

SP  
20

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

CAMPUS IZTACALA

“Aspectos reproductivos de *Oostethus lineatus*  
en el sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz”

Trabajo de tesis  
Presentado por:

Miranda Marure Martha Edith

Director de tesis:

Biol. José Antonio Martínez Pérez

1999

TESIS CON  
FALLA DE CRUCE

201148



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 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.

# DEDICATORIA

---

A mis padres Manuel Miranda y Odalia Marure por su amor y apoyo constante a lo largo de mi vida.

A mis hermanos David y Daniel Miranda.

A Angel Lara y Toño Huerta, bien saben que más de la mitad de ésta carrera se las debo a ustedes, gracias por su confianza depositada en mí.

A mi hermana Arduizur Zavaleta, a pesar de la distancia estás siempre conmigo.

Y de un modo especial: Gracias Abba Padre por darme la vida permanecer a mi lado y sustentarme con la diestra de tu justicia.

# AGRADECIMIENTOS

---

Por la revisión del presente escrito, comprensión, paciencia y amistad al Biol. José Antonio Martínez y a la Biol. Leticia Verdín.

Por las sugerencias y comentarios realizados al M. en C. Jonathan Franco, al Biol. Héctor Barrera y a la Biol. Alba Márquez.

A la UBIPRO, por el apoyo técnico otorgado, así como a Pablo Gómez por el apoyo con material de laboratorio.

A Angel Lara y familia por la elaboración editorial del presente trabajo

A Manuel de Anda por los esquemas realizados.

Por el valioso apoyo bibliográfico y comentarios del Dr. G. Poss, Dr. Kelly Selman, Dr. Robin Wallace y Dr. Heather Hall.

A todas las personas y amigos que me brindaron su amistad y apoyo durante la carrera y realización de este trabajo.

# Contenido

---

## I Agradecimientos

---

### 1 Introducción

- Introducción	1
- Antecedentes	4
- Objetivos	8
- Clasificación de <i>Oostethus lineatus</i>	9
- Descripción de la especie	10

---

### 2 Metodología

- Área de estudio	13
- <b>Metodología</b>	15
Trabajo Histológico	16
Análisis estadístico	17

---

### 3 Resultados

- Proporción sexual y potencial reproductivo	18
- Descripción macroscópica del ovario	22
- Descripción histológica del ovario	22
Pared ovárica	22
Cordón germinal	23

Línea de madurez	23
- Etapas de desarrollo del ovocito	26
Ovogonias	26
Cromatina nucleolar	26
Perinucleolar	26
Alveolos corticales	28
Vitelogénesis	28
- Etapas de maduración del ovocito	30
- Descripción macroscópica de los ovocitos maduros	30
- Descripción macroscópica del testículo	33
- Descripción histológica del testículo	33
Región distal al ano	34
Región proximal al ano	34
- Descripción macroscópica del saco incubador	41
- Descripción histológica del tejido interno del saco incubador	43
- Descripción macroscópica de la vejiga urinaria	43

---

## **4 Discusión**

- Proporción sexual y potencial reproductivo	45
- Ovario	49
- Testículo	53
- Saco incubador	55

---

## **5 Conclusiones**

- Conclusiones	58
----------------	----

---

## **6 Bibliografía**

- Bibliografía	60
----------------	----

---

## **7 Apéndice**

- Apéndice I	
- Apéndice II	
- Apéndice III	

---

## INDICE DE FIGURAS (*Oostethus lineatus*)

---

### Figura:

1. Localización de testículos y ovarios
2. Corte transversal de ovario
3. Ovogonias
4. Corte longitudinal del ovario; ovocitos en estadios previtelogénicos
5. Ovocito en estadio de alveolos corticales
6. Ovocito en vitelogénesis primaria
7. Corte longitudinal del ovario; ovocitos en estadios previtelogénicos y vitelogénicos
8. Ovocito en vitelino terciario
9. Corte transversal de testículo. Región distal al ano
10. Aumento del corte transversal de testículo (400X). Región distal al ano
11. Aumento del corte transversal del testículo (1000X). Región distal al ano
12. Corte longitudinal del testículo. Región distal al ano
13. Corte longitudinal del testículo. Región distal al ano
14. Corte transversal del testículo. Región proximal al ano
15. Aumento de la región proximal al ano (1000X)
16. Posibles espermatozoides de *O. lineatus* (H-E)
17. Posibles espermatozoides de *O. lineatus* (Masson)
18. Tejido interno del saco incubador
19. Corte transversal del saco incubador
20. Aumento de los septos del saco incubador

# INTRODUCCIÓN

---

Dentro del reino animal, los peces muestran la mayor variedad de cuidado paterno (Gross y Sargent, 1985), que tiene por finalidad la protección de las crías para elevar la probabilidad de supervivencia y por tanto el éxito reproductivo (Blumer, 1979; Evans, 1990; Perrone y Zaret, 1979).

El 21% de las familias de los Osteichthyes, que representan más del 95% de los peces actuales (Blumer, *op.cit.*), exhiben algún tipo de cuidado paterno, generalmente uniparental y, dentro de éstos, el 61% tiene cuidado paterno exclusivo por parte del macho. La fertilización externa, que abarca el 89% de las familias de peces (Nikolski, 1963), es un factor relacionado directamente con el cuidado de las crías por parte del macho (Gross y Sargent, 1985). Aún cuando el cuidado paterno se presenta en especies monógamas generalmente se asocia a la poligamia (Ridley, 1978).

En la mayoría de los animales, son las hembras quienes eligen a la pareja (Emlen y Oring, 1977; Svensson, 1988); sin embargo, en algunas especies son los machos quienes tienen dicha capacidad de selección, provocando que sean las hembras quienes compitan por el acceso a los machos, este proceso se conoce como reversión de rol sexual (Berglund y Rosenqvist, 1993). Este rol inverso de comportamiento se presenta en pájaros, ranas, peces, crustáceos e insectos (Gwynne, 1991), la mayor parte de éstos asociados, frecuentemente, al cuidado paterno (Gwynne y Simmons, 1990).

El potencial reproductivo de una especie, está estimado por el número máximo de crías que los padres pueden producir por unidad de tiempo. Las diferencias en el potencial reproductivo, ofrecen la explicación sobre el papel que

debe jugar cada sexo; aquel con mayor potencial reproductivo tendrá que asumir el rol competitivo (Berglund y Rosenqvist, *op.cit.*). Resultado del potencial reproductivo es la proporción sexual operacional u OSR (Clutton y Vincent, 1991), que es la proporción de machos y hembras sexualmente maduros y listos para copular. La importancia de este último factor radica en que establece, si existe o no, un rol inverso de comportamiento en una especie dada (Clutton-Brock y Parker, 1992).

Los casos donde la hembra compite por el macho ocurren generalmente en aquellos peces donde el macho cuida los huevos por largos períodos de tiempo y su potencial reproductivo se restringe por el número de huevos que sea capaz de mantener (Clutton y Vincent, 1991).

Existen probablemente cerca de 300 especies de peces pipa divididos en 35 géneros, los cuales difieren en el grado de desarrollo del saco incubador, que puede ir desde una serie de placas óseas laterales a un saco completamente cerrado; en algunas especies, los huevos son únicamente adheridos a su vientre (Herald, 1959; Lythgo y Lythgo, 1971; Vincent, *et al.*, 1995).

Los peces pipa habitan en las zonas de pastos, manglares y corales, en la mayoría de las zonas costeras someras de las regiones templadas y tropicales (Hardy, 1978). Son carnívoros voraces, que se alimentan principalmente de crustáceos y plancton, incluyendo larvas de peces. Algunos estudios sobre su ecología sugieren que juegan un papel sustancial en la estructura de algunas comunidades bénticas (Ryer y Orth, 1987; Tripton y Bell, 1988; Vincent, 1995).

Las hembras de los signátidos, que no juegan ningún papel en el cuidado de las crías, depositan sus huevos en el saco incubador (Vincent, *et al.*, *op.cit.*, Kuitert, 1986). Después de la fecundación, ocurre un cambio en el interior del saco

que se advierte por la presencia de tejido esponjoso y el aumento de los vasos capilares. A este tejido algunos autores lo denominan "pseudoplacenta", (Prein, 1995; Scrymgeour, 1986).

Los machos protegen, oxigenan, osmorregulan y nutren a los embriones hasta por más de seis semanas, antes de liberarlos como organismos independientes (Vincent, *op.cit.*).

De acuerdo con Vincent, 1992, los signátidos pueden agruparse dentro de dos categorías: (1) peces pipa polígamos con inversión de comportamiento y, (2) caballitos de mar y peces pipa monógamos sin inversión sexual de comportamiento.

Tanto peces pipa como caballitos de mar son vendidos como peces de acuario y curiosidades. En Asia, son empleados en la medicina y como afrodisiacos. En México, el uso de los peces pipa se restringe principalmente al acuarismo (Martínez, comunicación personal; Vincent, *op.cit.*).

La complejidad de la reproducción en los teleósteos se refleja en el amplio rango de estructuras gonádicas, éstas son fundamentalmente similares (Nagahama, 1983). La evaluación gonádica tiene implicaciones tanto desde el punto de vista ecológico como de cultivo (Rodríguez, 1992).

## ANTECEDENTES

---

Muchos son los estudios realizados sobre cuidado paterno, desarrollo e histología de las gónadas en teleósteos, sin embargo, son relativamente pocos los efectuados con signátidos:

Perrone (1989), estudia la distribución y época de reproducción de 158 organismos pertenecientes a la especie *Oostethus lineatus* en el río Jucú, Brasil, donde presentan dos períodos reproductivos, el de mayor intensidad durante el verano y en menor escala, en el invierno.

Perrone (1990), realiza un estudio en la localidad brasileña del río Jucú sobre los aspectos reproductivos y de alimentación de 300 organismos de la especie *Oostethus lineatus*, determinando la talla de maduración sexual de las hembras (109 mm) y aparición del saco incubador (112 mm).

Berglund (1991), realiza un estudio sobre las hembras de *Syngnathus typhle*, con base en su longitud, durante el cortejo. Las hembras de menor tamaño prefieren crecer a reproducirse, pues los machos prefieren cortejar con aquellas de longitud mayor. Este sacrificio temporal les permitirá en un futuro próximo reproducirse con éxito.

Vincent, *et al.* (1994), realizan un estudio sobre el comportamiento de *Syngnathus typhle* durante el cortejo. Debido a que en esta especie los machos limitan el potencial reproductivo de la hembra, son estas últimas quienes compiten por el acceso a los machos, sin embargo, son éstos quienes se encargan de escoger a la pareja.

Rosenqvist y Johansson (1995), estudian la discriminación que ocurre durante el cortejo, de la especie *Syngnathus typhle*, por parte de los machos hacia las hembras parasitadas por el tremátodo *Cryptocotyle sp.*, el cual decrementa su fecundidad. De esta manera, los machos al cortejar con hembras sanas pueden fertilizar un número mayor de huevos.

Masonjones y Lewis (1996), después de analizar el cortejo de la especie *Hippocampus zosterae*, señalan que, a pesar del cuidado paterno que los machos presentan, éstos siguen asumiendo el papel activo en la competencia por la pareja así como en el cortejo, objetando que, especies que brindan cuidados paternos deben presentar rol inverso de comportamiento

Gudger (1905), describe la fertilización y segmentación de los huevos del pez pipa *Siphostoma floridae*, y establece evidencias sobre la transferencia de nutrientes por parte del padre a los embriones en desarrollo.

Linton y Soloff (1964), realizan la descripción histológica del saco incubador e importancia de la osmorregulación en el desarrollo de las crías de *Hippocampus erectus*. El saco incubador, formado por un delicado epitelio que entra en contacto con el lumen, y por una capa de tejido conectivo laxo que presenta gran cantidad de vasos capilares, muestra ser apto para el intercambio gaseoso y la eliminación de productos nitrogenados.

Hareseign y Shumway (1980), utilizan marcadores radioactivos para demostrar la transferencia de compuestos de bajo peso molecular a través del epitelio del saco incubador de *Syngnathus fuscus*. A pesar de la incorporación de los aminoácidos marcados a los embriones, se muestran escépticos en sus conclusiones; llegan a atribuir sus resultados a la posible contaminación debida a

los métodos utilizados.

Quast y Howe (1980), investigan la función osmótica del saco incubador en *Syngnathus scovelli*. Señalan que el saco es comparable a la cavidad ovárica de los peces vivíparos, ya que en esta bolsa, se les provee de cierto fluido, el cual es isosmótico a la sangre, a través de todo el período de desarrollo, con el fin de aislarlos de las rigurosas condiciones ambientales presentes en los estuarios.

Azzarello (1991), establece que en los embriones de *Syngnathus scovelli*, con longitud mayor a 4.0mm, el saco incubador no participa ni en la osmorregulación ni en los intercambios metabólicos; la fuente energética proviene exclusivamente del saco vitelino.

Wetzel y Wourms (1991), estudian la función del saco incubador en peces pipa y caballitos de mar; la osmorregulación, el intercambio de gases y el transporte de metabolitos son procesos que se llevan a cabo en la relación establecida entre el embrión y su progenitor.

Anderson (1967), realiza un estudio sobre la formación del corion en ovocitos de caballito de mar (*Hippocampus erectus*) y pez pipa (*Syngnathus fuscus*), haciendo una comparación con teleósteos de otras especies.

Anderson (1968), investiga la formación de los alveolos corticales y la vitelogénesis en el pez pipa *Syngnathus fuscus* y el pez *Fundulus heteroclitus*, ambos procesos se llevan a cabo a la par, pero son los alvéolos corticales los primeros en desarrollarse.

Begovac y Wallace (1987), describen el ovario del pez pipa *Syngnathus scovelli*. A partir del cordón germinal que presenta dorsalmente esta especie, los ovocitos se desarrollan gradualmente, alcanzando su madurez en la parte ventral de la gónada.

Begovac y Wallace (1988), identifican y describen seis etapas de desarrollo de los ovocitos en el pez pipa *Syngnathus scovelli*, de acuerdo a características citológicas y parámetros fisiológicos.

Begovac y Wallace (1989), evalúan y analizan las proteínas que conforman el corion del pez pipa *Syngnathus scovelli*, concluyendo que la mayoría de éstas son sintetizadas por el folículo mismo y no por el hígado.

Selman y Wallace (1991), describen histológicamente el ovario del caballito de mar *Hippocampus erectus*. Dorsalmente se encuentran dos cordones germinales, que constituyen la parte generatriz de los folículos, y dan origen a la simetría bilateral; los ovocitos presenta un arreglo secuencial de desarrollo con base en su madurez.

No existen trabajos publicados sobre los testículos de signátidos, una de las razones por las cuales no hay información disponible es la localización misma de éstos; en ciertas especies la observación y extracción de los testículos llega a resultar complicada (Wallace, 1998, comunicación personal).

# OBJETIVOS

---

Como puede observarse, son pocos los trabajos realizados con signátidos, la mayoría se avocan a su ecología, fecundidad y elección de pareja, existiendo únicamente dos trabajos histológicos gonádicos sobre *Syngnathus scovelli*, por tal motivo el presente trabajo tuvo como finalidad conocer los aspectos reproductivos de *Oostethus lineatus* bajo los siguientes lineamientos:

- + Determinar la proporción sexual de la especie.
  
- + Determinar la talla en la cual se diferencian externamente hembras de machos.
  
- + Determinar el potencial reproductivo de la especie.
  
- + Descripción macroscópica e histológica del ovario, testículo y saco incubador.

## CLASIFICACIÓN DE *Oostethus lineatus*

---

La clasificación taxonómica con base en Castro-Aguirre (1978) y Nelson (1994), es la siguiente:

Phyllum:	Chordata
Subphyllum:	Vertebrata
Superclase:	Gnathostomata
Clase:	Osteichthyes
Subclase:	Actinopterygii
Infraclase:	Teleostei
División:	Euteleostei
Superorden:	Acanthopterygii
Orden:	Syngnathiformes
Familia:	Syngnathidae
Subfamilia:	Syngnathinae
Género:	<i>Oostethus</i> Hubbs
Especie:	<i>O. lineatus</i> (Kaup 1856)

Las sinonimias de la especie según Poss, 1997 y Robins, 1991, son:

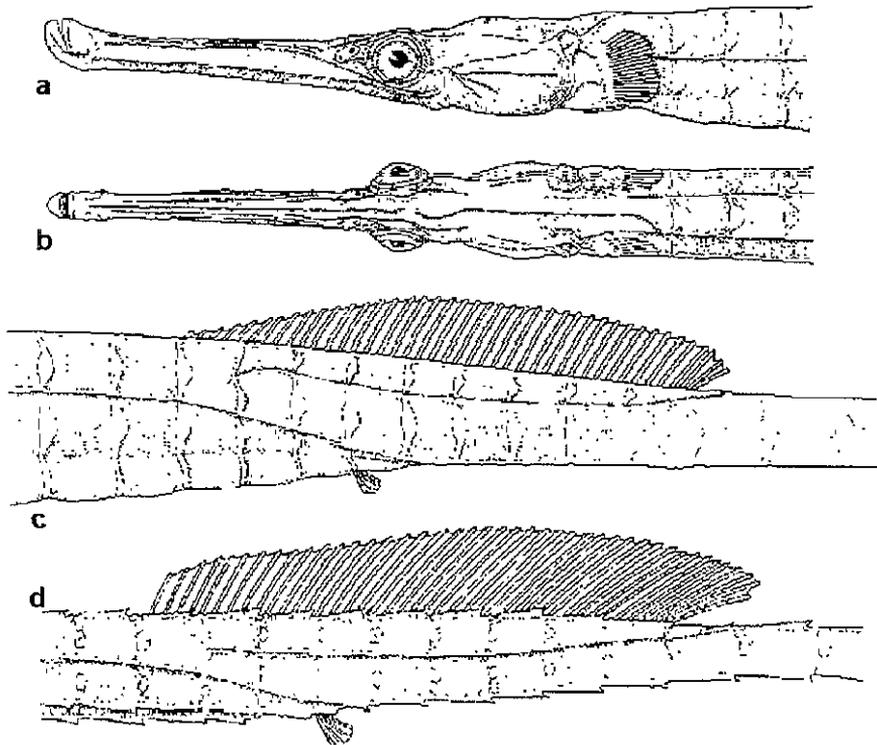
*Syngnathus lineatus*. *Doryichthys lineatus*. *Microphis lineatus*.  
*Doryrhamphus* (*Doryichthys*) *lineatus*. *Syngnathus cayennensis*. *Microphis dumerili*.  
*Oostethus* sp. *Oostethus brachyurus*. *Oostethus brachyurus lineatus*. *Microphis*  
(*Oostethus*) *brachyurus lineatus*.

## DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

---

El pez pipa, *Oostethus lineatus*, es un pez relativamente grande, alcanza una longitud de 205mm. Es el único miembro del grupo del oeste del Atlántico que presenta la confluencia del borde lateral del tronco con el borde inferior de la cola. La fórmula radial de sus aletas es: P. 17-23; C. 9; D. 33-54. El saco incubador se localiza en el tronco, por lo que se les agrupa dentro de los llamados Gastropori (Resendiz, 1965). El hocico es largo (1.5-2.0 veces la longitud de la cabeza); el número de anillos troncales es de 16-21 y de 20-26 anillos caudales. Los juveniles presentan aserraciones en todos los bordes del cuerpo, mismas que se vuelven inconspicuas en los adultos (Dickson y Moore, 1977; Dawson, 1979, 1982), (esquema 1).

El color de *O. lineatus* es característico, particularmente en los adultos; la parte superior del hocico, la mitad posterior de la cabeza y cuerpo, son color café; una serie de manchas rojas en la parte lateral de cada anillo forma una franja roja entre los bordes lateral y superior del tronco; la parte baja del hocico es de color rojo con un número variable de barras verticales negras. Los juveniles presentan menor coloración, son café claro con barras verticales negras espaciadas (Gilbert, 1992).

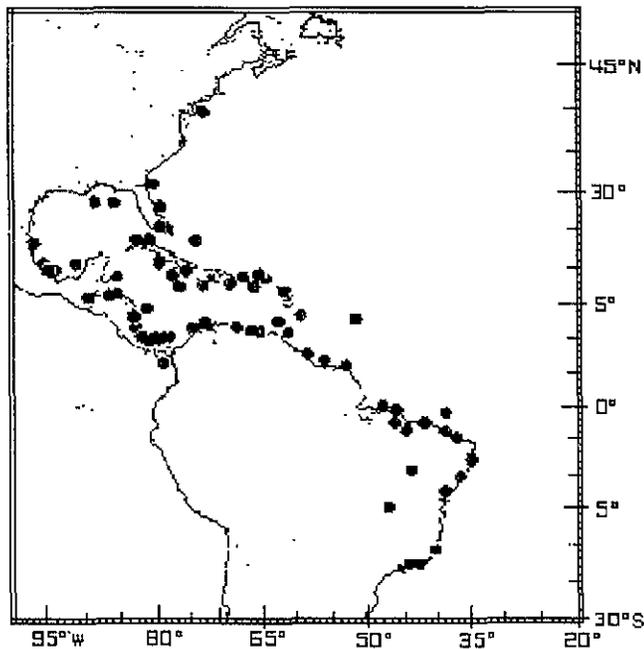


Esquema 1. Vista lateral (a) y superior (b) de la cabeza de un organismo adulto perteneciente a la especie *O. lineatus*. Confluencia del borde lateral del tronco con el borde inferior de la cola (c). Vista lateral del cuerpo de un organismo juvenil en el que las espinas son claramente observables (d).

Se encuentra desde el sur de Nueva Jersey hasta São Paulo, Brasil, incluyendo el Golfo de México, Cuba y las Antillas; recientemente se ha encontrado en el oriente del Océano Pacífico, (esquema 2).

Los organismos maduros y poblaciones permanentes se limitan aparentemente a áreas tropicales y subtropicales. Los registros que se tienen del Golfo de México provienen de las regiones de Campeche, el sur de Tamaulipas y Tecolutla, Veracruz (Castro-Aguirre, 1978; Dawson, 1970; 1982; Martínez, 1989).

Los organismos se localizan principalmente en aguas someras cercanas a la boca del estuario, donde la salinidad va de 0.03‰ a 35‰, en relación con la vegetación emergente (Poss, *op. cit.*).



Esquema 2 Distribución de *O. Imeatatus*. Tomado de Dawson, 1982.

## ÁREA DE ESTUDIO

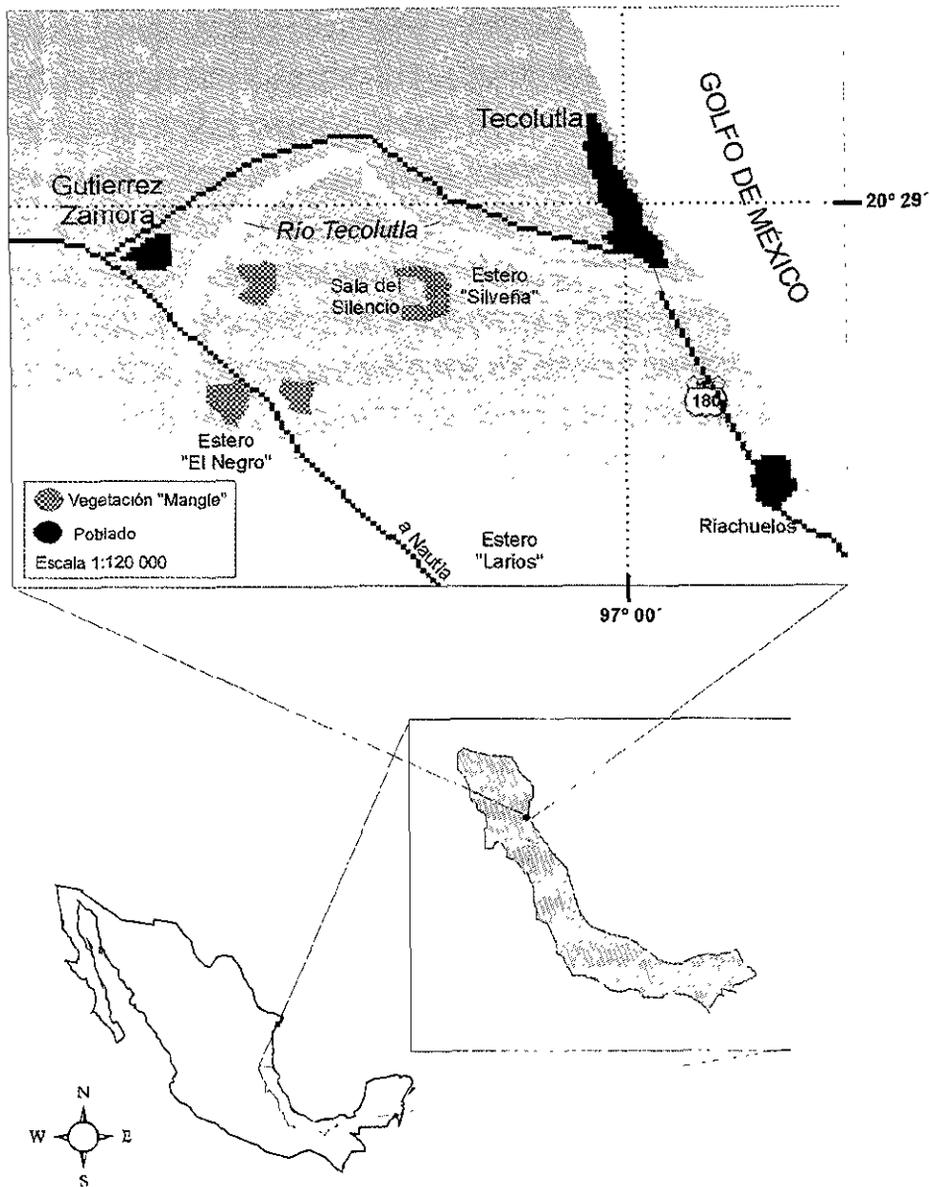
---

El estudio se realizó en el sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz localizado entre las siguientes coordenadas geográficas: 20° 28' de latitud norte y 97° 01' y de longitud oeste; presenta una dirección suroeste-noreste. El principal afluente de agua dulce es el río Tecolutla, el cual se divide en dos ramales principales conocidos como estero "Larios" y estero "El Negro", éste último presenta una segunda ramificación denominada estero Silveña, (esquema 3).

La zona estuarina del río Tecolutla presenta una temperatura media anual de 23.8 °C con precipitación media anual de 1707.6mm. En promedio, el mes de enero es el más frío (19°C) y el mes de agosto el más caluroso (27.5°C). Se presenta un tipo de clima Am(w), que es el más cálido húmedo con régimen de lluvias en verano y un porcentaje de 7.9% de lluvias invernales (García, 1970).

El suelo está formado por el arrastre de sedimentos de las sierras adyacentes formando la llanura aluvial característica del suelo tipo regional eútrico y gleysol (tierras inundables).

La vegetación que domina la orilla de los brazos de los esteros es principalmente arbustiva y compuesta de mangle: *Rhizophora mangle* (mangle rojo); *Avicennia germians* (mangle prieto) y pequeños manchones de *Laguncularia racemosa* (mangle blanco) y pastos del género *Ruppia sp.* (Contreras, 1988).



Esquema 3 Localización del área de estudio.

# METODOLOGÍA

---

Se realizaron muestreos periódicos, durante tres años (1995-1998), cubriendo un ciclo anual, en el sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz. El material biológico se capturó en los pastos que se desarrollan en la ribera del estuario Larios (donde la profundidad es de 1.50m), utilizando una red a manera de chinchorro de 2.5 metros de largo por 1.20 metros de ancho, con abertura de malla de 500 $\mu$ ; todas las colectas fueron diurnas. Los organismos se preservaron con formol al 10%, etiquetándose con los datos pertinentes de colecta, para ser trasladados al laboratorio de Zoología de la ENEPI, UNAM.

Los organismos se lavaron con agua corriente para eliminar el exceso de formol, y se midió su longitud patrón y peso, empleando regla graduada en mm y balanza semianalítica respectivamente. Los datos merísticos que se tomaron en cuenta fueron: conteo de anillos de la cabeza, tronco y cola; conteo de radios de aletas dorsal, pectoral y caudal. Para conocer la proporción sexual de la especie, los organismos fueron sexados con base en el saco incubador de los machos, obteniendo a su vez, la talla menor en la cual el saco es claramente visible; la separación de juveniles-adultos se llevó a cabo con base en Gilbert (1992).

Se realizó el conteo de huevos a todos los machos portadores de éstos, usando agujas de disección y microscopio estereoscópico, con el fin de determinar el potencial reproductivo. La talla del organismo más pequeño portador de huevos se consideró para diferenciar los organismos maduros de los sexualmente inmaduros.

## TRABAJO HISTOLÓGICO

En ambos sexos, la disección de las gónadas se realizó por la parte ventral del organismo (la localización de la vejiga urinaria se realizó al mismo tiempo, obteniéndose su longitud con la ayuda de un vernier). Después de medir y pesar las gónadas, éstas se sometieron al proceso histológico de rutina con base en las modificaciones de Verdín, 1997; ver apéndice I. Los cortes realizados al microtomo fueron de 5 $\mu$ ; se registraron las mediciones aproximadas de cada estadio gonádico encontrado, con ayuda de microscopía óptica (regilla ocular). Las fotografías fueron tomadas de los campos representativos empleando un microscopio Nikon modelo HFX-DX. Tanto ovarios como testículos corresponden a todas las estaciones del año.

Se procesaron histológicamente las gónadas de 11 hembras, de 93-184mm, utilizando las técnicas de tinción: hematoxilina-eosina, y tricrómica de Masson, para realizar la descripción de los estadios de desarrollo del ovocito. Con base en este análisis, y de acuerdo con Forberg, (1982), quien define cuando una hembra es madura, se emplearon 13 organismos más para el conteo de ovocitos maduros, utilizando un microscopio estereoscópico y agujas de disección.

Las gónadas de 16 organismos machos, de longitudes entre 93-174mm (de los cuales el 37.5% era portador de huevos), se sometieron al proceso histológico de rutina, empleando las siguientes técnicas de tinción: hematoxilina-eosina, hematoxilina férrica y tricrómica de Masson.

Otro organismo, de 160mm y portador de huevos, se colocó en EDTA disódico por 15 días para ablandar las placas óseas. Con el fin de obtener campos generales del cuerpo del organismo, se realizaron los cortes en dos diferentes

niveles: distal y proximal al ano. Los tejidos se procesaron de la misma forma pero en este caso, no se realizó la tinción de hematoxilina férrica.

Se calculó el OSR (Proporción Sexual Operacional), siendo ésta la proporción entre machos y hembras sexualmente maduros

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Mediante pruebas de t, con base en las fórmulas de Daniel (1988) se registró si existían diferencias significativas entre peso y longitud de ambos sexos. Ver Apéndice IIA. Esta misma prueba se utilizó para conocer si existían diferencias significativas entre la talla de los organismos sexualmente maduros entre ambos sexos.

El tipo de crecimiento se determinó con la relación peso-longitud, de acuerdo con LeCreen (Gerking, 1978); se realizó la prueba de comparación de pendientes, propuesta por Sokal (1983), para la evaluación de diferencias significativas. Ver apéndice IIB y IIC.

Se realizó una regresión lineal con el fin de saber si existía relación directa entre el tamaño del macho y el número de huevos portados, aplicando la prueba de significancia para r (Scheffler, 1974). Ver apéndice IID.

# RESULTADOS

---

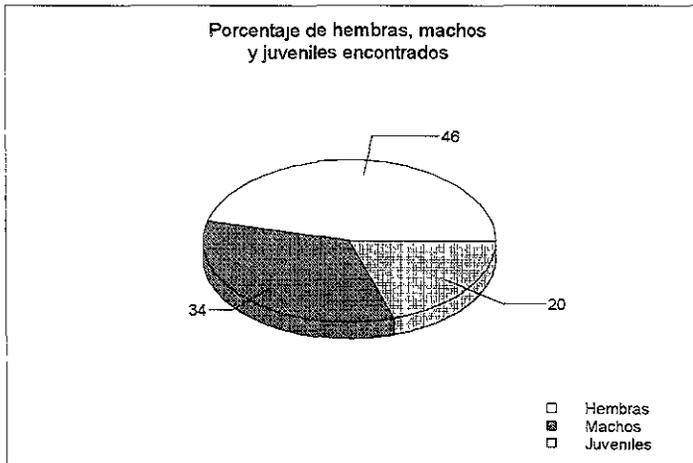
## PROPORCIÓN SEXUAL Y POTENCIAL REPRODUCTIVO

A partir de las colectas realizadas en el sistema estuarino, se obtuvieron un total de 345 organismos de la especie *Oostethus lineatus*, en un rango de longitud patrón de 64mm a 205mm y pesos comprendidos desde 0.0910gr a 4.8203gr, mientras que la talla mínima en la cual se encontró el saco incubador claramente desarrollado, fue de 90mm. Con base en estos resultados, se registraron 159 (46%) hembras, 118 (34%) machos y 68 (20%) juveniles, (gráfica1), siendo la proporción sexual macho:hembra de 1:1.34, a favor de las hembras.

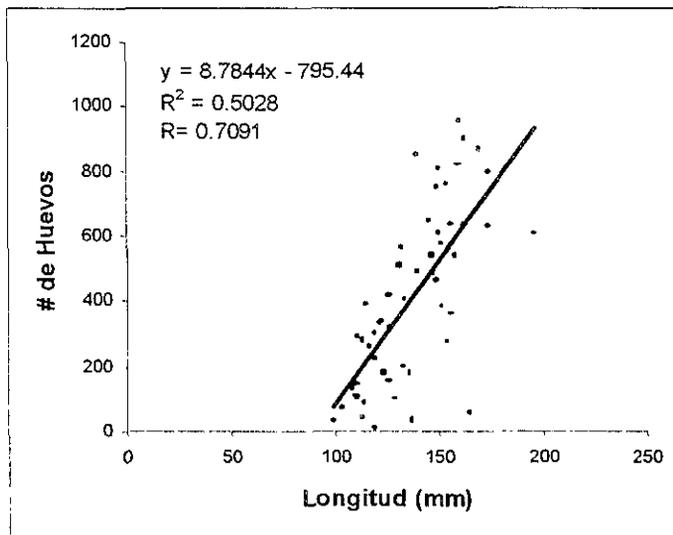
De los machos estudiados, solamente un 45% portaba huevos desde longitudes de 99mm hasta 196mm. Considerando tanto la talla mínima de portación de huevos para el caso de los machos y la maduración gonádica, por medio del análisis histológico, para las hembras se obtuvo el potencial sexual operacional (OSR) de la especie, de 1:1.2 a favor de los machos.

Se encontró que los machos pueden portar desde 10 a 953 huevos en su saco incubador, pero en promedio cada macho se encarga del cuidado de 409 huevos. De hecho, existe una relación positiva significativa entre el tamaño del organismo y el número de huevos portados en su saco incubador, (gráfica 2).

En los organismos cuyo saco se encontraba parcialmente lleno por huevos, se observó que era la parte anterior de éste la que siempre se encontraba vacía. por lo que se asume que la depositación de los huevos en la bolsa incubadora, se realiza de la parte posterior hacia la parte anterior. La forma de los huevos es ovoide, de aproximadamente 0.8mm a 1.1mm, en su diámetro mayor.



Gráfica 1. Porcentaje de hembras, machos y juveniles de la especie *O. lineatus* en el sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz.



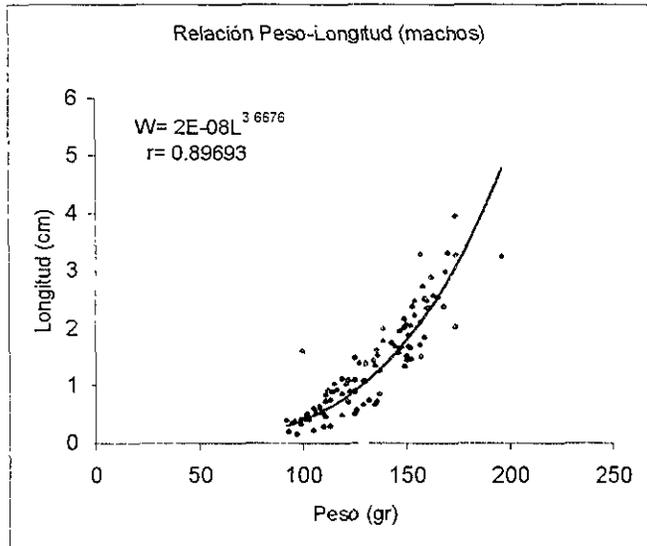
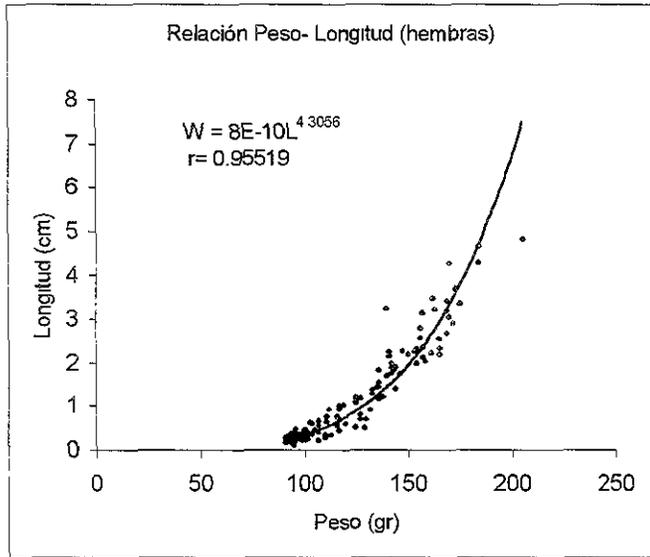
Gráfica 2. Regresión lineal del número de huevos vs longitud del macho portador de los mismos

Cada huevecillo, dentro del saco, se encuentra rodeado por tejido esponjoso (la descripción macroscópica e histológica de éste se presenta más adelante).

En todos los muestreos, se encontraron machos que portaban huevos recién colocados, en fases avanzadas de desarrollo y otros a punto de eclosionar; sin embargo, dentro de un mismo organismo, todos los huevos presentaban el mismo estado de desarrollo (exceptuando dos organismos en los que se observaron huevos en diferentes fases de desarrollo).

El total de machos y hembras presentan una longitud y peso divergente, de acuerdo a las pruebas de t realizadas; en tanto que, las pruebas de t para hembras y machos sexualmente maduros ( $>99$  y  $>110$  respectivamente) indican una diferencia significativa ( $\alpha 95\%$ ) entre sus tallas. La relación peso-longitud, según LeCreen, la cual ofrece en detalle la relación entre ambas variables, indica que el tipo de crecimiento es más isométrico en los machos que en las hembras, comparando los valores de b obtenidos (3.6676 y 4.3056 respectivamente), (gráfica 3 y 4). El tipo de crecimiento se confirmó por medio de la comparación de pendientes, que determinó una diferencia significativa ( $\alpha 95\%$ ).

Los resultados de las pruebas estadísticas se ofrecen en detalle en el apéndice III.



Graficas 3 y 4 Relación peso-longitud obtenidos para *O. lineatus*

## **DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DEL OVARIO**

Los ovarios se localizan entre la vejiga natatoria y el intestino; están cubiertos por una delgada capa de tejido epitelial, que los mantiene unidos a la vejiga natatoria. Los ovarios son estructuras pareadas de forma cilíndrica, cuyo extremo distal al ano presenta un ligero aguzamiento; se fusionan en su parte terminal para formar un pequeño oviducto que desemboca en el orificio urogenital. Los ovarios ocupan tres cuartas partes del tronco del organismo, aún cuando sus dimensiones pueden ser mayores, llegando a ocupar completamente la cavidad celómica, (figura 1). Los ovarios de una hembra madura promedio (158mm), son de 35mm y pesan 0.200gr aproximadamente. Sin embargo, éstos no son simétricos longitudinalmente; en el 57% de las hembras estudiadas, la gónada derecha se observó ligeramente mayor a la izquierda (0.3-2.8mm de diferencia).

## **DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA DEL OVARIO**

### **PARED OVÁRICA**

La pared ovárica, que permite la distensión para el acomodamiento y almacenaje de los huevos antes de la ovulación, envuelve la gónada en toda su longitud. Externamente está formada por varias capas de tejido conectivo; en su parte interna presenta una capa de tejido epitelial cilíndrico simple, conocida como epitelio luminal, (figura 2).

## CORDÓN GERMINAL

Como se menciona en los antecedentes, esta familia se caracteriza por presentar cordón germinal.

En la especie *O. lineatus*, el cordón corre a todo lo largo de la parte media dorsal del ovario y semeja una pared divisoria del interior del mismo, llegando a ocupar la mitad del diámetro de éste. Está formado por tejido conectivo y células germinales, que conformarán más tarde a los ovocitos.

A partir del cordón germinal los folículos previtelogénicos forman, hacia cada lado, una proyección en forma de U con dirección al lumen. Posteriormente, su desarrollo será secuencial hacia el extremo opuesto, denominado "línea de madurez"; sin embargo, la expansión de los ovocitos durante la vitelogénesis llega a romper dicho esquema.

Cercano a esta región, se observaron solamente restos de estroma correspondientes al lumen ovárico, (figura 2).

## LÍNEA DE MADUREZ

Esta línea está definida por la posición de los ovocitos vitelogénicos, listos para su maduración y posterior ovulación. Los ovocitos, en etapas previtelogénicas, se encuentran a lo largo de todo el ovario, acomodados en líneas laterales, (esquema 4).

Entre los ovocitos se observaron restos de estroma, (tejido conectivo, vasos capilares y fibroblastos), cuya función es de soporte a los folículos en desarrollo.

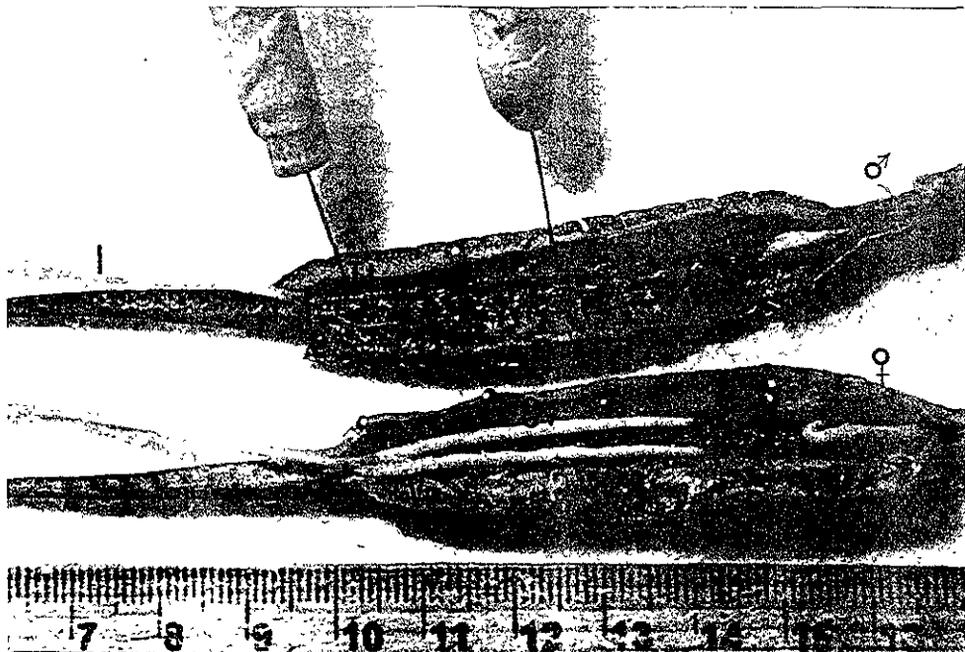


Fig. 1. Localización de los testículos y ovarios de *O. lineatus*. Intestino (I), vejiga gaseosa (Vg); vejiga urinaria (Vu); testículos (Tt), ovarios (Ov).

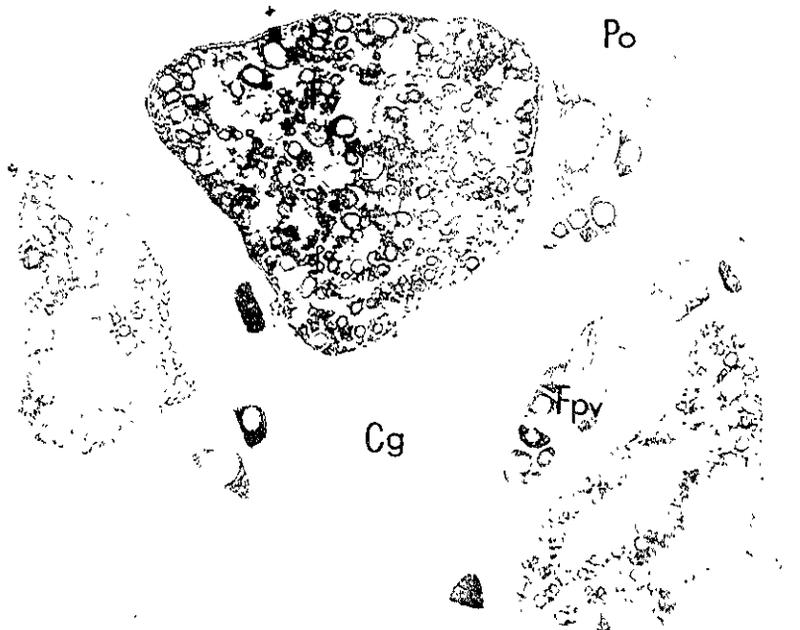
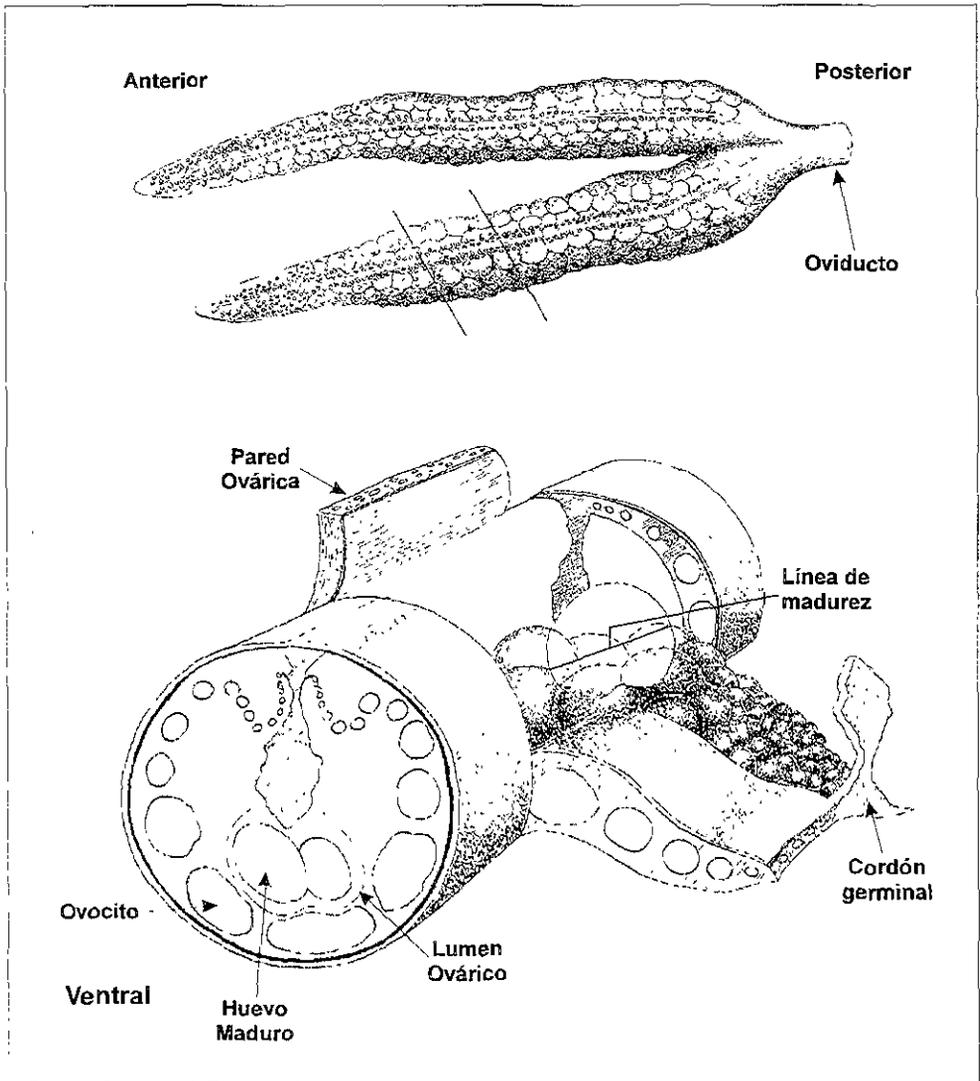


Fig. 2 Corte transversal del ovario de *O. lineatus*. Se observa la proyección en forma de U a partir del cordón germinal. Pared ovárica (Po), cordón germinal (Cg); folículos previtelogénicos (Fpv), folículos vitelogenicos (Fv) (H-E 100X 5 $\mu$ )



Esquema 4. Dibujo del ovario que agrupa las principales relaciones *in situ*. El diagrama superior hace referencia a los ovarios pariados que se unen en el extremo proximal al ano para dar origen al oviducto. Las líneas discontinuas indican el segmento del ovario que se ofrece en detalle en la parte inferior. La parte media de esta sección permite visualizar los folículos en el lumen ovárico.

## ETAPAS DE DESARROLLO DEL OVOCITO

### OVOGONIAS (6 $\mu$ de diámetro)

Las ovogonias, que constituyen el inicio del desarrollo de los ovocitos, forman líneas longitudinales que se distribuyen a todo lo largo del cordón germinal. Su forma es de esférica a ovalada; de núcleo redondeado (2.6 $\mu$  de diámetro) y, llega a presentar de uno a tres nucléolos basófilos. Tanto citoplasma como núcleo son acidófilos, (figura 3).

### CROMATINA NUCLEOLAR (6-29 $\mu$ de diámetro)

En esta etapa se inicia el proceso meiótico. Los ovocitos en este estadio son muy basófilos; su núcleo abarca más del 44% y puede haber de 3 a 16 nucléolos. Se observa una delgadísima capa folicular; este cambio estructural representa la salida del ovocito del cordón germinal para continuar su desarrollo secuencial; sin embargo, pueden llegar a encontrarse ovocitos perinucleolares tempranos asociados al cordón, (figura 4).

### PERINUCLEOLAR (29-80 $\mu$ de diámetro)

Perinucleolar temprano. El ovocito continúa incrementando su tamaño, debido a la acumulación de sustancias morfogenéticamente importantes y diferentes al vitelo. Son de forma redondeada y citoplasma basófilo, mientras que el núcleo ha perdido afinidad a la hematoxilina. La cromatina se condensa al centro y en su periferia se encuentran los nucléolos, que pueden ser de 9 a 29. Conforme continúa el desarrollo de los ovocitos, los nucléolos se desplazan a la periferia de la membrana nuclear, (figura 4).

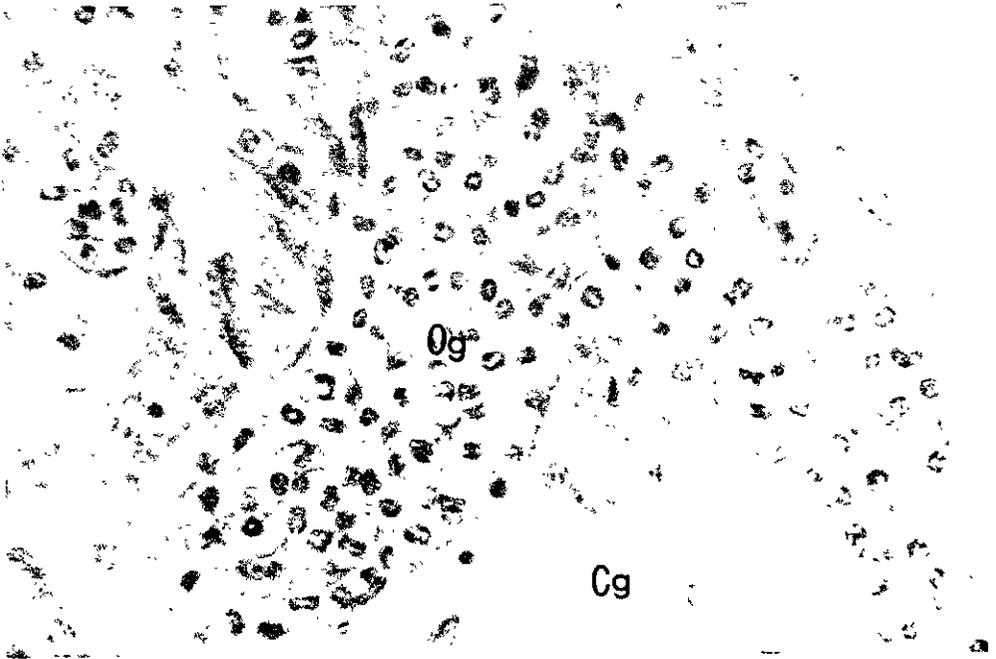


Fig. 3. Las ovogonias (Og) de *O. lineatus* se encuentran inmersas en el cordón germinal (Cg), el cual es característico para la familia Syngnathidae. (H-E. 1000X. 5 $\mu$ )



Fig. 4. Corte longitudinal del ovario de *O. lineatus* donde se observan ovocitos en estadios previtelogénicos cordón germinal (Cg), cromatina nucleolar (Cn); pared ovárica (Po), perinuclear temprano (Pt), perinuclear tardío (Pd) (H-E. 400X 5 $\mu$ )

Perinucleolar tardío. Pueden llegar a incrementar hasta más del doble el tamaño de la fase previa. El citoplasma se torna menos basófilo y los nucléolos se encuentran perfectamente alineados alrededor de la membrana nuclear, (figura 4).

#### ALVEOLOS CORTICALES (80-150 $\mu$ de diámetro)

Esta etapa se caracteriza por la aparición de los alveolos corticales y la membrana vitelina.

Los alveolos corticales se advierten primeramente en la periferia de la membrana citoplásmica, como espacios de diámetro pequeño. Posteriormente, el número de alveolos corticales es mayor, se vuelven heterogéneos en diámetro y ocupan una gran parte del citoplasma.

El corion, zona radiata, o membrana vitelina (Laale, 1980), se observa claramente como una delgada capa entre el ovocito y las células foliculares. El tamaño del ovocito sigue incrementándose, no así el diámetro del núcleo (que ocupa cerca del 35% del ovocito).

Los nucléolos, que pueden ser de 9-20, forman en su interior, a manera de paquetes, "pequeños subnúcleolos", los cuales están rodeados de una fina membrana. La cromatina nuclear se observa dispersa dentro del núcleo, (figura 5).

#### VITELOGÉNESIS (150-480 $\mu$ de diámetro)

La vitelogénesis implica la acumulación de precursores proteicos de vitelo, que al transformarse en plaquetas vitelinas, serán los principales responsables del crecimiento del ovocito.

Los ovocitos en vitelogenénesis primaria, se caracterizan por la presencia de pequeñas esferas de vitelo en la periferia del ovocito. Se observan de 6 a 20 nucléolos en la periferia del núcleo y los subnúcleolos que se exhiben en la fase anterior, son en ésta, claramente distinguibles. Los subnúcleolos son de distintos tamaños, puede ser sólo uno o varios, sin que predomine un esquema en particular; sin embargo, los nucléolos conservan su forma redonda en la mayoría de los casos.

La acumulación de vitelo, en el interior del ovocito, ocasiona el desplazamiento progresivo de los alveolos corticales a la periferia, donde forman un halo delimitado por una delgada membrana.

El corion adquiere un grosor mayor, y las células foliculares que lo rodean son claramente visibles como células cúbicas. En algunos casos se observó una posible compartición de la capa de células tecales, (figura 6).

Conforme avanza este estadio, las esferas de vitelo se vuelven heterogéneas en diámetro; la acumulación que ocurre en la parte media corresponde a vitelo maduro, dando paso a la siguiente fase de desarrollo.

En la vitelogenénesis secundaria, las esferas de vitelo se localizan en todo el ovocito; sin embargo, aún son distinguibles como elementos individuales pues la fusión de éstas no ha sido concluida. El núcleo comienza a perder la forma redonda; los nucléolos conservan su forma y membrana y los subnúcleolos se localizan ahora en la periferia del nucléolo dando la apariencia de corona, (figura 7).

En vitelogenénesis terciaria, el vitelo ocupa casi la totalidad del ovocito, siendo su fusión mayor aún cuando se observen gotas pequeñas de vitelo. Los nucléolos, cuyos subnúcleolos ya no son observables, pierden la alineación

periférica y se distribuyen en toda el área del núcleo. El corion incrementa notablemente su grosor y su estriación es plenamente observable. Algunos fibroblastos, que forman parte de la capa de las células tecales son distinguibles, (figura 8).

## **ETAPAS DE MADURACIÓN DEL OVOCITO**

La dureza del vitelo dificultó que se obtuvieran estas últimas fases en detalle, sin embargo, los espacios que se presentaron en las preparaciones correspondían a la línea de madurez por lo que se asume su presencia. A continuación se da una breve descripción de los acontecimientos:

El núcleo se dirige al polo animal, en esta zona su membrana se reabsorbe y, nucleoplasma y citoplasma se fusionan, concluyendo entonces, la primera división meiótica. Los ovocitos se distribuyen en la línea de madurez, donde culmina el desarrollo de éstos hasta que sean expulsados para su fertilización.

## **DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DE LOS OVOCITOS MADUROS**

Macroscópicamente, los ovocitos maduros que se encuentran dentro del ovario, tienen una forma trapezoide y miden aproximadamente 0.80 mm.

El promedio de huevos para ser transferidos al macho es de 765.

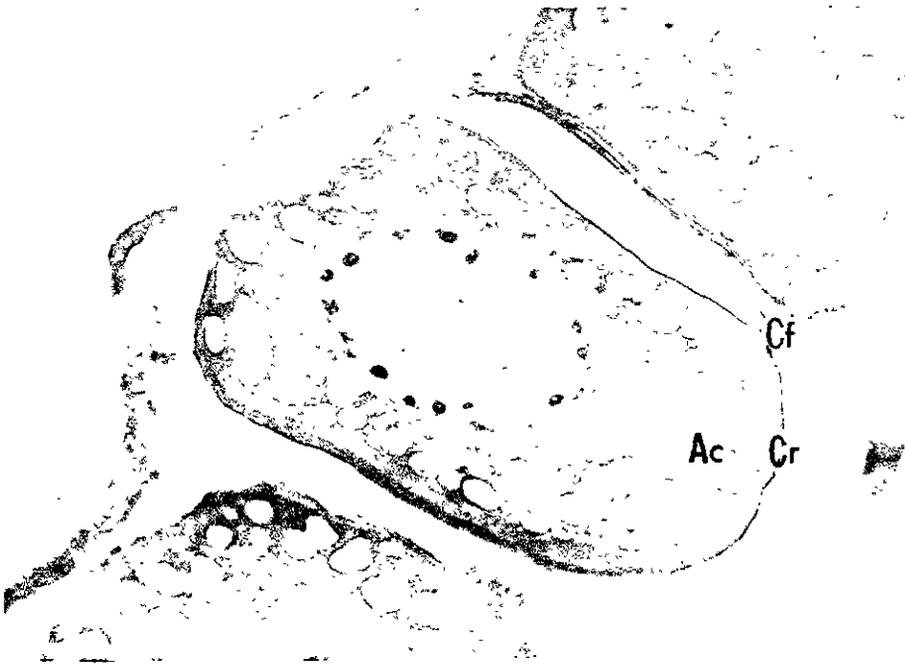


Fig 5 Ovocito en estadio de alveolos corticales. Los alveolos corticales (Ac) se advierten como gotas que invaden el citoplasma del ovocito; se aprecia el corion (Cr) entre las células foliculares (Cf) y el ovocito (H-E 400X. 5 $\mu$ )

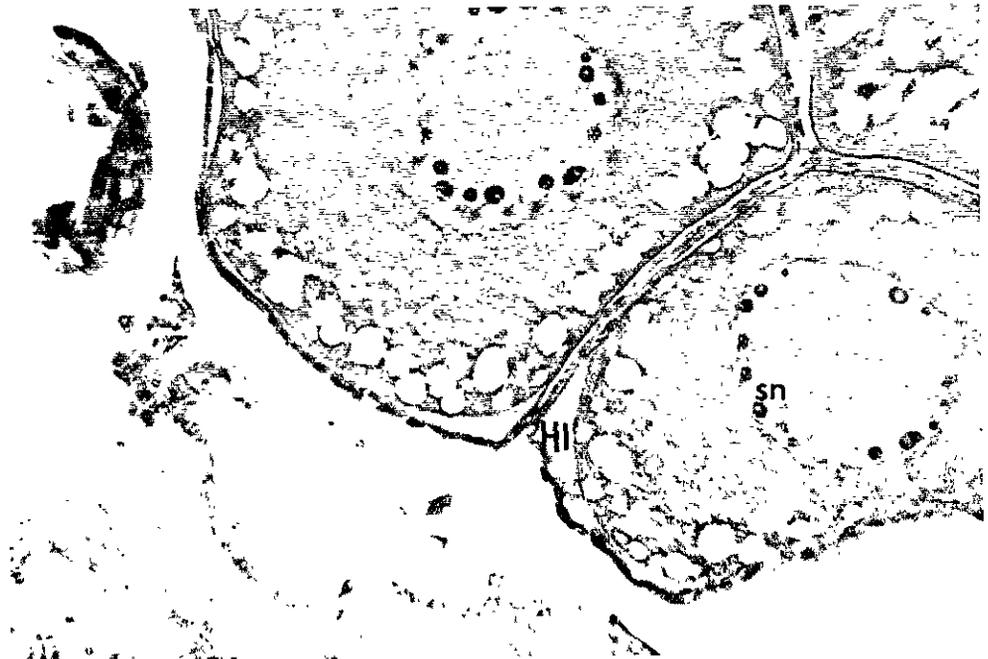


Fig 6 Ovocito en vitelogénesis primaria. Un cambio notable es la aparición del halo (Hi) formado por los alveolos corticales, los subnúcleolos (sn) son claramente distinguibles en este estadio (H-E. 400X. 5 $\mu$ )

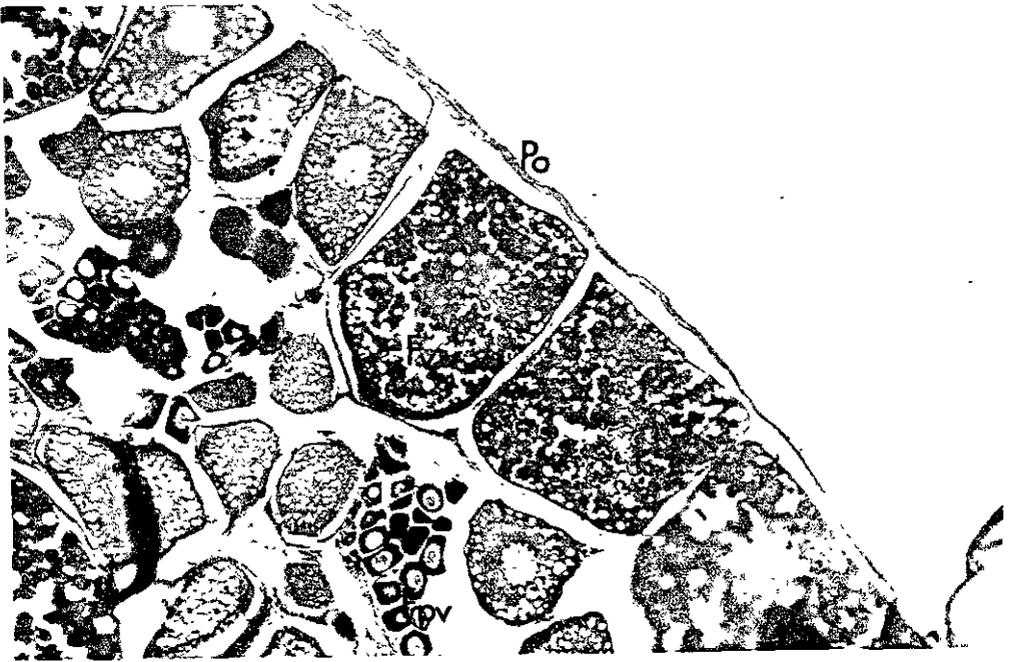


Fig. 7 Corte longitudinal del ovario de *O. lineatus*. Se observa el desarrollo asincrónico del ovario, el cual se caracteriza por presentar ovocitos en diferentes estadios de desarrollo. Folículos previtelogénicos (Fpv), folículos vitelogénicos (Fv), pared ovárica (Po). (H-E. 400X. 5 $\mu$ )

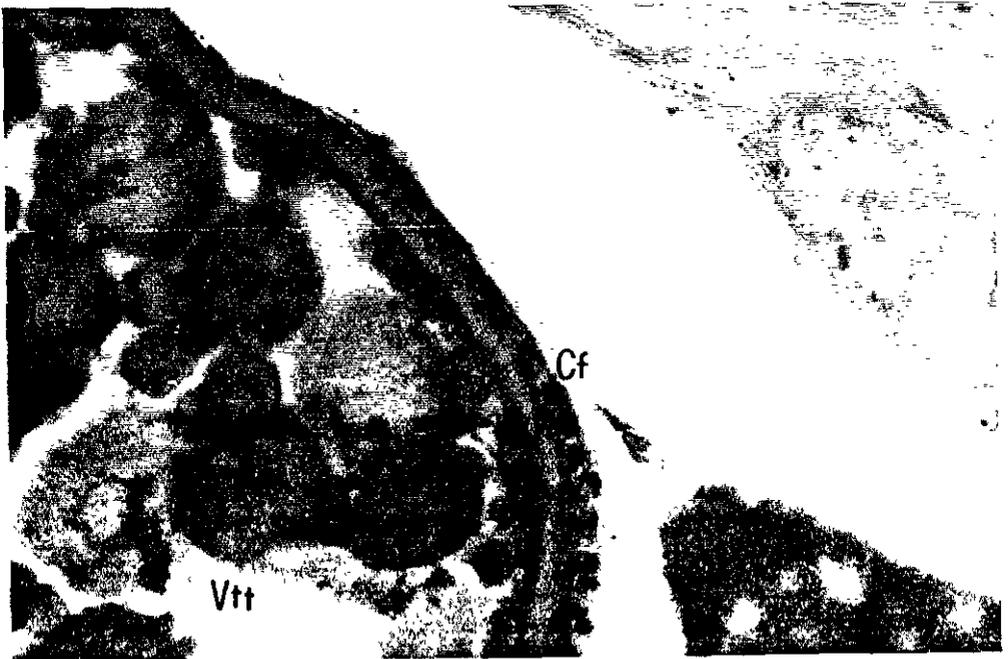


Fig 8 Ovocito en estadio vitelino terciario (Vtt) El corion (Cr) incrementa notablemente su grosor y la estración es claramente distinguible. alrededor de este, células foliculares (Cf) (H-E 1000X 5 $\mu$ )

## **DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DEL TESTÍCULO**

Son estructuras pareadas de color blanquecino, en posición ventral a la columna vertebral y vejiga natatoria. La forma de los testículos es muy particular y puede fácilmente dividirse en dos regiones: la primera, que se encuentra en posición distal al ano, abarca tres cuartas partes de la gónada, es extremadamente delgada y de forma cilíndrica. Esta se continúa con una región claramente ensanchada, en posición proximal al ano, que compone el cuarto restante. De esta manera, la morfología de las gónadas semeja una estructura a manera de remo, (figura 1).

Las gónadas pueden llegar a ocupar más de tres cuartas partes del tronco de un organismo; un macho adulto promedio (140mm), presenta unos testículos de aproximadamente 25mm y 0.0035gr.

La longitud de la gónada derecha fue ligeramente mayor, en el 63% de los casos estudiados.

## **DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA DEL TESTÍCULO**

Con la ayuda de la técnica histológica, se obtuvieron una serie de preparaciones que mostraban unos testículos completamente atípicos al resto de los teleósteos. La descripción que a continuación se realiza, está basada en las dos regiones previamente descritas que presenta el testículo del pez pipa. Entre los machos portadores y no portadores de huevos no se reveló ninguna diferencia sustancial.

## REGIÓN DISTAL AL ANO

En esta zona, el diámetro total del testículo es de aproximadamente 385 $\mu$ , (figura 9).

La túnica albugínea se advierte por ser una capa compacta, formada externamente por tejido conectivo e internamente por músculo.

Hacia el interior, se encuentran células de forma redonda, muy características, de aproximadamente 5.4 $\mu$  de diámetro, con núcleo que pretende ser céntrico, altamente basófilo, de 2.6 $\mu$  y nucléolo (pocas veces observable), de 1.5 $\mu$  de diámetro. Este tipo celular está rodeado individualmente por tejido conectivo, de manera que se aísla una célula de otra. En el centro se observa un lumen pequeño, que en corte longitudinal se observa como un canal que corre a todo lo largo de la región distal, (figura 10 y 11) En algunas preparaciones, se llegaron a observar las células ya descritas pero sin presencia de tejido conectivo ni nucléolo observable, en la luz del órgano, (figura 12 y 13).

No se observó la formación de cistos en ningún caso.

## REGIÓN PROXIMAL AL ANO

El diámetro del testículo es mayor en la región proximal al ano, ya que alcanza una dimensión de 585 $\mu$  , (figura 14).

Las capas que conforman la túnica albugínea se distinguen con mayor claridad en esta región: la más externa, de tejido conectivo y vasos sanguíneos, seguida por una gruesa capa de células musculares (8.0 $\mu$ ) donde se encuentran embebidas células que podrían corresponder a las llamadas células de Leydig

Alrededor e internamente a la capa albugínea, se encuentran células rodeadas por finas capas de tejido conectivo (figura 15). El resto del interior es un amplio lumen, donde se encuentran un gran número de células dispersas, libres de tejido conectivo.

El diámetro que las células presentan en esta región es de aproximadamente  $8.3\mu$ ; su núcleo ( $4.48\mu$ ), que se caracteriza por perder afinidad a la hematoxilina, se encuentra en algunos casos migrado hacia el centro del lumen, mientras que su nucléolo ( $1.6\mu$ ) permanece céntrico, (figura 16 y 17).

No se observó ninguna región de transición celular ni células de Sertoli; con hematoxilina férrica no se detectaron figuras meióticas ni mitóticas.

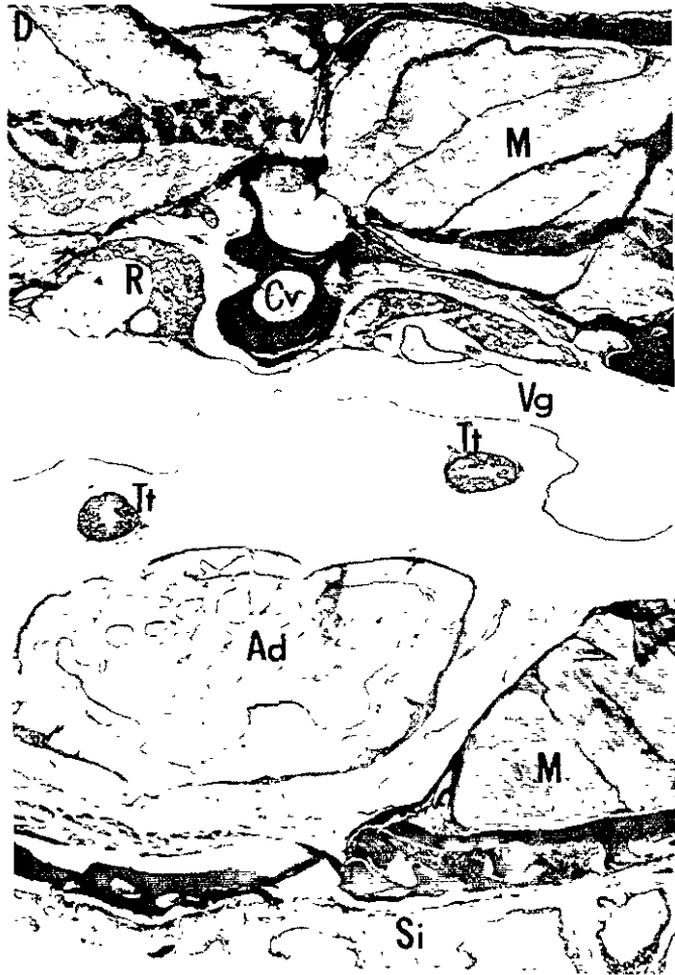


Fig 9. Corte transversal de un organismo macho de la especie *O. lineatus*. La fotografía corresponde a la región distal al ano. Aparato digestivo (Ad), columna vertebral (Cv), músculo (M); riñones (R); tejido interno del saco incubador (Si); testículos (Tt); vejiga gaseosa (Vg). Parte dorsal del organismo (D). (Masson. 40X 5µ)



Fig. 10. Corte transversal del testículo, región distal al ano. Se observa la túnica albugínea (Ta) alrededor de éste, así como las posibles espermatogonias (Eg) rodeadas de tejido conectivo (Tc); al centro, el lumen (L). (Masson 400X 5 $\mu$ )

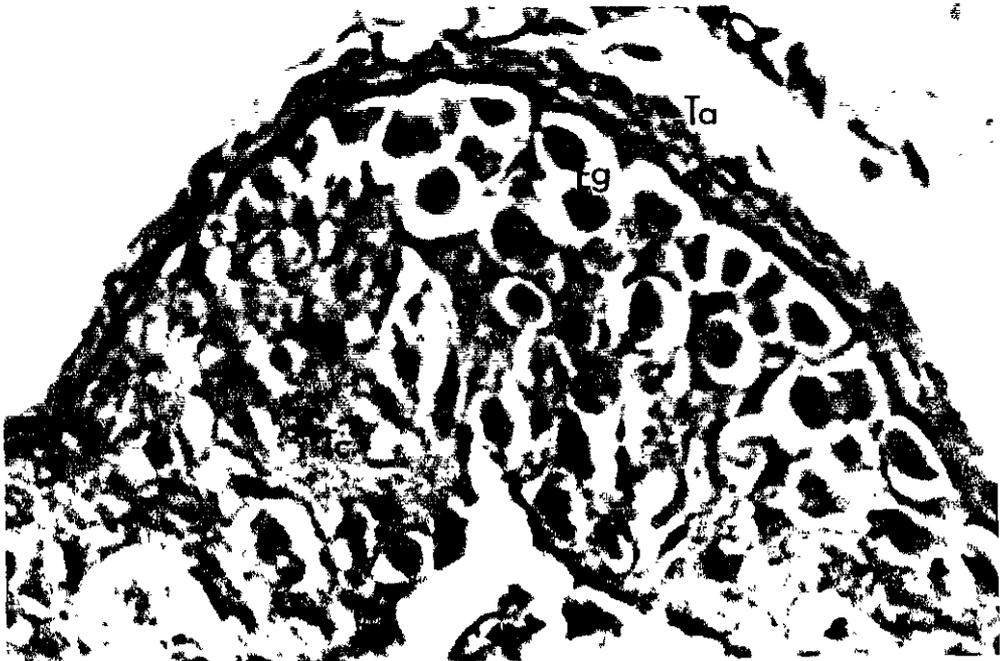


Fig 11 Aumento del corte transversal de testículo. Nótese la presencia del núcleo en algunas de las células Tunica albugínea (Ta), tejido conectivo (Tc), posibles espermatogonias (Eg) (Masson 1000X 5 $\mu$ )

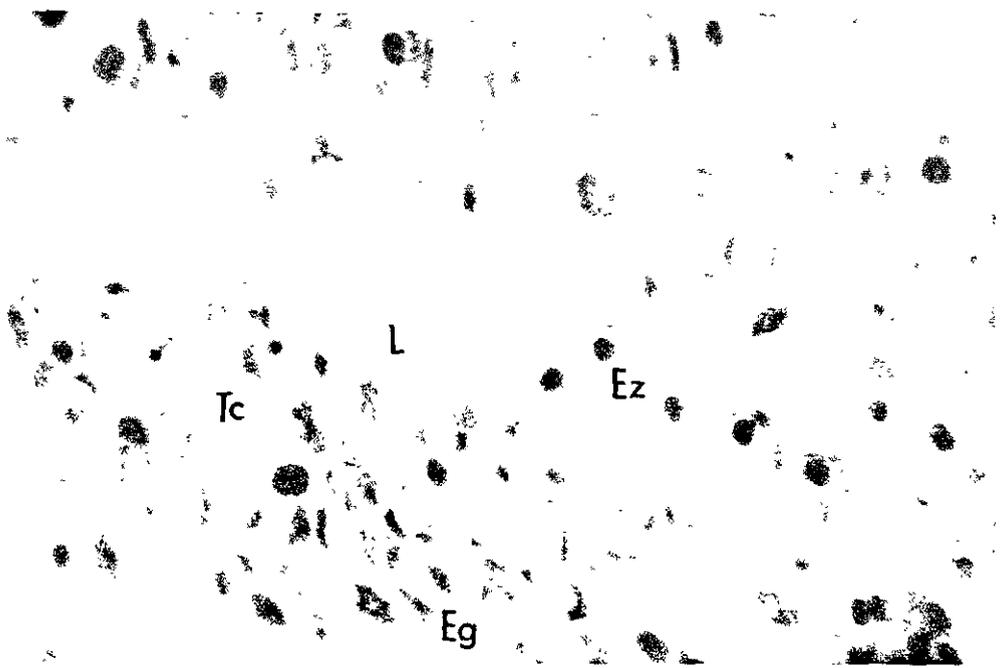


Fig. 12 Corte longitudinal del testículo, región distal al ano. Al centro se observa el lumen (L), donde son distinguibles algunas células (Ez), probablemente sean el resultado de la espermiación. Posibles espermatogonias (Eg); tejido conectivo (Tc). (Masson. 1000X 5 $\mu$ )

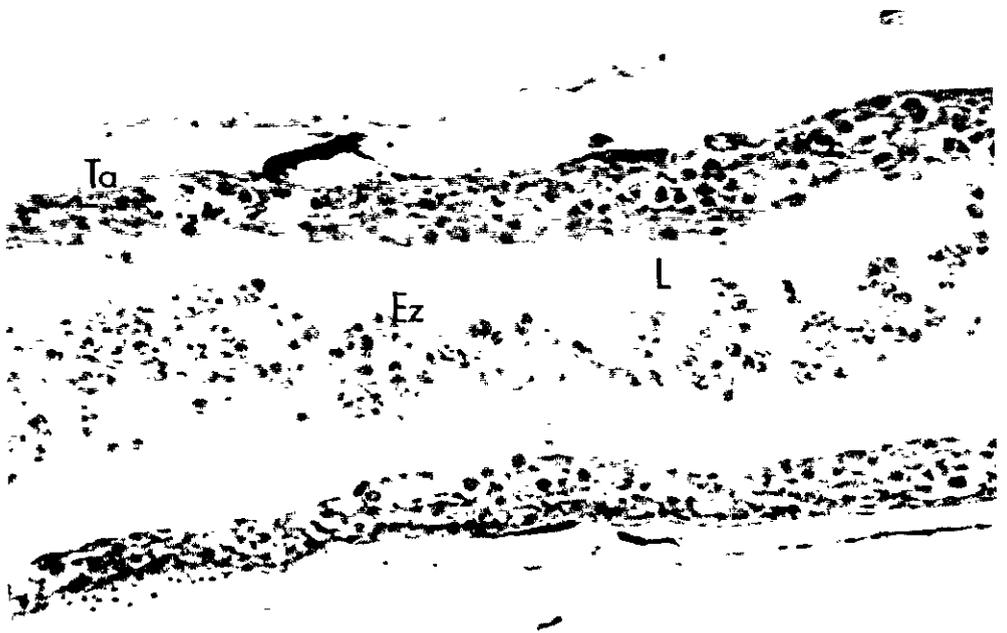


Fig. 13 Corte longitudinal del testículo, región distal al ano. Las células (Ez), libres de tejido conectivo, se observan a lo largo del lumen (L). Túnica albuginea (Ta). (Masson. 400X 5 $\mu$ )



Fig 14. Corte transversal del testículo, región proximal al ano. Aparato digestivo (Ad); columna vertebral (Cv); músculo (M), riñones (R), tejido interno del saco incubador (Si); testículos (Tt), vejiga gaseosa (Vg); vejiga urinaria (Vu). Parte dorsal del organismo (D) (Masson, 40X, 5 $\mu$ )

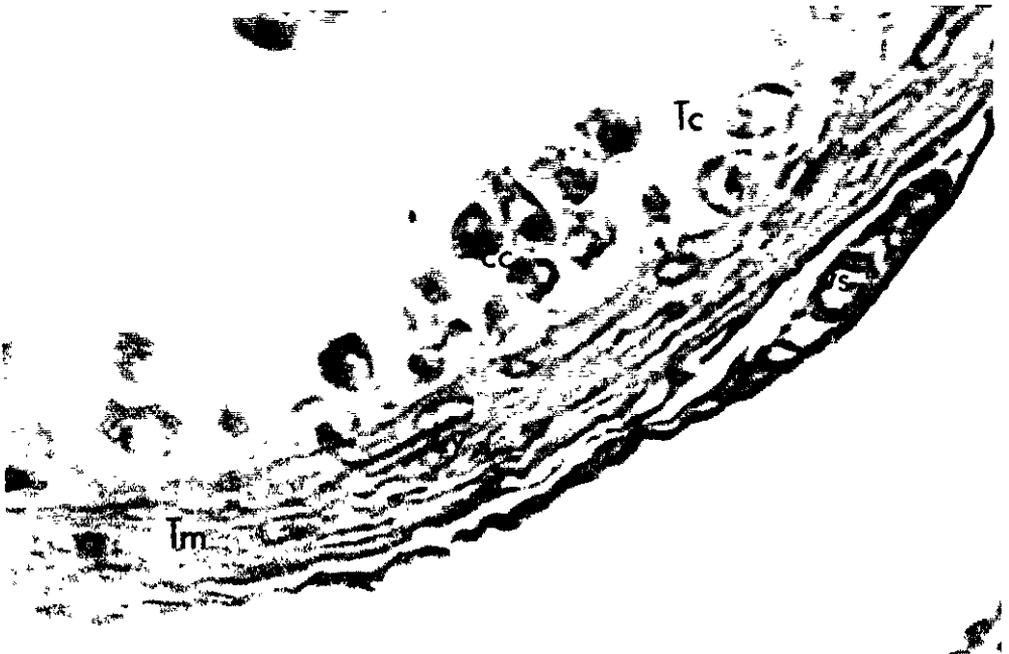


Fig 15 Se observan algunas células (cc) asociadas a la túnica albugínea, así como restos de tejido conectivo (Tc). Las posibles células de Leydig (Ly), se encuentran inmersas entre el tejido muscular (Tm) Vaso sanguíneo (vs) (Masson 1000X 5 $\mu$ )



Fig. 16. Alrededor de la túnica albugínea son distinguibles los posibles espermatozoides (Ez). (\* indica plegamiento del tejido debido al corte). (Masson. 1000X 5 $\mu$ )

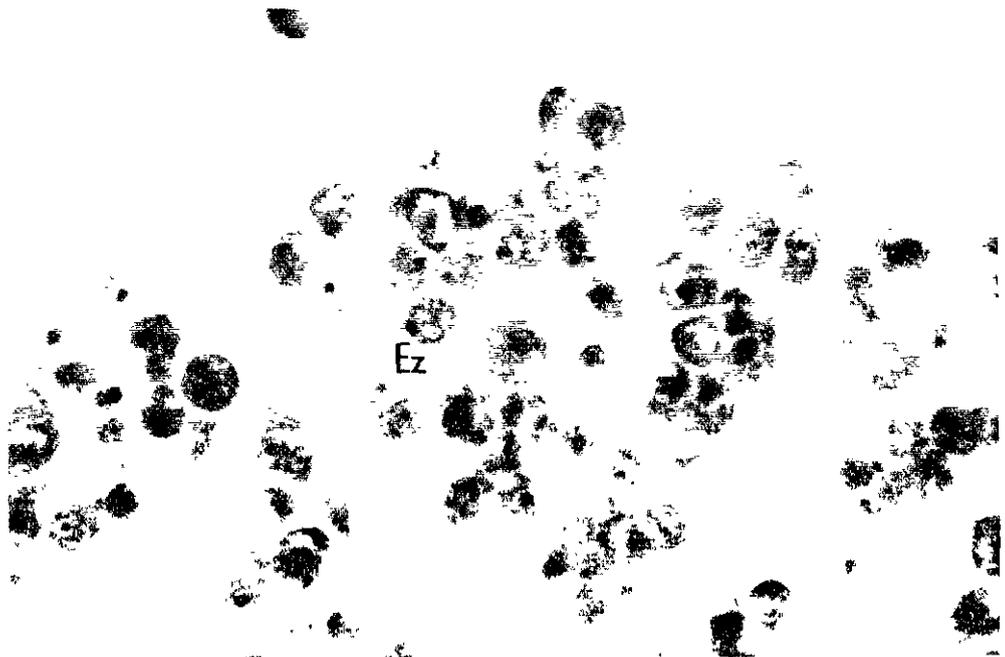


Fig 17. Posibles espermatozoides (Ez) Nótese la ausencia de flagelo en éstas células, así como la migración del núcleo en la mayoría de los casos (Masson 1000X 5 $\mu$ )

## DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DEL SACO INCUBADOR

El saco incubador inicia en el primer anillo troncal y finaliza antes del primer anillo anal. En su interior se encuentran los huevecillos embebidos en un tejido esponjoso, el cual se advierte como una estructura similar a la de un panal conformado por celdillas hexagonales, (figura 18). La parte media longitudinal de la bolsa incubadora, que se distingue por presentar un engrosamiento del tejido, le proporciona simetría al saco. La estructura interna permite definir hileras transversales de celdillas, que pueden ser de 3 a 12, aunque generalmente son 10, en los organismos comprendidos entre las tallas de 145mm a 174mm.

Se cree que primero se colocan los huevos y después éstos son envueltos por el tejido, pues se encontraron organismos con huevos recién colocados pero sin formación de celdillas; sin embargo, afirmar que este tejido se reabsorbe una vez que los huevos han eclosionado es aventurado, aún cuando se encontraron organismos de longitud mayor a 140mm sin este tipo de tejido interno.

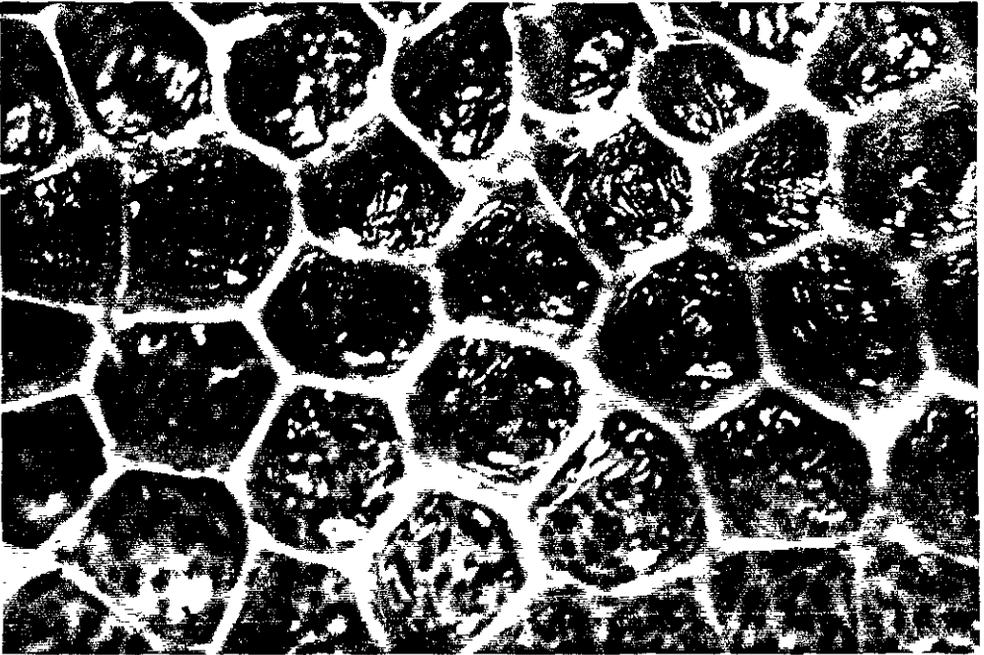


Fig.18. Tejido interno del saco incubador. A diferencia de otros signátidos, el saco de *O. lineatus* no se encuentra cerrado por membranas, como en el caso de *S. typhle*. La estructura interna semeja la de un panal, donde en cada celdilla se alberga un huevo. (15X)

## **DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA DEL TEJIDO INTERNO DEL SACO INCUBADOR**

En corte transversal, se distinguen prolongaciones que forman el septo de cada celdilla interna del saco incubador. La zona basal de la cámara o celdilla, donde se encuentra cada huevo depositado, está delimitada por una capa externa de epitelio plano que descansa sobre una gruesa capa de tejido conectivo laxo con pequeños vasos sanguíneos dispersos, (figura 19).

El epitelio plano de las prolongaciones de la cámara se encuentra estratificado, principalmente en la parte apical, donde llegan a observarse hasta 4 capas de este tejido; se presentan un gran número de vasos sanguíneos, de diversas dimensiones, en cada capa epitelial.

Cúmulos de pigmento (melanóforos), son observables en la porción marginal de la epidermis y la musculatura del cuerpo, (figura 20).

## **DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DE LA VEJIGA URINARIA**

En ambos sexos, se localiza en el extremo terminal de la gónada, sobre el lado izquierdo de la misma. La vejiga de *O. lineatus*, se observa como un fino saco transparente con desembocadura en el orificio urogenital del organismo, (figura 1).

En una hembra madura promedio, alcanza a medir hasta más de un cuarto de la longitud total del ovario.

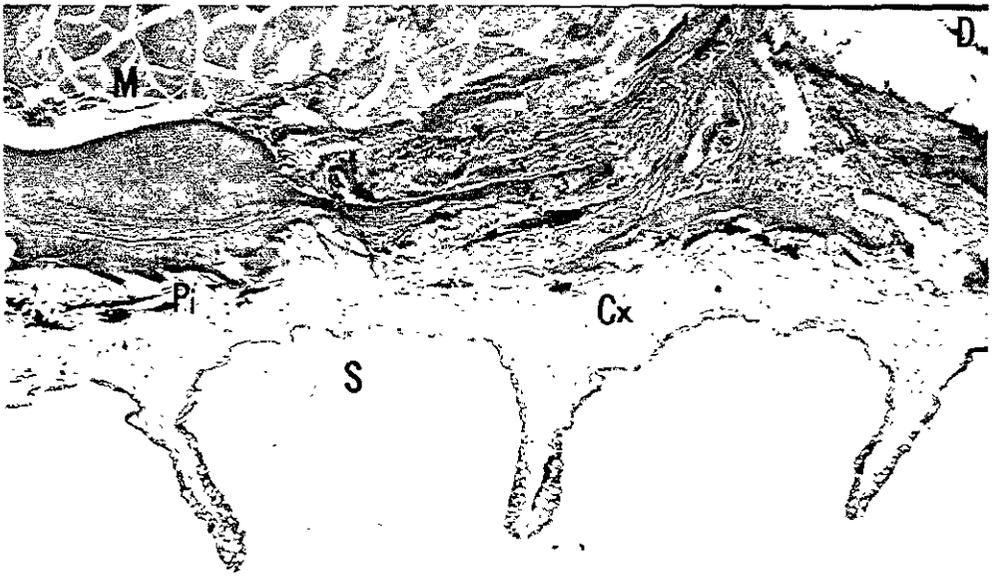


Fig. 19. Corte transversal del saco incubador donde se advierten los septos internos (S) que alojan a cada huevo. Músculo (M); pigmento (Pi); tejido conectivo laxo (Cx). Región dorsal del organismo (D). (H-E. 100X. 5 $\mu$ )

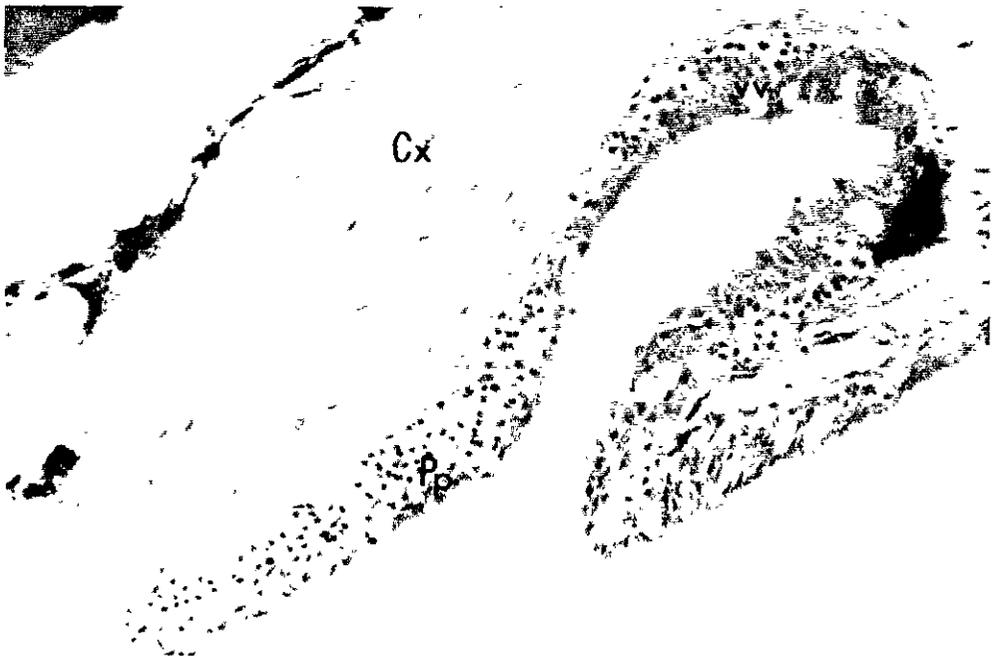


Fig 20 Aumento de los septos del saco incubador. La capa de tejido conectivo laxo (Cx) da soporte al epitelio plano estratificado (Pp), donde se encuentran gran cantidad de vasos sanguíneos (vv) (H-E 400X. 5 $\mu$ )

# DISCUSIÓN

---

## PROPORCIÓN SEXUAL Y POTENCIAL REPRODUCTIVO

McHugh, (1992), considera a los signátidos como “verdaderas especies estuarinas”. debido a que éstos pasan toda su vida dentro de dicho sistema. Esto concuerda con haber encontrado en todos los muestreos realizados, organismos pertenecientes a la especie *O. lineatus*. No obstante, es necesario señalar que *O. lineatus* es una especie estuarina verdadera en su etapa adulta. De acuerdo con Gilmore, (1977) y Martínez, (1997, comunicación personal), cuando las crías son liberadas del saco incubador, migran hacia el mar (aparentemente se desarrollan en salinidades mas altas) y regresan cuando sus tallas son superiores a los 70mm. *O. lineatus*, habita preferencialmente en las zonas de pastos, que le ofrece tanto protección contra depredadores y abundancia de alimento como lo mencionan Bell y Westoby, (1986); Berglund, (1993); y Roelke y Sogard, (1993).

Como en la mayoría de los signátidos, los machos de *O. lineatus* proveen el cuidado paterno a las crías (Ridley, 1978; Blumer, 1979; Gross y Sargent, 1985; Kuitert, 1986; Scrymgeour, 1986; Stratton, 1993); sin embargo, hay que recordar que esto no es sinónimo de rol inverso de comportamiento, pues el factor determinante que indica cual de los dos sexos se encargará de la búsqueda por la pareja es la proporción sexual operacional (OSR), como lo mencionan Clutton-Brock y Parker, (1992) y Emlen y Oring, (1977).

La proporción sexual y la proporción sexual operacional (OSR) de *O. lineatus*, muestran tendencias antagónicas originadas principalmente por la diferencia en la talla en la cual hembras y machos alcanzan la madurez sexual: los machos son capaces de portar huevos desde los 99mm (con la premisa de

que son entonces capaces de fertilizarlos), mientras que las hembras, con base en los resultados histológicos, alcanzan su madurez sexual después de los 110mm. Tanto los resultados de proporción sexual como de OSR registrados en Tecolutla, concuerdan con aquellos obtenidos por Perrone en 1989 y 1990 ya que en ambos estudios, la proporción sexual fue a favor de las hembras mientras que el OSR se inclina a favor de los machos, (Perrone, 1990).

Como lo menciona Clutton-Brock y Parker, 1992, cuando un macho defiende su territorio con el fin de tener mayor número de hembras, o bien, cuando la sola presencia del macho inhibe a otros, el reflejo del OSR ofrecerá una tendencia incorrecta, sin embargo, *O. lineatus*, al igual que los demás peces pipa como lo refiere Vincent, *et al.*, 1995, no es una especie territorialista y, por consiguiente, este factor no ejerce ningún tipo de influencia en los resultados obtenidos.

Los machos de *O. lineatus* presentan una estructura adicional, el saco incubador, así como en la mayoría de los casos, un número importante de huevos (hidratados y en alguna fase de desarrollo), dentro del mismo. Esta estructura influyó directamente en el mayor peso registrado en los machos, reflejado a su vez en el factor de condición y tipo de crecimiento obtenido. A pesar de esto, las pruebas de t realizadas sobre la talla de hembras y machos maduros e inmaduros sexualmente, muestran una diferencia significativa, esto es, el crecimiento de los machos es mayor que el de las hembras. Sin embargo, al comparar las tallas de machos y hembras sexualmente maduros no se encontró diferencia significativa, lo que indica que no se trata de rapidez de crecimiento como en el caso de *Syngnathus typhle* (Svensson, 1988), donde las hembras alcanzan una mayor longitud en un menor tiempo en comparación con los machos, sino de una madurez sexual más temprana por parte de los machos ya que, el ritmo de

crecimiento es el mismo antes y después de la madurez sexual de los organismos.

El crecimiento mayor por parte de los machos y la relación entre el tamaño del saco incubador con el número de huevos portados (relación que también presenta *S. typhle*, según Berglund 1986), actúan conjuntamente, de tal manera que las hembras, cuya producción puede ser mayor a los 700 huevos, puedan depositarlos sin dificultades en los machos, no sólo porque al tener estos últimos tallas mayores son capaces de portar y cuidar un número mayor de crías, sino también por existir una mayor proporción de machos sexualmente maduros, lo que se traduce en la ausencia de competencia por la pareja por parte de las hembras hacia los machos.

De acuerdo con Baylis, (1978), el principal factor que influye sobre el potencial reproductivo de machos y hembras está en base a la proporción relativa de tiempo o energía gastada de los sexos en su progenie, con esto no se pretende establecer que el gasto energético de las hembras en la producción de huevos sea menor al gasto de los machos en el cuidado de éstos, sino que el límite está dado por la incapacidad del macho para completar un ciclo de crías, al mismo tiempo que las hembras son capaces de producir nuevos huevos. A diferencia de las especies europeas de peces pipa, que tardan más de 36 días en completar un ciclo de desarrollo de las crías, según lo reportado por Berglund y Rosenqvist, 1990 y Vincent y Berglund, 1995, *O. lineatus* es capaz de concluir este mismo ciclo en un período de 8 a 15 días (Martínez, 1998, comentario personal), por lo que siempre existen machos disponibles para una nueva depositación de huevos.

La talla en la cual el saco incubador es claramente observable concuerda con la mencionada por Gilbert, 1992, no así con la referida por Perrone, 1990. La diferencia en la talla de aparición del saco incubador puede deberse a las

características propias de cada sistema en el que *O. lineatus* se desarrolla. Hay que recordar que la localidad brasileña donde el pez pipa habita, se conecta libremente con el Océano Atlántico, en tanto que la especie mexicana se encuentra localizada en el Golfo de México, por lo que cada región se ve afectada por fenómenos particulares, además, el sudeste de Brasil casi coincide con la división climática demarcada por el trópico de Capricornio mientras que Tecoluitla se encuentra cercana al trópico de Cáncer (Geografía de América, 1975).

La presencia de huevos en el saco de los machos a lo largo de todo el año, demuestra que no presentan épocas reproductivas específicas, como las señaladas por Perrone, (1989), para esta misma especie, sino que su reproducción se realiza de manera constante durante todo el año.

Por otra parte, la colocación de los huevos coincide con la mencionada por Berglund y Rosenqvist, (1990), quienes señalan que en *S. typhle*, la depositación se realiza de la parte posterior hacia la anterior del organismo.

El haber encontrado todos los huevos en el mismo estadio de desarrollo en cada macho portador, lleva a pensar que la hembra deposita sus huevos en un solo macho y, sólo en raras ocasiones, la depositación se efectúe en aquellos parcialmente llenos; ésto último, concuerda con lo referido por Berglund, 1988 para *S. typhle*. A partir de esto, se promueve la idea de que *O. lineatus* sea una especie monogámica.

Contrariamente a *Nerophis ophidon*, donde no existe correlación entre la longitud del organismo y el número de huevos portados (Rosenqvist, 1990), la relación en el caso de *O. lineatus* es positiva. Si a la idea anterior de monogamia se añade la relación saco incubador-número de huevos, se puede proponer que las hembras sexualmente maduras de talla pequeña depositan sus huevos en

machos pequeños mientras que, hembras grandes, prefieran hacerlo en machos grandes, capaces de soportar un mayor número de huevos, así como el ofrecerles los recursos energéticos necesarios (Berglund, *et al.*, 1986). De igual manera, los machos participan de esta selección, pues de acuerdo con lo mencionado por Berglund, 1988, éstos prefieren hembras más grandes con las que hay menor frecuencia de interrupción copulatoria. Además, como lo menciona Ahnesjö, 1992a y Berglund, *et al.* 1986, la longitud de éstas se relaciona positivamente con el tamaño de los huevos, lo que a su vez indicaría si éstos han sido depositados por hembras pequeñas o grandes.

Cuando en una especie ambos sexos prefieren parejas grandes y el éxito reproductivo se incrementa, no se espera que haya dimorfismo sexual en dicha especie (Berglund, *et al.* 1986). Sin embargo, son necesarios experimentos de laboratorio encaminados a comprender de mejor manera los procesos que a este respecto lleva a cabo *O. lineatus*.

## OVARIO

De acuerdo con Takashi (1982), el ovario del pez pipa puede ser clasificado como tipo cistovárico, ya que como muchos otros teleósteos, presenta un lumen, en el cual los huevos son acomodados durante la ovulación, que se continúa con el oviducto. Así también, el ovario del pez pipa ha sido clasificado como asincrónico, según Wallace y Selman (1981), por presentar una población heterogénea de folículos en todas las fases de desarrollo.

La reproducción del pez pipa se realiza activamente durante todo el año en lugar de poseer ciclos anuales como en el caso de otros peces (Badillo, 1998; Braekevelt y McMillan, 1967; Lehri, 1968; Selman y Wallace, 1986). El hecho de que su reproducción se lleve a cabo a lo largo de todo el año, se corrobora

macroscópicamente mediante las observaciones efectuadas de los machos, los cuales siempre se encontraban portando huevos en su saco incubador durante todas las estaciones. Microscópicamente, el haber encontrado hembras maduras en cada muestreo reafirma esto mismo.

A diferencia de los ovarios de otros teleósteos, el ovario del pez pipa carece de lamelas ovígeras, las cuales son comúnmente encontradas en peces como *Fundulus heteroclitus* (Brummet. et al, 1982), *Sebastes paucispinis* (Moser, 1967) y *Pimelodus albicans* (Heimsath, 1992). Por el contrario, existe una estructura cilíndrica tubular, en la cual los folículos son encontrados. Estos presentan un arreglo bilateral, simétrico y secuencial. que tiene su origen en el cordón germinal y termina en la línea de madurez. Este proceso de desarrollo ovárico es similar a otros peces pertenecientes a esta misma familia (Begovac y Wallace, 1987, Selman, et al, 1991). El dibujo esquemático (esquema 5), agrupa las principales características del ovario del pez pipa así como el arreglo secuencial de los folículos dentro de este.

En el pez pipa, la depositación de los huevos en el saco incubador ocurre cuando macho y hembra nadan al unísono, durante este momento la hembra deposita los huevos en el saco incubador (Gudger, 1905), por tanto, la expulsión de los huevos por parte de la hembra requiere una coordinación precisa para que éstos puedan ser liberados y depositados. Begovac y Wallace (1987), sugieren que la liberación se controla mediante contracciones ondulatorias de la pared ovárica, que inician en la parte anterior y finalizan en posición caudal; la presión que esto ocasiona, provoca que los huevos salgan del lumen ovárico, siendo transferidos a través del oviducto y, finalmente, sean depositados en el saco incubador del macho.

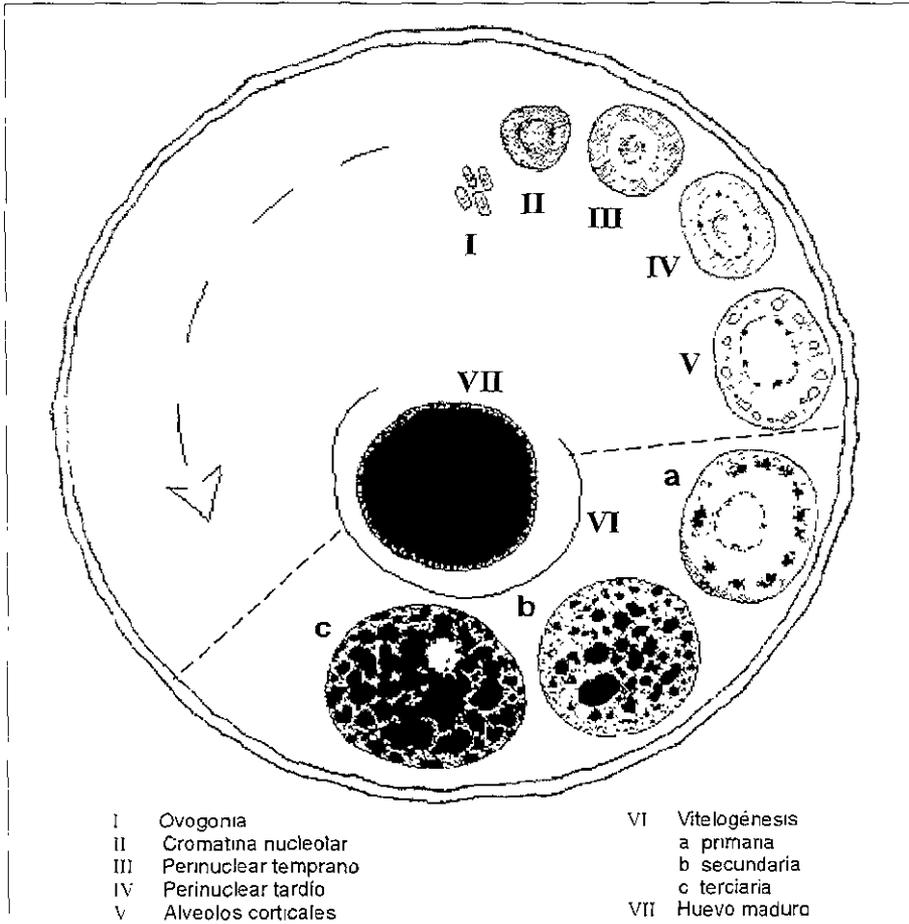
Ha habido mucha especulación en la literatura de teleósteos sobre la localización de las ovogonias y los ovocitos primarios dentro de los ovarios (ver Begovac y Wallace, 1987). Las observaciones del ovario de *O. lineatus* al igual que las realizadas en *S. scovelli* (Begovac y Wallace, 1987), e *H. erectus* (Selman y Wallace, 1991), muestran que todos estos presentan ya sea uno o dos cordones germinales (tal es el caso de *H. erectus*) que corren a todo lo largo del ovario. Por tanto, parece ser que los signátidos son lo únicos en tener las ovogonias y los ovocitos primarios localizados perfectamente en una estructura definida en lugar de que estos se encuentren esparcidos en uno o varios nidos de ovogonias dentro del ovario (Braekevelt y McMillan, 1967; Moser, 1967; Selman y Wallace, 1986).

La clasificación de los signátidos, de acuerdo a la evolución del saco incubador, ha sugerido que los peces pipa sean los ancestros del caballito de mar (Herald, 1959). La presencia de dos cordones germinales en el ovario de *Hippocampus* y solo uno en *Oostethus* y *Syngnathus* sirven de sustento a esta versión; sin embargo, realizar la filogenia de la familia queda fuera del alcance de este estudio.

El esquema 5, agrupa las características principales de las etapas del desarrollo secuencial del ovario de *O. lineatus*. En microscopia de luz, el crecimiento de los ovocitos es similar al que se presenta en *S. scovelli* (Begovac y Wallace, 1988), *Syngnathus fuscus* (Anderson, 1967, 1968) y *H. erectus* (Wallace y Selman, 1991).

Probablemente, la proliferación de ovogonias en el ovario del pez pipa (*O. lineatus*) sea un evento continuo, debido a que en todos los muestreos efectuados

se encontraron ovarios de hembras maduras que presentaban ovocitos en todos los estadios de desarrollo, así como machos portadores de huevos.



Esquema 5 Dibujo esquemático que ilustra el desarrollo secuencial de los ovocitos, que junto con el esquema 4, provee de una reconstrucción del desarrollo de los ovocitos dentro del ovario. Cada estadio está indicado con números romanos. La posición de los ovocitos refleja su posición aproximada dentro del ovario. La membrana vitelina y células foliculares no se ilustran. La flecha indica la bilateralidad del proceso.

## TESTÍCULO

Las características de las células presentes en la región distal al ano, permiten calificarlas como espermatogonias, pues de acuerdo con Benítez (1992), éstas, en microscopía óptica, se observan como estructuras individuales que no han formado cistos. A diferencia de los demás teleósteos (DeFelice, 1969; Hyder, 1969; Ruby, 1975), este tipo celular y/o posibles espermatogonias, no dan origen a nidos de células germinales, que constituyen los cistos (Rodríguez, 1992).

De acuerdo con Gresik (1973), Grier (1977,1978) y Mordechai (1980), las espermatogonias se encuentran en asociación con un tipo de células mucho más pequeñas, las células de Sertoli, que actúan como nutricias durante la espermatogénesis (Rodríguez, 1992). Sin embargo, en el caso de *O. lineatus* no se observó ningún tipo celular circundante, lo que no descarta la presencia de las células de Sertoli, ya que probablemente, debido a las limitaciones de la microscopía óptica, éstas no pudieron ser observadas.

Las células libres de tejido conectivo presentes en esta misma región, llevan a suponer que se efectúa la mitosis y meiosis, (aún cuando estos procesos no hayan sido evidenciados por la hematoxilina férrica) y que estas células sean el resultado de la espermiación.

Debido a la compactación que sufre la túnica albugínea, así como a las limitaciones de la microscopía óptica, en la región distal al ano no se observó ningún otro tipo celular, mientras que en la región proximal, las células embebidas en la capa muscular de la túnica podrían pertenecer a las denominadas células de Leydig, que de acuerdo con Tienhoven, (1983) y Nagahama, (1983) se encuentran en el tejido conectivo que rodea a los testículos; son grandes, poligonales, y por lo general se encuentran aisladas unas de otras. A pesar de

esto, el criterio para proponer que este tipo celular corresponda a las denominadas células de Leydig resulta poco fundamentado si se toma en cuenta que entre sus principales características de discriminación están la presencia de retículo endoplásmico liso y mitocondrias tubulares (Nagahama, 1982; Selman, 1998, comunicación personal), por lo que es necesario realizar un estudio más a fondo de estas células con microscopía electrónica o bien, como lo propone O'Halloran, (1970), empleando métodos adecuados de histoquímica.

No obstante, la correspondencia de las células de la región terminal con el tipo de espermatozoides primitivos descritos por Grier, (1981) para las especies con fertilización externa, el tamaño de éstas resulta un aspecto discordante. Contrariamente a la reducción en tamaño celular durante la espermatogénesis y espermiogénesis (Hyder, 1969; Nagahama, 1983), *O. lineatus* presenta el proceso inverso, ya que, es en la región terminal donde se encuentran las células de mayores dimensiones.

Si bien es cierto que la fertilización de *O. lineatus* es externa, sus gametos no son dispersos en el agua (Gudger, 1905): después del cortejo, la hembra deposita los huevos en el saco incubador, donde serán fertilizados (Scrymgeour, 1986; Prein, 1995). De esta forma, a diferencia de aquellas especies donde la fecundación se lleva a cabo en la columna de agua (Nikolsky, 1963), los espermatozoides de *O. lineatus*, son expulsados directamente al saco incubador, reduciéndose los requerimientos de movilidad. Esto último concuerda con el tamaño y la ausencia del flagelo de las células germinales y, aún cuando sus características sugieren un desplazamiento lento, éste se realiza de manera eficaz, pues el desarrollo homogéneo de los huevos indica que la fertilización de todos ellos se lleva al mismo tiempo. Probablemente, el tipo de desplazamiento sea ameboide al igual que el de los espermatozoides de *Gymnarchus niloticus*, los cuales a su vez, carecen de flagelo (Mattei, 1970).

La singularidad del testículo de *O. lineatus*, dificulta su clasificación dentro de los dos tipos testiculares descritos para teleósteos (Grier, 1980); pese a esto, ya que las posibles “espermatogonias” se encuentran a todo lo largo de la parte distal al ano, se le clasifica como tipo lobular, aunque se trata de un caso extremo de tipo, este tipo testicular, pues los signátidos presentan una estructura testicular muy simple en la cual la gónada está reducida a un tubo con pocas extensiones, de poca longitud, de tejido conectivo (Billard, 1986).

Se cree que la espermiogénesis de *O. lineatus* es un proceso ininterrumpido, al igual que en *Cyprinus carpio* y *Carassius auratus* (Billard, 1982), debido a que se presentan espermatogonias y espermatozoos durante todo el año.

Es posible que la región terminal del testículo funcione a manera de almacén, ya que al igual que un espermiducto, esta región carece del epitelio germinal (Billard, 1986), lo que permitiría al pez pipa disponer de esperma en cualquier época del año.

## **SACO INCUBADOR**

Pese a la existencia de varios trabajos, en los cuales se ha demostrado que el material esponjoso, que se encuentra en el saco incubador, es permeable y permite el intercambio gaseoso (Wetzel, 1991) e intercambio metabólico de iones como  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Na}^{+}$  (con su correspondiente efecto en la osmorregulación), (Quast, 1980, Linton, 1964, Haresign, 1981), es necesario señalar que, en todos estos estudios, las especies utilizadas presentan ya sea un saco completamente cerrado, como en el caso de *H. erectus*, o bien un saco incubador cerrado por delgadas membranas, como en *S. scovelli*, que aíslan a los huevos del medio

externo. Sin embargo, el saco incubador de *O. lineatus* no presenta ninguna de estas características, por lo que se cree que éste no participa en la osmorregulación y que su función solamente se restringe al intercambio de gases, siendo la principal fuente energética de los embriones, el saco vitelino (Azzarello, 1991).

Habría que realizar una serie de estudios que permitieran descifrar los mecanismos de transporte activo que se llevan a cabo en este tejido, ya que los resultados histológicos resultan insuficientes para establecer tácitamente que el padre provee a las crías, durante su desarrollo, de algún requerimiento energético por medio del intercambio metabólico.

Finalmente, *O. lineatus* se encuentra dentro de la clasificación de Lévêque, (1997), como pez vivíparo, por considerar que las crías son portadas al menos una porción del periodo embrionario de desarrollo por uno de los dos padres, entre las ventajas que representa este factor para la especie se encuentran las siguientes: los huevos son fertilizados sólo por el macho que los carga, asegurándose la carga genética; los juveniles generalmente desarrollan un tamaño mayor antes de eclosionar, siendo menos susceptibles a la depredación (Ahnesjö, 1992b) de tal modo que el tamaño de su población tiende a ser más constante a través del tiempo; las crías cuentan con dos recursos energéticos: el vitelo provisto por la madre y los nutrientes que el macho provee; la especie puede reproducirse durante todo el año, incrementando su probabilidad de supervivencia a pesar de condiciones adversas; a través del cuidado paterno las hembras pueden recuperar los nutrientes y minerales perdidos en la producción de huevos, y desde el punto de vista del macho, el tener hembras capaces de producir huevos en periodos de tiempo corto aún cuando haya una población inferior de hembras maduras, no disminuye el éxito poblacional de la especie.

Probablemente, la ecología reproductiva de *O. lineatus* es similar a las especies de peces pipa del género *Corythoichys*, cuyo desarrollo del saco incubador se considera intermedio; los machos y hembras son monógamos, no hay evidencia de competencia por la pareja por parte de las hembras y existe un mayor número de machos que hembras.

# CONCLUSIONES

---

- Se encontró que la proporción sexual de *O. lineatus* es a favor de las hembras mientras que la proporción sexual operacional (OSR) es a favor de los machos.
- *O. lineatus* no presenta inversión sexual de comportamiento.
- La talla de los machos en la cual el saco incubador es claramente visible es a los 90 mm.
- *O. lineatus* es una especie que se reproduce en el sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz durante todo el año.
- El ovario de *O. lineatus* es de tipo asincrónico y presenta un desarrollo bilateral secuencial de los ovocitos, que lo hace una especie muy útil para estudios experimentales sobre la ovogénesis, particularmente de los eventos tempranos que ocurren en ésta.
- El testículo de *O. lineatus* se clasifica como un caso extremo del tipo lobular.
- Los espermatozoides de *O. lineatus* carecen de flagelo y, muy posiblemente, su movimiento sea de tipo ameboide.

- La evidencia obtenida indica que el saco incubador no participa en la osmorregulación de los huevos, pero sí en la transferencia de gases.
- Las peculiaridades del sistema reproductivo del macho y hembra de la especie *O. lineatus*, le han permitido no sólo tener éxito reproductivo, sino que además, le han mantenido a través del tiempo en el sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- Anderson, E. (1967). The formation of the Primary Envelope during Oocyte differentiation in Teleosts. *J. Cell Biol.* 35:193-212.
- Anderson, E. (1968). Cortical Alveoli Formation and Vitellogenesis during Oocyte Differentiation in the Pipefish, *Syngnathus fuscus*, and the Killifish, *Fundulus hereroclitus*. *J. Morphol.* 125:23-60.
- Ahnesjö, I. (1992a). Consequences of male brood care; weight and number of newborn in a sex-role reversed pipefish. *Functional Ecology.* 6:274-281.
- Ahnesjö, I. (1992b). Fewer newborn result in superior juveniles in the paternally brooding pipefish *Syngnathus typhle*. *L. Journal of Fish Biology.* 41 (Supplement B):53-63.
- Azzarello, M. (1991). Some questions concerning the Syngnathidae brood pouch. *Bull. Mar. Sci.* 49:741-747.
- Badillo, M. (1998). Algunos Aspectos de la Biología de *Gobionellus hastatus* (Familia: Gobiidae) en el Sistema Estuarino de tecolutla, Ver. Tesis Licenciatura. ENEP-IZTACALA. UNAM.
- Baylis, J. R. (1978). Paternal behaviour in fishes: A question of investment, timing or rate? *Nature.* 276:738.
- Begovac, P. y Wallace, R. (1987). Ovary of the Pipefish, *Syngnathus scovelli*. *J. Morphology.* 193:117-133.
- Begovac, P. y Wallace, R. (1988). Stages of Oocyte Development in the Pipefish, *Syngnathus scovelli*. *J. Morphology.* 197:353-369.
- Begovac, P. y Wallace, R. (1989). Mayor Vitelline Envelope Proteins in Pipefish Oocytes Originate Within the Follicle and Are Associated with the Z3 Layer. *J. Exp. Zool.* 251:56-73.
- Bell, J. y Westoby, M. (1986). Abundance of macrofauna in dense seagrass is due to habitat preference not predation. *Oecologia.* 68:205-209.

- Benítez, F. (1992). Estructura histológica de la gónada de los teleosteos. ENEP Iztacala. UNAM.
- Berglund, A., Rosenqvist, G. y Svensson, I. (1986). Mate choice, fecundity and sexual dimorphism in two pipefish species (Syngnathidae) Behav. Ecol. Sociobiol. 19: 301-307.
- Berglund, A., Rosenqvist, G. y Svensson, I. (1988). Multiple matings and paternal brood care in the pipefish *Syngnathus typhle*. OIKOS. 51: 184-188.
- Berglund, A. y Rosenqvist, G. (1990). Male limitation of female reproductive success in a pipefish: effects of body-size differences. Behav. Ecol. Sociobiol. 27: 129-133.
- Berglund, A. (1991). Egg competition in a sex-role reversed pipefish: subdominant females trade reproduction for growth. Evolution. 45: 770-774.
- Berglund, A. (1993). Risky sex: male pipefishes mate at random in the presence of a depredator. Anim. Behav. 46:169-175.
- Berglund, A. y Rosenqvist, G. (1993). Selective males and ardent females in pipefishes. Behavioral Ecology and Sociobiology. 32:331-336.
- Billard, R.; Fostier, A; Weil, C. y Breton, B. (1982). Endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 39:65-79.
- Billard, R. (1986). Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. Rep. Nutr. Develop. 26: 877-920.
- Blumer, L.S. (1979). Male Prenatal Care in the Bony Fishes. The Quarterly Review of Biology. 54:149-161.
- Braekevelt, C. y McMillan, D. (1967). Cyclic changes in the Ovary of the Brook Stickleback *Eucalia inconstans* (Kirtland). J. Morphol. 123:373-396.
- Brummet, A., Dumont, J. y Larkin, J. (1982). The Ovary of *Fundulus heteroclitus*. J. Morphol. 173:1-16.

- Castro-Aguirre, J. (1978). Catálogo Sistemático de los Peces Marinos que penetran a las Aguas Continentales de México con Aspectos Zoogeográficos y Ecológicos. Serie Científica No. 19. México.
- Clutton, T.H. y Vincent, A.C. (1991). Sexual selection and the potential reproductive rates of males and females. *Nature*. 351:58-60.
- Clutton-Brock, T. y Parker, G. (1992). Potencial Reproductive Rate and The Operation of Sexual Selection. *The Quarterly Review of Biology*. 67 (4): 437-456.
- Contreras, F. (1988). Las lagunas costeras mexicanas. Centro de Desarrollo de la Secretaría de Pesca. 2ª ed. actualizada. Mexico. 263 pp.
- Daniel, W.W. (1988). Bioestadística. Limusa. México. 485 pp.
- Dawson, C.E. (1979). Review of the Polytypic Doryrhamphine Pipefish *Oostethus brachyurus* (Bleeker) *Bull. Mar. Sci.* 29(4):465-480.
- Dawson, C.E. (1982). Subfamilies Doryrhamphinae and Syngnathinae. Fishes of the Western North Atlantic. Part Eight Order Gasterosteiformes, Suborder Syngnathoidei. Syngnathidae (Doryrhamphinae, Syngnathinae, Hippocampinae). Sears Foundation for Marine Research. Yale University. New Haven. pp. 172.
- Dawson, C.E. (1984). Revision of the Genus *Microphis* Kaup (Pisces: Syngnathidae) *Bull. Mar. Sci.* 35(2):117-181.
- Dawson, C.E. (1970). A Mississippi Population of the Opossum Pipefish, *Oostethus lineatus* (Syngnathidae). *Copeia*. 4:772-773.
- DeFelice, D. y Rasch, E. (1969). Chronology of Spermatogenesis and Spermioogenesis in Poeciliid Fishes. *J. Exp. Zool.* 117:191-208.
- Dickson, H. y Moore, R. (1977). Fishes of the Gulf of México. Texas University Press. USA. pag. 160-161.
- Emlen, S.T. y Oring, L. (1977). Ecology, Sexual selection, and the Evolution of Mating Systems. *Science*. 197(4300):215-233.

- Evans, R. (1990). Short Communications. The Relationship Between Parental Input and Investment. *Anim Behav.* 39:797-798.
- Forberg, K. (1982). A histological study of development of oocytes in capelin *Mallotus villosus villosus* (Müller). *J. Fish Biol.* 20:143-154.
- García, E. (1970). Los climas del Estado de Veracruz, según el sistema de clasificación de Koppen (modificado por la autora). *An. Inst. Biol. UNAM. México* (41). Serie Botánica (1):3-42.
- Geografía de América. (1975). Ed. Océano. Vol. I. 160 pp.
- Gerking, S.D. (1978). Ecology of freshwater fish production. Blackwell. Scientific Publication. London. 252 pp.
- Gilbert, C.R. (1992). Rare and Endangered biota of Florida. Vol. II. Fishes, C.R. Gilbert, ed. University of Florida. Press. Gainesville. pp. 241.
- Gilmore, R.G. Jr. (1977). Notes on the opossum *Oostethus lineatus* from the Indian River Lagoon and vicinity, Florida. *Copeia.* 4: 781-783.
- Gresik, E., Quirk, G. y Hamilton, J. (1973). Fine structure of the Sertoli Cell of the Testis of the Teleost *Oryzias latipes*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 21:341-352.
- Grier, H. y Linton, J. (1977). Ultrastructural Identification of the Sertoli Cell in the Testis of the Northern pike, *Esox lucius*. *Am. J. Anat.* 149:283-388.
- Grier, H., Fitzsimons, J. y Linton, J. (1978). Structure and Ultrastructure of the Testis and Sperm Formation in Goodeid Teleosts. *J. Morph.* 156:419-438.
- Grier, H., Linton, J., Leatherland, J. y Vlaming, V. (1980). Structural Evidence for two Different Testicular Types in Teleost Fishes. *The American Journal of Anatomy.* 159:331-345.
- Grier, H. (1981). Cellular Organization of the Testis and Spermatogenesis in Fishes. *Am Zool.* 21:345-357.

- Gross, M.R. y Sargent, R. C. (1985). The Evolution of Male and Female Parental Care in Fishes. *Amer. Zool.* 25:807-822.
- Gudger, E.W. (1905). The breeding habits and the segmentation of the egg of the pipefish, *Siphostoma floridae*. *Proc. U.S. Natl. Mus.* 29:447-500.
- Gwynne, D.T. (1991). Sexual Competition among Females: What Causes Courtship-role Reversal?. *TREE.* 6(4):118-121.
- Gwynne, D. T. y Simmons L. (1990). Experimental reversal of courtship roles in an insect. *Nature.* 346:172-174.
- Hardy, J. D. (1978). Development of fishes of the Mid-Atlantic Bight. Volume II. Anguillidae through Syngnathidae. US Department of the Interior. USA. pp. 389-400.
- Haresign, T. y Shumway, S. (1980). Permeability of the Marsupium of the Pipefish *Syngnathus fuscus* to [<sup>14</sup>C]-Alpha Amino Isobutyric Acid. *Comp. Biochem. Physiol.* 69A:603-604.
- Heimsath, S. y Pisano, A. (1992) Algunos aspectos de los ovocitos de *Pimelodus albicans* (Valenciennes, 1840) (Pisces< Pimelodidae). *Revista de Ictiología* 1 (2):55-67.
- Herald, E. S. (1959). From Pipefish to Seahorse- A Study of Phylogenetic Relationships. *Proceedings of the California Academy of Sciences.* 29(13):465-473.
- Hyder, M. (1969). Histological Studies on the Testis of *Tilapia Leucosticta* and Other Species of the Genus *Tilapia* (Pisces: Teleostei). *Trans. Amer. Microsc. Soc.* 88(2):211-231.
- Kennish, M. (1992). *Ecology of Stuaries: antropogenic effects.* Ed. Marine Science Series. USA.
- Kuitert, R. (1986). *The World of Pipefishes. "When The Male Gives Birth".* General Information. U.K.
- Laale, H. (1980). The previtelline Space and Egg, Envelopes of Bony Fishes: A Review. *Copeia.* 2: 210-226.

- Lehri, G. (1968). Cyclical changes in the ovary of the catfish *Clarias batrachus* (Linn). *Acta Anat.* 69:105-124.
- Lévêque, C. (1997). Biodiversity dynamics and conservation, the freshwater fish of tropical Africa. Cambridge University Press. pag. 160.
- Linton, J. R. y Soloff, B. (1964). The Physiology of the Brood Pouch of the Male Sea Horse *Hippocampus erectus*. *Bull. Mar. Sci. Gulf Caribb.* 14:45-61.
- Lythgo, J. y Lythgo, G. (1971). *Fishes of the Sea*. Branford Press. London 320 pp.
- Mattei, X. (1970). Spermio-genèse comparée des poissons. En *Comparative Spermatology Proceeding of the International Symposium held in Rome and Siena. 1-5 july 1969*. Ed. Baccio Baccetti. Italy.
- Martínez, P. (1989). Estudio de algunos aspectos de la biología de *Oostethus lineatus* en el sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz. IX Coloquio de Investigación. E.N.E.P.I. México.
- Masonjones, H. y Lewis, S. (1996). Courtship Behaviour in the Dwarf Seahorse *Hippocampus zosterae*. *Copeia.* 3:634-640.
- Mordechai, A., Rahamim, E., Tibika, H. y Golenser, E. (1980). The Blood-Testis Barrier in *Aphanius dispar* (Teleostei). *Cell Tissue Res.* 211:207-214.
- Moser, G. (1967). Seasonal Histological Changes in the Gonads of *Sebastes paucispinis* Ayres, an Ovoviviparous Teleost (Family Scorpaenidae). *J. Morph.* 123:329-354.
- Nagahama, Y., Kagawa, H. y Young, G. (1982). Cellular Sources of Sex Steroids in Teleost Gonads. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39:56-64.
- Nagahama, Y. (1983). The functional morphology of teleost gonads. In W.S. Hoar, D.J. Randall, y E.M. Donaldson (eds): *Fish Physiology. Vol. IX, Reproduction, Part A*. New York: Academic Press, pp. 223-275.

- Nelson, J.S. (1994). *Fishes of the World*. 3ª. John Wiley and Sons. New York. 600 pp.
- Nikolsky, G. (1963). *The ecology of fishes*. Academic Press. USA. pp 352.
- O'Halloran, M. e Idler, D. (1970). Identification and Distribution of the Leydig Cell Homolog in the Testis of Sexually Mature Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Gen. Comp. Endocrinol. 15:361-364.
- Perrone, E. C. (1989). Distribuição sazonal e época de reprodução do peixe-cachimbo, *Oostethus lineatus* (pisces: Syngnathidae) em um trecho do rio Jucu,-ES. Rev. Cult. UFES. (41/42): 121-126.
- Perrone, E. C. (1990). Aspectos da Alimentação e reprodução de *Oostethus lineatus* (Kaup, 1856) (Pisces: Syngnathidae) no Rio Jucu (Espírito Santo-Brasil). An. Soc. Nordest. Zool. 3: 249-260.
- Perrone, M. Jr. y Zaret, T. (1979). Parental care pattrens of fishes. The American Naturalist. 113(3):351-361.
- Poss, S. G. (1997). *Microphis* (*Oostethus*) *brachyurus lineatus* Kaup 1856. Internet. <http://seahorse.ims.usm.edu/gcrl/mosaic/lineatus.htm>
- Prein, M. (1995). Nature Potential of Seahorses and Pipefishes. NAGA. The ICLARM Quarterly. 20-21.
- Quast, W. D. y howe, R. (1980). The osmotic role of the brood pouch in the pipefish *Syngnathus scovelli*. comp. Biochem. Physiol. 67a:675-678.
- Resendiz, M. (1965). Contribución al conocimiento de los Syngnathidae (Pisces, Gasterosteiformes) de la Bahía Florida, Miami Fla., EE. UU. Tesis Lic. Fac. Ciencias. UNAM. México. 29 pp.
- Ridley, M. (1978). Parental Care. Anim. Behav. 26:904-932.
- Robins, R. (1991). Common and scientific names of fishes: from USA and Canada. 5ª. American Fisheries Soc. Special Pub. No. 20. Maryland. 183 pp.

- Roelke, D. y Sogard, S. (1993). Gender-Based Differences in Habitat Selection and Activity Level in The Northern Pipefish (*Syngnathus fuscus*). COPEIA. 2:528-532.
- Rodríguez, M. (1992). Técnicas de Evaluación Cuantitativa de la Madurez Gonádica en Peces. AGT Editor, S.A. México.
- Rosenqvist, G. (1990). Male mate choice and female-female competition for mates in the pipefish *Nerophis ophidion*. Anim. Behav. 39:1110-1115.
- Rosenqvist, G. y Johansson, K. (1995). Male avoidance of parasitized females explained by direct benefits in pipefish. Anim. Behav. 49:1039-1045.
- Ruby, S. y McMillan, D. (1975). The Interstitial Origin of Germinal Cells in the Testis of the Stickleback. J. Morphol. 145:295-318.
- Ryer, C. y Orth, R. (1987). Feeding Ecology of the Northern Pipefish, *Syngnathus fuscus*, in a Seagrass Community of the Lower Chesapeake Bay. Estuaries. Vol. 10(4):330-336.
- Schfler, W.C. (1979). Statistics for the biological sciences. 2ª. Addison Wesley. Pub. Co. Massachusetts. 227 p.
- Scrymgeour, A. (1986). Syngnathidae The Facts of Life. "Hey Mum, Dad's Pregnant!". Underwater. 13-15.
- Selman, K., Wallace, R., (1986). Gametogenesis in *Fundulus heretoclitus*. Am Zool. 26:173-192.
- Selman, K., Wallace, R., y Player, D. (1991). Ovary of the Seahorse, *Hippocampus erectus*. J. Morphology. 209:285-304.
- Sokal, R.R. (1983). Biometría. 3ª. Interamericana. México. 598 pp.
- Stratton, R. (1993). Seahorses and Mermaids. Tropical Fish Hobbyist. Vol. XLII. 1(451):46-52.
- Svensson, I. (1988). Reproductive costs in two sex-role reversed pipefish species (Syngnathidae). J. Animal Ecology. 57:929-942.

- Takashi, H. (1982). *An Atlas of Fish Histology*. Ed. Kodansha Ltd. Tokio.
- Tienhoven, A. (1983). *Reproductive Physiology of Vertebrates*. 2<sup>a</sup>. ed. Cornell University Press.
- Tripton, K. y Bell, S. (1988). Foraging patterns of two syngnathid fishes: importance of harpacticoid copepods. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 47:31-43
- Vincent, A.; Ahnesjö, I.; Berglund, A. y Rosenqvist, G. (1992). Pipefishes and Seahorses: Are they all Sex Role Reversed?. *Trends. Ecol. Evol.* 7(7):238-241.
- Vincent, A.; Berglund, A.; Ahnesjö, I. (1995a). Reproductive ecology of five pipefish species in one eelgrass meadow. *Environmental Biology of Fishes.* 44:347-361.
- Vincent, A.; Ahnesjö, I. y Berglund, A. (1994). Operational sex ratios and behavioral sex differences in a pipefish population. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 34:435-442.
- Vincent, A. J. (1995). Exploitation of Seahorses and Pipefishes. *NAGA, The ICLARM Quarterly.* 18-19.
- Wallace, R. y Selman, K. (1981). Cellular and Dynamic Aspects of Oocyte Growth in Teleosts. *Amer. Zool.* 21:325-343.
- Wallace, R. y Selman, K. (1990). Ultrastructural Aspects of Oogenesis and Oocyte Growth in Fish and Amphibians. *J. Electron. Microsc. Tech.* 16:175-201.
- Wetzel, J. y Wourms, J. (1991). Paternal-Embryonic Relationship in Pipefishes and Seahorses (Syngnathidae). *Am. Zool.* 31(5) p. 83A.

## APÉNDICE I

Técnicas de tinción utilizadas

### A) HEMATOXILINA-EOSINA

Xilol I	5'
Xilol II	5'
OH - 96°	3'
OH - 80°	3'
OH - 70°	3'
Agua corriente	
Hematoxilina	7'
Agua corriente	
Alcohol acidulado	
Agua corriente	
Agua amoniacal	
Agua corriente	
Eosina	1'
OH - 70°	1'
OH - 80°	1'
OH - 96°	1'
OH Absoluto	1'
Xilol I	5'
Xilol II	5'

## B) HEMATOXILINA FÉRRICA

Xilol I	5'
Xilol II	5'
OH - 90°	3'
OH - 80°	3'
OH - 70°	3'
Agua corriente	
Hematoxilina férrica	10'
Agua corriente	
OH - 70°	1'
OH - 80°	1'
OH - 90°	1'
OH Absoluto	1'
Xilol I	5'

C) TRICRÓMICA (MASSON)

Xilol I	5´
Xilol II	5´
OH Absoluto	3´
OH – 96°	3´
OH – 80°	3´
OH – 70°	3´
Agua	5´
Bouin a 60 °C	
Lavar hasta quitar amarillo	
Hematoxilina de Weigerth	5´
Lavar en agua	2´
Tricrómica (cason)	5´
Lavar en agua	3-5´
Deshidratar	1´
Xilol I	5´
Xilol II	5´

## APÉNDICE II

---

### A) Prueba de T

$$T = \frac{X_1 - X_2}{\left( \frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \right) \left( \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}$$

Donde:  $X_1$  = media 1

$X_2$  = media 2

$n_1$  = # de datos de 1

$n_2$  = # de datos de 2

$s_1^2$  = varianza de 1

$s_2^2$  = varianza de 2

### B) Relación Peso-Longitud

$$W = aL^b$$

Donde:  $W$  = peso en gr

$L$  = longitud en mm

$a$  = factor de condición

$b$  = tipo de crecimiento

C) Comparación de pendientes

$$F_s = \frac{b_1 - b_2}{\frac{\sum x_1^2 + \sum x_2^2}{(\sum x_1^2)(\sum x_2^2)} (S^{-2} xy)}$$

$$S^{-2} xy = \frac{\sum y_1^2 - \frac{(\sum xy)_1^2}{\sum x_1^2} + \sum y_2^2 - \frac{(\sum xy)_2^2}{\sum x_2^2}}{a_1 + a_2 - 4}$$

Donde:  $b_1$ = pendiente 1

$b_2$ = pendiente 2

$a_1$ = # de datos 1

$a_2$ = # de datos 2

D) Regresión lineal y prueba de significancia de r

$$y = a + bx$$

Donde:  $y$ = # de huevos

$x$ = longitud en mm

$a$ = ordenada de origen

$b$ = pendiente

$n$ = # de datos

$r$ = coef. de correlación

$$T = r \sqrt{\frac{n-2}{1-r^2}}$$

$T$ = t calculada

## APÉNDICE III

---

Resultados de las pruebas estadísticas:

A) Diferencia entre la longitud (mm) y peso (gr) de machos y hembras totales:

	Longitud	Peso
Machos	n = 119	n = 119
Hembras	n = 140	n = 140
	t calc.= -31.40	t calc.= -15.76
	t <sub>0.95, 257</sub> = ±1.96	t <sub>0.95, 257</sub> = ±1.96

B) Diferencia entre la longitud (mm) y peso (gr) de machos y hembras maduros:

	Longitud	Peso
Machos	n = 77	n = 77
Hembras	n = 112	n = 112
	t calc.= -21.31	t calc.= -14.77
	t <sub>0.95, 187</sub> = ±1.96	t <sub>0.95, 187</sub> = ±1.96

Prueba de hipótesis para A y B:

$$H_0: \bar{x}_1 = \bar{x}_2$$

$$H_A: \bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$$

t calculada > t<sub>0.95, 257</sub> ∴ se acepta H<sub>A</sub>, las medias 1 y 2 son diferentes estadísticamente.

C) Diferencia entre las pendientes:

$$b_1 = 3.6676$$

$$b_2 = 4.3056$$

$$n = 242$$

$$S_{xy}^{-2} = 0.79359$$

$$F_S = 1108.9866$$

$$F_t = 3.8884$$

Prueba de hipótesis para C:

$$H_0: b_1 = b_2$$

$$H_A: b_1 \neq b_2$$

$F_S$  calculada  $> F_{t(0.05, 238)}$   $\therefore$  se acepta  $H_A$ , hay diferencia entre las pendientes.

D) Prueba de significancia de r

$$n = 51$$

$$r = 0.7091$$

$$t_S = 7.0394$$

$$t_{(0.95, 49)} = 2.00$$

Prueba de hipótesis para D:

$$H_0: \rho = 0$$

$$H_A: \rho \neq 0$$

$t_S$  calculada  $> t_{(0.05, 49)}$   $\therefore$  se acepta  $H_A$ , la correlación es estadísticamente significativa.