diferentes etapas de la espermatogénesis y se pudo observar que el patrón de maduración es cístico, y en términos generales de la periferia hacia el centro del órgano; es decir, -- que las células más indiferenciadas de la línea germinal las encontramos hacia los bordes, mientras que hacia el centro se observan células germinales más diferenciadas.

En los cortes examinados se distinguieron siete diferentes tipos celulares. Dos de ellos no fueron consideradas como células de la línea germinal (se denominaron células tipo VI y célula tipo VII). De las células de la línea espermática se distinguieron claramente dos grandes tipos celulares: Esféricas y flageladas, estas últimas se denominaron como células tipo V; -- dentro del grupo de las células esféricas se pudo apreciar las que tenían núcleo central (a las que se denominó células tipo I), y de las células esféricas con núcleo excéntrico pudo distinguir se un tipo celular que se localizó siempre alrededor de los conductos eferentes a las cuales se les denominó células tipo IV. -- Las células esféricas con núcleo excéntrico que no estuvieron en las inmediaciones de los conductos eferentes se les dividió de manera arbitraria por su tamaño, aquellas que estuvieron en un rango de 6.2 y 5.5 micras se consideraron células tipo II, y las que midieron entre 4.4 y 4.0 micras se denominaron células tipo III.

Células Tipo I, Son células más o menos esféricas de -  
bordes un tanto irregulares que miden 8.08 micras  $\pm$  0.7 micras.  
Presentan el núcleo en posición central, midiendo éste 6.05 mi--  
cras  $\pm$  0.1 micra. Con tinción de hematoxilina y eosina, el cito-  
plasma presenta una ligera basofilia. El núcleo es de cara abier-  
ta, cromatina en forma de filamentos y/o pequeños grumos. Existe  
un nucleólo el cual es bastante evidente. Estas células reaccio-  
nan positivamente a la prueba de ácidos nucleicos de Lillie. Se  
tiñen de rosa-rojizo con la tinción de verde de metilo-pironina  
y no se les observan cuerpos sudanófilos, tal y como ocurre con  
otras que veremos más adelante.

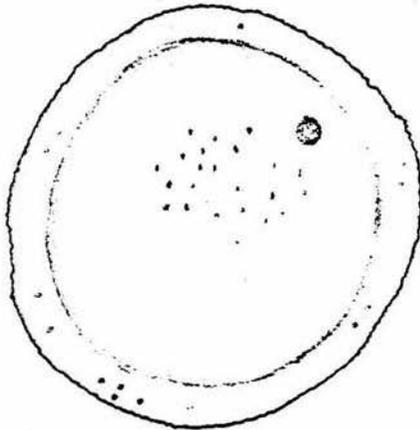


FIG. 4. Esquema de Células Tipo I.

Células Tipo II: Son células esféricas miden  $6.2 \text{ micras} \pm 0.3 \text{ micras}$ . Núcleo de posición excéntrica y mide  $4.7 \text{ micras} \pm 0.2 \text{ micras}$ . Con la tinción de hematoxilina y eosina, se observa un citoplasma escaso y ligeramente acidófilo. En el núcleo la crematina condensada en forma de grumos o gránulos que le dan una basofilia intensa. El nucléolo está presente pero es poco evidente debido a la basofilia antes mencionada. Con la tinción de Lillie para ácidos nucleicos adquiere el núcleo una tonalidad roja y el citoplasma una tonalidad rosa. Al igual que con las células anteriormente descritas, estas células presentan un citoplasma y un núcleo teñidos de rojo cuando se utiliza la tinción de Unna-Pappenheim y también al igual que las células Tipo I cuando se lavan los excesos de pironina se presentan tanto en núcleo como el citoplasma en distintas tonalidades de azul. En estas células no se observaron cuerpos o estructuras sudanófilas.

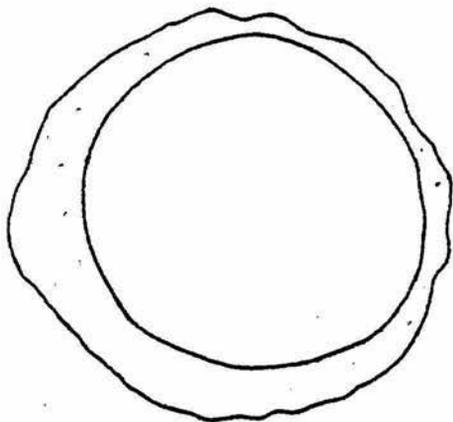


FIG. 5. Esquema de Células Tipo II.

Células Tipo III: Célula esférica de  $4.4 \text{ micras} \pm 0.35 \text{ micras}$ . Núcleo de  $3.6 \text{ micras} \pm 0.1 \text{ micras}$ , este organelo se encuentra en posición excéntrica. Con la tinción de hematoxilina y eosina, el citoplasma al igual que el de la célula anterior se observa escaso y con una ligera acidofilia. El núcleo observado con esta misma técnica de tinción se muestra sumamente basófilo. No se observó nucleólo. Con la tinción usando reactivo de Schiff, las células Tipo III muestran un poco más de apetencia a este colorante que sus predecesoras, mostrándose también, el núcleo de color rojo y el citoplasma con una coloración rosada. Con la tinción de verde de metilo-pironina, se registraron también los mismos resultados que para las células anteriormente descritas; al igual que con la tinción con Sudán rojo B.

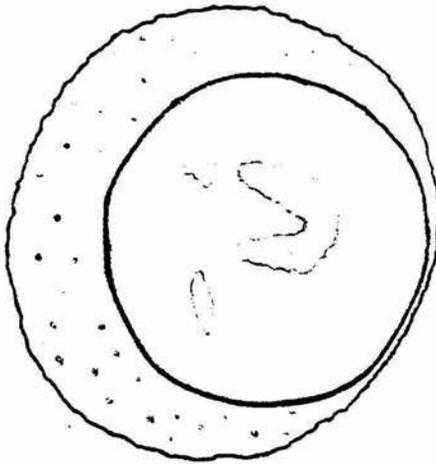


FIG. 6. Esquema de Células Tipo III.

Células Tipo IV: Son células esféricas de 2,5 micras  $\pm$  0.1 micras. Su núcleo mide 1,9 micras  $\pm$  0.2 micras, y tiene una posición sumamente excéntrica. El citoplasma es acidófilo y se tiñe homogéneamente con la eosina. El núcleo es esférico, -- con su cromatina sumamente condensada, lo cual le da una intensa apetencia por la hematoxilina en la técnica de tinción de rutina. Con la técnica de Lillie para ácidos nucleicos se observaron como células que se tiñen intensamente de color rojo carmín debido a su tamaño tan pequeño y a la gran cantidad de material genético. Con la técnica de tinción de verde de metilo-pironina se observan como células de color rojo brillante, aunque cuando es lavada la pironina se observan de color azul intenso. No respondieron estas células a la tinción con Suddn rojo B.

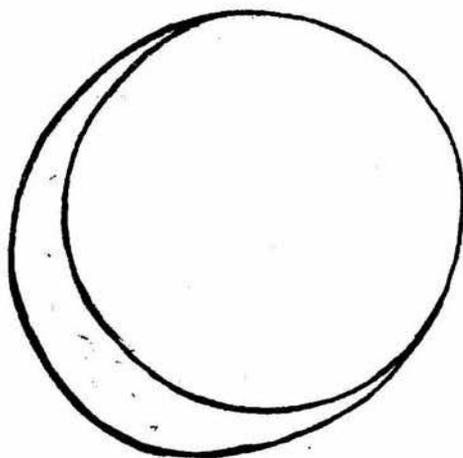


FIG. 7. Esquema de Células Tipo IV.

**Células Tipo V:** Son células flageladas que midieron  $15.4 \text{ micras} \pm 0.3 \text{ micras}$ , la cabeza y cuello miden  $1.46 \text{ micras} \pm 0.1 \text{ micras}$ . Ambas estructuras en conjunto (cabeza y cuello) tienen una forma redondeada, teniendo el núcleo forma de "U" burda, y tiñéndose fuertemente de color morado con la técnica de hematoxilina y eosina, mientras que el cuello se tiñe con esta técnica de color rosa pálido. Los flagelos en conjunto son eosinófilos, aunque es difícil observarlos en todos los cortes. Mediante el uso de la prueba de 1 ácido peryódico de Schiff no fue posible determinar en la cabeza, una estructura que sugiera la presencia de un acrosoma. Con la técnica de Lillie para ácidos nucleicos se observó que las células se tiñen de color rojo brillante en toda la región de la cabeza y cuello, mientras que el flagelo, en el mejor de los casos se tiñe ligeramente de rosa. A la tinción con verde de metilo-pironina respondió tiñéndose de rojo brillante la cabeza y la pieza media, los flagelos no se tiñeron. Cuando se lava la pironina, se tiñe de color azul marino la cabeza, de azul intermedio el cuello y los flagelos también se tiñen de azul intermedio al encontrarse en grupos. Estas células fueron indiferentes a la tinción con Sudan rojo B.

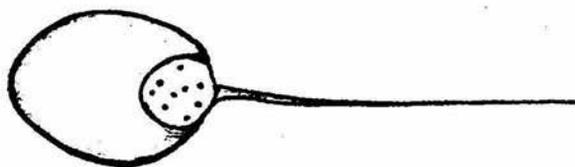


FIG. 8. Esquema de Células Tipo V.

Células Tipo VI; Se observaron pocas células de este tipo y no se pudieron registrar medidas, ya que las que se observaron se encontraban rodeando a las células tipo I y a las células tipo II de los cistos, lo cual dificultó realizar una buena descripción a nivel de microscopía óptica. Sin embargo podemos decir que presentan una forma elongada, citoplasma ligeramente acidófilo, núcleo oval, de cromatina semiconsensada.

Dichas células fueron más bien evidentes con la técnica de tinción de hematoxilina y eosina, con las otras técnicas aplicadas no se pudieron registrar en forma definida.

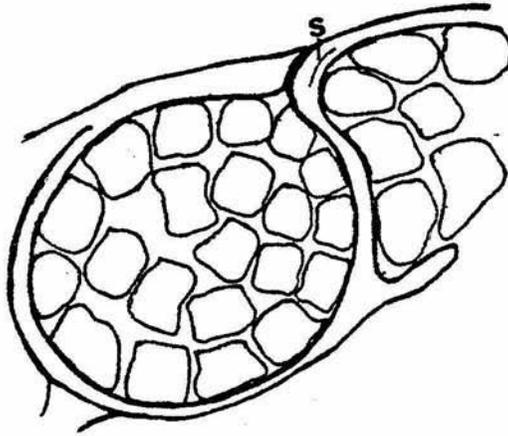


FIG. 9. Esquema de Células Tipo VI.

**Células Tipo VII:** Este tipo, a diferencia de las anteriormente descritas, se localizan en el tejido intersticial en el centro del órgano y en dirección radial hacia cada lóbulo, -- pero por lo regular asociadas en su ubicación a los vasos o conductos eferentes. Estas células son más o menos cúbicas, de bordes irregulares, miden  $10.7 \text{ micras} \pm 1.3 \text{ micras}$ . El núcleo es -- oval o esférico, de posición más o menos central, de cara abierta y con pequeños acumulos de cromatina adheridos a la cara interna de la membrana nuclear y mide  $4.77 \text{ micras} \pm 0.39 \text{ micras}$ , se presenta también un nucleolo. El citoplasma es acidófilo y -- presenta vacuolas. Con la tinción de Lillie para ácidos nucleícos se observa una variación de color, tiñéndose rosa el citoplasma y rojo brillante la cromatina adherida a la envoltura nuclear. Con la tinción de Unna-Pappenheim se observan como células mal teñidas de color rosado, mientras que cuando se lava la pironina, las células tipo VII se observan teñidas en dos tonalidades de azul que son, el azul marino para la cromatina condensada adherida a la cara interna de la membrana nuclear y azul intermedio en el citoplasma, haciéndose de esta manera un poco más evidentes las vacuolas antes referidas. Estas células fueron también altamente sudanófilas cuando se aplicó dicha tinción.

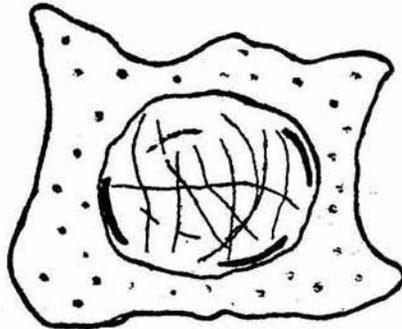


FIG. 10. Esquema de Células Tipo VII.

TIPO CELULAR	H.E.	SUDAN ROJO.	ACIDOS NUCLEICOS DE LILLIE (PAS)	UNNA-PAPPENHEIM (VERDE DE METILO PIRONINA).	P.T.A.H.
I Esférica núcleo central $8.08 \pm 0.7 \mu$	(+)	(-)	(+) (rojo brillante)	(+) (rosa-rojizo)	(+) (Núcleo mamey nucleolo rojo citoplasma <u>rosa</u> palido).
II Esférica núcleo excéntrico. $6.2 \pm 0.3 \mu$	(+)	(-)	(+) núcleo rojo brillante. <u>citoplasma</u> rosa.	(+) (rosa-rojizo)	(+) (Núcleo rojo - citoplasma <u>rosa-incoloro</u> ).
III Esférica núcleo excéntrico. $4.4 \pm 0.35 \mu$	(+)	(-)	(++) (rojo brillante)	(+) (rosa-rojizo)	(+) (Núcleo rojo - citoplasma <u>rosa-incoloro</u> ).
IV Esférica núcleo excéntrico. $2.5 \pm 0.1 \mu$	(+)	(-)	(++) (rojo carmín)	(++) (rojo-brillante)	(+) (Núcleo rojo - citoplasma <u>in</u> coloro).

TIPO CELULAR	H.E.	SUDAN ROJO.	ACIDOS NUCLEICOS DE LILLIE (PAS)	UNNA-PAPPENHEIM (VERDE DE METILO PIRONINA).	P.T.A.H.
V Flagelados 15.4 ± 0.3μ	(+)	(-)	(++) {rojo brillante}	(++) {rojo-brillante}	(+) {Cabezas rojo - brillante flagelo sombreado}.
VI No se tiene	(+)	-	-	-	-
VII Cúbicos, núcleo central	(+)	(+) {rojo}	(+) {Heterocromatina rojo brillante, citoplasma rosa}.	(+) {rosado}	(+) {rojo brillante c/grumos}.

TABLA II. Resumen de las características tintoriales de las células descritas.

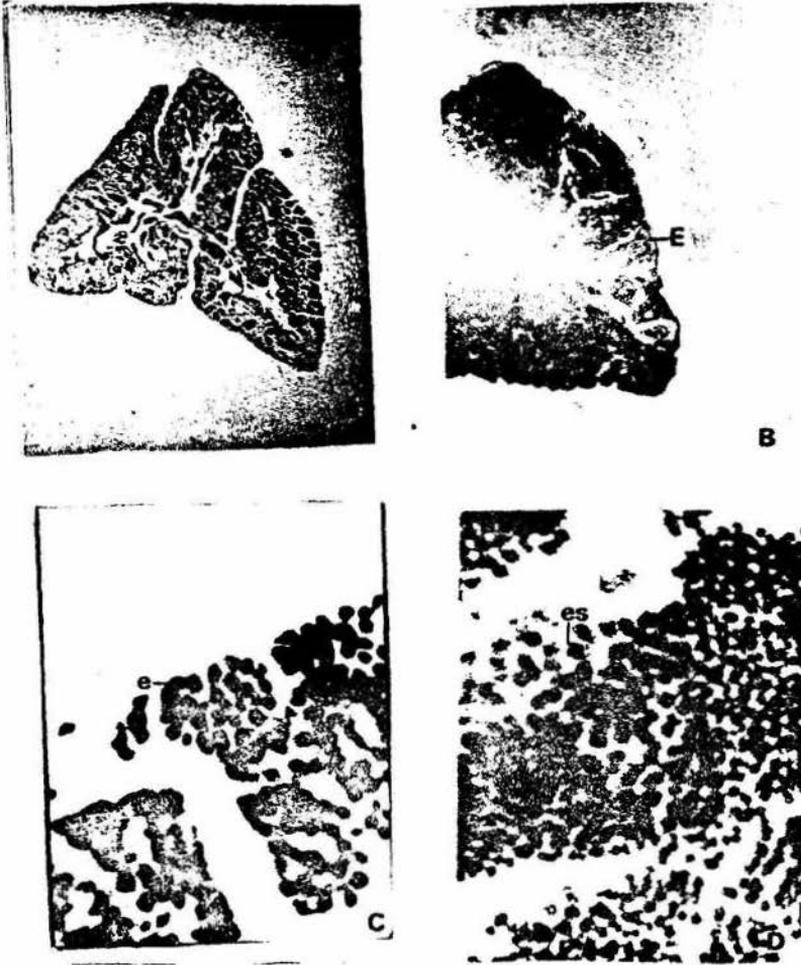


FIG. 11. Micro fotografías del Testículo de Charal.

- A) Vista Panorámica del Testículo en corte transversal. X 28.  
 B) Células Tipo I (E). X 1000.  
 C) Células Tipo II (e). X 1000.  
 D) Células Tipo III (es). X 1000.



FIG. 12. Microfotografía de algunas Células descritas.

- A) Células Tipo IV X 1000.
- B) Células Tipo V- (esp) X 1000.
- C) Células Tipo VI (s) X 1000.
- D) Células Tipo VII X 1000.

En los cortes teñidos con la técnica de hematoxilina - ácido fosfotúngstico, no se encontraron nervios ni terminaciones de estos.

Las fibras conjuntivas son sumamente escasas y las que predominan son las fibras de colágena, las cuales ubicamos hacia la porción central del órgano, que se proyectan hacia los lóbulos formando las trabéculas que los separan (acompañando siempre a las células tipo VII).

Las fibras reticulares se presentaron escasas y con una distribución un tanto similar a las anteriores; mientras que las fibras elásticas fueron aún más escasas que las reticulares y las ubicamos más bien hacia el centro del testículo.

Los vasos eferentes y conducto deferente presentan ambos un epitelio simple; columnar bajo el primero y prismático con cilios el segundo. Se presentan en las células de ambos epitelios núcleos esféricos, de posición basal y de cara abierta.

También el citoplasma en ambos tipos de células es acidófilo.

Se presentan abajo de estos epitelios, tejido conectivo fibroso, así como algunas fibras musculares lisas.

## DISCUSION:

Se puede afirmar que entre los teleosteos existen fundamentalmente dos tipos de organización macroscópica de los testículos: los que presentan los testículos fusionados sólo en la parte posterior como ocurre en la mayoría de las especies, y los que presentan los testículos unidos a lo largo de toda su longitud, como es el caso de Glyptothorax pectinopterus (Samual R. y Khanna S.S. 1972). Las gónadas masculinas de Ch. jordani caen -- dentro de la primera categoría mencionada, es decir, que sólo se encuentran unidos en su región posterior.

En Ch. jordani no se aprecia un manifiesto dimorfismo sexual en las etapas juveniles; en cambio en el adulto, es factible llegar a distinguir ambos sexos con sólo observar ciertas características del vientre. En las hembras adultas con ovarios produciendo gametos se observa que estos órganos abultan el -- vientre y están profusamente pigmentados; mientras que las gónadas del macho no presentan una pigmentación tan abundante, de -- tal manera que se ve de un color más claro. Swarup (1958) consi -- dera que la aparición de pigmentación en la superficie del tes -- tículo de Gasterosteus aculeatus durante la temporada de repro -- ducción es un signo de madurez. Todos los peces utilizados en -- el presente trabajo, invariablemente presentaron pigmentación superficial, sin embargo sería de interés determinar si en el -- Ch. jordani existe una variación de pigmento que permita dife -- renciar en la temporada de reproducción entre los organismos ma -- duros así como inmaduros. Sin embargo por lo observado en el -- presente estudio, la probable variabilidad del pigmento super -- ficial con ovarios, ya que la cantidad de pigmento en éstos es más abundante.

Generalmente los testículos derecho e izquierdo son -- iguales en tamaño, sin embargo en algunos teleosteos se presen -- tan diferencias en longitud. Como a podido apreciarse en los re -- sultados este último parece ser el caso del charal Ch. jordani

puesto que invariablemente el testículo izquierdo registra una talla mayor que el derecho. Sería de interés conocer si la longitud, peso y volumen testicular, guardan relación con la actividad periódica del órgano como ocurre en algunos peces, o bien si permanece más o menos constante a lo largo del año tal y como sucede en otro buen número de teleosteos (Samual R. y Khanna S.S. 1972).

En contraste con otros teleosteos, se presenta una lobulación en los testículos de Ch. jordani y al igual que con lo referido a la pigmentación, sería interesante saber si esta lobulación aparece tan sólo en la época de reproducción o es constante a través del año.

Sathyanesan (1959) en Mystus seenghala, Rai (1965) en Barbus tor y Nair (1965, 1966) en Rita rita y Mystus vittatus reportan que en la región posterior del testículo de estos peces no es espermatogénica, sino que sirve para almacenar y conducir espermatozoides. Estudios hechos en testículos de bagres (Sneed K. C. y Clemens H.P. 1963) señalan que una pequeña porción de la región posterior es glandular y que las tres cuartas partes anteriores son espermatogénicas. Nair (1966) ha reportado un hecho más o menos similar en Rita rita, Lehari (1967) en cambio, encontró que en Clarias batracus, la región posterior del testículo es histológica y funcionalmente similar a la anterior. En el caso de Ch. jordani, coincide con este último, ya que no existe una variación histológica cualitativa entre la región anterior y posterior del testículo y no fue posible observar estructuras glandulares en ninguna de sus porciones.

Mattheus (1938) reportó en el testículo de Fundulus zonas cortical y medular, mientras que Weisel (1943) describe una septación radial en los testículos de Oncorhynchus nerka. Turner (1919) reporta una trama compleja de fibras elásticas en los testículos de Perca flavensis y otras especies. En Ch. jordani se pueden diferenciar dos grandes zonas: una cortical,

que agrupa principalmente a las células del linaje germinal y - una zona medular en la cual se presentan básicamente células tipo VII, elementos conjuntivos, vasos sanguíneos y vaso deferente. Los elementos conjuntivos proyectan sus fibras en dirección centrífuga formando una septación radial y siendo las fibras conjuntivas de estos elementos, las fibras colágena como se ha señalado anteriormente.

Por lo que respecta a los siete tipos celulares encontrados, se puede afirmar que cinco de ellos, pertenecen a la línea espermatógena y pueden ser agrupados dentro de los términos -- sugeridos por Wilson (1925). Así las células Tipo I se podrían catalogar como espermatogonias, ya que presentan un núcleo grande que contiene un nucleolo. La cromatina en forma de cuerpos -- discretos y citoplasma no muy abundante, tal y como han sido descritas por Upadhyay S.N. y Guraya S.S. (1973).

A las células Tipo II se podrían designar espermatoцитos primarios, pues al presentar un núcleo esférico, excéntrico, con un nucleolo poco evidente, la cromatina en forma de grumos, y un citoplasma relativamente escaso, reúnen las características que Upadhyay S.N. y Guraya S.S. (1973) han dado para estas células.

Espermatoцитos secundarios son las células que además de presentar básicamente las mismas características morfológicas que el espermatoцитo primario tienen la característica de ser más pequeños que estos. Así pues, se podría decir que las células descritas como Tipo III son espermatoцитos secundarios.

Las espermátides presentan núcleo de posición marcadamente excéntrica, cromatina sumamente condensada y citoplasma escaso. En algunas especies de teleosteos, estas células se localizan alrededor de los vasos eferentes y conducto deferente - (Yamazaki F. y Donaldson E.M. 1968). En *Ch. jordani* se encontraron células (Tipo IV) con estas estructuras y fueron consideradas como espermátides. Las características morfológicas e histológicas de estas células son similares a las descritas por Ya-

mazaki F. y Donaldson E.M. (1968) y Upadhyay S.N. y Guraya S.S. (1973).

Los espermatozoides no sólo en peces, sino en todos - los vertebrados hasta ahora estudiados, son células que presentan una cabeza, un cuello y un flagelo, y por lo regular los encontramos ubicados en los túbulos y conductos del testículo.

Las células reportadas como Tipo V, presentaron esa morfología y esa ubicación por lo cual deben ser consideradas como espermatozoides. El acrosoma del espermatozoide de los mamíferos y otros vertebrados, que es una estructura positiva al ácido periódico de Schiff, y en algunas ocasiones se ha utilizado esta prueba como un recurso para determinar si los espermatozoides poseen o no, esta estructura. Por otro lado se sabe (Upadhyay S.N. y Guraya S.S. 1973) que los espermatozoides de teleosteos hasta ahora estudiados carecen de esta estructura. Por este hecho y la reacción negativa a la prueba de PAS, se podría afirmar que los espermatozoides del charal Ch. jordani carecen de acrosoma al igual que los demás teleosteos, sin embargo para que esta afirmación pudiera hacerse de manera categórica, sería necesario el estudio de la morfología espermática a nivel de microscopía electrónica.

En Oryzias latipes durante una de las fases de maduración del cisto, las células del epitelio cístico (consideradas como homólogas de las células de Sertoli de los mamíferos), se observan como células aplanadas con núcleo oval, de cromatina condensada y formando las paredes del cisto. (Gresik E.W., Quirk J.G. y Hamilton J.B. 1973). Las células reportadas como Tipo VI, presentaron esa ubicación y morfología, por estas razones se sugiere que se trata de células de Sertoli. Sin embargo para tener un mínimo de seguridad para afirmar lo anterior es necesario realizar estudios de microscopía electrónica que nos permitirían encontrar o determinar la presencia de compuestos estructurales de la célula que sugerirían capacidades para realizar funciones como la nutrición, fagocitosis y osteoidogénesis, ya que ha sido propuesto (Gresik E.W., Quirk J.G. y Ha-

milton J.B. 1973) que estas funciones realizan las células en cuestión.

Las células de Leydig en algunos teleosteos, se presentan como las células que describió Leydig para los testículos de mamíferos, es decir, se encuentran en el tejido intersticial, son de bordes irregulares, núcleo más o menos central, de cara abierta y presentan gránulos Sudań positivos en su citoplasma. Estas fueron las características y ubicación que encontramos en las células descritas como Tipo VII, por lo cual se sugiere que estas células sean consideradas como células intersticiales.

Diversos autores [Burk H.C. 1969, Luna L.G. 1968, Rearse A.G.E. 1960] señalan que cuando se aplica la técnica de tinción verde de metilo-pironina los núcleos se tiñen de color azul o verde y el citoplasma de un color rojo o rosado, sin embargo - en nuestro caso los resultados no concuerdan, ya que los núcleos invariablemente se tiñeron de rojo. Esto podría deberse a problemas técnicos o a una característica diferencial que presenten los componentes de ese órgano. Vercauteren (1950) señala que cambios estructurales poco drásticos destruyen la afinidad por el verde de metilo aumentándola por la pironina, sin embargo los controles -testículo y otros órganos como hígado, piel y traquea de otras especies- utilizados en el presente trabajo fueron fijados de manera similar a los testículos del charal. Cabe mencionar que los resultados en los cortes de hígado, piel y traquea fueron los esperados y no así en el caso de los testículos control. Esto podría sugerir la posibilidad de que los resultados obtenidos con esta técnica (en el testículo de Charal) se deban a la conocida variabilidad de las proteínas asociadas al D.N.A. en las células de la línea germinal.

Se ha sugerido (Gresik E. W. 1973), que la maduración y transporte de los gametos en los teleosteos pudiera estar regulado entre otros factores por el sistema nervioso, por lo cual

sería de interés en futuros trabajos, determinar la distribución de las terminaciones nerviosas en los testículos del charal Ch. jordani.

Por último es bueno destacar que el estudio morfológico del testículo en los diferentes estadios del desarrollo y épocas del año, permitirá sugerir métodos racionales en su explotación.

**CONCLUSIONES:**

De los resultados obtenidos en la presente descripción se puede concluir que:

- 1.- Cada uno de los testículos del Charal Chirostoma jordaní presenta longitud diferente, pero el mismo grado de maduración.
- 2.- Existe correlación entre la longitud testicular y la longitud patrón, así como correlación entre la longitud de ambas gónadas.
- 3.- En el mes de Junio es posible encontrar en esta especie espermatozoides morfológicamente maduros.
- 4.- No se presentan células limitantes del lóbulo, habiendo en su lugar, células intersticiales.
- 5.- En el testículo de Ch. jordaní, las fibras conjuntivas predominantes son las fibras colágena.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Alvarez del Villar, J. y Navarro, L. : Los Peces del Valle de México. Folleto: Secretaría de Marina. México 1957. -- 62 p.
- 2.- Andrew, W. Text book of comparative Histology., Oxford University Press., U.S.A. 1973. Págs.: 209-242.
- 3.- Austin, C.R. and Short, V.R.: Reproduction in mammals Vol. I. Germ cells and fertilization., Cambridge University Press., England 1972. págs.: 46-84.
- 4.- Austin, C.R. and Short, V.R.: Reproduction in mammals Vol. III. Hormones in reproduction. Cambridge University Press. England 1972. Págs. 140-156.
- 5.- Ball, J.N., Baker, B.I., Oliverreau, M. and Peter, R.E.: -- Investigations on hypothalamic control of adenohipophysial functions in teleost fishes., Gen. Comp. Endocrinol. suppl. 3:11-21 (1972).
- 6.- Barbour, C.D.: Redescription and taxonomic status of Chirostoma compressum a mexican Atherinid fish, Copeia No. 1:277-79 (1976).
- 7.- Batten, T.F.C., Ball, J.N., Grier, H.J.: Circadian changes in prolactin cell activity in the pituitary of the teleost Poecilia latipina in freshwater. Cell Tissue Res. 168:269-276 (1976).
- 8.- Belsare, D.K.: On evolution of testicular endocrine tissue in some teleost.; Z. Mikrosk. Anat. Forsch. 87:610-618. - (1973).
- 9.- Belsare, D.K.: Studies on the development of endocrine --- glands in fishes., Z. Mikrosk. Anat. Forsch. 90:469-483. (1976).
- 10.- Bisht, J.S.: Cyclic changes in the pituitary gland in correlation with the testicular cycle in a hill-stream tele

- ost, Schizothorax richardsonii. Acta Anat. 92:443-453. (1975).
- 11.- Burk, H.C.: Técnica Histológica. Manual para realizar -- preparaciones microscópicas en el Laboratorio. Paz Montalvo. Madrid 1969. Págs.: 92-94.
  - 12.- Colombo, L., Pasavento, S. and Johnson, D.W.: Patterns - of steroid metabolism in teleost and ganoid fishes., Gen. Comp. Endocrinol. suppl. 3:245-253. 1972.
  - 13.- Cuesta, T.C.: Chirostoma sanoni sp. Anal del I.B. México 2:3 (1931).
  - 14.- Dood, J.M.: The endocrine regulation of gametogenesis and gonad maturation in fishes., Gen. Comp. Endocrinol. suppl. 3:677-687. (1972).
  - 15.- Duncan, R.C., Knapp R.G., Miller, M.C.: Bioestadística, - Ed. Interamericana, México. 1978. págs. 94-114.
  - 16.- Eganí, N. and Ishii, S.: Hypophysal control of repro-- ductive functions in teleost fishes. Gen. Comp. Endocri-- nol. suppl. 1:248-253. (1962).
  - 17.- Fiak, G.: Feedback actions of target hormones on hypothalamus and pituitary with special reference to gonadal --- steroids. Ann. Rev. Physiol. 41:571-583. (1979).
  - 18.- Gallardo, C.M.: Contribución al Estudio del Charal de Chapala Chirostoma chapalei, Atherinidae migiliforme, Facul-- tad de Ciencias U.N.A.M. 1977. p. 89.
  - 19.- Gresik, E.W.: Fine structural evidence for the presence of nerve terminals in the testis of the teleost, Oryzias la-- pides., Gen. Comp. Endocrinol. 21:210-213 (1973).
  - 20.- Gresik, E.W., Quirk, J.G. and Hamilton, J.B.: Fine struc-- ture of the Sertoli cell of the testis of teleost Oryzias lapides., Gen. Comp. Endocrinol. 21:341-352. (1973).
  - 21.- Grier, H.J.: Spermiogenesis in the teleost Gambusia affi-- nis with particular reference to the role played by mi-- crotubules, Cell. Tissue Res. 165:89-102 (1975).
  - 22.- Grier, H.J.: Sperm development in the teleost Oryzias la-- tipes. Cell Tissue Res. 168:419-431. (1976).

- 23.- Hackmann, E.: Einfluss von androgen auf die geschlechtsdifferenzierung verschiedener cichlideu (teleostei). Gen. Comp. Endocrinol. 21:44-52. (1974).
- 24.- Hoar, W.S. and Randall, D.J.: Fish physiology. Vol. III, caps. 1,2. Academic Press. U.S.A.A. 1968.
- 25.- Hyder, M., Kirschner, M.A.: Detection and estimation of testosterone in the testes of Tilapia leucosticta (Piscis: Cichlidae). J. Endocr. 44:281-282 (1969).
- 26.- Hyder, M.: Histological studies on the testes of pond specimens of Tilapia nigra (Gunther) (Piscis:Cichlidae) and their implications of the pituitary-testis relationships. Gen. Comp. Endocrinol. 14:198-211 (1970).
- 27.- Hyder, M., Shah, A.V. and Kirschner, M.A.: Effect of chorionic gonadotrophin on testicular histology and testosterone production in Tilapia leucosticta (teleostei:Cichlidae). Endocrinology 4:819-822 (1970).
- 28.- Hyder, M.: Endocrine regulation of reproduction in Tilapia. Gen. Comp. Endocrinol. suppl. 3:729-740 (1972).
- 29.- Labrie, F. Borgeat, P., Drouin, J., Beaulieu, M., Lagacé, L. Fernand, L. and Raymond, V.: Mechanism of action of hypothalamic hormones in the adenohypophysis. Ann. Rev.Physiol. 41:555-569 (1979).
- 30.- Lagler, K.F. Bardach, J.E. Miller, R.R. and Passino D.R.M.: Ichthyology. Second Edition.; John Wiley & Sons. U.S.A. 1977. Págs.: 268-280.
- 31.- Lehri, G.K.: The annual cycle in the testis of the catfish Clarias batrachus L. Acta Anat. 67:135-154 (1967) (Citado por Bisht J.S. 1974).
- 32.- Lillie, R.D. and Fullmer, H.M.: Histopathologic technic -- and Practical histochemistry. Fourth edition. McGraw-Hill Book Company. U.S.A. 1976. Págs.: 166-223.
- 33.- Lofts, B.: The Sertoli cell. Gen. Comp. Endocrinol. suppl. 3:636-648. (1972).
- 34.- Luna, L.G.: Manual of histological staining methods of the

- Armed Forces Institute of Pathology., Third Edition. Mc-Graw-Hill Book Company. U.S.A. 1968. Págs.: 32-40, 131--132.
- 35.- Marshall, A.J. and Lofts, B.: The Leydig cell homologue in certain teleost fishes. Nature 177:704-705. (1956).
- 36.- Martoja R. y Martoja, P.M.: Técnicas de Histología Animal. Toray-Masson S.A., España, 1970. Págs.: 118-122.
- 37.- Mattheus, S.A.: Seasonal cycle in the gonads of Fundulus. Biol. Bull 75:66-75 (1938) (citado por Sanwal R. and Khanna S.S. 1972).
- 38.- Mezquita, P.C. Espermatogénesis. Investigación y Ciencia. Núm.: 52:7-18. (1981).
- 39.- Moav, B. Goldberg, A., Avivi, Y.: Fractionation of somatic and sperm chromatin during spermatogenesis in fish. Exp. Cell Res. 83:37-46 (1974).
- 40.- Moncayo, L.M.E., Hernández, B.S.: Aspectos pesqueros y -- Ecológicos del embalse requena en el Edo. de Hidalgo. Memorias del II Congreso Nacional de Zoología. U.A.N.L. I: 149-213. México (1978).
- 41.- Nair, P.V.: Studies an the male reproductive system of some siluroid fish (Rita rita and Mystus vittatus) Indian J. Zoot. 4:1-35 (1965) (Citado por Sanwal R. and Khanna S.S. 1972).
- 42.- Nair P.V.: Studies on the Mole reproductive system of some siluroid fish (Rita rita and Mystus vittatus) Indian J. -- Zoot. 4:37-62 (1966) (citado por Sanwal R. and Khanna S.S. 1972).
- 43.- Patt, D.I. and Patt, B.R.: Comparative Vertebrate Histology Harper & Row. U.S.A. 1969. Págs.: 283-311.
- 44.- Pearse, A.G.E.: Histoquímica teórica y aplicada. Aguilar. España. 1960 Págs.: 128-131.
- 45.- Rai B.P.: Cyclical changes in the testis of the Mahosier, Barbus tor (Tor tor). Acta Anat. 62:461-475 (1965). (citado por Bisht J.S. 1974).

- 46.- Rickmers, A.D. y Tudd, H.N.: *Introducción a la Estadística C.E.C.S.A., México, 1972. Págs.: 295 y 301.*
- 47.- Sanwal, R. and Khanna, S.S.: *Seasonal changes in the testes of a freshwater fish Channa gachua; Acta Anat. 83:139-148 (1972).*
- 48.- Sathyanesan, A.G.: *Seasonal histological changes in the testes of the cat fish Mystus seen ghalu (S y Kes). J. zool. Soc. India 3:109-139 (1959) (citado por Bisht J.S. 1974).*
- 49.- Sneed K.C. and Clemenly H.P.: *The morphology of the testis and accessory reproductive glands of the cat fish (Ictaluriidae). Copeia 4:606-611 (1963) (citado por Sanwal R. and --- Khanna, S.S. 1972).*
- 50.- Solorzano, P.A.: *Contribución al conocimiento de la Biología del charal prieta del Lago de Pátzcuaro, Mich. Tesis Profesional E.N.C.B., I.P.N. 1961. Pág.: 70.*
- 51.- Solorzano, P.A.: *Algunos aspectos biológicos del pescado blanco del Lago de Pátzcuaro, Mich. 2a. Epoca No. 4 (1963).*
- 52.- Sundararaj, B.I., Anand, T.C.: *Effects of piscine and mammalian gonadotropins on gametogenesis in the catfish, Heteropneustes fossilis. Gen. Comp. Endocrinol. suppl. 3:688-702. (1972).*
- 53.- Swarup H.: *The reproductive cycle and development of the gonads in Gasterosteus aculeatus L. Proc. Zool. Soc. Bengal 11:47-60 (1958) (citado por Bisht J.S. 1974).*
- 54.- Upadhyay, S.N. and Guraya, S.S.: *Histochemical studies on the spermatogenesis of some teleost fishes. Acta Anat. (basel) 86:484-514 (1973).*
- 55.- Turner C.L.: *The seasonal cycle in the spermary of the perch J. Morph. 32:681-711 (1919) (citado por Bisht J.S. 1974).*
- 56.- Weisel G.E.: *A histological study of the testes of the Sockeyed Salmon Oncorhynchus nerka. J. Morph 73:207-230 (1943) (citado por Sanwal R. and Khanna S.S. 1972).*
- 57.- Wilson E.B.: *The cell in development and heredity. Mac millan New York 1925 (citado por Upadhyay S.N. and Guraya S.S. 1973).*
- 58.- Vercauteren R.: *Enzymología 14, 134, 1950. (citado por Pearse A.G.E. 1960).*

- 59.- Yamazaki, F. and Donaldson, E.M.: The spermiation of gold fish (*Carassius auratus*) as a bioassay for Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)gonadotropin. Gen. Comp. Endocrinol. 10:383-391 (1968).