



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

**"ESTUDIO DEL CICLO GONADICO DE *Bathygobius
ramosus*, Ginsburg 1947, EN UN SISTEMA
INTERMAREAL DEL ESTADO DE GUERRERO".**

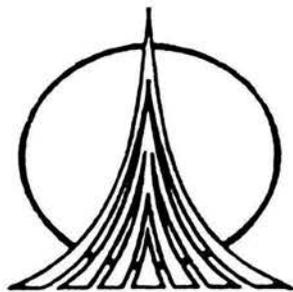
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

BIOLOGO

PRESENTA :

CLAUDIA GALICIA GONZALEZ



Unidad en la Diversidad:
Zaragoza Frente al Siglo XXI

DIRECTOR DE TESIS: DR. XAVIER CHIAPPA CARRARA

2004



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.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

El presente trabajo se realizó en el marco del proyecto "Estudio de las adaptaciones fisiológicas y conductuales de *Bathygobius ramosus*, Ginsburg 1947 (Pisces Gobiidae) en un sistema intermareal del estado de Guerrero" bajo la responsabilidad del Dr. Xavier Chiappa Carrara y con apoyo del PAPIIT-DGAPA-UNAM clave IN211999.

DEDICATORIAS

A mis padres: Adelita y Vicente
Por todo lo que han sacrificado, por el apoyo y la fe que tienen en nosotros.

A mis hermanos: Tomás, Toña, July, Ray, Carmen y Eli
Nuestra gran familia que a pesar de la distancia permanecemos unidos y ese es el secreto de
nuestra fuerza.
Gracias por su ejemplo y por todos los sacrificios que han hecho por mí.

A mis pequeños: Sayuri, Iván, Emmanuel y Alex.
Y a Verónica, Alfredo y Blanca sin cuya presencia no existirían estos pequeños.

A mis abuel@s y a mi tío Miguel en donde quiera que estén: ¡ya lo logré!

Al Dr. Chiappa por darme una oportunidad, por creer en mí (en algún lugar leí que cuando un maestro cree en sus alumnos, ellos empiezan a creer en sí mismos), por estar siempre al pendiente del trabajo, proporcionarme todas las facilidades técnicas, académicas para realizar esta tesis y sobre todo por su apoyo y amistad brindadas. Gracias por tener confianza en mí, dejarme entrar en el Bathyequipo y aguantarme un ratote. ¡Por fin!

A la Dra. Patricia Velasco por estar al pendiente de mí, por todos los momentos que compartimos en la búsqueda del eslabón perdido, por todo lo que he aprendido a su lado y sobre todo por su amistad.

A todos los maestros del museo por que creo que soy parte de este grupo.
Gracias a los maestr@s: Patricia Velasco, Mercedes Luna, Magdalena Ordóñez, Alfredo Bueno y David Espinosa.

A la Dra. Bertha Peña Mendoza y al Dr. José Luis Gómez M. por estar al pendiente de mi trabajo, por el apoyo y amistad brindados ¡gracias por todo!

A Cristóbal Galindo por las inolvidables expediciones, nunca las cambiaría por nada.

A la Dra. Patricia Rosas por haberme adoptado en su equipo de trabajo y por todas y cada una de las facilidades para empezar y terminar este trabajo. ¡Gracias por su confianza!

A Lorena Hinojosa, Lorena García, Nahm, Claudia y Javier por el interés, ayuda y amistad brindadas.

A Bárbara y Adriana por escuchar, preocuparse por mí y por su amistad.

A todos los maestr@s que han estado al pendiente de mi formación, gracias por su amistad e interés: Genaro Altamirano, Ángeles Galván, Leticia López, Patricia Rivera, Juanita, Efraín Ángeles, Héctor Espinosa, Angélica, Leticia, Fernando Tapia y Josefina.

A Rosalina, Maribel y Alfredo por su confianza y amistad, por tener siempre una palabra de aliento en los momentos de angustia y por los buenos momentos compartidos "mucho suerte"

A Rosy por ayudarme a componer algunos de mis desastres en el laboratorio y sobre todo por estar pendiente de mi.

A mi amigo y hermano postizo Miguel Ángel Mergold Villaseñor.

A todos mis amig@s, que siempre han estado conmigo: Jeymi, Inesa, Hernán, Yadira, Eloir, Flor, Betty Martínez, Betty Zavala, César Becerra, César Pacheco, Eric, José Luis Colín, Imelda, Elizabeth V., Griselda, Paula, Angie Yescas, Ernest O., Angélica, Arturo, Claudia Verónica, Eduardo Herrera, Genaro Montaña, Julissa, Ana, Fabiola, Ulises, Patricia de Anda, Patricia Miranda, Gerardo, Ezequiel, Selene, Israel, Miriam, Abel, Edgar, Eloy, Eduardo, Sergio, Cinthya, Mary Carmen, Miguel, Jorge, Héctor, Luz, Alejandra, Hugo Alfonso y Hugo Alejandro.

A los señores: Rogelio, José Luis, Juan, Primitivo y a Ulises por acompañarnos en este camino.

En este camino he conocido a excelentes maestros, investigadores y compañeros pero sobre todo a excelentes seres humanos que han compartido sus conocimientos y su amistad.

A todos y cada uno de los que han estado conmigo ¡Gracias! Y mucha suerte en todos sus proyectos personales y profesionales.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por todo lo que me ha dado y por todo lo que significa el pertenecer a ella.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza en donde me he formado profesionalmente.

A PROBETEL por la beca otorgada para concluir esta tesis.

Al Dr. Xavier Chiappa Carrara por la dirección, asesoría y apoyo técnico para la realización de esta tesis.

Al Dr. Roberto Domínguez Casalá por el apoyo y las facilidades brindadas para realizar parte del trabajo experimental en la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción.

A todos los académicos y alumnos de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción por compartir su espacio, material y equipo para realizar este proyecto.

A la Dra. Patricia Rosas Saucedo por todo el apoyo brindado durante todo el proceso para realizar esta tesis y sin cuya ayuda hubiera sido muy difícil llevar a cabo este proyecto.

A los sinodales:

M. en BRA. Judith Villavicencio Macías.

Dr. Xavier Chiappa Carrara.

M. en C. Roberto King Díaz.

Dra. Patricia Rosas Saucedo.

Dra. Bertha Peña Mendoza.

Por sus comentarios, sugerencias y observaciones para mejorar el escrito final.

Gracias a María Luisa Illescas por compartir su experiencia en la preparación de cortes histológicos y cuyo resultado ahora está plasmado en este escrito.

A la Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal por su ayuda en la identificación de estructuras en los cortes histológicos y sobre todo por regalarme un poquito de su tiempo y compartir sus conocimientos.

A la M. en C. Lourdes de la Rosa García por su interés y apoyo en la identificación de las estructuras en los cortes histológicos.

A la M. en C. Adriana García Alarcón por regalarme un poco de su tiempo para identificar estructuras en los cortes histológicos.

A la M. en C. Maribel Badillo Alemán por su apoyo en la preparación y revisión del material histológico, así como también como por sus sugerencias hechas al manuscrito y por toda su ayuda en mi formación profesional.

Al M. en C. Alfredo Gallardo por su apoyo en la revisión del material histológico y los valiosos comentarios al manuscrito.

Al M. en C. Herón Aragón Axomulco por el material fotográfico de las papilas urogenitales.

A todo el personal del laboratorio de Ecofisiología: Dra. Cecilia Vanegas, Dra. Guillermina Alcaraz, Sebas, Susy y Karla por permitir tener acceso al laboratorio y hacer uso de sus instalaciones.

Gracias a la Dra. Cecy Vanegas por su interés en el trabajo y por el entusiasmo que inyecta a todos los que la conocen para seguir trabajando.

A la Dra. Maité Máscaró Miquelajáuregui por compartir sus experiencias y por su interés en mi trabajo.

A Juan Luis Soto jefe del Departamento de Informática por su apoyo en la impresión de la tesis.

A la Biól. Dora Alicia Longares por su apoyo para agilizar los trámites.

Al personal de servicios escolares por su apoyo para agilizar los trámites especialmente a Clemente Rosas.

ÍNDICE

Índice de figuras	1
I. Introducción.....	2
II. Antecedentes.....	7
III. Clasificación de la especie.....	9
IV. Zona de estudio.....	11
V. Objetivos.....	12
VI. Material y métodos.....	13
VII. Resultados	15
Proporción sexual.....	15
Dimorfismo sexual.....	15
Descripción macroscópica de las gónadas.....	17
Descripción histológica de los ovarios.....	19
Crecimiento primario.....	19
Alvéolos corticales.....	20
Crecimiento secundario.....	21
Maduración.....	22
Otros aspectos del crecimiento de los ovocitos.....	23
Clases reproductivas de las hembras.....	37
Estimación de la talla de primera madurez.....	42
Descripción histológica de los testículos.....	43
Espermatogonias.....	43
Espermatocitos.....	43

Espermátides.....	44
Espermatozoides.....	44
Clases reproductivas de los machos.....	48
Distribución de frecuencia de las clases reproductivas en las épocas de muestreo.....	52
VIII. Discusión.....	54
IX. Conclusiones.....	61
X. Literatura citada.....	62
Anexo I. información general de los organismos capturados en troncones Guerrero.....	67
Anexo I. Técnica de inclusión.....	69
Anexo II. Técnica de tinción hematoxilina-eosina.....	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Bathygobius ramosus</i> , Ginsburg 1947.....	10
Figura 2. Mapa del área de estudio (Troncones, Guerrero).....	11
Figura 3. Dispositivo de captura diseñado para capturar a los organismos.....	13
Figura 4. Papila urogenital masculina.....	16
Figura 5. Papila urogenital femenina.....	16
Figura 6. Vista ventral del ovario de <i>Bathygobius ramosus</i>	17
Figura 7. Vista ventral del aparato reproductor masculino de <i>Bathygobius ramosus</i>	18
Figura 8. Estadio cromatina nucleolar.....	25
Figura 9. Estadio perinucleolar temprano.....	25
Figura 10. Fase perinucleolar tardío.....	26
Figura 11. Fase de alvéolos corticales.....	26
Figura 12. Acercamiento de un ovocito en estadio de crecimiento de alvéolos corticales.....	27
Figura 13. Folículo en vitelino primario.....	27
Figura 14. Folículos en vitelino primario.....	28
Figura 15. Estadio vitelino secundario.....	28
Figura 16. Acercamiento de un ovocito en vitelino secundario.....	29
Figura 17. Acercamiento de un ovocito en vitelino secundario.....	29
Figura 18. Acercamiento de un ovocito en vitelino secundario.....	30
Figura 19. Cromosomas plumosos en un ovocito en vitelino secundario.....	30

Figura 20. Aumento de un ovocito que muestra otra disposición de cromosomas plumosos.....	31
Figura 21. Ovocitos en fase de maduración.....	31
Figura 22. Folículos postovulatorios.....	32
Figura 23. Ovocito atrésico.....	32
Figura 24. Restos de un ovocito atrésico.....	33
Figura 25. Apariencia macroscópica de un ovocito extraído de un ovario en maduración tardía.....	33
Figura 26. Corte histológico donde se observan los filamentos de fijación.....	34
27. Corte histológico en donde se observan los filamentos de fijación.....	34
Figura 28. Disposición de los filamentos de fijación sobre el ovocito..	35
Figura 29. Disposición de los filamentos de fijación a partir de algunas capas de células.....	35
Figura 30. Orificio micropilar.....	36
Figura 31. Aumento de un ovocito que muestra el micrópilo y las células micropilares.....	36
Figura 32. Corte histológico de un ovario inmaduro.....	38
Figura 33. Corte histológico de un ovario en maduración temprana.....	38
Figura 34. Corte histológico de un ovario en maduración media.....	39
Figura 35. Corte histológico de un ovario en maduración tardía.....	39
Figura 36. Corte histológico de un ovario en regresión.....	40

Figura 37. Diferentes estadios de desarrollo de las gónadas de las hembras de <i>B. ramosus</i> a nivel macroscópico.....	41
Figura 38. Talla a la cual el 50% de las hembras son sexualmente maduras.....	42
Figura 39. Estructura microscópica del testículo.	45
Figura 40. Corte longitudinal de un testículo.....	45
Figura 41. Diferentes tipos celulares organizados en los cistos dentro del lóbulo.....	46
Figura 42. Estructura de los espermatozoides.....	46
Figura 43. Corte transversal de una vesícula seminal en donde se observan a espermatozoides.....	47
Figura 44. Aumento de un corte de vesícula seminal en donde se aprecia a los espermatozoides	47
Figura 45. Corte longitudinal de un testículo en maduración (temprana-media).....	49
Figura 46. Corte longitudinal de un testículo en maduración (temprana-media).....	49
Figura 47. Corte histológico de un testículo en maduración tardía.....	50
Figura 48. Corte histológico de un testículo en regresión.....	50
Figura 49. Diferentes estadios de desarrollo de las gónadas de los machos de <i>B. ramosus</i> a nivel macroscópico.....	51
Figura 50. Porcentaje de clases reproductivas en las hembras por muestreo.....	53
Figura 51. Porcentaje de clases reproductivas en los machos por muestreo.....	53

RESUMEN

En el presente trabajo se describió el ciclo gonádico de *Bathygobius ramosus* (Gobiidae), habitante permanente y dominante de la zona intermareal rocosa del Pacífico mexicano. Se realizaron cuatro muestreos estacionales en Troncones, Guerrero, en los cuales se capturaron los organismos con trampas diseñadas *ex profeso*. De cada individuo se registraron la longitud total (LT, cm \pm 0.1) y el peso (P, g \pm 0.01). Posteriormente, fueron preservados en una solución de formaldehído al 10%, neutralizada con agua de mar. En el laboratorio, se disecaron las gónadas, se deshidrataron con alcoholes graduales, se incluyeron en parafina y posteriormente se tiñeron con la técnica de H-E. El material biológico fue analizado al microscopio y fotografiado. Todas las gónadas se ubicaron en clases reproductivas de acuerdo a sus características morfológicas. Se estableció la talla a la cual el 50% de las hembras son sexualmente maduras así como la talla de primera madurez.

Se recolectaron un total de 195 organismos de los cuales 102 fueron hembras y 93 machos, lo que permitió estimar una proporción sexual de 1:1 (X^2 , $p < 0.01$). Las tallas variaron de 24 a 93 mm y los pesos de 0.13 a 10.42 g.

La longitud total a la cual el 50% de las hembras presentaron características de madurez sexual fue de 58 mm. Sin embargo, la hembra madura más pequeña tuvo una longitud total de 47 mm.

El análisis histológico de las gónadas de las hembras muestra que *B. ramosus* tiene un desarrollo ovárico asincrónico debido a que en una misma gónada se encontraron ovocitos en varias fases de crecimiento. Además de los estadios de crecimiento primario, alvéolos corticales, crecimiento secundario y maduración también se encontraron folículos postovulatorios y ovocitos atrésicos. En los ovocitos en estadio de crecimiento secundario se observaron los filamentos de fijación y el micrópilo.

Los machos de *B. ramosus* presentan un arreglo testicular lobular. Hacia las paredes de los lóbulos se ubicaron los cistos mostrando varios tipos celulares de la espermatogénesis. Los espermatozoides de esta especie carecen de flagelo.

La presencia organismos pertenecientes a todas las clases reproductivas en las pozas de marea aporta evidencias para proponer *B. ramosus* lleva a cabo todo su ciclo reproductivo en la zona intermareal.

I. INTRODUCCIÓN

La zona intermareal es la banda de costa que se encuentra entre los límites de la bajamar y la pleamar constituyendo un ambiente sumamente dinámico y exigente para las especies que lo habitan. Durante la marea alta, las condiciones de la zona intermareal pueden reflejar las del mar, siendo relativamente uniformes en temperatura, salinidad, pH y concentración de oxígeno disuelto. Sin embargo, durante la marea baja este ambiente sufre un cambio drástico de un medio acuático a uno prácticamente terrestre, quedando el agua aislada del mar en charcas o pozas, donde dependiendo del clima, el agua puede enfriarse o calentarse y la salinidad puede disminuir o aumentar. Durante el día, la fotosíntesis de las algas aporta cantidades de oxígeno que superan las demandas respiratorias de los habitantes de las pozas, alcanzándose altas concentraciones de oxígeno y bajas de dióxido de carbono. Por la noche, cuando la fotosíntesis cesa, la respiración de los animales y las plantas de la poza provoca que la concentración de oxígeno disminuya mientras que la del dióxido de carbono aumenta (Horn *et al.* 1999).

La zona intermareal rocosa, al ser un medio tan dinámico, es muy rica en plantas, invertebrados y peces. El tamaño pequeño, la naturaleza sigilosa y la rareza aparente de muchos peces intermareales ha ocasionado que sean ignorados frecuentemente por los biólogos interesados en los organismos intermareales (Horn *et al.* 1999).

Los peces intermareales pueden clasificarse como visitantes si pasan sólo alguna parte de su vida en la zona intermareal, o residentes si ocupan permanentemente este ambiente (Horn *et al.* 1999).

Los peces que residen permanentemente en esta zona comparten una serie de características que los capacitan para poder sobrevivir en este ambiente. La mayoría de las especies son de hábitos bénticos o demersales y, normalmente, no pueden nadar rápidamente por periodos largos de tiempo. Las especies residentes son relativamente pequeñas y presentan cuerpos alargados o aplanados dorso-ventralmente. Muchos carecen de vejiga natatoria o la tienen reducida, son iteróparos y su mecanismo de dispersión está dado principalmente a través de larvas planctónicas (Almada y Serrão-Santos 1995). Adicionalmente, muchas especies bénticas tienen fusionadas sus aletas pélvicas a manera de disco que funciona como un órgano adherente el cual les ayuda a contrarrestar las corrientes (Horn *et al.* 1999).

La distinción entre la residencia y la migración estacional-mareal es crucial para comprender las historias de vida, incluyendo la reproducción y el desove de los peces intermareales (DeMartini, 1999).

Los peces intermareales, como los teleósteos en general, muestran una gran profusión de modelos reproductivos encontrándose desde la oviparidad sin cuidado parental, cuidado de huevos demersales, hasta la viviparidad. Entre los ovíparos intermareales, la mayoría de los taxa proporciona algún tipo de cuidado parental expresado por varios procesos, como la ventilación, la limpieza bucal de los huevos y la protección física de los huevos contra el canibalismo y los depredadores interespecíficos (DeMartini, 1999).

Las estrategias reproductivas de los peces (y de los seres vivos en general) se pueden estudiar desde cuatro aspectos trascendentales que forman parte de la *toología*¹: modo, maquinaria, dinámica y adecuación.

¹ Miller (1984) reintroduce la expresión *toología* como un término apropiado para referirse al estudio de los mecanismos y la rentabilidad de la reproducción de los organismos vivos.

El modo corresponde a la sexualidad, proporción sexual y presencia de hermafroditismo. La maquinaria comprende la estructura gonadal, incluyendo las glándulas especiales endocrinas y exocrinas, el dimorfismo sexual secundario, la organización conductual y el control neuroendocrino de la reproducción. La dinámica examina temas de esfuerzos reproductivos, fase de desarrollo, frecuencia, reclutamiento y consecuencias de la reproducción para los reproductores. Finalmente la adecuación (maximizada por la adaptación de las estrategias reproductivas) incluye aspectos relacionados con los recursos y la influencia intrínseca del tamaño corporal (Miller, 1984).

Si bien no es fácil establecer la etapa reproductiva de cada especie, considerando algunos parámetros del proceso tocológico y utilizando una serie de métodos se puede alcanzar dicho fin; entre los parámetros que se utilizan se encuentran la proporción sexual, la talla a la que se alcanza la madurez sexual, la fecundidad y la evaluación de la madurez gonádica (Abad, 1996; Granado, 1996).

La mayoría de las descripciones de madurez gonádica realizadas en peces, se ha efectuado con base en los criterios morfocromáticos definidos por Nikolsky (1963), los cuales se han tratado de generalizar para todos los teleósteos. Sin embargo, estos criterios, aunque útiles no consideran el nivel microscópico de la gónada. Éste es importante ya que en una gónada no todos los elementos celulares son germinales y los germinales en ciertas condiciones no representan un gameto potencialmente viable. Conocer la estructura microscópica de las gónadas también es importante debido a que estos órganos no están exentos de desarrollar diversas alteraciones en respuesta a eventos internos o externos que sólo pueden ser detectados y definidos desde el punto de vista histológico (Badillo, 1998).

Histológicamente, el ovario está constituido por tres capas: la externa, compuesta por epitelio cúbico-ciliar; la media, formada de tejido conectivo en el

que se localizan los vasos sanguíneos que la irrigan y la más interna, de naturaleza compacta y fibrosa (Rodríguez, 1992).

En el interior del ovario se encuentra el estroma ovárico que es lameliforme y en él se encuentran embebidas las ovogonias, que contienen los vasos sanguíneos y las células somáticas que se asocian al desarrollo del ovocito: las células foliculares y las tecales (Rodríguez, 1992).

Las ovogonias se reconocen por ser células de citoplasma claro que, según la especie, pueden encontrarse aisladas o formando cúmulos. La ovogonia origina los ovocitos primarios, que se encuentran rodeados de células foliculares que constituyen una unidad estructural llamada folículo. En ésta, varios autores han descrito los diferentes estadios de desarrollo microscópico (Rodríguez, 1992).

El desarrollo ovárico de los peces puede clasificarse en tres categorías principales de acuerdo al patrón de crecimiento de los ovocitos en el ovario cómo: sincrónico total, sincrónico por grupos y asincrónico (Rodríguez, 1992; Tyler y Sumpter 1996). En las especies que presentan un sincronismo total, todos los ovocitos se desarrollan al unísono, estos organismos presentan un comportamiento reproductivo característico y ovulan una vez en la vida, después de lo cual mueren. El tipo sincrónico por grupos es más común; cerca de la estación reproductiva se pueden reconocer dos tipos de ovocitos en el ovario que se distinguen claramente uno de otro por su estadio de desarrollo. Un grupo está compuesto por ovocitos grandes y maduros, que forma el grupo que será ovulado durante esa estación. El otro grupo consiste de ovocitos muy pequeños y sin vitelo. Estos pueden ser los ovocitos que formarán el grupo que será ovulado en el siguiente evento. Los peces de este tipo usualmente ovopositan una vez al año y pueden hacerlo muchas veces en su vida. La estación de desove es generalmente corta y definida. El número de especies que se encuentran en el grupo de asincrónicos es también elevado. Estos organismos tienen ovarios que contienen

varios tipos de ovocitos en desarrollo, tienen una estación reproductiva relativamente larga y normalmente ovopositan varias veces durante la misma estación (Yamamoto y Yamazaki, 1961; Wallace y Selman, 1981).

Al igual que las hembras, los machos desempeñan un papel importante para lograr el éxito reproductivo de una especie.

En el aparato reproductor de los machos, los testículos son dos sacos ubicados ventralmente con relación a la columna vertebral y la vejiga natatoria. Su estructura es variable de especie a especie, pero se pueden distinguir dos tipos básicos: el lobular y el tubular. El tipo lobular, que es típico de los teleósteos, está compuesto de numerosos lóbulos que se encuentran separados unos de otros por una delgada capa de fibras de tejido conectivo, su arreglo varía considerablemente. Dentro de los lóbulos, la espermatogonia sufre numerosas divisiones mitóticas para producir cistos que contienen varias células germinales que están aproximadamente en el mismo estadio de desarrollo (Billard, 1986; Rodríguez, 1992). El tipo tubular está constituido por túbulos que generalmente están orientados entre la túnica externa y la cavidad central, dentro de la cual se liberan los espermatozoides. Este tipo está restringido al grupo ateriniforme (Billard, 1986; Rodríguez, 1992).

II. ANTECEDENTES

La mayoría de los conocimientos generados para entender diversos aspectos de las estrategias reproductivas en peces (y de aspectos biológicos en general) se han derivado de especies con importancia comercial que son destinadas al consumo humano, dejando a un lado a muchas otras que juegan un papel muy importante dentro del equilibrio de un ecosistema (Badillo, 1998; Tyler y Sumpter, 1996).

Entre las familias de teleósteos que han sido relegadas se encuentra la Gobiidae, la cual es una de las más numerosas, cuenta con representantes en una gran variedad de ambientes como los sistemas estuarinos y las zonas intermareales rocosas.

En este sentido los estudios que se han realizado sobre aspectos reproductivos de la familia Gobiidae se remontan a la década de los treinta. Eggert (1931) describió la presencia de una estructura accesoria a los órganos sexuales denominada vesícula seminal. Weisel (1949) menciona que esta estructura fue observada por primera vez en *Gobius niger* por Rathke (1824). Posteriormente Fishelson (1991) hace una descripción histológica e histoquímica de las vesículas seminales, Seiwald y Patzner (1989) describen a la glándula testicular (órgano sexual accesorio) en góbidos. Tavalga (1954) estudió el comportamiento reproductivo, época de desove, desarrollo embriológico y larval de *Bathygobius soporator*. Asimismo, Cole (1988) analizó la forma para predecir el cambio de sexo en siete especies de góbidos; Fishelson (1989) describió la presencia de hermafroditismo en algunas especies de góbidos distribuidos en arrecifes de coral y Badillo (1998) analizó algunos aspectos de la biología de *Gobionellus hastatus*, incluyendo resultados sobre el ciclo reproductivo y el desarrollo de los ovocitos.

Otros estudios realizados sobre esta familia se han enfocado a determinar aspectos tales como el costo energético en el cuidado parental (Lindström y

Wennström, 1994; Jones y Reynolds, 1999). Taru y Sunobe (2000) describen el comportamiento reproductivo de *Eviota abax* de acuerdo con las fases lunares y las condiciones de marea.

Dentro de los representantes de la familia Gobiidae considerados como residentes en los sistemas intermareales rocosos se encuentra *Bathygobius ramosus*. Específicamente para esta especie los trabajos que se han efectuando se han enfocado a estimar las tasas metabólicas (Alcaraz *et al.* 2002) y las respuestas fisiológicas del organismo ante cambios en el medio externo (Ríos, 2002); también se han analizado algunos aspectos sobre bioenergética y tolerancia térmica (Badillo, 2003); además, se ha generado información para proponer a la especie como un ejemplo de orientación, reconocimiento y fidelidad al sitio (Aragón, 2003). Sin embargo, la biología básica de esta especie permanece pobremente conocida. Por esta razón, en este trabajo se pretende contribuir al conocimiento de la biología reproductiva de estos organismos.

III. CLASIFICACIÓN DE LA ESPECIE

La familia Gobiidae, destaca sobre otras como la más rica y diversa en representantes actuales. Estimaciones recientes señalan la existencia de aproximadamente 2 mil especies de gobios distribuidos en todo el mundo. En su mayoría son peces pequeños de cuerpo alargado y comprimido, cabeza redondeada o deprimida y ojos situados en lo alto y muy próximos entre sí. La aleta dorsal tiene su origen justo detrás de la cabeza y puede ser simple o doble, con espinas flexibles en su porción anterior. La característica más relevante radica en la disposición de las aletas pélvicas, que están interconectadas para formar una especie de ventosa o disco adhesivo. Otra característica distintiva es la ausencia de la línea lateral. Sin embargo, cuentan con un conjunto de canales mucosos, tubos y poros dispuestos en la cabeza que realizan esa función. Su pequeño tamaño les ha permitido diversificarse ampliamente y ocupar todo tipo de ambientes (Orozco, 1991).

La especie *Bathygobius ramosus* se clasifica de acuerdo a Nelson (1994) y, Allen y Robertson (1994) como:

Phylum	Chordata
Subphylum	Vertebrata
Superclase	Gnathostomata
Grado	Teleostomi
Clase	Actinopterygii
Subclase	Neopterygii
División	Teleostei
Subdivisión	Euteleostei
Superorden	Acanthopterygii
Serie	Percomorpha
Orden	Perciforme
Suborden	Gobioidei
Familia	Gobiidae
Subfamilia	Gobiinae
Género	<i>Bathygobius</i>
Especie	<i>Bathygobius ramosus</i> Ginsburg, 1947

Sinonimias (de acuerdo a Allen y Robertson, 1994).

Bathygobius arundelii (Garman) de las islas Clipperton, 1899.

Bathygobius longipinnis Ginsburg de Socorro, 1947.

Bathygobius ramosus longipinnis Ginsburg, 1947.

Bathygobius ramosus ramosus Ginsburg, 1947.

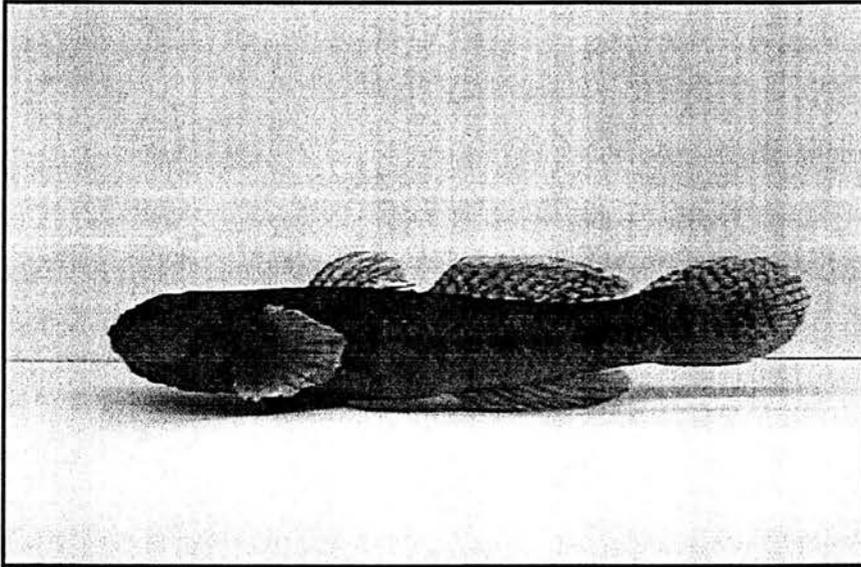


Figura 1. *Bathygobius ramosus*, Ginsburg 1947. (Barra =10 mm)

Bathygobius ramosus (Figura 1) es un pez bentónico de cuerpo robusto que dentro de la familia alcanza tallas relativamente grandes (120 mm). Presenta seis espinas en la primera aleta dorsal y escamas grandes en todo el cuerpo, incluyendo la región de la nuca. Se distingue fácilmente de los otros gobios por presentar cinco radios superiores a las aletas pectorales libres. La coloración que presenta es variable, generalmente de color verde-olivo a café (Thomson, 1987; Allen y Robertson, 1994).

Estos organismos se distribuyen desde la Bahía Magdalena (en Baja California) hasta el norte de Perú, incluyendo el Golfo de California. En Baja California Sur se localiza en el Puerto San Carlos, Cabo San Lucas, San José del Cabo y Bahía de la Paz (Bearez, 1995; Villareal *et al.* 1999). Habita preferentemente en pozas de marea de las zonas rocosas intermareales, siendo el gobo más abundante de estas zonas (Thomson, 1987; Allen y Robertson, 1994).

IV. ZONA DE ESTUDIO

El trabajo de campo se llevó a cabo en el sistema de pozas intermareales de la playa Troncones, perteneciente al municipio de La Unión, localizado en la parte occidental del Estado de Guerrero (Figura 2). Se ubica en los 17° 47' 16" latitud Norte y 101° 44' 17" longitud Oeste (SEGOB, 1988).

Presenta un clima de tipo Aw (w), cálido sub-húmedo con lluvias en verano, una precipitación media anual de 1200 mm y una temperatura media anual de 26 a 28 °C siendo los meses más calurosos marzo, abril, mayo y junio. La vegetación de la zona corresponde principalmente a selva baja caducifolia y agricultura de temporal (García, 1988).

La costa en esta zona es rocosa y escarpada, lo que permite la formación de pozas intermareales. En general los sedimentos son gruesos cerca de la costa, siendo arenas con manchones de gravas, cantos rodados y peñascos desgastados (Gallardo, 2002).

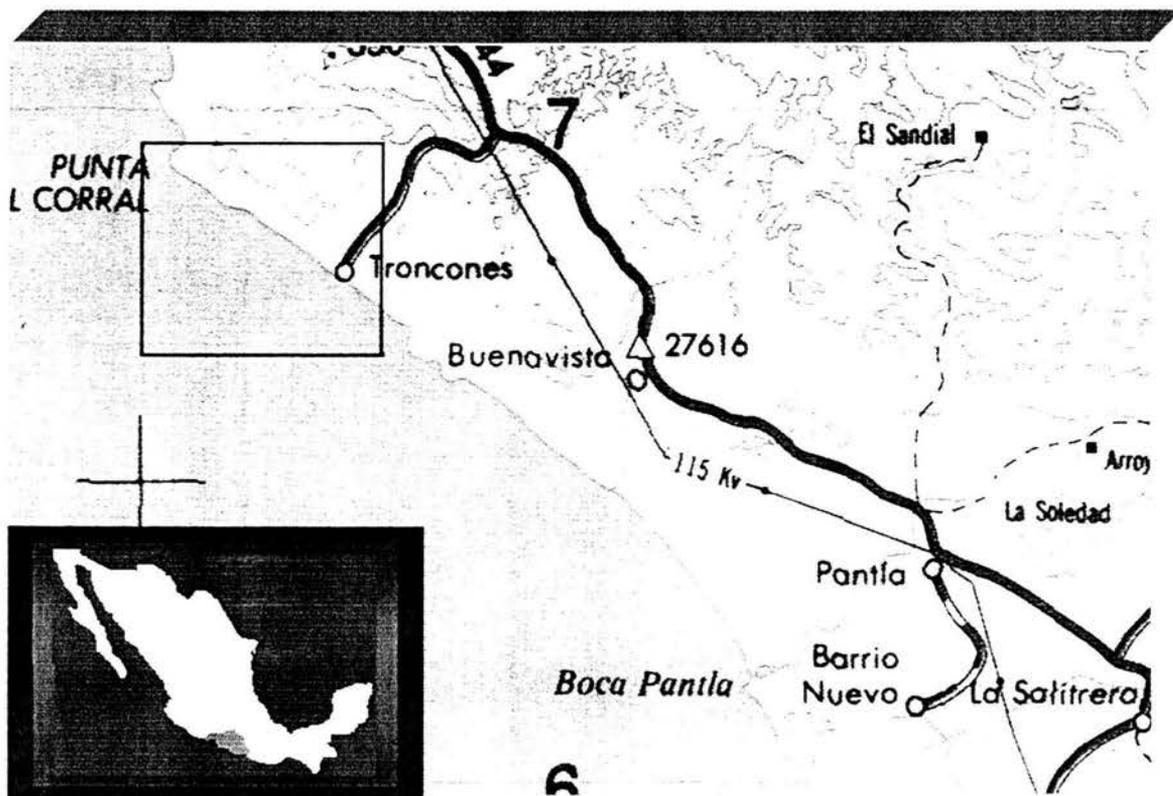


Figura 2. Mapa del área de estudio (Troncones, Guerrero). Fuente INEGI.

Escala 1:250 000.

V. OBJETIVO GENERAL

Describir histológicamente el ciclo gonádico de *Bathygobius ramosus*, presente en la zona intermareal rocosa de Troncones, Guerrero.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Realizar la descripción morfológica, macro y microscópica de las gónadas masculinas y femeninas de *Bathygobius ramosus*, en diferentes etapas de desarrollo.
- Establecer la talla a la cual el 50% de la población es sexualmente madura.
- Establecer la talla de primera maduración para hembras y machos.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

Los organismos se recolectaron en las pozas de marea formadas durante la marea baja. Para capturar a los organismos se utilizaron redes diseñadas *ex profeso* con tubos de PVC y tul para semejar refugios (Figura 3). Las trampas se colocaron en las pozas de marea sujetándolas con arena para evitar que flotaran. Para atraer a los organismos se utilizaron caracoles como carnada. De cada individuo se registró la longitud total, con un vernier (LT, ± 0.1 cm) y el peso con una balanza semianalítica (P, ± 0.01 g). Posteriormente, fueron preservados en una solución de formaldehído al 10%, neutralizada con agua de mar².

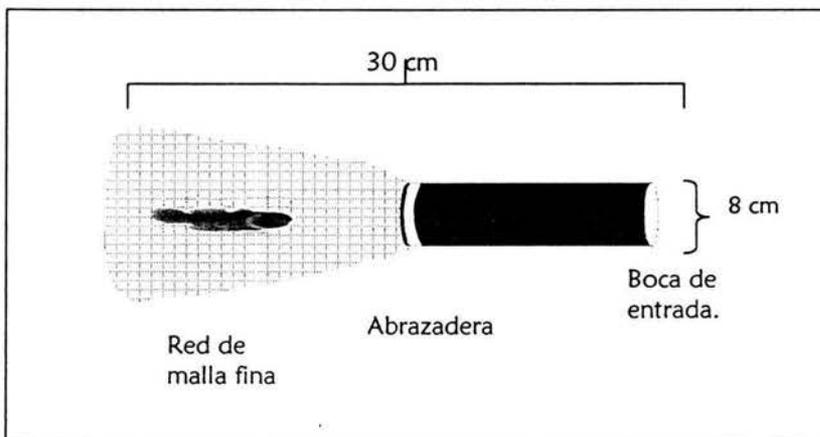


Figura 3. Dispositivo de captura diseñado para capturar a los organismos.

La captura incluyó organismos de diferentes tamaños que, antes de ser sacrificados, fueron anestesiados con una solución de aceite de clavo: 120 mg/L (Aragón, 2003).

Los ejemplares se trasladaron a la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción de la FES Zaragoza para su procesamiento.

En el laboratorio se identificó el sexo de los individuos recolectados, se agruparon en intervalos de clase tomando como base la longitud total (ANEXO I) y se diseccionaron las gónadas.

Se seleccionaron once gónadas de hembras y doce gónadas de machos representativos de los intervalos de clase para someterlos a la técnica histológica

² Esta solución también se les inyectó a los organismos en la parte anterior del abdomen para evitar cambios *post mortem* en las estructuras internas debido a que los organismos no fueron disecados *in situ*.

(ANEXO II), la cual consistió en una deshidratación con alcoholes graduales e inclusión en parafina (Hinton, 1990; Aguilar *et al.*; 1996). Los cortes histológicos se realizaron de forma seriada a 7 μm , con un micrótopo de rotación. Posteriormente, se tiñeron con la técnica de H-E (ANEXO III), modificada de Estrada *et al.* (1982) y Aguilar *et al.* (1996).

Las preparaciones histológicas se observaron al microscopio óptico para realizar las descripciones del ciclo ovárico según Wallace y Selman (1981) y Selman y Wallace (1989). El ciclo testicular se describió de acuerdo con los criterios de Billard (1986).

Se midieron los diámetros de 30 folículos con sus respectivos núcleos para cada fase de crecimiento del ciclo ovárico con un ocular micrométrico.

Las gónadas femeninas se ubicaron en clases de madurez utilizando la escala propuesta por Brown (2003). Para ubicar el grado de madurez en los machos se utilizaron algunas características propuestas por Taylor *et al.* (1998) y Brown (2003).

El material fue analizado con un microscopio óptico (Labophot-2, NIKON) y fotografiado con una cámara (Microflex, NIKON) en la Unidad de Investigación en Ecología Marina de la FES- Zaragoza.

A partir de los datos obtenidos a nivel histológico, tomando como base a los tipos celulares, las gónadas de todos los ejemplares recolectados se clasificaron en clases reproductivas.

Se obtuvieron las frecuencias de las clases reproductivas con respecto a la temperatura de las pozas de marea para cada época de muestreo y para cada sexo.

Finalmente se graficó el porcentaje acumulativo de hembras maduras, interpolando el valor de la longitud en una escala probabilística para establecer la talla a la que el 50% alcanzan la madurez sexual. Para establecer la talla de primera madurez se utilizó la talla mínima a la cual las hembras mostraron ovarios en maduración tardía.

VII. RESULTADOS

Proporción sexual.

Se realizaron cuatro salidas a campo en un periodo comprendido de agosto del 2001 a marzo del 2002, durante las cuales se recolectaron un total de 195 organismos. De ellos, 102 fueron hembras y 93 machos, lo que permite estimar una proporción sexual de 1:1 (X^2 , $p < 0.01$). Las tallas variaron de 24 a 93 mm (LT) y los pesos de 0.13 a 10.42 g.

Dimorfismo sexual.

Bathygobius ramosus es una especie gonocorísta (sexos separados) que presenta dimorfismo sexual externo, este dimorfismo radica, además del tamaño de los organismos (las hembras son más pequeñas que los machos) en la forma de la papila urogenital. En los machos es larga, cónica y fuertemente pigmentada con melanóforos (Figura 4). La papila de las hembras (Figura 5) es corta, truncada y escasamente pigmentada; en la extremidad se bifurca formando unas proyecciones. Tavalga (1954) se refiere a estas estructuras como *papilas epidermales*. La forma de la papila urogenital es fácilmente distinguible a simple vista, excepto en organismos de tallas menores a 28 mm LT.



Figura 4. Papila urogenital masculina (pu), obsérvese la forma cónica y la gran cantidad de melanóforos que le proporcionan su coloración.

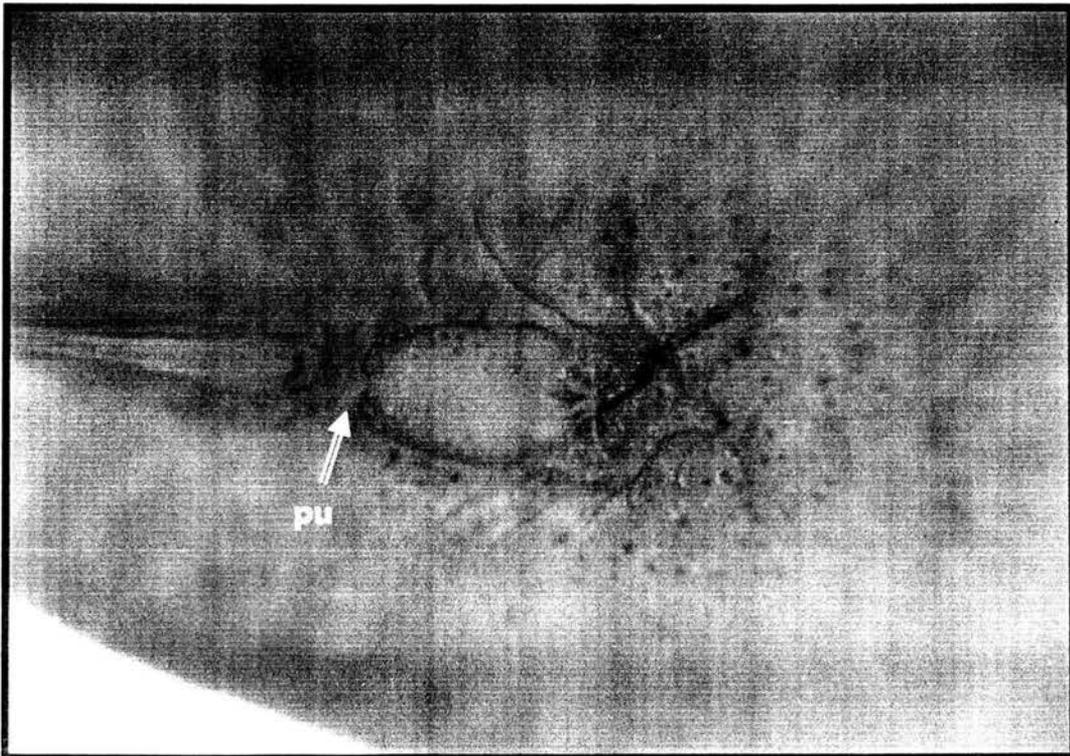


Figura 5. Papila urogenital femenina (pu), obsérvese la forma truncada, hacia su parte final se observa bifurcada.

DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DE LAS GÓNADAS.

El aparato reproductor de la hembra está constituido por dos ovarios en forma de sacos que se continúan en su parte posterior hasta unirse formando un corto oviducto que se abre dentro de la papila urogenital para desembocar en un gonoporo (Figura 6).

Los ovarios se localizan en la cavidad corporal y se sitúan ventrolateralmente con respecto a la vejiga gaseosa y dorsolateralmente al intestino; el ovario derecho es ligeramente más pequeño y abultado que el ovario izquierdo. A medida que van madurando la diferencia en tamaño es más notoria.

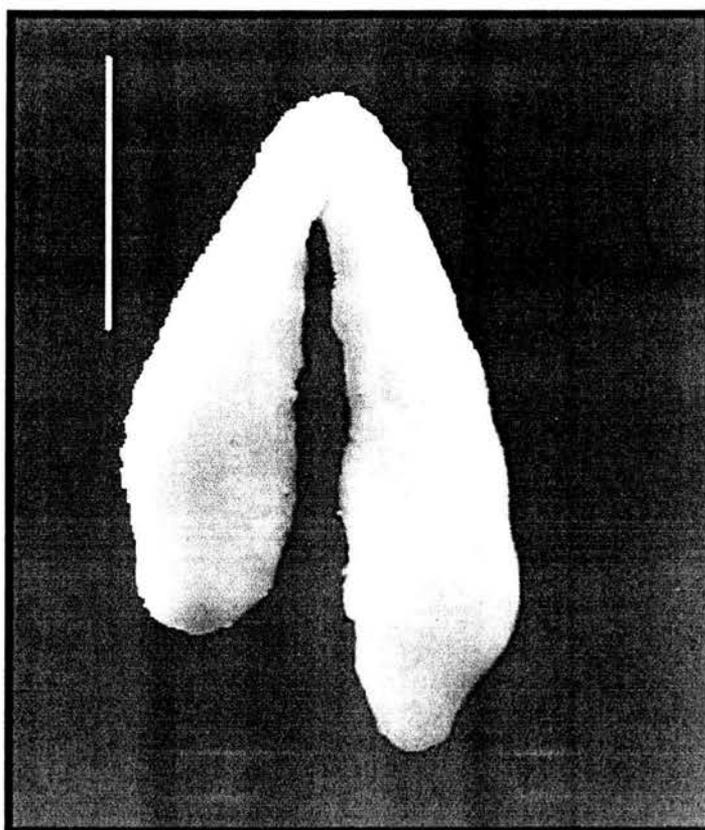


Figura 6. Vista ventral del ovario de *Bathygobius ramosus*³.
(Barra =5 mm).

³Gónada de una hembra de 63 mm de LT y 3.11 g.

El aparato reproductor de los machos está constituido por un par de testículos y un par de vesículas seminales (Figura 7). Al igual que los ovarios se encuentra en la cavidad corporal ubicado ventrolateralmente a la vejiga natatoria y dorsolateralmente al intestino. Los testículos son dos sacos aplanados, sinuosos y en los cuales en su parte media se distingue un cordón amarillo que se extiende en toda su longitud y que contrasta con el color blanco lechoso que predomina en los testículos.

Las vesículas seminales se encuentran situadas en la cavidad corporal a los lados de los testículos y los extremos anteriores se encuentran “abrazando” al intestino. Tanto las vesículas seminales como los testículos van cambiando de tamaño y color conforme van madurando.

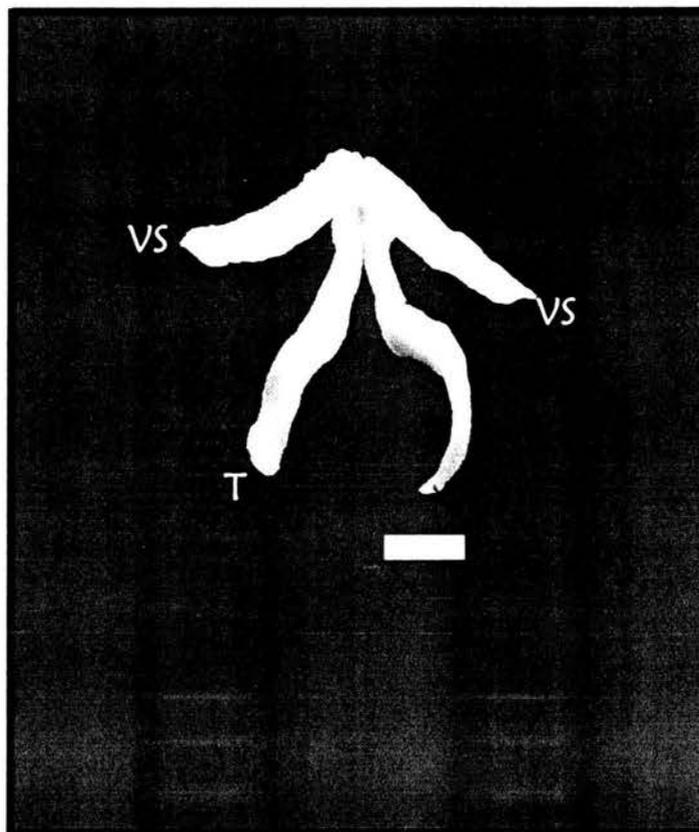


Figura 7. Vista ventral del aparato reproductor masculino de *Bathygobius ramosus*⁴. (Barra = 5 mm).
T: testículo; VS: vesícula seminal).

⁴ Testículo disecado de un organismo de 91 mm de LT y 8.17 g.

DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA DE LOS OVARIOS

Para realizar la descripción histológica se utilizaron once hembras situadas en intervalos de talla de 38 mm a 70 mm LT e intervalos de pesos de 0.68 a 3.56 g.

Los ovarios están cubiertos por una túnica albugínea revestida externamente por el peritoneo, en su interior se encuentran las láminas ovígeras (dispuestas perpendicularmente al lumen ovárico) en las cuales se encuentran embebidos los ovocitos en diferentes estadios de desarrollo y por lo tanto presenta un desarrollo ovárico de tipo asincrónico.

Se observaron ovocitos en todos los estadios de desarrollo que mencionan Wallace y Selman (1981) y Selman y Wallace (1989) y que se describen a continuación.

CRECIMIENTO PRIMARIO

El estadio de crecimiento primario también se conoce como *previtelogénico*; es el período inicial de la formación del ovocito a partir de las vesículas germinales (ovogonias).

Si bien en este estadio el ovocito crece considerablemente, el tamaño es muy pequeño en comparación con el ovario. Los ovocitos no acumulan vitelo en su interior ya que el material necesario para su desarrollo durante esta etapa es producido por la misma célula. Los estadios iniciales de crecimiento se caracterizan por un período intenso de síntesis de ácido ribonucleico (Wallace y Selman, 1981). Comprende las fases de: *cromatina nucleolar*, *perinucleolar temprano* y *perinucleolar tardío*.

Cromatina nucleolar: son ovocitos muy afines a la hematoxilina, presentan un núcleo muy grande en relación al citoplasma. Presentan diámetros que van de 19 a 69 μm (Tabla 1). Es evidente la presencia de varios nucléolos de los cuales destaca uno que es más grande que los demás (Figura 8).

Perinucleolar temprano: en esta fase el diámetro de los ovocitos se encuentra en un intervalo de 23 μm a 91 μm (Tabla 1). Van perdiendo su afinidad por la hematoxilina y los nucléolos se van arreglando en la periferia del núcleo, el ovocito es rodeado por algunas células foliculares (Figura 9).

Perinucleolar tardío: en esta fase los nucléolos siguen arreglados en la periferia del núcleo, el ovocito sigue perdiendo afinidad por la hematoxilina y comienzan a aparecer los alvéolos corticales que se aprecian como estructuras esféricas huecas (Figura 10). El diámetro de los ovocitos en esta fase mide entre 58 μm y 68 μm (Tabla 1).

ALVÉOLOS CORTICALES

Durante este estadio de crecimiento los ovocitos incrementan su tamaño con respecto al estadio anterior (55 μm a 90 μm). En algunos ovocitos los nucléolos han perdido su arreglo y se han dispersado en el núcleo, los alvéolos corticales son más numerosos. Si bien en algunos ovocitos en estadio perinucleolar tardío se empezó a observar el corión (también llamado zona radiada o zona pelúcida), esta estructura se hace más evidente en este estadio de desarrollo (Figuras 11 y 12).

La aparición del corión y de los alvéolos corticales revela el comienzo del proceso de maduración por parte del ovocito, el cual continuará si las condiciones son favorables (Saborido y Junquera, 2003).

CRECIMIENTO SECUNDARIO

Este estadio también se conoce como *vitelogénesis*, principal evento responsable del enorme crecimiento de los ovocitos.

En la vitelogénesis, el ovocito secuestra y empaqueta a la vitelogenina que es una proteína producida por el hígado y que es precursora del vitelo (Tyler y Sumpter, 1996).

Este estadio consta de tres fases: *vitelino primario*, *vitelino secundario* y *vitelino terciario*.

Vitelino primario: esta fase concentra una extensa gama de ovocitos en un amplio intervalo de diámetros (54 μm a 360 μm , Tabla 1). En esta fase se observan desde los ovocitos en los cuales se empiezan a depositar los glóbulos de vitelo (Figura 13) hasta aquellos en los cuales este proceso está casi por finalizar y por lo tanto están próximos a la maduración (Figura 14). La zona radiada eosinófila aumenta más en grosor; entre la zona radiada y la capa de la granulosa se empiezan a observar unas estructuras delgadas y largas en forma de *cintas* denominadas *filamentos de fijación* que sirven para que los ovocitos se fijen a un sustrato una vez que ocurre el desove.

Vitelino secundario: en esta fase los ovocitos han aumentado aproximadamente 14 veces su tamaño inicial (275 μm - 410 μm ; Figura, 15). Además, se presentan otros cambios como el incremento en grosor de la zona radiada y de los filamentos de fijación (Figuras 16, 17, 18, 26-29). Aparece bien diferenciada una capa de células acidófilas en forma de *gota* (células de la granulosa) sobre las cuales se dispone una capa de células (células de la teca) débilmente teñidas de morado (Figura, 18). Si bien durante todas las fases de desarrollo se observaron hilos de cromatina en este estadio se observa a los cromosomas, adquiriendo formas muy peculiares, a los que se les denomina *cromosomas plumosos* (Figuras

19 y 20). En algunos cortes histológicos con una gran cantidad de ovocitos en esta fase fue posible observar el micrópilo (Figuras 29-31).

MADURACIÓN

En este estadio de crecimiento la característica más notable es la migración de los núcleos hacia la periferia del ovocito. (Figura 21).

El número de ovocitos encontrados en este estadio fue muy bajo probablemente esto se debió a que una vez que ha comenzado este proceso⁵, los eventos son más fisiológicos que morfológicos. Durante este estadio se produce la primera división meiótica y la formación del primer cuerpo polar. Mediante una estimulación hormonal adecuada se llevará a cabo la ovulación (Saborido y Junquera, 2003).

⁵ El inicio de la maduración está marcado por la liberación del núcleo hacia la periferia del citoplasma y la fusión de su membrana.

OTROS ASPECTOS CELULARES DEL CRECIMIENTO DE LOS OVOCITOS

FOLÍCULOS POSTOVULATORIOS

Al final de la maduración se lleva a cabo la ovulación, ésta ocurre con la ruptura del folículo que contenía al ovocito, que es liberado en el lumen del ovario. Los folículos postovulatorios que resultan de este proceso se identifican fácilmente cuando son recientes, pero degeneran rápidamente (Saborido y Junquera, 2003). En los cortes histológicos de las gónadas de *B. ramosus* se observó que algunos folículos postovulatorios aún mostraban la abertura por donde salió el ovocito (rodeado por su capa vitelina), dejando sólo una gran cavidad rodeada por las células foliculares (Figura 22), las cuales más tarde entrarán en un proceso de involución

ATRESIA FOLICULAR

La atresia folicular es un proceso degenerativo mediante el cual los ovocitos en desarrollo son reabsorbidos por el ovario. Este proceso se observó únicamente en hembras que habían entrado en la fase vitelogénica. Las células de la granulosa invadieron con un carácter fagocítico al ovocito (Figura 23), al ir avanzando este proceso se observó una pequeña masa amorfa con algunas células de la granulosa, de la teca y gránulos de vitelo (Figura 24).

MICRÓPILO Y FILAMENTOS DE FIJACIÓN

En folículos en vitelino primario y secundario entre la zona radiada y la capa de la granulosa se observaron unas estructuras delgadas y largas en forma de cintas denominadas *filamentos de fijación*, las cuales se unen formando una red que sirven a los ovocitos para adherirse a un sustrato, una vez que han sido ovulados (Figuras 25-29).

Estos filamentos se disponen alrededor de la zona micropilar formada por el *orificio micropilar* y las células *micopilares* (Figuras 30 y 31). En algunos

ovocitos el nivel del corte permitió observar al orificio micropilar como una depresión (Figura 27).

Tabla 1. Intervalos de los diámetros de los ovocitos en diferentes estadios de desarrollo.

ESTADIO DE DESARROLLO	DIÁMETRO DEL OVOCITO (μm)	DIÁMETRO DEL NÚCLEO (μm)	NÚMERO PROMEDIO DE NUCLÉOLOS
Cromatina nucleolar	19 – 69	10- 23	5
Perinucleolar temprano	23 – 91	12 – 41	9
Perinucleolar tardío	58-68	25-41	12
Alvéolos corticales	55-90	22-44	13
Vitelino primario	54 – 360	24 – 41	14
Vitelino secundario	275 – 410	70 – 108	7
Maduración	257-365	50-100	7

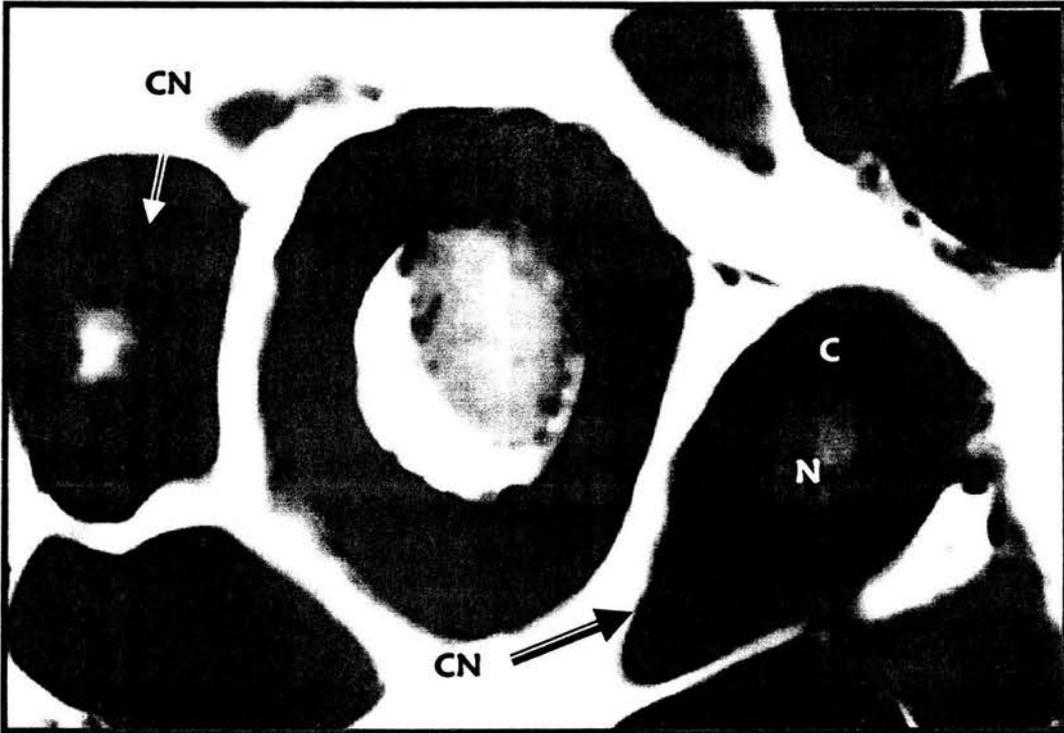


Figura 8. Estadio cromatina nucleolar (CN). Nótese el gran tamaño del núcleo (N) con respecto al citoplasma (C). 2500 Aumentos.

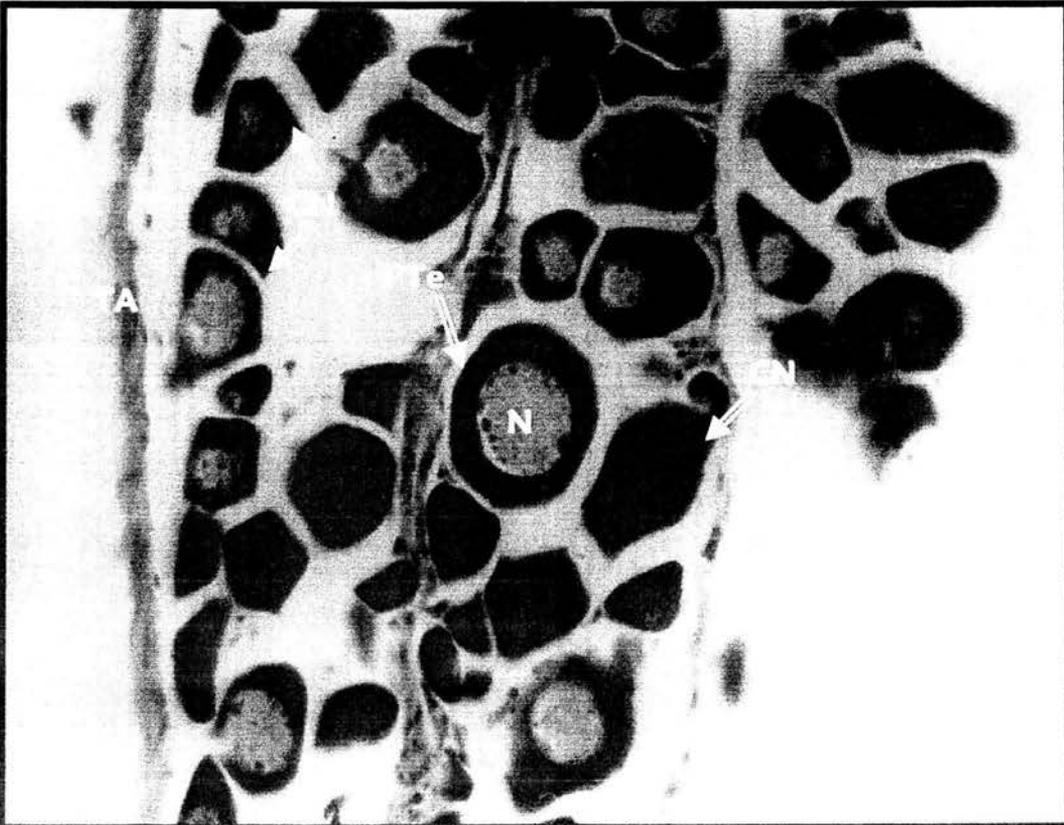


Figura 9. Estadio perinucleolar temprano (PTe). Obsérvese el gran núcleo (N) y la disposición de los nucléolos (Nu). TA: túnica albugínea. 100 Aumentos.

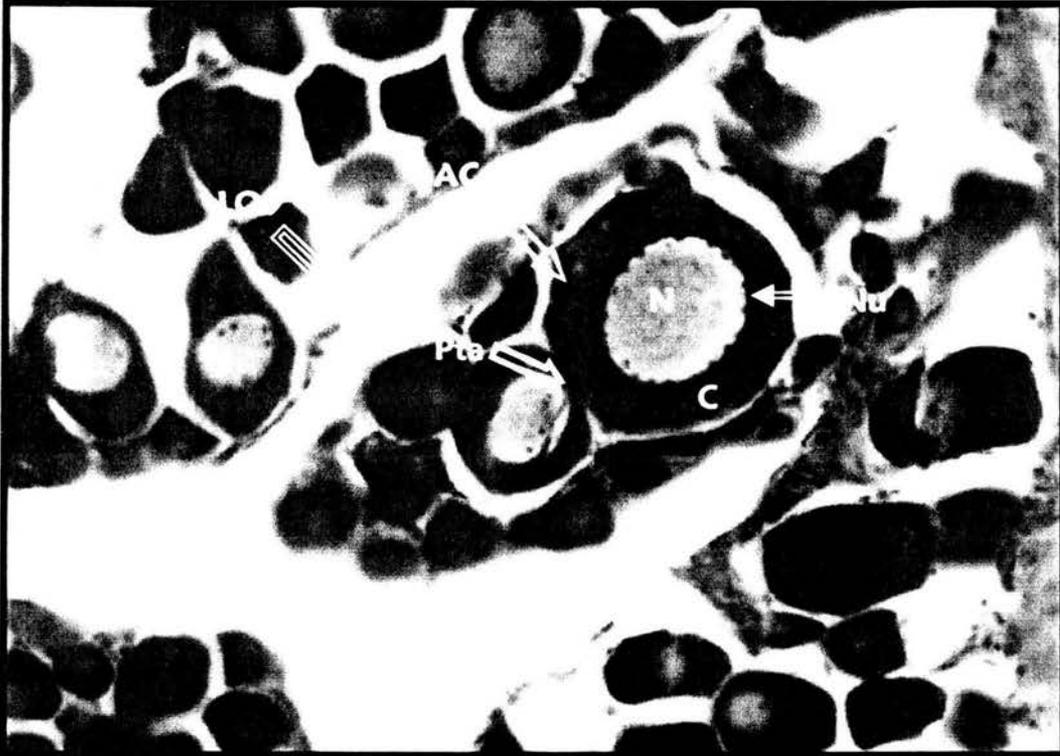


Figura 10. Fase perinucleolar tardío (Pta). Se empiezan a observar algunas esferas huecas en el citoplasma (C) que corresponden a los alvéolos corticales (AC). LOv: láminas ovígeras; N: núcleo. Nu: nucléolos. 1000 Aumentos.

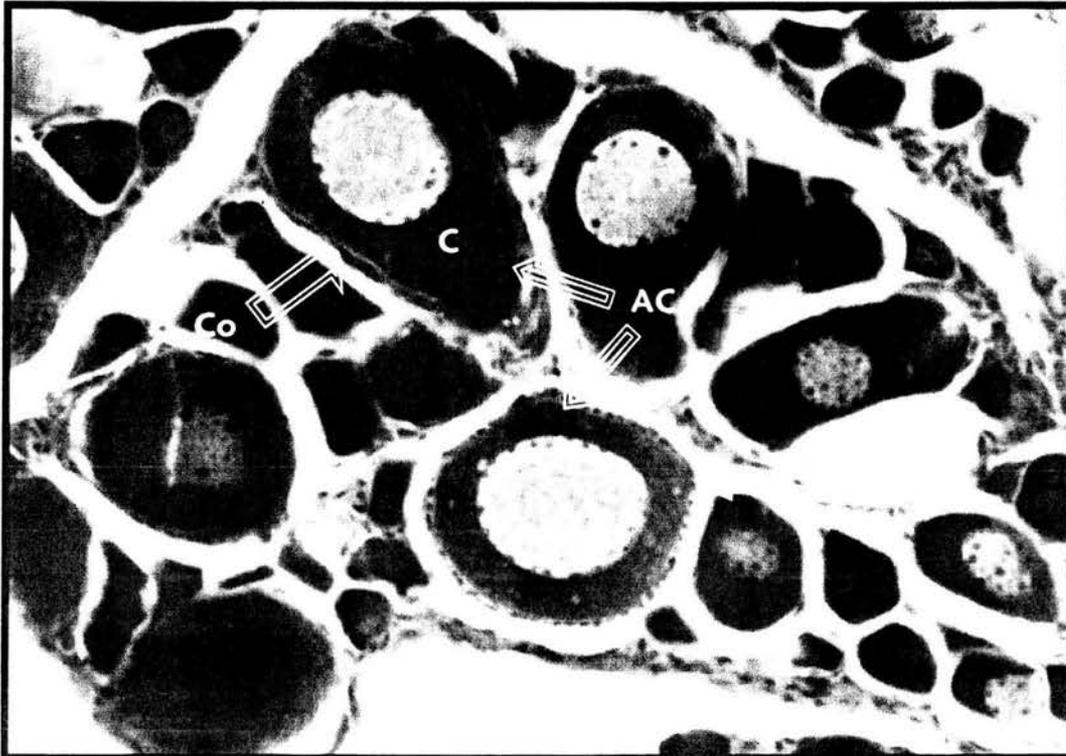


Figura 11. Fase de alvéolos corticales (AC). Obsérvense las células foliculares (Cf) que rodean al ovocito y el corión (Co) que aparece como un hilo delgado brillante (eosinófilo); LOv: láminas ovígeras; C: citoplasma; N: núcleo. 1000 Aumentos.

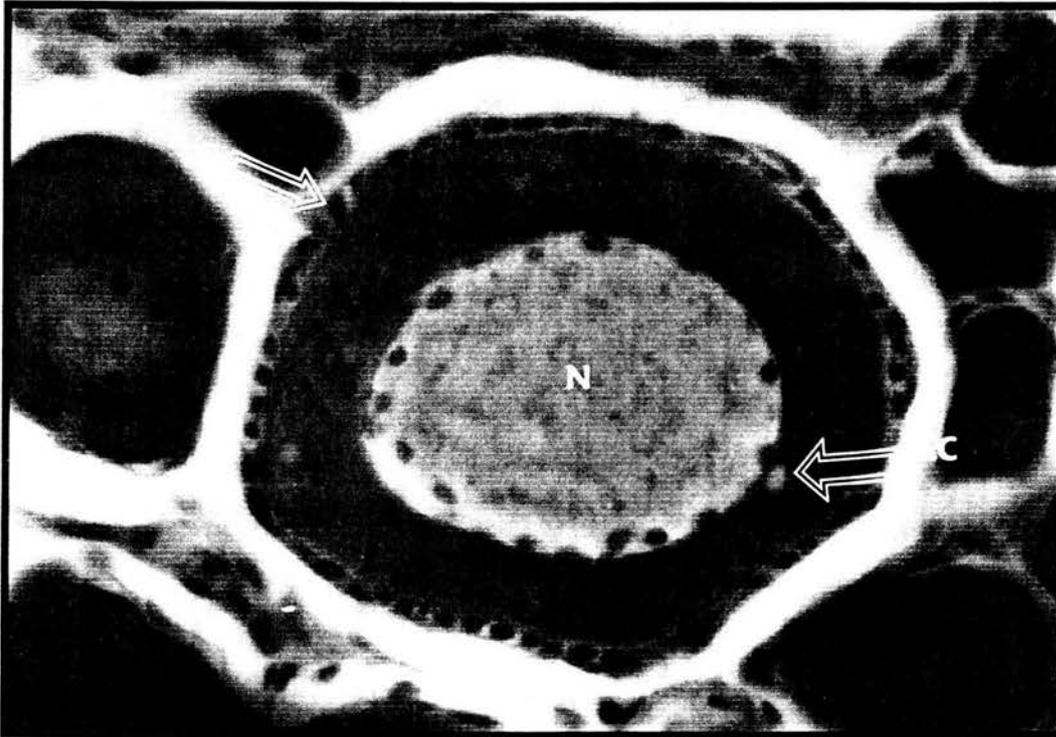


Figura 12. Acercamiento de un ovocito en estado de crecimiento de alvéolos corticales (AC) nótese la capa de células foliculares (CF) que rodean al ovocito, los nucléolos aún se encuentran en la periferia, se empieza a evidenciar el corión. Hay una gran cantidad de hilos de cromatina en el núcleo (N). 2500 Aumentos.

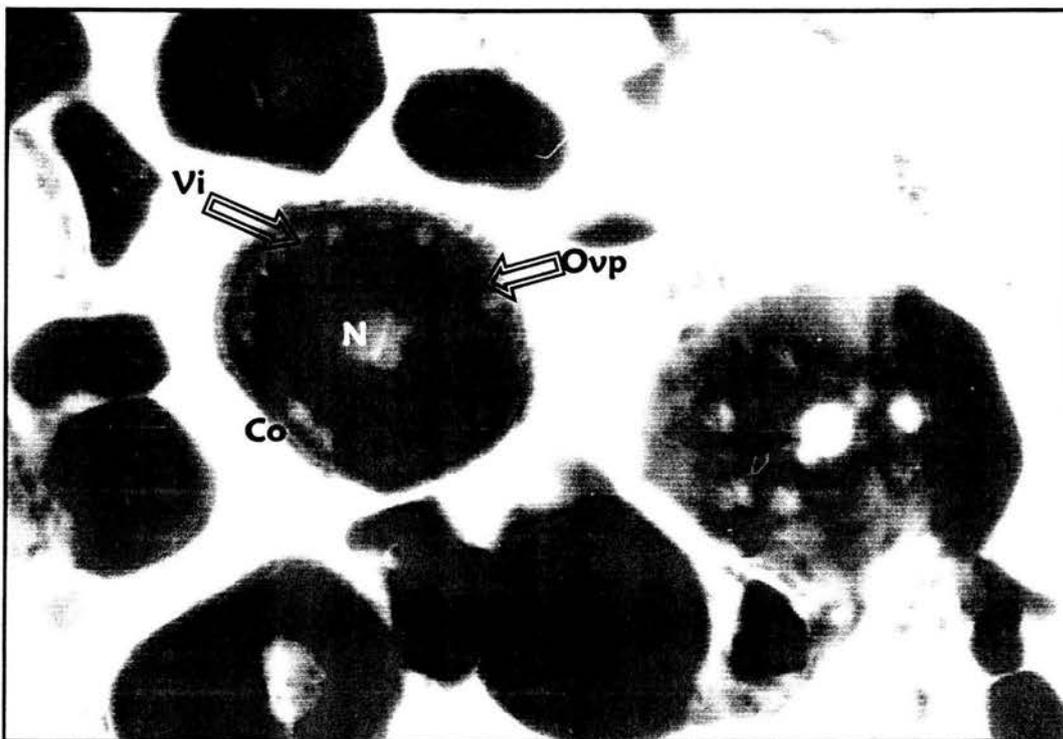


Figura 13. Folículo en vitelino primario (Ovp). La deposición de glóbulos de vitelo (Vi) es apenas perceptible. Co: corión; N: núcleo. 1000 Aumentos.

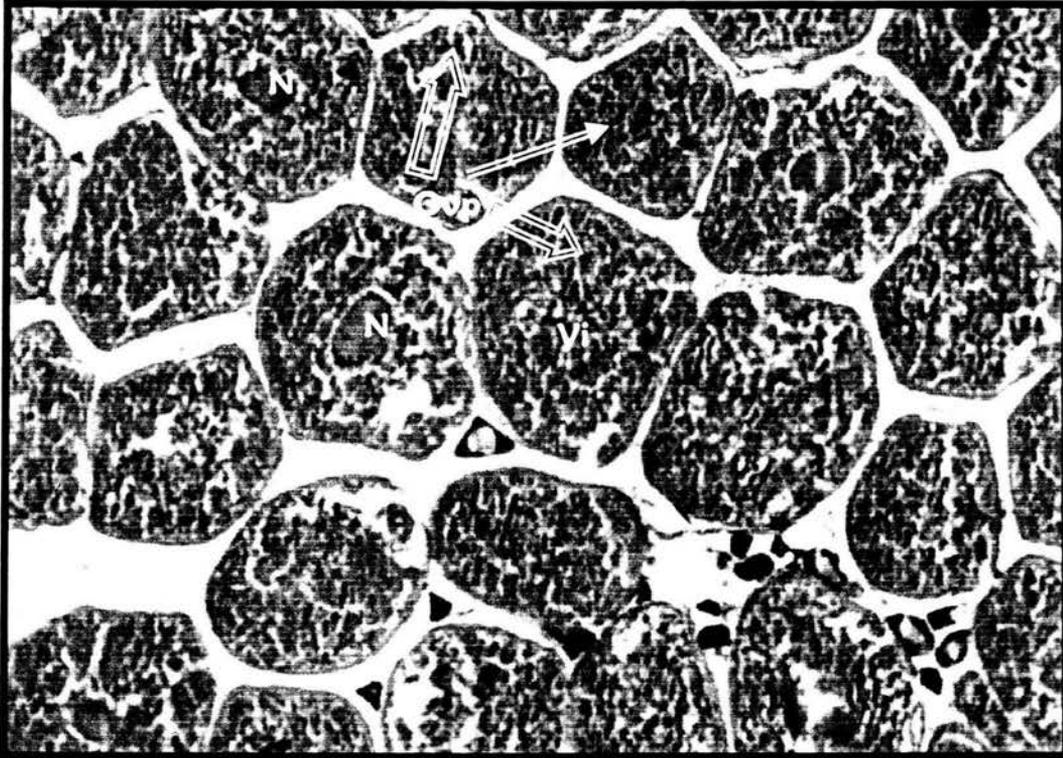


Figura 14. Folículos en vitelino primario (Ovp). Se observa una gran cantidad de vitelo (Vi) que se ha depositado en los ovocitos y el gran tamaño que han alcanzado. Nu: núcleo. 250 Aumentos.

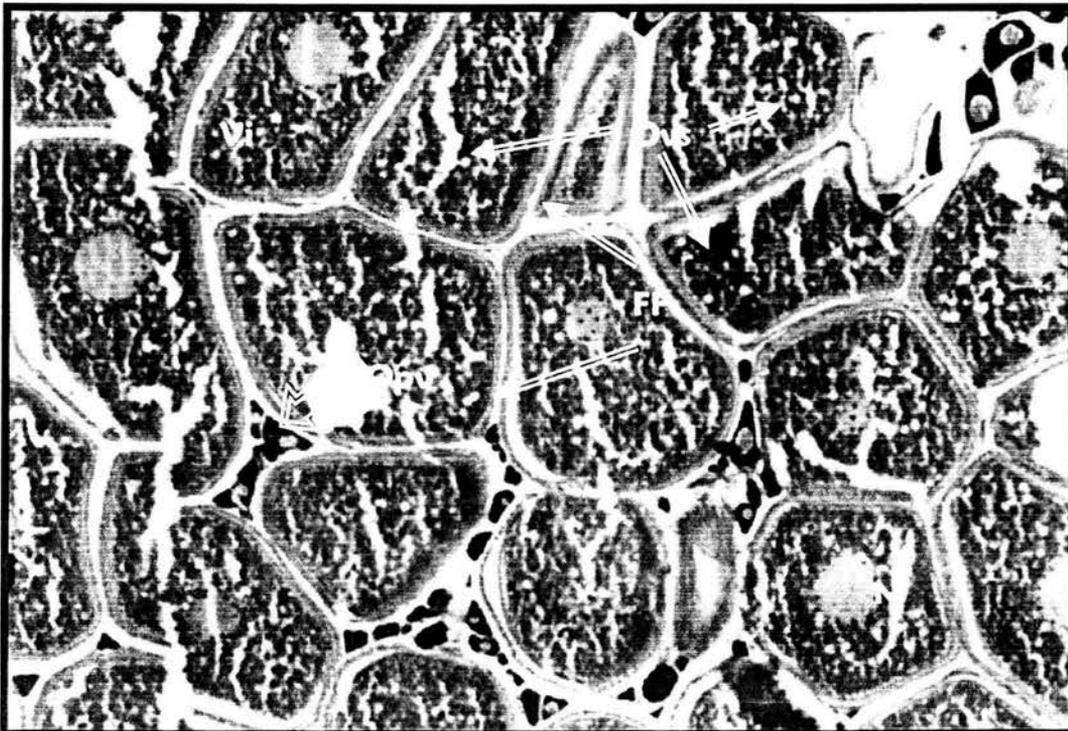


Figura 15. Estadio vitelino secundario (Ovs). El corión ha engrosado y a su alrededor se aprecian filamentos de fijación (FF). Se distinguen dos poblaciones de ovocitos: Ovocitos vitelogénicos (Ovs); Ovocitos previtelogénicos (Opv); Vi: vitelo; N: núcleo. 200 Aumentos.

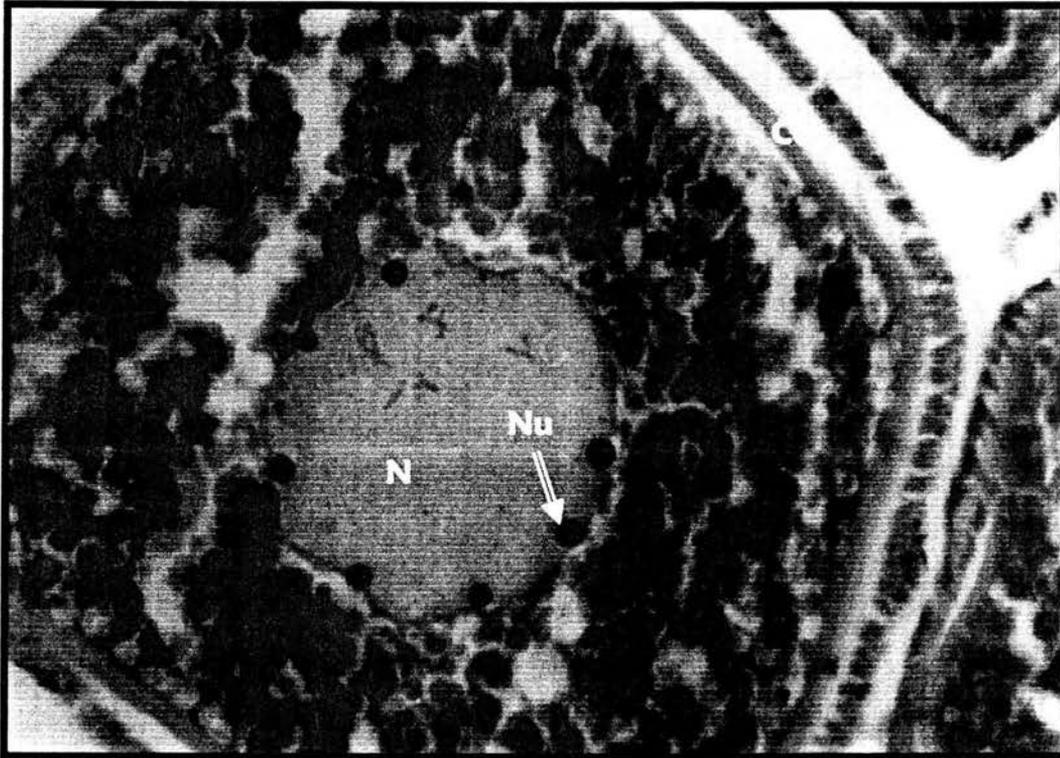


Figura 16. Acercamiento de un ovocito en vitelino secundario. El corión (Co) ha aumentado en grosor. Obsérvese la ubicación de los nucléolos (Nu) y algunas figuras cromosómicas en el núcleo (N). CF: células foliculares. 1000 Aumentos.



Figura 17. Acercamiento de un ovocito en vitelino secundario, en donde se puede apreciar la zona radiada o corión (Co). Vi: vitelo; CF: células foliculares. Contraste de fases. 2500 Aumentos.

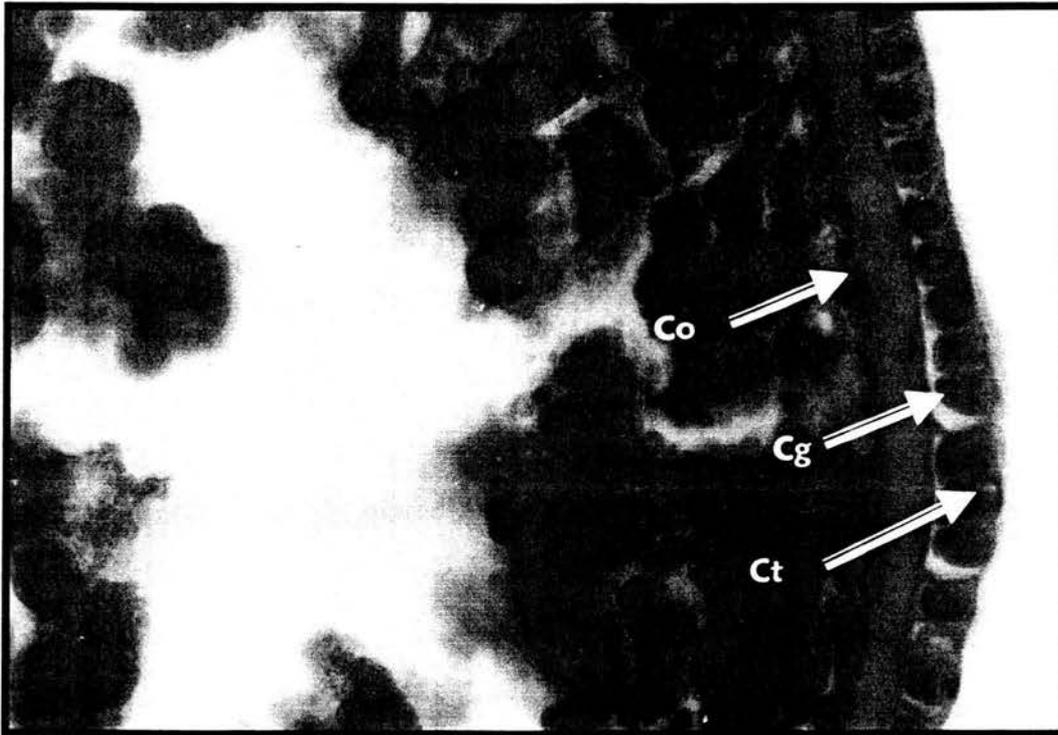


Figura 18. Acercamiento de un ovocito en vitelino secundario, en donde se puede apreciar la zona radiada (Co), las células de la granulosa (Cg) eosinófilas en forma de *gota* y sobre ellas se dispone una capa de células basófilas (Ct) de la teca. 2500 Aumentos.

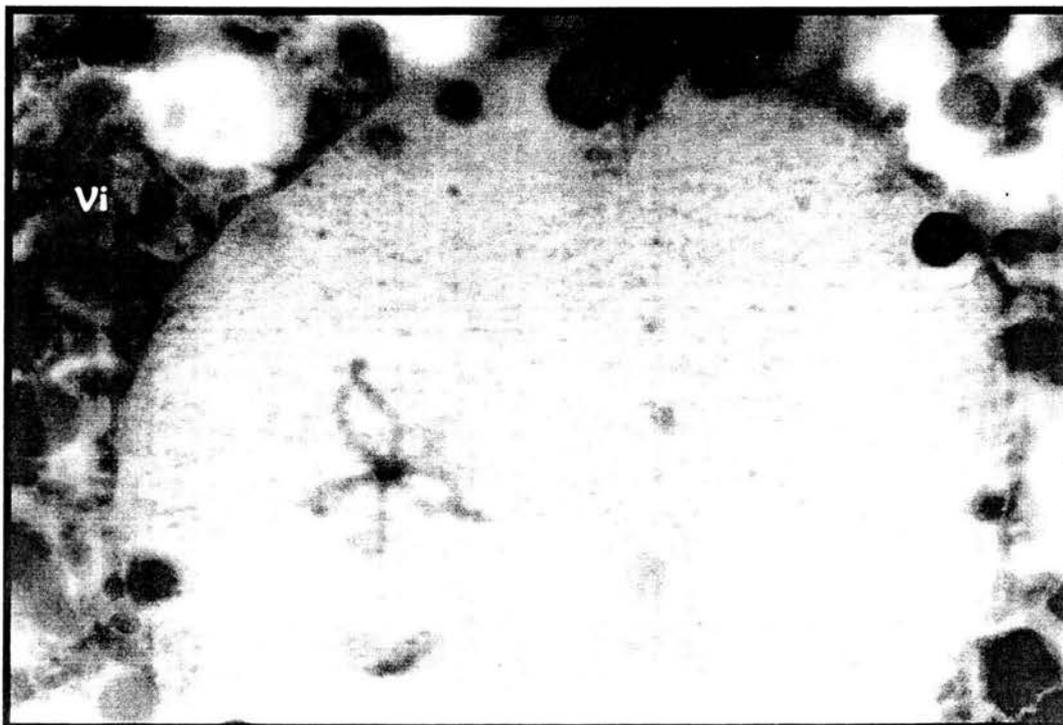


Figura 19. Cromosomas plumosos (CPI) en un ovocito en vitelino secundario. Se observa el núcleo granuloso con sus nucléolos (Nu) rodeados por gránulos de vitelo (Vi). 2500 Aumentos.

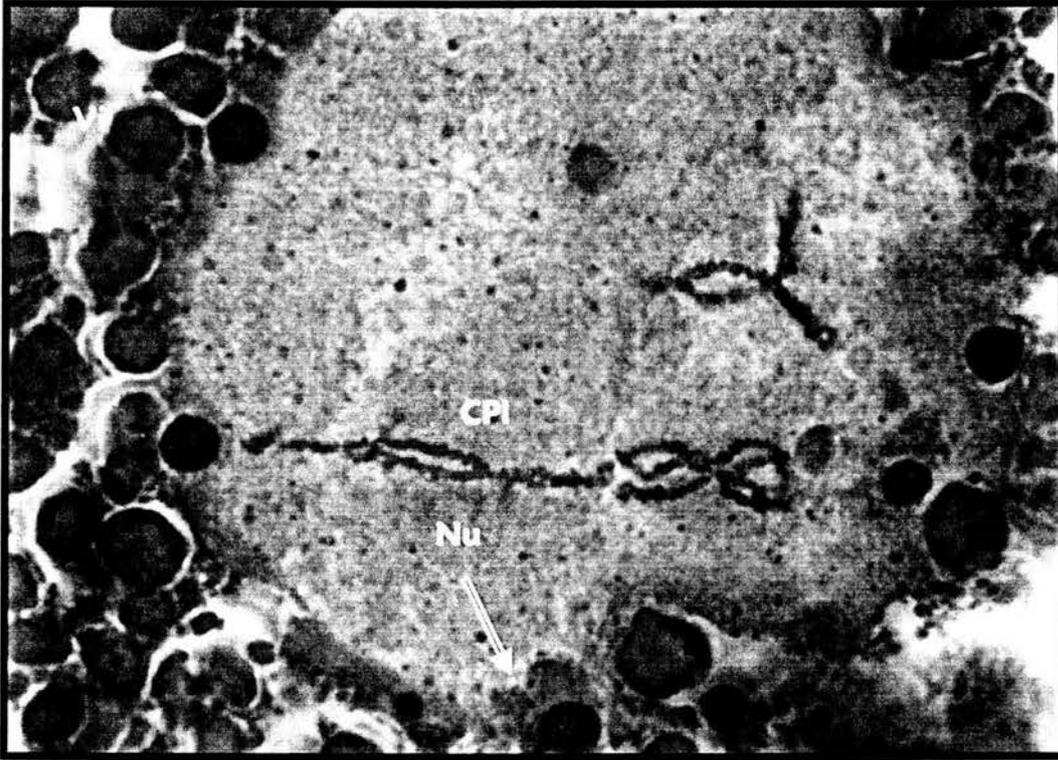


Figura 20. Aumento de un ovocito que muestra otra disposición de cromosomas plumosos (CPI). Nu: nucléolos; Vi: vitelo. Contraste de fases. 2500 Aumentos.

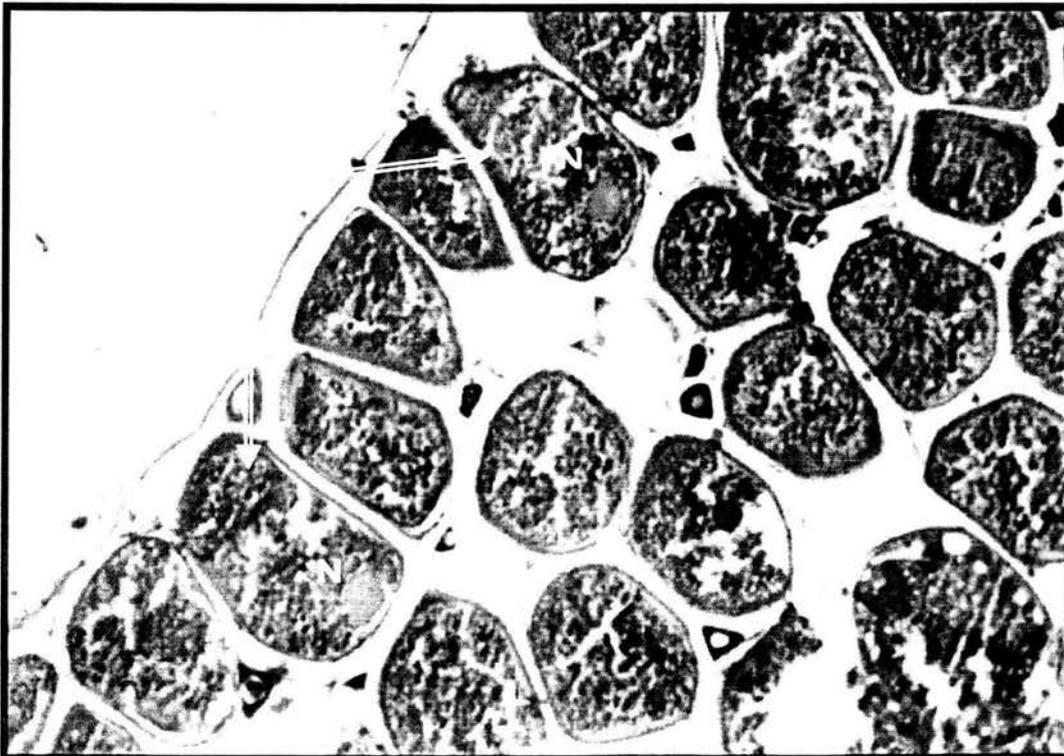


Figura 21. Ovocitos en fase de maduración (Ofm). Se observa la disposición del núcleo (N) dirigiéndose hacia el polo animal. N: Núcleo; TA: túnica albugínea. 200 Aumentos.

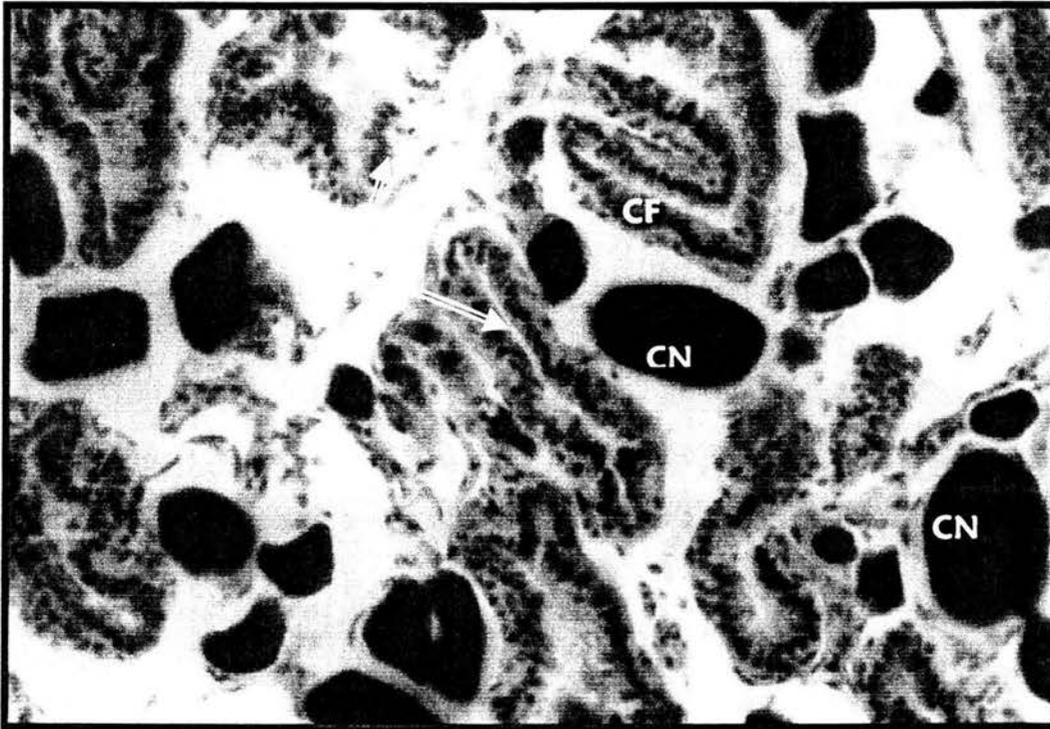


Figura 22. Folículos postovulatorios (Fpo). Se observa una abertura (AF) entre las células foliculares (CF) por donde se liberó el ovocito. Además de los folículos postovulatorios también se observan ovocitos en crecimiento primario. CN: cromatina nucleolar. 1000 Aumentos.



Figura 23. Ovocito atrésico (OAt). Las células de la granulosa empiezan a invadir al ovocito. Hay un gran contraste entre los ovocitos en vitelino secundario (Ovs) que aún continúan con su maduración. 500 Aumentos.

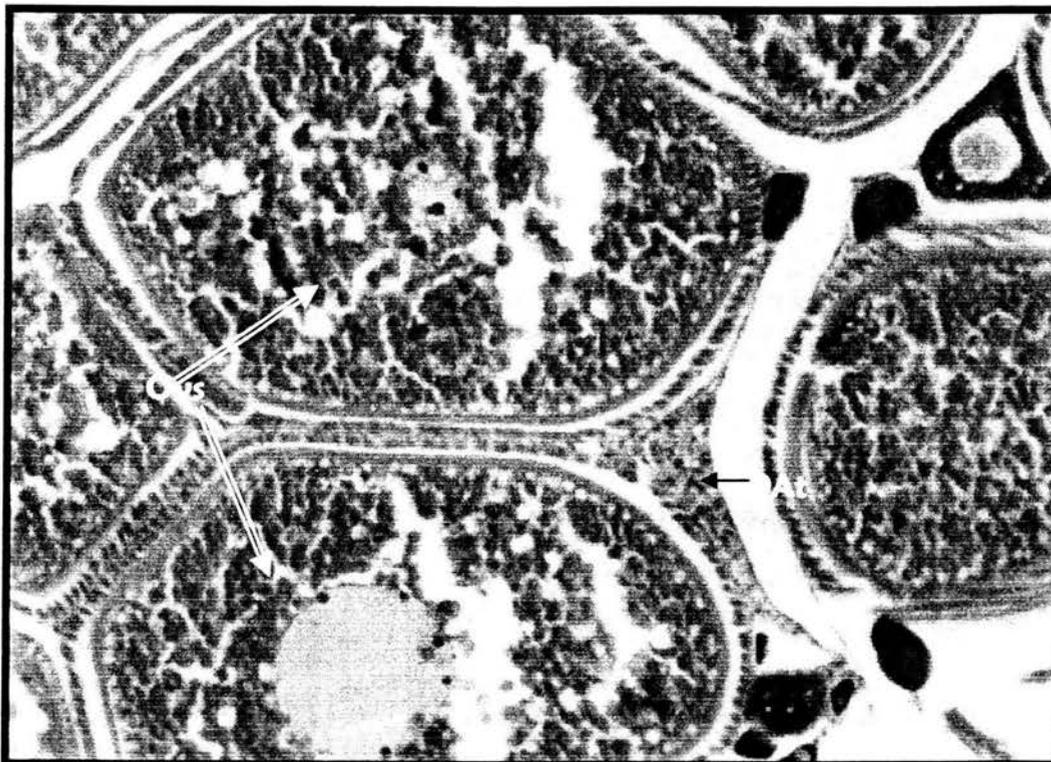


Figura 24. Restos de un ovocito atrésico (OAt). Las células de la granulosa han degradado casi por completo al ovocito. Ovs: ovocitos en vitelino secundario. 500 Aumentos.

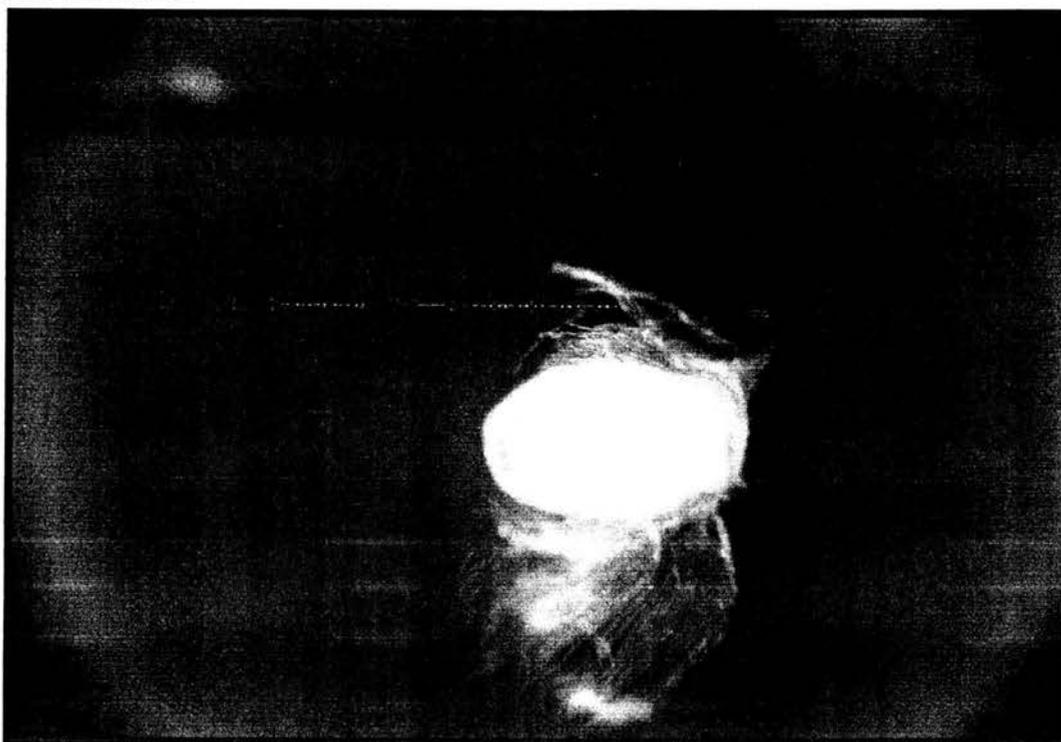


Figura 25. Apariencia macroscópica de un ovocito extraído de un ovario en maduración tardía. Obsérvese la forma del ovocito y la fina red de filamentos dispuestos en el polo animal.

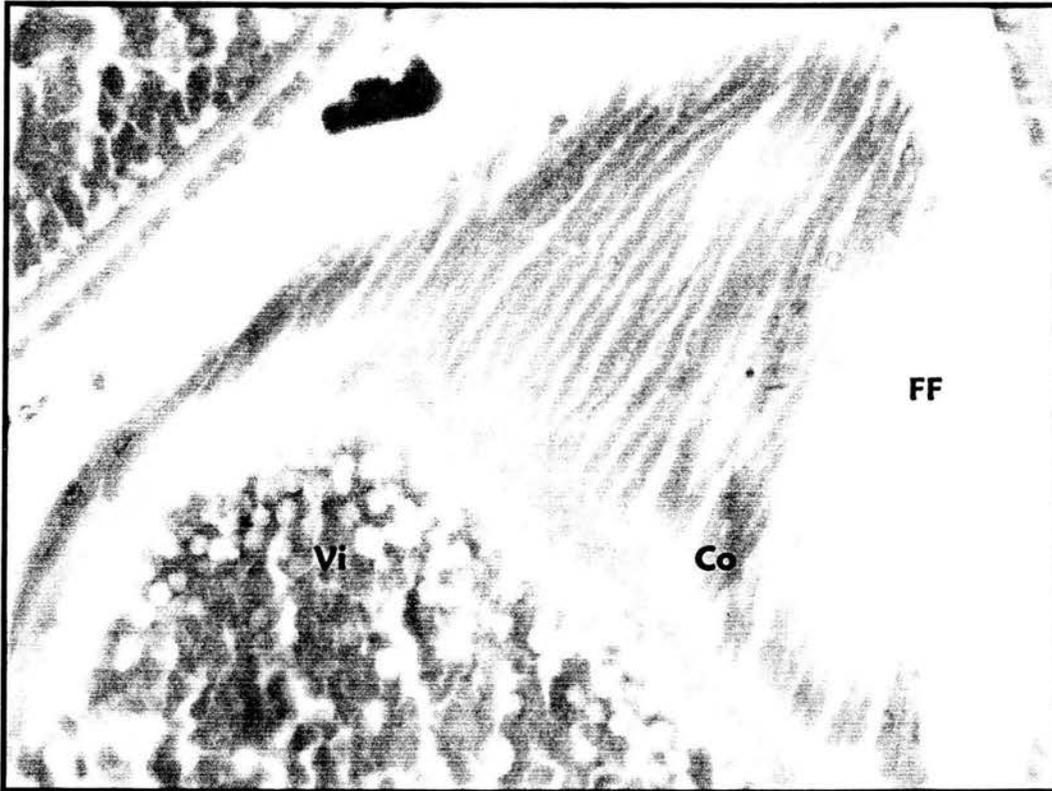


Figura 26. Corte histológico donde se observan los filamentos de fijación (FF). Vi: vitelo; Co: corión. 1000 Aumentos.

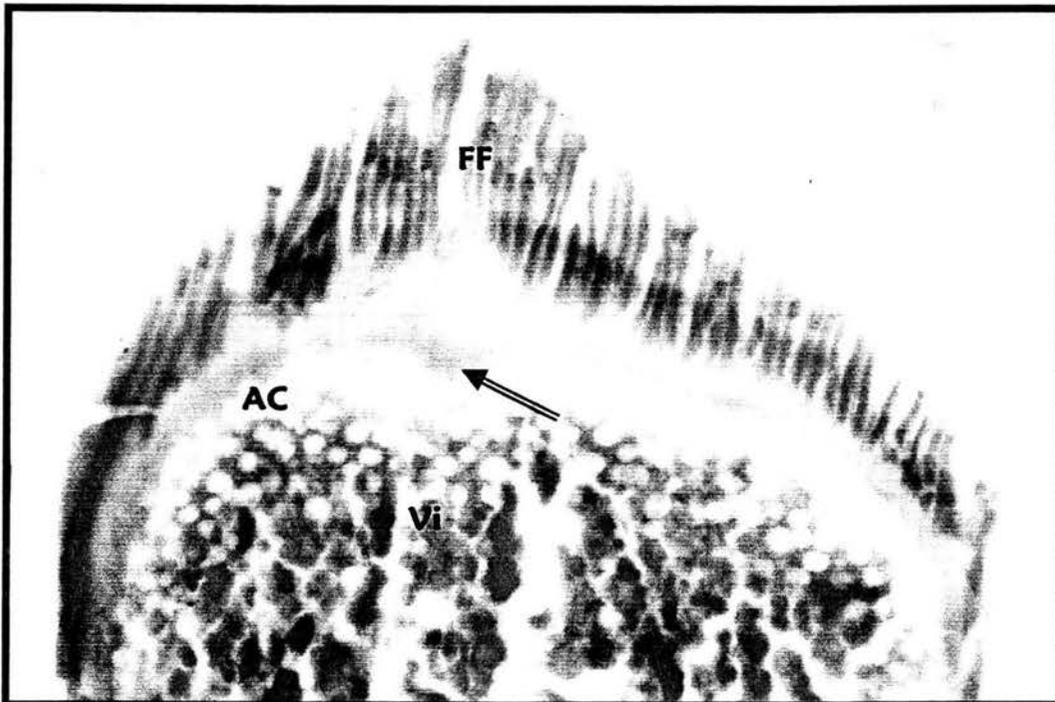


Figura 27. Filamentos de fijación (FF). En medio de ellos dispone una depresión (⇒) que correspondería a la región micropilar. Hacia la periferia se observa a los alvéolos corticales (AC). Vi: vitelo. 1000 Aumentos.

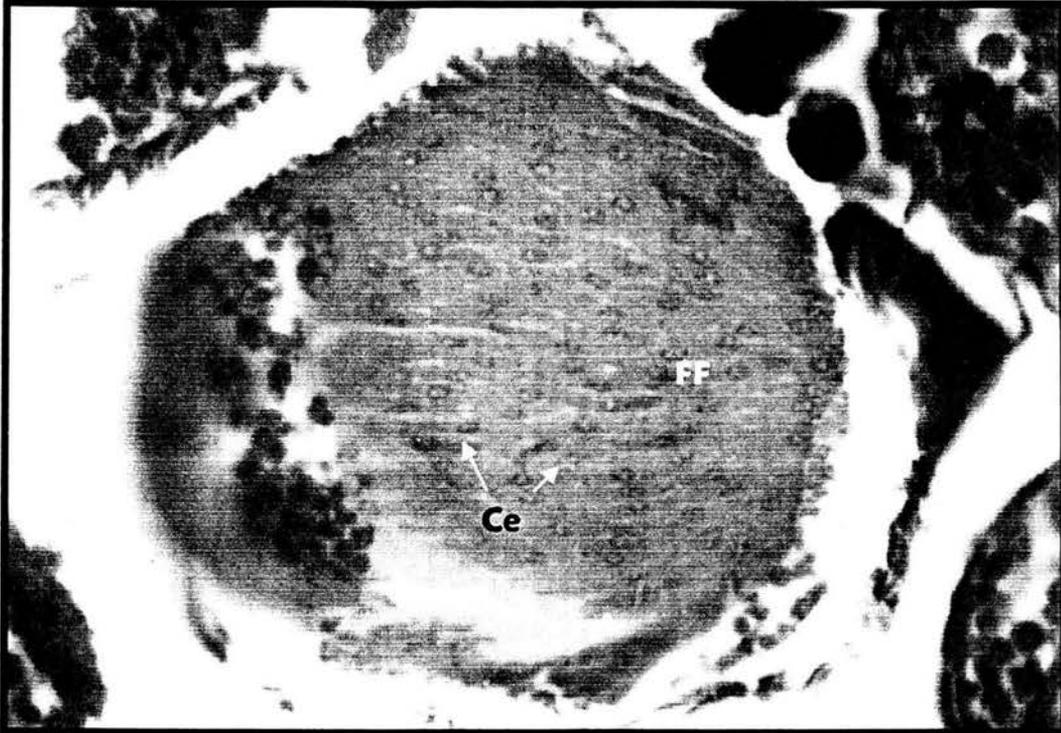


Figura 28. Disposición de los filamentos de fijación sobre el ovocito. Se observan algunas células basófilas (Ce). 1000 Aumentos.



Figura 29. Disposición de los filamentos de fijación (FF) a partir de algunas capas de células micopilares (CM). Contraste de fases. 1000 Aumentos.

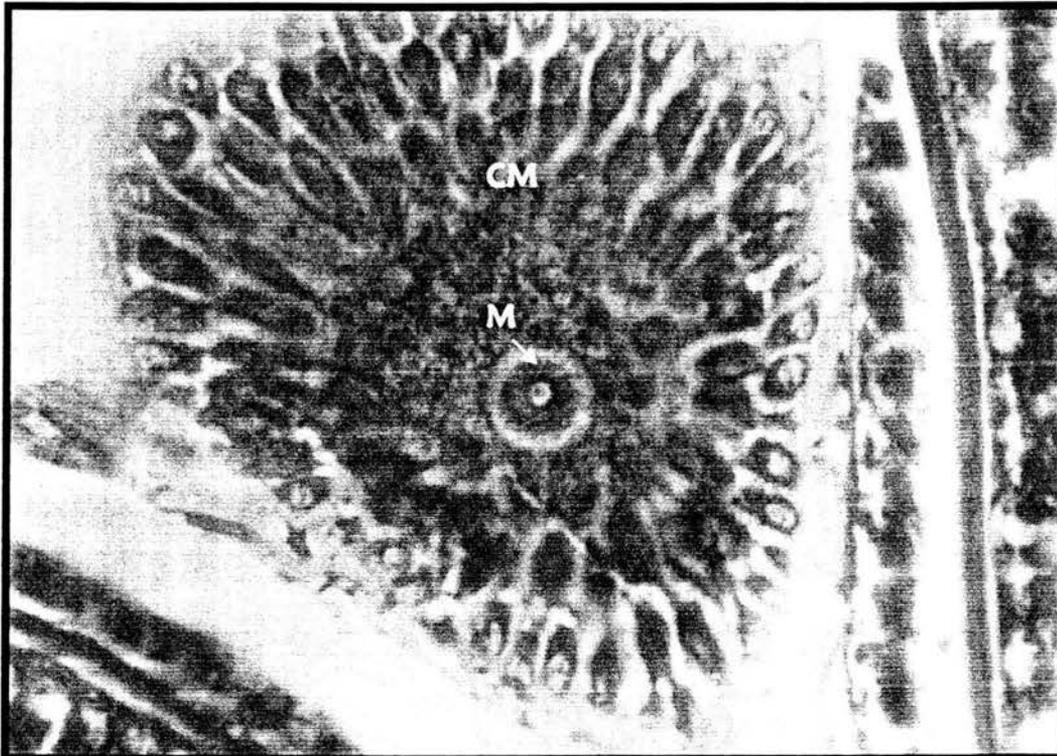


Figura 30. Se observa el orificio *micropilar* (M) por donde el espermatozoide entra para fertilizar al ovocito, lo rodean celulares micropilares (CM). Contraste de fases. 2000 Aumentos.

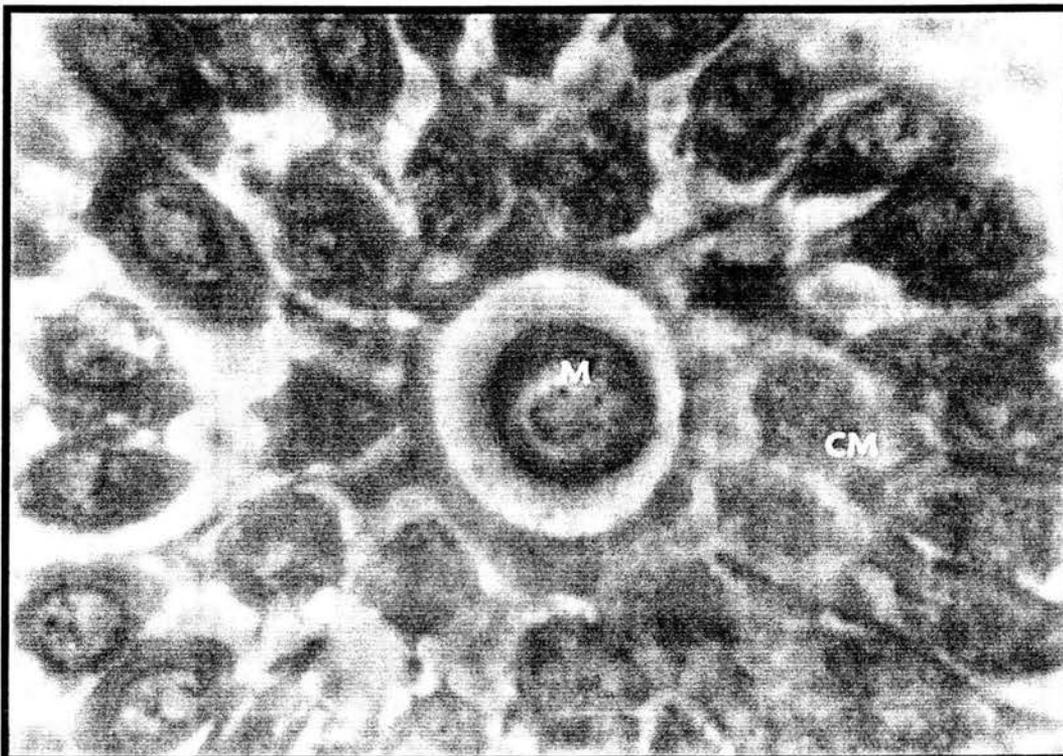


Figura 31. Aumento de un ovocito que muestra el micrópilo (M) y las células micropilares (CM). Contraste de fases. 5000 Aumentos.

CLASES REPRODUCTIVAS DE LAS HEMBRAS

A partir de los datos obtenidos a nivel histológico, tomando como base a los tipos celulares, las gónadas se clasificaron en clases reproductivas con base a Brown (2003).

CLASE REPRODUCTIVA	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DEL OVARIO	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DEL OVARIO
Inmaduro (I)	Sólo se encuentran ovocitos en estadio de crecimiento primario. Las lamelas ovígeras son compactas y por lo tanto muy evidentes (Figura 32).	Gónadas transparentes, delgadas, casi como hilos. No se observan ovocitos a simple vista (Figura 37).
Maduración temprana (Mt)	Las lamelas ovígeras aun se diferencian. Además de ovocitos en crecimiento primario, también se encuentran presentes los ovocitos en alvéolos corticales (Figura 33).	Las gónadas son de color rosa pálido. A contraluz se observa a los ovocitos como pequeñas esferas transparentes (Figura 37).
Maduración media (Mm)	Las lamelas ovígeras son aún evidentes. Los ovocitos en vitelino primario son muy abundantes. Todos los demás estadios de desarrollo están presentes (Figura 34).	Las gónadas tienen un aspecto granular y son de color amarillo claro. Los ovocitos se observan a simple vista (Figura 37).
Maduración tardía (Mta)	No se aprecia una separación entre las lamelas ovígeras. Se distinguen dos poblaciones de ovocitos, una que comprende ovocitos en desarrollo previtelogénico y otra que presenta aquellos que están en su etapa previa a la maduración. En esta etapa se observa una gran cantidad de ovocitos con filamentos de fijación (Figura 35).	Desde la disección del pez se observa un abdomen muy prominente. Las gónadas son de color amarillo intenso; se encuentran llenas de ovocitos que se observan a simple vista (Figura 37).
Maduración final del ovocito	No se registró	No se registró
Regresión (R)	Las lamelas ovígeras nuevamente se diferencian pero ahora contienen folículos post-ovulatorios y ovocitos en crecimiento primario (Figura 36).	La gónada es blanca lechosa y flácida (Figura 37).
Regresado	No se registró	No se registró

ASPECTO HISTOLÓGICO DEL OVARIO SEGÚN SU ESTADIO DE DESARROLLO



Figura 32. Corte longitudinal de un ovario inmaduro, las lamelas ovíferas (Lov) son muy evidentes y en ellas se arreglan ovocitos en crecimiento primario. 250 Aumentos.

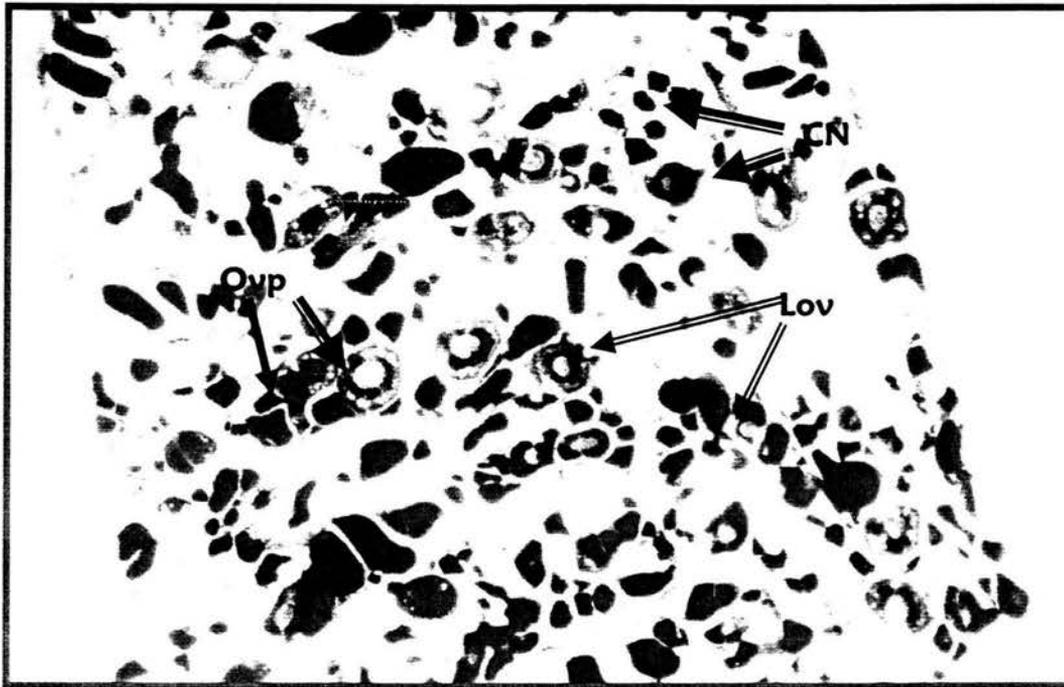


Figura 33. Corte longitudinal de un ovario en maduración temprana, las lamelas ovíferas (Lov) son muy evidentes; el vitelo empieza a depositarse en los ovocitos. Ovp: ovocito vitelino primario; CN: cromatina nucleolar. 250 Aumentos.

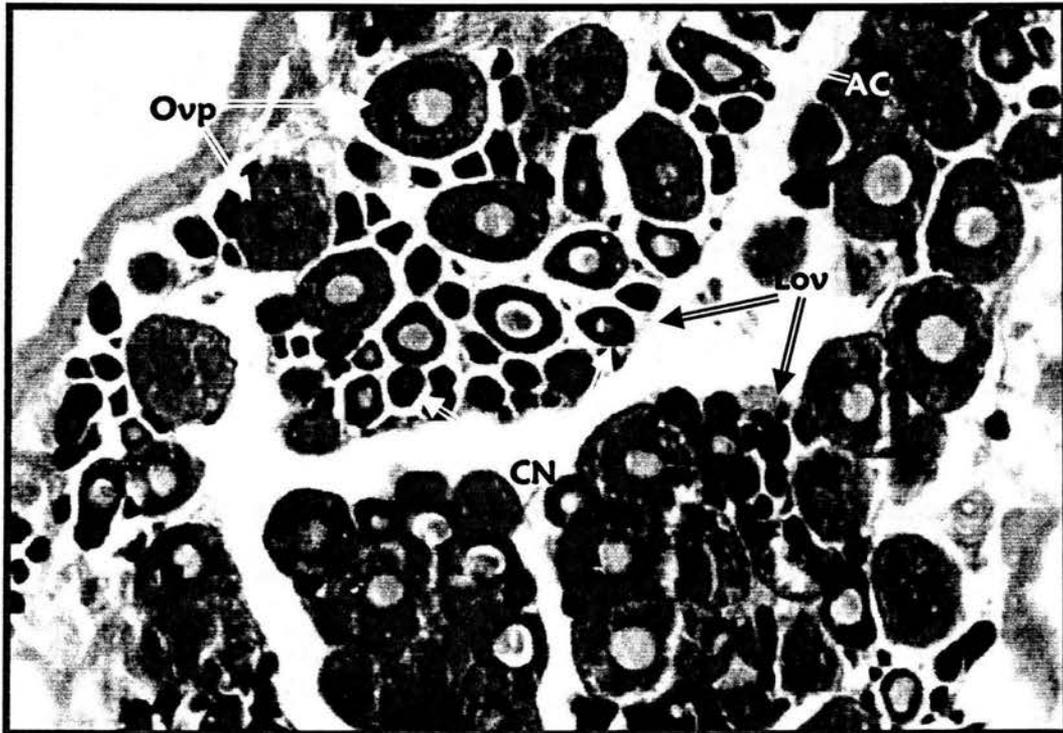


Figura 34. Gónada en maduración media, los ovocitos han seguido creciendo y todavía se observan los espacios entre las lamelas ovígeras (Lov). Ovp: ovocitos en vitelino primario; CN: cromatina nucleolar; AC: alvéolos corticales. 250 Aumentos.

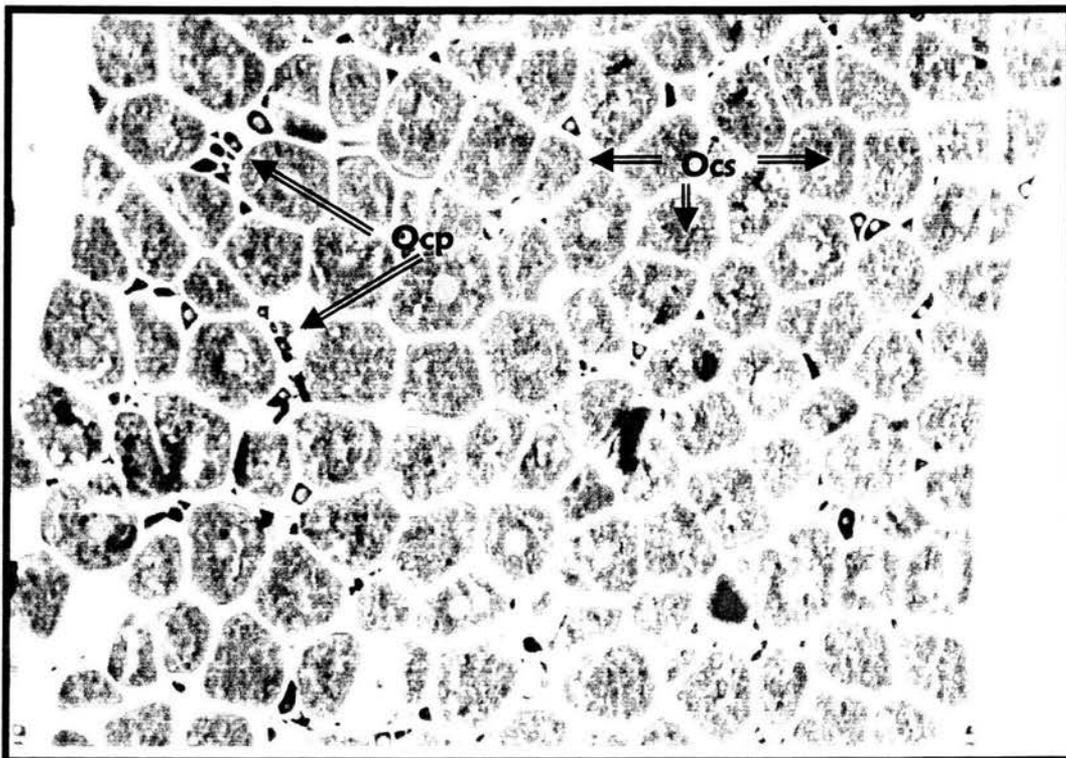


Figura 35. Gónada en maduración tardía la delineación de las lamelas ovígeras se ha perdido y se observa a dos poblaciones de ovocitos: crecimiento primario (Ocp) y secundario (Ocs). 100 Aumentos.

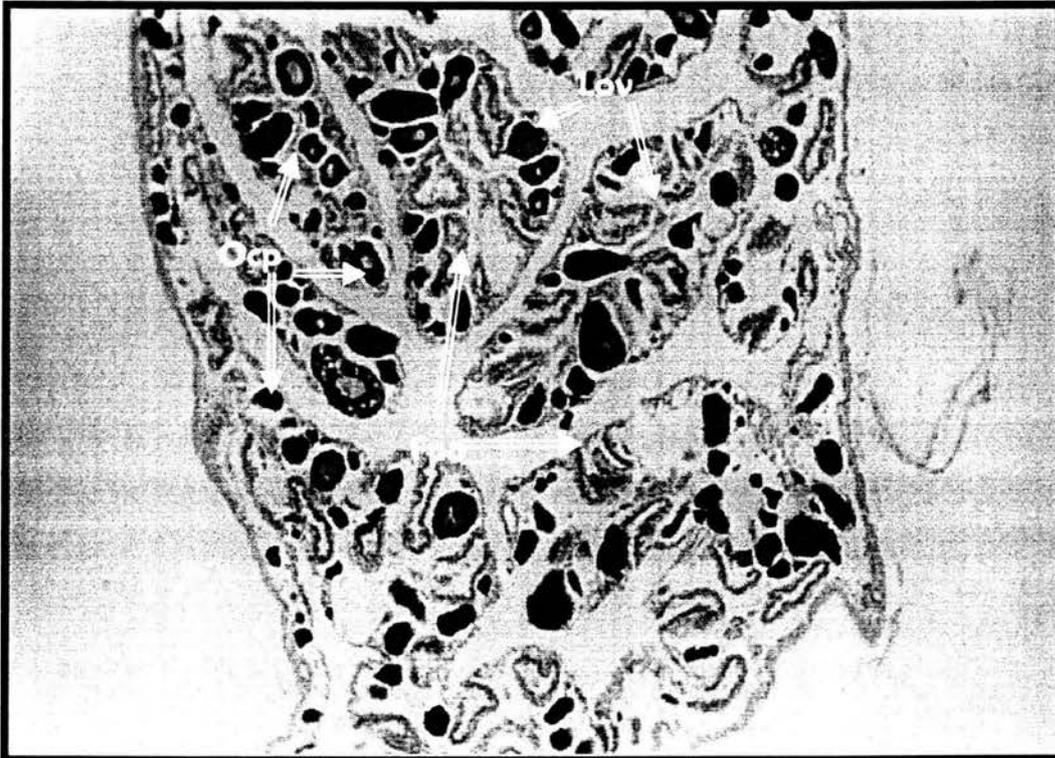


Figura 36. Corte longitudinal de un ovario en regresión. Nuevamente las lamelas ovígeras (Lov) son perceptibles y ahora abundan ovocitos en crecimiento primario (Ocp) y folículos post- ovulatorios (Fpo). 250 Aumentos.

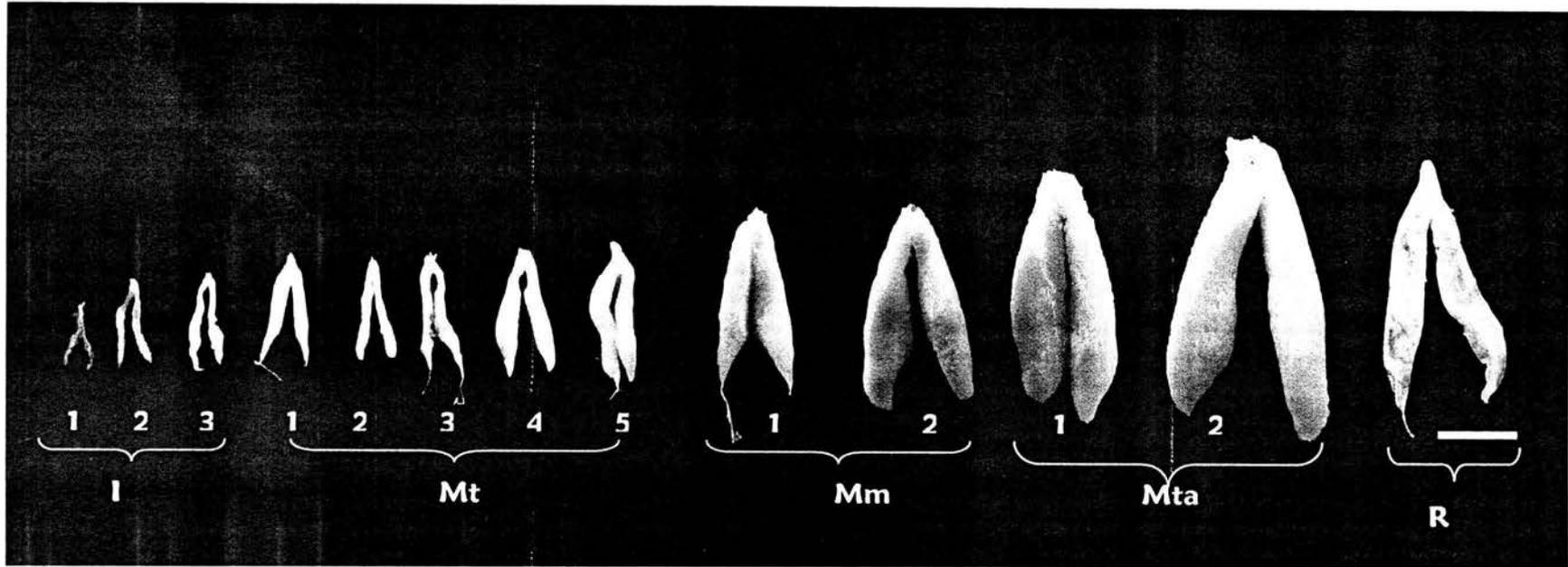


Figura 37. Diferentes estadios de desarrollo de las gónadas de las hembras de *B. ramosus* a nivel macroscópico. Obsérvese los cambios que van presentando mientras van madurando. I: inmadura; Mt: maduración temprana; Mm: maduración media; Mta: maduración tardía; R: regresión. Barra = 5 mm.

GÓNADA		I 1	I 2	I 3	Mt 1	Mt 2	Mt 3	Mt 4	Mt 5	Mm 1	Mm 2	Mta 1	Mta 2	R
Longitud (mm)	O.l	3.46	5.61	6.1	9.08	5.88	7.3	7.25	7.9	9.06	9.22	10.52	10.5	9.08
	O.D	4.12	6.75	5.5	8.77	5.91	7.0	7.0	7.1	9.44	8.81	10.85	11.81	9.71
Peso (g) total		0.00025	0.00264	0.0025	0.00669	0.00408	0.0135	0.0095	0.0125	0.04388	0.05482	0.09041	0.09298	0.01753

ESTIMACIÓN DE LA TALLA DE PRIMERA MADUREZ

La talla a la cual el 50% de las hembras presentó madurez sexual fue de 58 mm, sin embargo, se encontraron organismos maduros desde los 47 mm. Para los machos la talla a la cual el 50% son maduros sexualmente y la talla de primera maduración no se pudieron establecer.

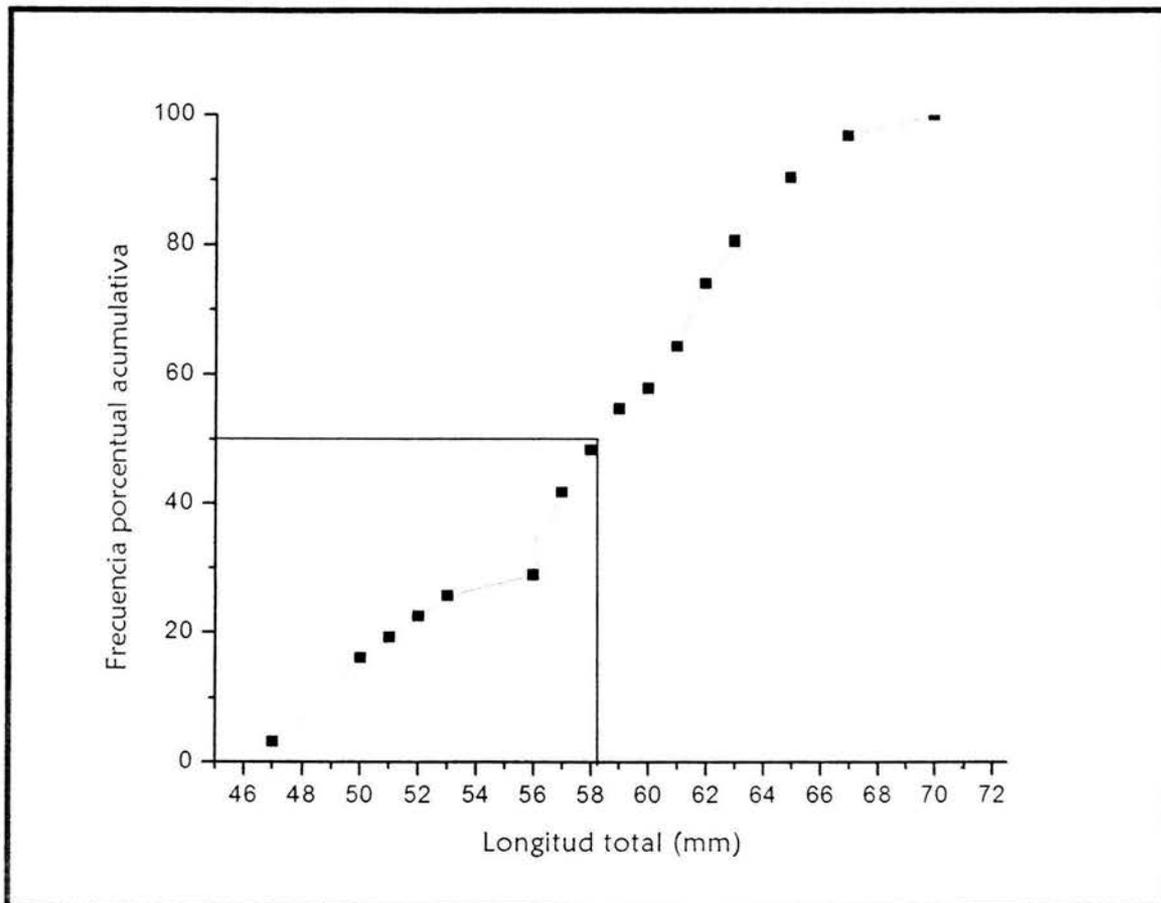


Figura 38. Talla a la cual el 50% de las hembras son sexualmente maduras.

DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA DE LOS TESTÍCULOS

Para realizar la descripción histológica se utilizaron 12 machos comprendidos en intervalos de longitud total de 38 a 81 mm y de peso 0.68 a 6.79 g.

De acuerdo con la clasificación de Billard (1986) *Bathygobius ramosus* presenta un tipo de testículo lobular.

Se observan numerosos lóbulos (delimitados por una delgada capa de fibras de tejido conectivo) dentro de los cuales se disponen un gran número de cistos con diferentes tipos celulares: espermatogonias, espermatocitos, espermátides y espermatozoides (Figura 39). Hacia el centro de los testículos se observa una gran cantidad de células acidófilas, (Figura 40). Se ha propuesto que en estas células se lleva a cabo la síntesis de feromonas.

ESPERMATOGONIAS

Son células ligeramente basófilas por lo cual se tiñen débilmente de morado. Éstas son las células más grandes de los tipos celulares descritos y se observan en las paredes de los cistos. Su forma varía de triangular a redondeada; algunas se observaron unidas por tejido, Shultz y Miura (2002) lo refieren como *puentes citoplasmáticos*). Las espermatogonias observadas, según Billard (1986), pertenecen a espermatogonias B, ya que son éstas las que se encuentran en grupo dentro de un cisto (Figura 41).

ESPERMATOCITOS

Son células más pequeñas que las espermatogonias y, por su disposición en los cistos, dan la apariencia de ser de forma hexagonal. La afinidad por la hematoxilina es mayor que en las espermatogonias (Figura 41).

ESPERMÁTIDES

Son células redondeadas cuyo tamaño se ha reducido en un gran porcentaje, la afinidad a la hematoxilina se acentúa más (Figura 41).

ESPERMATOZOIDES

Son las células más pequeñas y se caracterizan por ser fuertemente basófilas, por lo que se tiñen intensamente de morado. Se observaron situadas en el centro de los lóbulos (Figura 41), en el lumen de los testículos (Figura 40) y en las vesículas seminales (Figuras 43 y 44). Los espermatozoides son de forma redondeada, presentan un núcleo más claro que el citoplasma y carecen de flagelo (Figura 42).

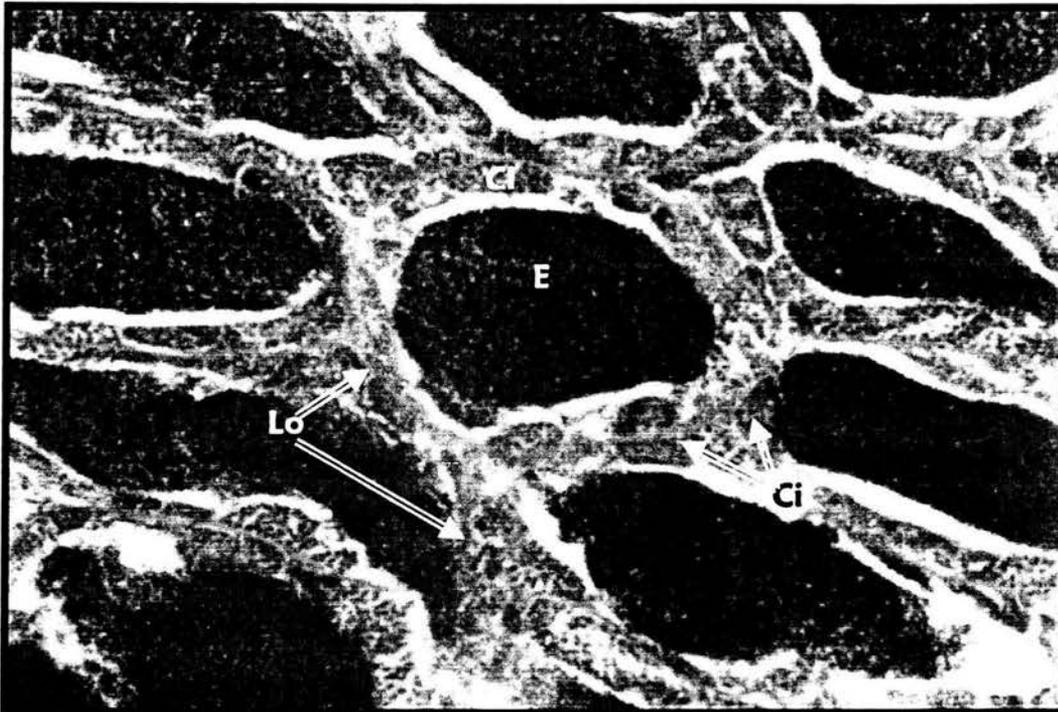


Figura 39. Estructura del testículo. Se observan los lóbulos con una gran cantidad de cistos (Ci). Obsérvense la gran cantidad de espermatozoides (E) en el centro de los lóbulos (Lo). 500 Aumentos

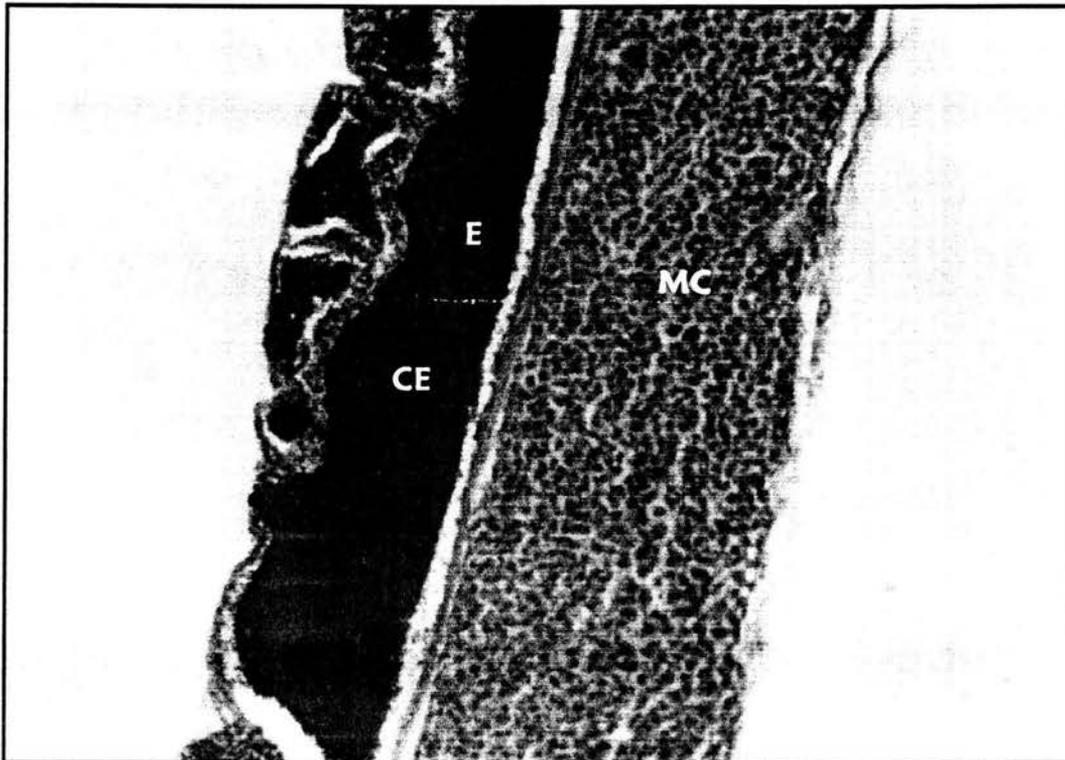


Figura 40. Obsérvese la masa celular acidófila (MC) que está rodeada por los conductos espermáticos (CE) llenos de espermatozoides (E). 500 Aumentos.

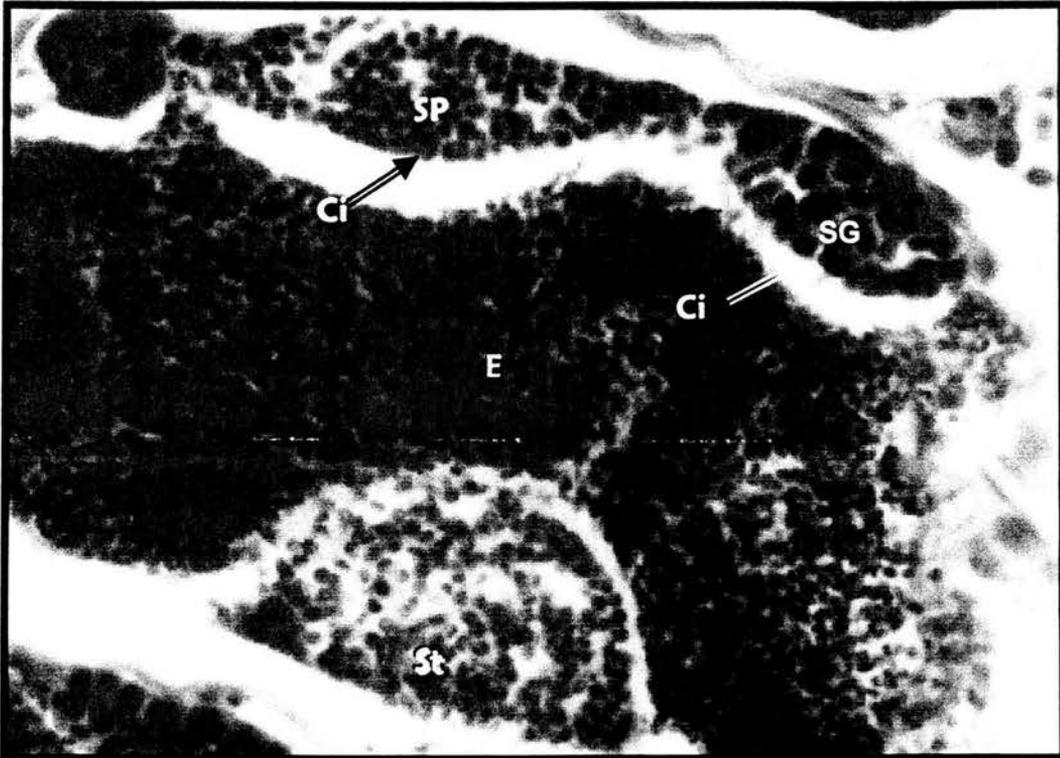


Figura 41. Diferentes tipos celulares organizados en los cistos (Ci) dentro del l6bulo. Hacia el centro se encuentran una gran cantidad de espermatozoides (E). SG: espermatozonias; SP: espermatozonitos; St: esperm6tidos. 2000 aumentos.

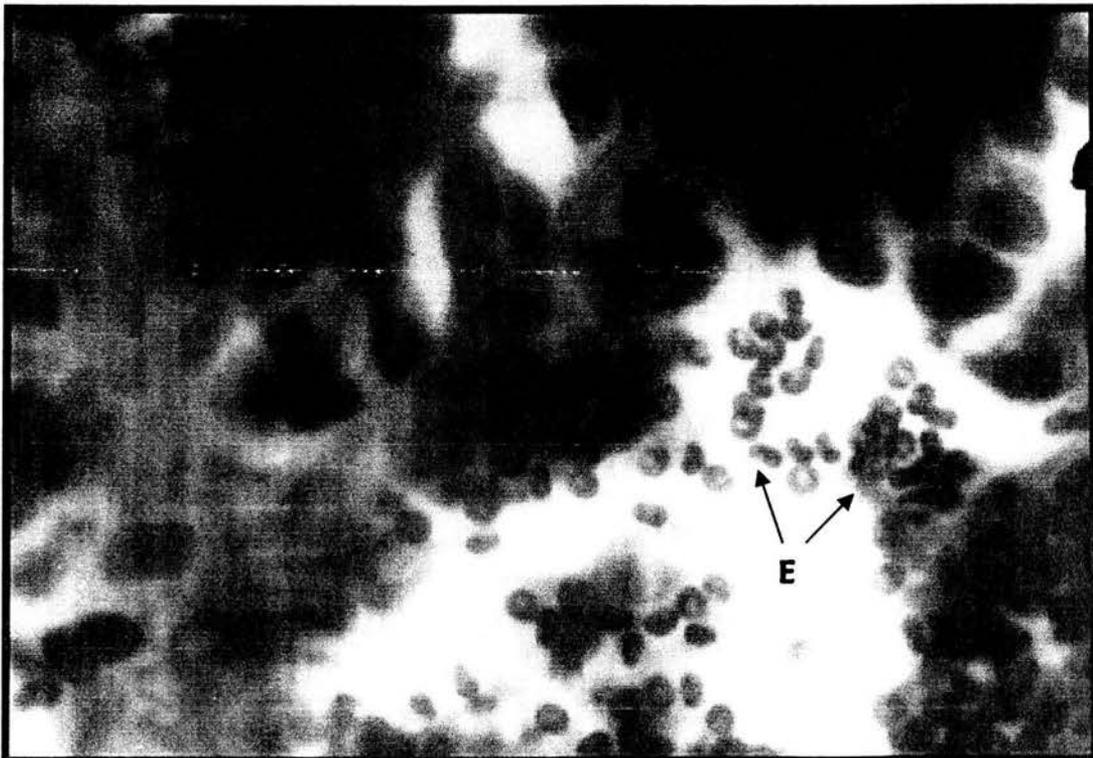


Figura 42. N6tese la forma redondeada de los espermatozoides (E) y el contraste entre el n6cleo y el citoplasma. 5000 Aumentos.

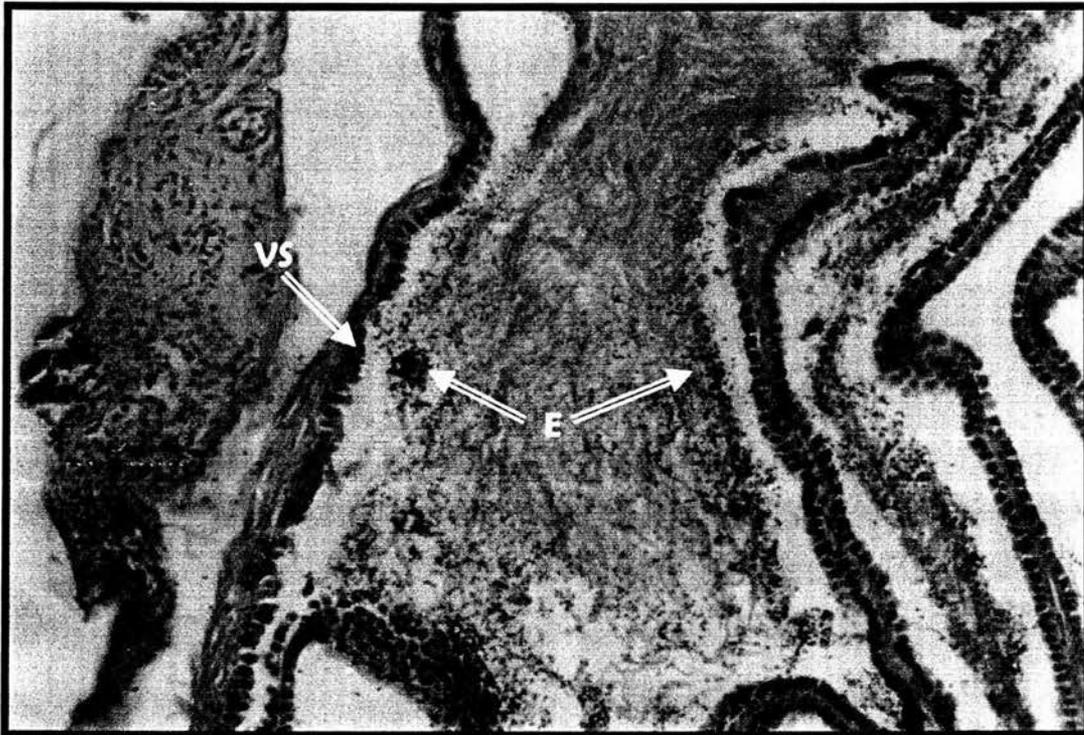


Figura 43. Corte transversal de una vesícula seminal (Vs) en donde se observa una gran cantidad de espermatozoides (E).500 Aumentos.

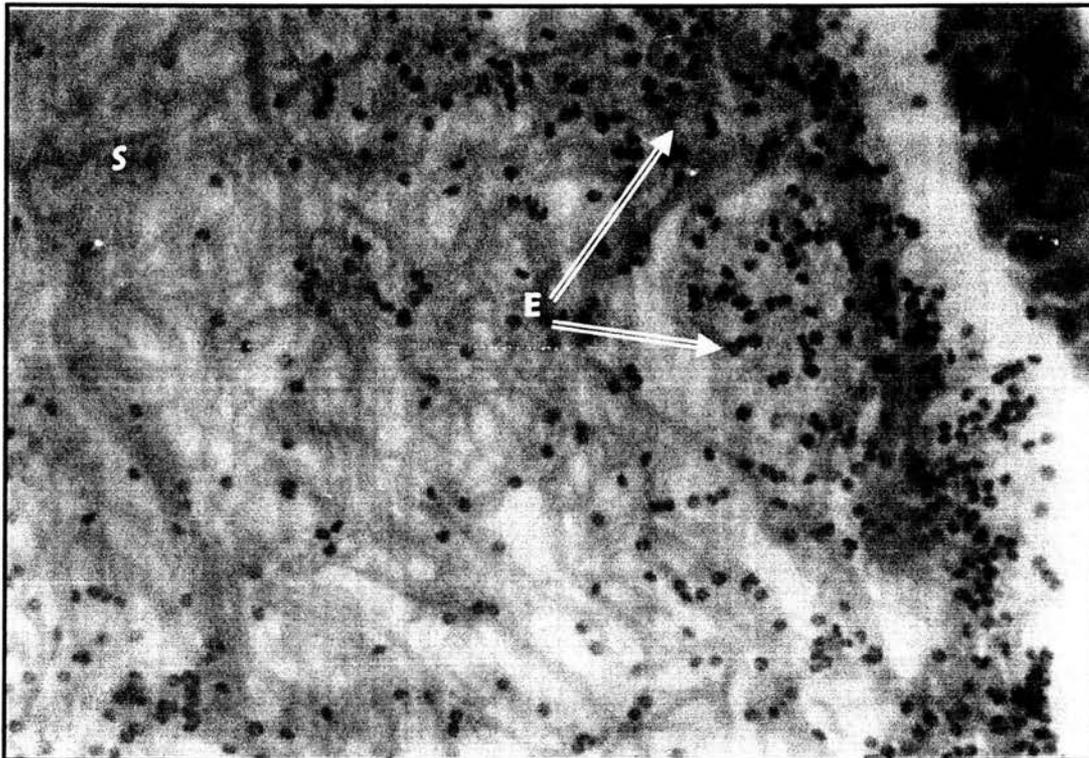


Figura 44. Aumento de un corte de vesícula seminal en donde se aprecia a los espermatozoides (E) inmersos en lo que se sugiere sea una secreción (S). 2000 Aumentos.

CLASES REPRODUCTIVAS DE LOS MACHOS

CLASE REPRODUCTIVA		CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DEL TESTÍCULO	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DEL TESTÍCULO
Inmadura ⁶		No se registró	No se registró
En maduración.	Maduración temprana ⁷	Hay una elongación de los lóbulos y un aumento en su número. Los espermatozoides empiezan a dirigirse hacia los conductos espermáticos (Figuras 45, 46).	Gónadas y vesículas seminales en un amplio intervalo de tamaños y colores (Figura 49).
	Maduración media		
Maduración tardía		Los cistos están completamente llenos de espermatozoides; muchos lóbulos se han roto y han vertido los espermatozoides a los conductos espermáticos (Figura 47).	Testículos y vesículas seminales de color blanco lechoso. A simple vista se alcanza a ver los lóbulos (Figura 49).
Regresión		Los lóbulos se encuentran casi vacíos, presentan algunos espermatozoides residuales. En los cistos, las esperma-togonias son los tipos celulares predominantes (Figura 48).	Gónadas y vesículas seminales flácidas.
Regresado		No se observó	No se observó

⁶ En los cortes histológicos que se efectuaron en machos muy pequeños (39 mm LT) se observaron lóbulos completamente llenos de espermatozoides características que no corresponden con un testículo inmaduro (Figura 45).

⁷ No hay un patrón de características que permita clasificarlos en una u otra clase reproductiva, por lo que se decidió unir a las dos clases en una sola.

ASPECTO HISTOLÓGICO DE LAS GÓNADAS SEGÚN SU ESTADIO DE DESARROLLO

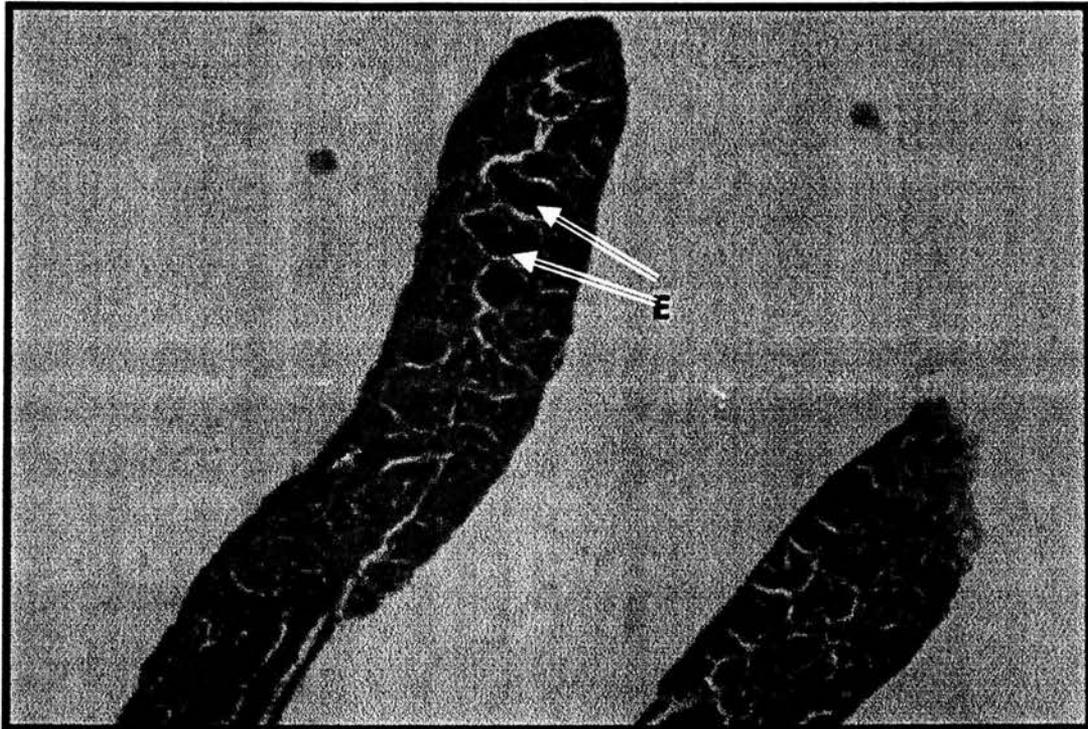


Figura 45. Maduración temprana-media. Obsérvese el tamaño de la gónada la cual contiene una gran cantidad de espermatozoides (E) en el centro de los lóbulos. 250 Aumentos.

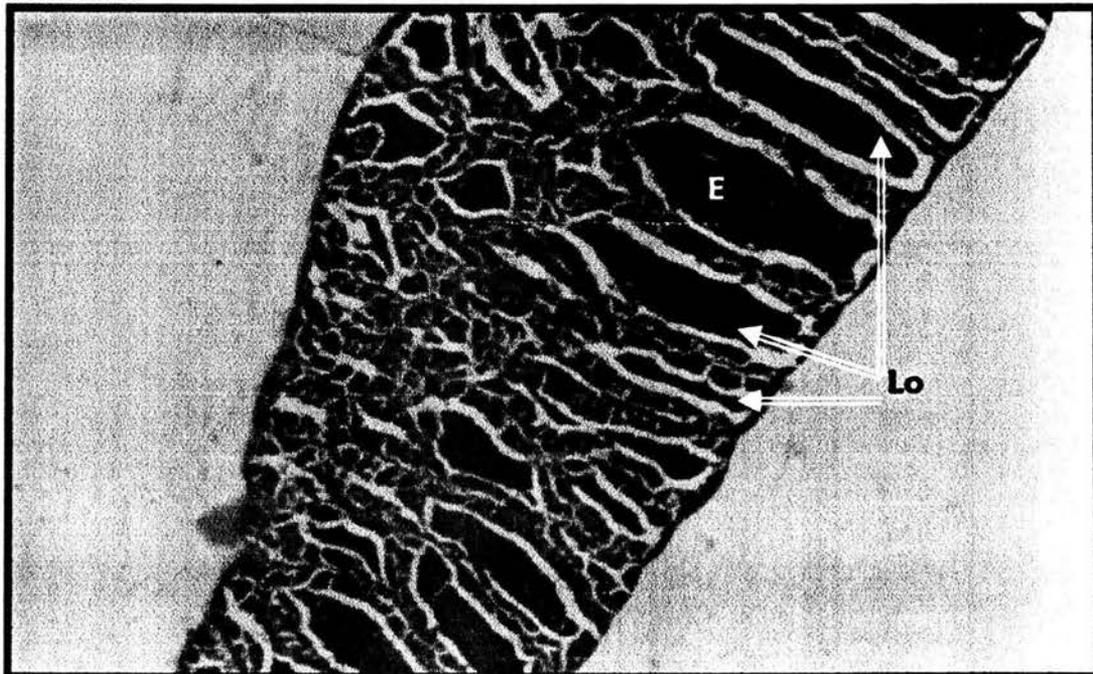


Figura 46. Maduración temprana-media. La gónada continua con su maduración. Algunos lóbulos (Lo) tienen una gran cantidad de espermatozoides (E) y en otros la producción de estos está comenzando otra vez. 200 Aumentos.

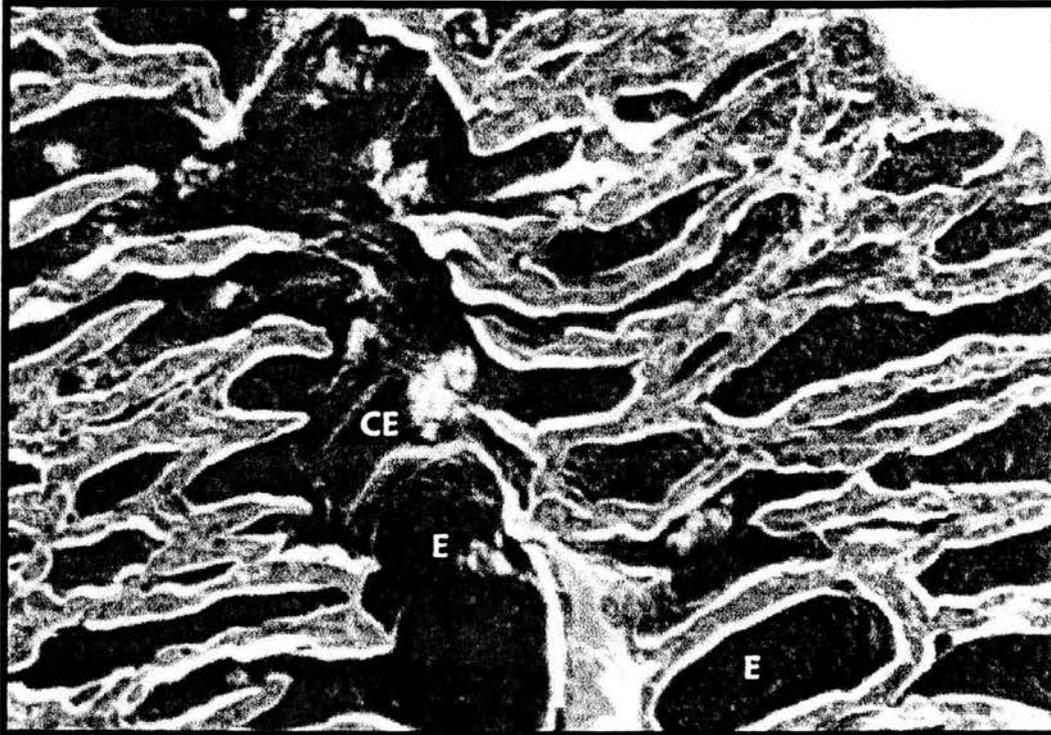


Figura 47. Gónada en maduración tardía. Dentro de los lóbulos se observa una gran cantidad de espermatozoides (E) y otros tipos celulares. Algunos lóbulos se han roto y han liberado el esperma dentro de los conductos (CE). 200 Aumentos.

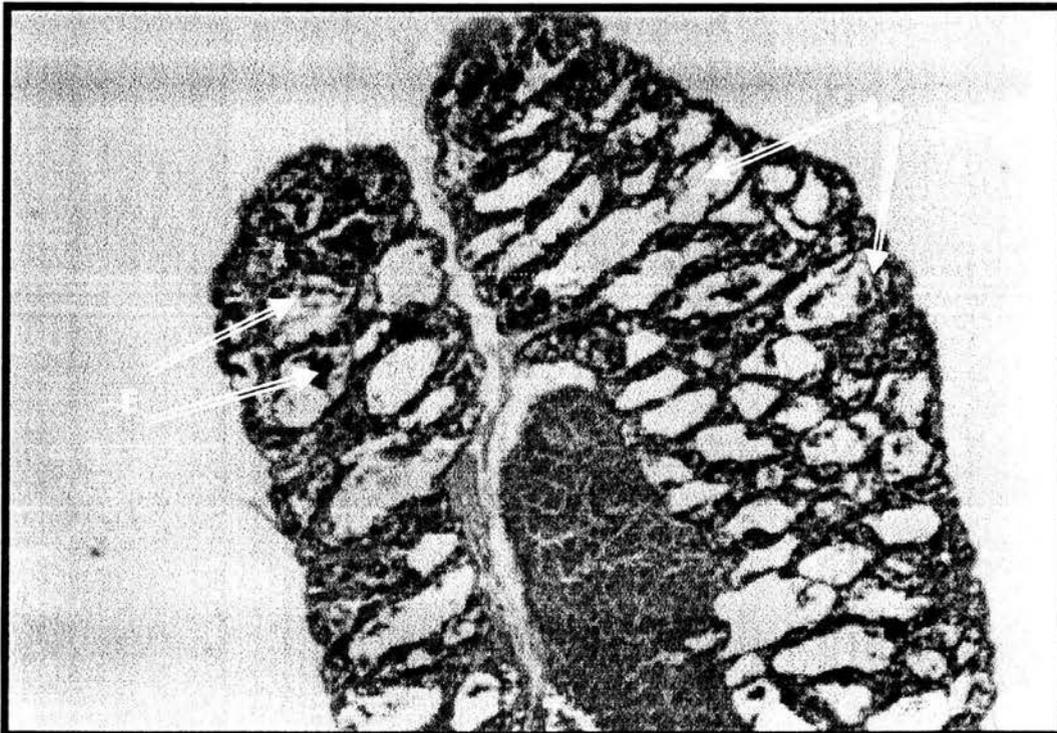


Figura 48. Gónada en regresión. Obsérvese que los lóbulos (Lo) están vacíos, sólo hay algunos espermatozoides residuales (E). 200 Aumentos.

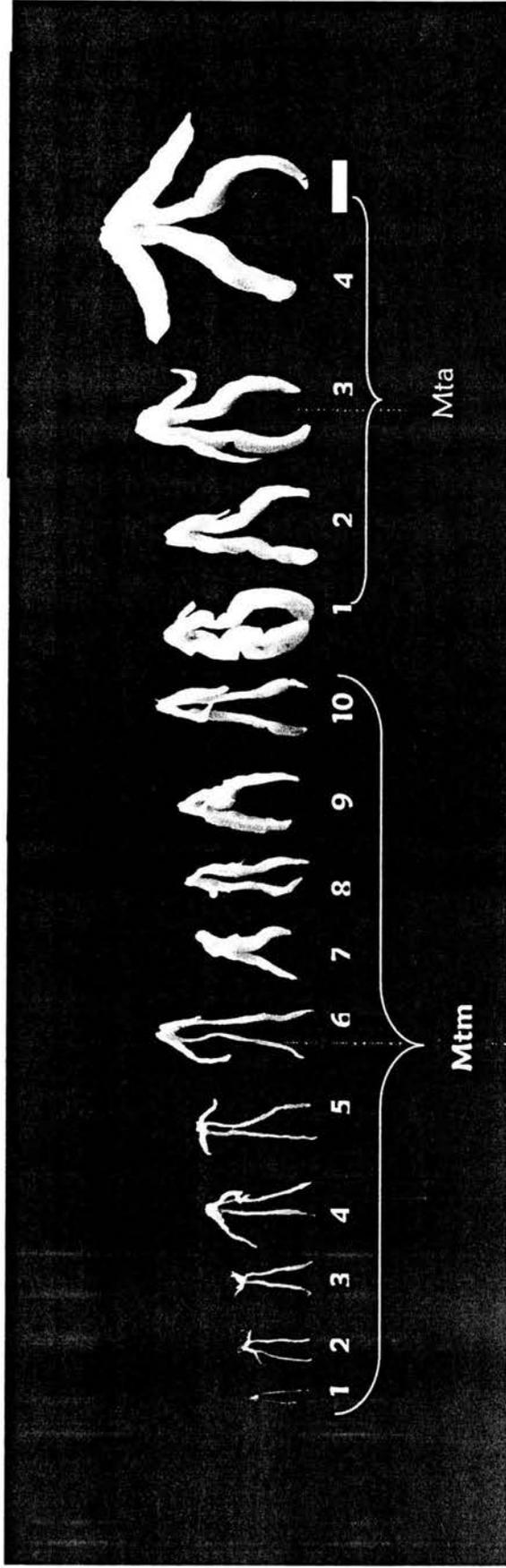


Figura 49. Diferentes estadios de desarrollo de las gónadas de los machos de *B. ramosus* a nivel macroscópico. Obsérvese los cambios que van presentando mientras van madurando. Mtm: maduración temprana-media (en maduración); Mta: maduración tardía. Barra = 5.0 mm.

GÓNADA		Mtm 1	Mtm 2	Mtm 3	Mtm 4	Mtm 5	Mtm 6	Mtm 7	Mtm 8	Mtm 9	Mtm 10	Mta 1	Mta 2	Mta 3	Mta 4
Longitud (mm)	O.I	4.41	5.43	7.27	9.44	10.33	13.08	9.69	9.1	9.10	11.1	10.38	13.25	10.66	17.37
	O.D	4.82	6.37	7.44	10.62	10.31	13.19	7.86	1.06	11.44	12.2	10.75	13.03	15.3	18.77
Peso (g) total		0.00002	0.00023	0.00062	0.00659	0.00376	0.00880	0.00932	0.01074	0.02228	0.01446	0.04364	0.03113	0.04600	0.09024

DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIA DE LAS CLASES REPRODUCTIVAS EN LAS ÉPOCAS DE MUESTREO.

El análisis temporal de las clases reproductivas de las hembras de *B. ramosus* muestra que en las cuatro épocas de muestreo se encuentran organismos en regresión (figura 50). Así mismo en julio y octubre cuando los porcentajes de individuos en esta clase son bajos, se presentan las mayores proporciones de hembras en maduración tardía. Dado que en todas las épocas de muestreo se presenta la mayoría de todas las clases reproductivas incluyendo aquéllas en las que ha ocurrido el desove o que este evento este a punto de ocurrir, es posible decir que *B. ramosus* se reproduce varias veces a lo largo del año.

La frecuencia de cada clase reproductiva de los machos considerando las épocas de muestreo, muestra una tendencia similar a la de las hembras (Figura, 51). Durante todo el año fue posible encontrar individuos en maduración tardía, es decir, próximos a llevar a cabo el evento reproductivo, y de julio a diciembre se presentaron organismos en regresión. Estos resultados permiten suponer que durante todo el año los machos están en posibilidad de fecundar a los ovocitos en el momento en que las hembras los depositan en las oquedades en donde ocurre la freza.

Así mismo el intervalo de temperatura registrado en la zona de estudio, parece no ser un factor limitante para el éxito reproductivo de esta especie.

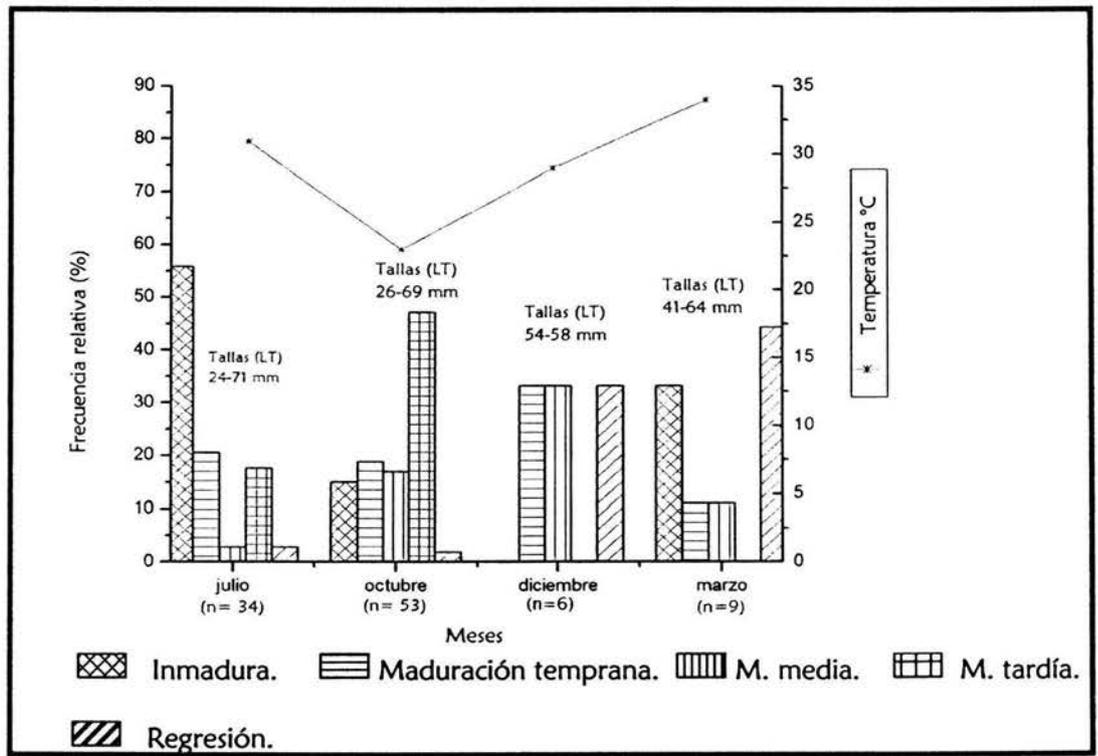


Figura 50. Porcentaje de clases reproductivas en las hembras por época de muestreo.

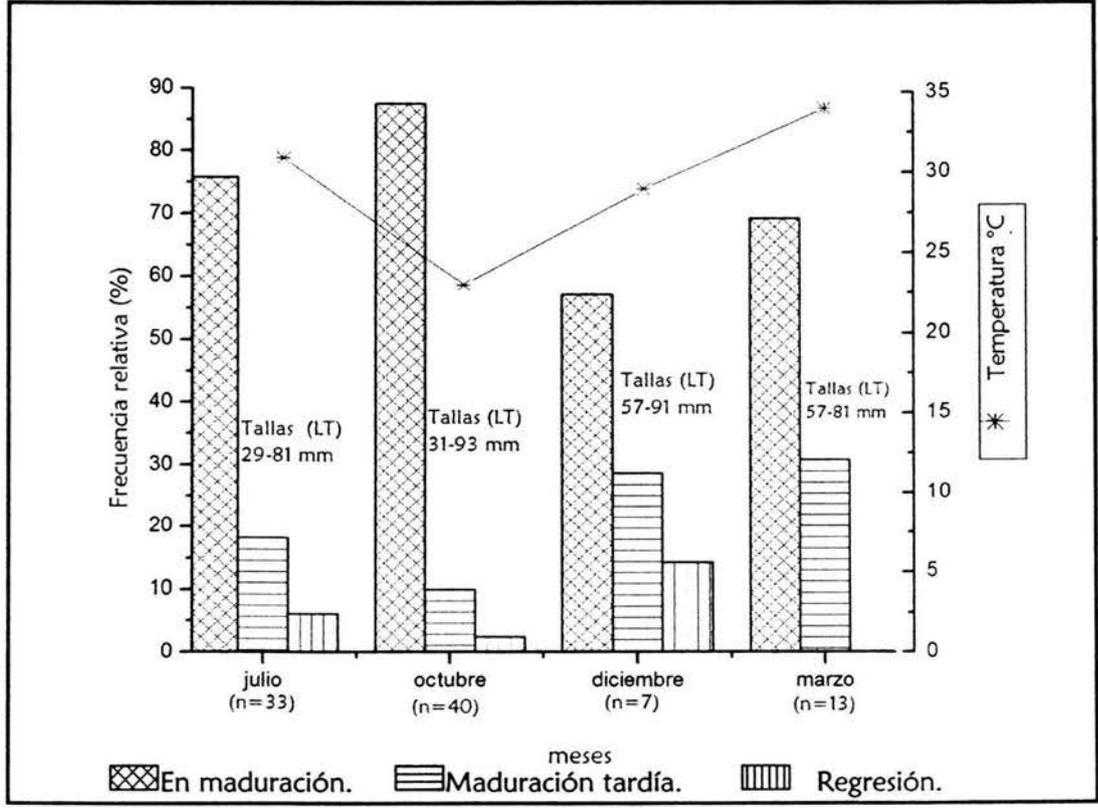


Figura 51. Porcentaje de clases reproductivas en los machos por época de muestreo

VIII. DISCUSIÓN

La zona intermareal experimenta frecuentes y dramáticas fluctuaciones en las condiciones ambientales, amenazando a sus habitantes con desecación en caso de exposición al aire, enfrentándolos con variaciones en la salinidad, la temperatura y en la disponibilidad de oxígeno, que pueden ser letales para otras especies. De esta manera los peces residentes están adaptados para enfrentar estos cambios (Horn y Gibson, 1988).

El interés que ha despertado el conocimiento biológico de las especies de peces intermareales, se debe precisamente a las adaptaciones que les han permitido explotar estos ambientes.

Junto con las inusuales características anatómicas y fisiológicas, los peces en la zona intermareal tienen despliegues distintivos de comportamiento. El proceso reproductivo en la mayoría de los peces intermareales sigue un patrón particular. La regla general es la presencia de gonocorismo y el cuidado parental de la progenie.

Bathygobius ramosus sigue este mismo patrón, presenta sexos separados con un dimorfismo sexual externo.

La proporción de sexos que se encontró en este estudio fue de 1:1, contrario a lo que Miller (1984) observó en otros gobios durante la estación de freza, en la que hay una reducción aparente en la proporción de machos relacionada con la protección que proporcionan a sus huevos bajo piedras o conchas. Si bien durante la captura de *B. ramosus* se observaron conductas agresivas (cambios de coloración, de verde olivo a negro, despliegues intimidatorios hacia organismos de su misma especie, nados persecutorios y subordinación de los machos más pequeños) las cuales están relacionadas con el cuidado que proporcionan los machos a la puesta, esto no influyó en los resultados finales sobre la proporción de hembras y machos capturados lo que sugiere que la técnica de muestreo utilizada es adecuada para estos ambientes.

El análisis microscópico de los ovocitos permite confirmar que el desarrollo ovárico en *Bathygobius ramosus* es asincrónico, por lo tanto se considera iteróparo, es decir se puede reproducir varias veces a lo largo de su vida.

La maduración de los ovocitos es un proceso continuo y la división de ésta en estadios discretos de desarrollo es difícil, sobre todo en los estadios de transición (Saborido y Junquera, 2003).

Hay numerosas discrepancias entre el número de fases de crecimiento que sufre un ovocito hasta su maduración y por consiguiente hay una gran cantidad de clasificaciones (Saborido y Junquera, 2003).

Con base en Wallace y Selman (1981) observamos que el crecimiento de los ovocitos se da en cuatro principales patrones de desarrollo: crecimiento primario, alvéolos corticales, vitelogénesis verdadera (crecimiento secundario) y maduración.

El patrón de desarrollo de los ovocitos en *B. ramosus* presentó la mayoría de las características descritas para otros teleósteos durante el crecimiento primario y los alvéolos corticales, pero el proceso de vitelogénesis presentó algunas características particulares para la especie. Hacia el final del estadio vitelino terciario los alvéolos corticales se observaron en la periferia del ovocito. Los gránulos de vitelo conservaron su integridad durante del proceso de crecimiento del ovocito, contrario a lo que observaron Wallace y Selman (1981) para *Cyprinodon variegatus*, especie en la que los gránulos de vitelo se fusionan y forman una masa continua.

Así mismo, en las fases del crecimiento secundario se observaron algunas estructuras que en otras especies (representantes de las familias Characidae, Anostomiidae, Gobiidae y Curimatiade) sólo han sido observadas con microscopía electrónica o simplemente no se han observado. Entre ellas están el micrópilo y los filamentos de fijación que son estructuras fundamentales en el proceso reproductivo de la especie. El micrópilo es muy importante para la fertilización del ovocito, dado que asegura que el espermatozoide puede penetrar en el ovocito aun careciendo de acrosoma. Los filamentos de fijación aseguran los

huevecillos a las paredes de las oquedades en las que ocurre el desove. En *B. ramosus* se observó un plexo de filamentos, mientras que Peralta (1991) encontró solamente dos filamentos en los ovocitos de *Chirostoma estor copandaro*.

Otras estructuras que se observaron en los cortes histológicos de las gónadas de las hembras fueron los cromosomas plumosos en el núcleo del ovocito, cuya presencia es una consecuencia de la gran cantidad de síntesis proteica que se lleva a cabo en los ovocitos y los cuales, según Wallace y Selman (1981), no son visibles fácilmente en las preparaciones histológicas de rutina.

El proceso final de maduración sólo se completa justo antes del desove y esto puede ser la causa de que los ovocitos observados en el período de maduración fueran escasos.

El proceso de atresia también fue visible en los cortes histológicos de las gónadas de *B. ramosus*, aunque sólo se observó en aquellas que habían entrado en un estado de crecimiento secundario. En este sentido, la información bibliográfica sobre el proceso de atresia sugiere que cuando los ovocitos entran a los estados de alvéolo cortical y durante su posterior desarrollo, la atresia no juega un papel importante en el control fisiológico normal del ovario (Tyler y Sumpter, 1996). En cambio, hacia el final de la estación de reproducción, se considera como un proceso de *limpieza*, particularmente en los peces que tienen ovarios asincrónicos. Wallace y Selman (1981) mencionan que la atresia es un proceso poco común en hembras fisiológicamente saludables.

El aspecto macroscópico de los ovarios cambia notablemente a medida que avanza el desarrollo de los ovocitos, por lo que es posible apreciar cambios en el tamaño y en la textura de los ovarios, mismos que permitieron establecer una correlación entre las características histológicas del tejido y su aspecto macroscópico.

En relación a los machos y según Billard (1986), entre los teleósteos se pueden distinguir dos grandes grupos que se diferencian por la fisiología (fertilización externa o interna), morfología (estructura del testículo y espermatozoide) y características bioquímicas (transformación de proteínas nucleares, presencia o ausencia de reserva de energía en el espermatozoide) de su reproducción.

El tipo de testículo que presenta *B. ramosus* según Billard (1986) es lobular. Grier (1981) propone otra clasificación (debido al uso indistinto de los términos lobular y tubular) para referirse a los tipos de testículos de los teleósteos. Esta clasificación se basa en la disposición de las espermatogonias. Así, menciona que hay dos tipos de testículos: el *espermatogonial restringido* y el *espermatogonial no restringido*. En el primero, las espermatogonias se disponen al final del túbulo inmediatamente debajo de la túnica albugínea donde se asocian con las células de Sertoli. En el tipo no restringido las espermatogonias se unen a lo largo de la longitud total del túbulo. Sin embargo las características microscópicas que hacen posible la separación de tipos estructurales es básicamente la misma, es decir se puede considerar que el *testículo espermatogonial restringido* corresponde al tipo tubular y el *espermatogonial no restringido* corresponde al tipo lobular.

En el análisis de los cortes histológicos de los machos de *B. ramosus*, la clasificación de los tipos celulares dentro del cisto se dificultó debido a que las células son muy pequeñas. Por esta razón, los tipos de espermatocitos (primarios o secundarios) y espermatogonias no se pudieron identificar.

Bathygobius ramosus, al igual que otras especies que presentan fertilización externa y liberan sus gametos al agua, tienen espermatozoides con núcleos redondos, aflagelados y desprovistos de acrosoma. Algunos autores han considerado a estos tipos de espermatozoides como un tipo primitivo. Sin embargo, Pudney (1995) considera que la ausencia del acrosoma es una

consecuencia del método de fertilización en el cual los espermatozoides tienen acceso al óvulo vía el *micrópilo*, haciendo así inútil la presencia del acrosoma. Por lo tanto, más que considerarlos primitivos, la presencia o ausencia de caracteres morfológicos se relaciona con las estrategias reproductivas de cada especie.

Ubicar dentro de una clase reproductiva a cada macho en particular fue más difícil que en las hembras. Si bien a nivel macroscópico se observaron cambios en el tamaño y coloración de las gónadas, microscópicamente no se presentaron variaciones en los testículos que permitieran clasificarlos de acuerdo con la escala de madurez descrita en la bibliografía, al menos para los primeros estadios. Debido a la imprecisión para ubicar a los machos en alguna clase reproductiva la talla a la cual presentan la primera madurez y la talla a la cual el 50 % de machos son sexualmente maduros no se determinó.

La literatura menciona que los machos inmaduros sólo presentan cistos en los cuales las espermatogonias son los únicos tipos celulares presentes, y en *B. ramosus* esto no ocurrió, ya que los cortes histológicos de machos pequeños (38 mm LT) sometidos a esta técnica ya muestran una gran cantidad de espermatozoides en el centro de los lóbulos. Por lo tanto para este trabajo, sólo se distinguieron claramente dos clases reproductivas: maduración tardía (con cistos rotos y conductos llenos de espermatozoides) y regresión (en donde los lóbulos solamente contenían espermatozoides residuales). Las gónadas que no pertenecieron a ninguna de estas clases se agruparon en otra clase (maduración temprana-media).

Si bien estos datos sugieren que los machos de *B. ramosus* maduran tempranamente esto se debe de analizar desde dos perspectivas. Primero, la habilidad competitiva de los machos está relacionada con su tamaño (Fuller, 1999) por lo tanto se puede esperar que los machos de *B. ramosus* al proporcionar los cuidados parentales se reproduzcan a tallas relativamente grandes, ya que necesitan el tamaño adecuado para poder defender a sus huevos tanto de los

depredadores intraespecíficos como interespecíficos; en segundo lugar los machos de tallas relativamente pequeñas (38 mm LT) encontrados con una gran cantidad de espermatozoides han invertido una gran cantidad de energía en la producción y maduración de las células sexuales. En términos evolutivos, estos costos necesariamente deben de traducirse en beneficios, por lo que se puede considerar que en *B. ramosus* también se presenta el fenómeno conocido como *sneaker*, reportado para *B. fuscus* (Taru *et al.* 2002) y para *Etheostoma caeruleum* (Fuller, 1999). En estas especies los machos pequeños aprovechan algún descuido de los machos parentales para entrar en el nido y fertilizar a los ovocitos mientras la hembra está desovando. De esta forma los machos pequeños aseguran la supervivencia de sus genes aunque el cuidado de su progenie lo lleve a cabo el macho parental; así la inversión de energía en la producción de células sexuales no habrá sido inútil.

Por otro lado, *Bathygobius ramosus* es uno de los pocos representantes de los distintos grupos de teleósteos que presentan órganos sexuales accesorios representados, en este caso, por las vesículas seminales y cuya función es la síntesis de esteroides, principalmente de glucoronidas, que sirven como feromonas durante la reproducción (Seiwald y Patzner, 1989).

Contrario a lo que sucede en los machos, en las hembras de *B. ramosus* la talla de primera madurez sí se pudo establecer, ya que desde que se lleva a cabo la disección del organismo se observa un vientre muy prominente e histológicamente el desarrollo de los ovocitos casi está por finalizar. La hembra madura más pequeña que se encontró, tenía una longitud total de 47 mm. El 50% de la población, madura a una talla estimada de 58 mm.

B. ramosus se encuentra entre los organismos que despliegan fascinantes estrategias que les permiten sobrevivir en un ambiente tan variable como el de la zona intermareal: en esta zona los huevos pueden ser destruidos por la acción de las olas y la exposición a la desecación por lo cual esta especie (al igual que otras especies intermareales) utiliza refugios para el desove que generalmente se localizan en oquedades bajo las rocas (Badillo 2003); presentan huevos

demersales con filamentos que les permiten adherirse al sustrato, al mismo tiempo que presentan un micrópilo; estas estructuras permiten que el espermatozoide llegue a los ovocitos para fertilizarlos sin necesitar flagelo ni acrosoma, ya que el espermatozoide no tiene que recorrer una gran distancia para encontrar al ovocito al estar fijos en un sustrato y no a la deriva como en muchas otras especies. La fertilización se asegura al llevarse a cabo en los refugios y la sobrevivencia de la progenie la asegura el cuidado parental proporcionado por los machos.

Para maximizar el éxito reproductivo, un individuo debe repartir sus recursos energéticos adecuadamente y además, debe procurar que su descendencia nazca en las condiciones medioambientales adecuadas. Por lo tanto la estacionalidad con que se produce el desove es de vital importancia para el futuro desarrollo y supervivencia de la descendencia (Saborido y Junquera, 2003).

Las fluctuaciones de los parámetros ambientales que se registran en la zona intermareal imponen a los organismos adecuaciones adaptativas para vivir en estos ambientes. Si bien la temperatura presente en las épocas de muestreo muestra fluctuaciones notables (23 a 34 °C), es importante señalar que los cambios son más grandes en escalas de tiempo cortas, como lo es el ciclo mareal, que estacionalmente, y para *B. ramosus* los cambios en la temperatura aparentemente no representa un factor limitante para que la especie lleve a cabo el proceso reproductivo.

Al encontrar organismos pertenecientes a todas las clases reproductivas en las pozas de marea es posible sugerir que *Bathygobius ramosus* lleva a cabo todo su ciclo reproductivo en la zona intermareal.

IX. CONCLUSIONES

- *Bathygobius ramosus* presenta sexos separados y dimorfismo sexual externo.
- *B. ramosus* presenta desarrollo ovárico asincrónico, por lo tanto se puede reproducir varias veces a lo largo de su vida.
- La talla a la cual el 50% de las hembras de *B. ramosus* son sexualmente maduras, se estableció en 58 mm de longitud total.
- La talla de primera maduración para las hembras de *B. ramosus* se estableció en 47 mm de longitud total.
- En los ovocitos observados en los cortes histológicos de las gónadas que están en período de maduración tardía, son evidentes el micrópilo y los filamentos de fijación. El micrópilo es una estructura muy importante para la fertilización del ovocito mientras que los filamentos de fijación permiten que el ovocito se fije al sustrato.
- Los machos de esta especie presentan un tipo de testículo lobular y estructuras sexuales accesorias representadas por las vesículas seminales.
- Los espermatozoides carecen de flagelo.
- La presencia de organismos pertenecientes a todas las clases reproductivas en las pozas de marea aporta evidencias para considerar que *Bathygobius ramosus* lleva a cabo todo su ciclo reproductivo en la zona intermareal.

X. LITERATURA CITADA

- Abad, S. A. (1996). Estudio morfológico, macro y microscópico de las gónadas de *Gobionellus hastatus*, Girard, en diferentes etapas de desarrollo. Tesis de licenciatura, ENEP-Iztacala, UNAM.
- Aguilar, M., Coutiño, B. B. y Salinas, R. P. (1996). Manual general de técnicas histológicas y citoquímicas. Facultad de Ciencias. UNAM. 129 p.
- Alcaraz, G., Vanegas, C. y X. Chiappa-Carrara. (2002). Metabolic rate of *Bathygobius ramosus* upon a natural daytime cycle. *Oceanography of the Eastern Pacific*, vol. 2. 60-65.
- Allen, G. R. y D. R. Robertson. (1994). *Fishes of the tropical eastern Pacific*. University of Hawaii Press, Honolulu. 332 p.
- Almada, V. y Serrão-Santos, R. (1995). Parental care in the rocky intertidal. A case study of adaptation and expatriation in Mediterranean and Atlantic blennies. *Rev. In Fish Biol. and Fish.* 5: 23-37.
- Aragón, H. A. (2003) *Bathygobius ramosus*: un ejemplo de orientación, reconocimiento y fidelidad al sitio. Tesis de Maestría. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. UNAM.
- Badillo, A. L. (1998). Aspectos reproductivos de *Arius malanopus* en el sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz. Tesis de licenciatura, ENEP-Iztacala, UNAM.
- Badillo, A. M. (1998). Algunos aspectos de la biología de *Gobionellus hastatus* (Familia:Gobiidae) en el sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz. Tesis de licenciatura, ENEP-Iztacala, UNAM.
- Badillo, A. M. (2003). Bioenergética y temperatura crítica máxima de *Bathygobius ramosus*, Ginsburg 1947. Tesis de Maestría. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. UNAM.
- Bearez, P. (1995). Lista de los peces marinos del Ecuador continental. Laboratoire d'Ichtyologie Générale et Appliquée, Paris, France.
- Billard, R. (1986). Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reprod. Nutr. Develop.* 26 (4). 877-920 pp.

- Brown, N. J. (2003). The reproductive biology of spotted seatrout. *In: The biology of spotted seatrout*. S. A. Bortone ed. CRC. Press, Boca Raton, Fl. 99-133 pp.
- Cole, K. (1988). Predicting the potential for sex change on the basis of ovarian structure in gobiid fishes. *Copeia*. 1988: 1082-1086.
- Eggert, B. (1931). Die Geschlechtsorgane der Gobiiformes und Blenniformes. *Z. Wiss. Zool.* 139: 249-517.
- Estrada, E. F., Peralta, Z. L. y Rivas, M. P. (1982). Manual de técnicas histológicas. Primera edición. AGT Editor. México, D. F. 140 p.
- DeMartini, E. (1999). Intertidal spawning. *In: Intertidal fishes. Life in two worlds*. Ed. by Horn, M. H., Martin, K and Chotkowski, M. Academic Press, USA. 143-164 pp.
- Fishelson, L. (1989). Bisexuality and pedogenesis in Gobies (Gobiidae: Teleostei) and other fish, or, why so many little fish in tropical seas. *Senckenbergiana marit.* 20: 147-169.
- Fishelson, L. (1991). Comparative cytology and morphology of seminal vesicles in male gobiid fishes. *Japanese Journal of Ichthyology*. 38: 17-30.
- Fuller, R. C. (1999). Cost of group spawning to guarding males in the rainbown darter, *Etheostoma caeruleum*. *Copeia*. 4: 1084-1088.
- Gallardo, T. A. (2002). Análisis de la edad, crecimiento, alimentación y reproducción del barrilete *Katsuwonus pelamis* (Linneo, 1758) en la Bahía de Petacalco, México. Tesis de maestría. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. UNAM. México.
- García, E. (1988). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Offset Larios. México, D. F. 217 p.
- Granado, C. L. (1996). Ecología de peces. Primera ed. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Sevilla. España.
- Grier, H. (1981). Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. *American Zoologist*. 21:345-347.

- Grier, H. (1993). Comparative Organization of Sertoli Cells Including the Sertoli Cell Barrier. *In* The Sertoli cell. D.L. Russell & M. D. Griswold (eds). River Press.
- Hinton, D. E. (1990). Histological Techniques *In*: Methods for fish Biology. Schreck, C. B. and Moyle, P. B. editors. American Fisheries Society. Bethesda, Maryland, USA.
- Horn, M. H. y Gibson, R. N. (1988). Intertidal fishes. *Scientific American*. 258 (1): 64-71.
- Horn, M., H. Martin y M. Chotkowski. (1999). Intertidal fishes, live in two worlds. Academic Press, USA.
- INEGI (2000). Serie I de Imágenes Cartográficas Digitales. Carta Topográfica. Gráfico Imagen Digital. México Sur. Escala 1: 250 000.
- Jones, J. C. y Reynolds, J. D. (1999). The influence of oxygen stress on female choice for male nest structure in the common goby. *Animal Behaviour*. 57: 189-196.
- Lindström, K. y Wennström, C. (1994). Expected future reproductive success and paternal behaviour in the sand goby, *Pomatoschistus minutus* (Pisces, Gobiidae). *Journal of Fish Biology*. 44: 469-477.
- Miller, R.H. K. (1984). The tokology of Gobioid fish. *In*: Pots, G. W. & Wootton, R. J. (Eds.): *Fish Reproduction, Strategies and Tactics*: 119-153; London, New York. Academic Press.
- Nelson, J. (1994). *Fishes of the World*. 3ª edición. Wiley & Sons. 523 p.
- Nikolsky, G. (1963). *The ecology of fishes*. Academic Press. London. 353 pp.
- Orozco, T. R. (1991). *Los peces de México*. Departamento de Hidrobiología, UAM-Iztapalapa. Primera edición. AGT Editor.
- Peralta, C. L. (1991). Ciclo gonádico a nivel histológico en hembras de *Chirostoma estor capandaro* (pescado blanco) en Lago de Pátzcuaro Michoacán. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM.

- Pudney, J. (1995). Spermatogenesis in non mammalian vertebrates. *Microscopy Research and Technique*. 32: 459-497.
- Rathke, H. (1824). Beiträge zur Geschichte der Thierwelt. II. Über den Darmkanal und die Zeugungsorgane der Fische. *Der Schriften der Naturforschenden Gesellschaft zu Danzing, Halle*: vi +210.
- Ríos, H. E. (2002). Modificación de la osmorregulación, balance hidromineral y proteína total en el plasma de *Bathygobius ramosus* (Gobiidae) en respuesta a la variación del oxígeno disuelto, temperatura y salinidad en el medio externo. Tesis de Maestría. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. UNAM.
- Rodríguez, M. R. (1992). Técnicas de evaluación cuantitativa de la gonádica en peces. Primera edición. AGT Editor. México, D. F. 79 p.
- Saborido, F. y Junquera, S. (2003). Ecología de la reproducción y potencial reproductivo en las poblaciones de peces marinos. Curso doutoramento do bienio 2001-2003. Universidade de Vigo.
- Schulz, W. R. y Miura, T. (2002). Spermatogenesis and its endocrine regulation. *Fish Physiology and Biochemistry*. 26: 43-56.
- SEGOB. (1988). Los municipios de Guerrero. Secretaría de Gobernación y Gobierno del Estado de Guerrero. 400 p.
- Seiwald, M. y Patzner, R. A. (1989). Histological, fine-structural and histochemical differences in the testicular glands of gobiid and blenniid fishes. *Journal of fish Biology*. 35: 631-640.
- Selman, K. y Wallace, R. A. (1989). Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. *Zoological Science*. 6: 211-231.
- Taru, M., Kanda, T. y Sunobe, T. (2002). Alternative mating tactics of the gobiid fish *Bathygobius fuscus*. *Japan Ethological Society and Springer-Verlag Tokyo*. 20: 9-12.
- Taru, M. y Sunobe, T. (2000). Notes on reproductive ecology on the gobiid fish *Eviota abax* at Kominato, Japan. *Bulletin of Marine Science*. 66 (2): 507- 612.

- Taylor, R. G., Grier, H. J. y Whittington, J. A. (1998). Spawning rhythms of common snook in Florida. *Journal of Fish Biology*. 53: 502–520.
- Tavalga, W. (1954). Reproductive behavior in the gobiid fish *Bathygobius soporator*. *Bull. of Amer. Mus. Nat. His.* 104: 227-260.
- Thomson, D. A. (1987). Reef fishes of the Sea of Cortez. The rocky-shore fishes of the Gulf of California. The University of Arizona Press, Tucson. 302 p.
- Tyler, C. R. y Sumpter, J. P. (1996). Oocyte growth and development in teleosts. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 6: 287-318.
- Villareal, C. A., Reyes, B. H., Almada, B. B. y Arizpe, C. O. (1999). Los peces del arrecife de Cabo Pulmo, Golfo de California, México: Lista sistemática y aspectos de abundancia y biogeografía. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Departamento de Biología Marina.
- Wallace, R. A. y Selman, K. (1981). Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleost. *Amer. Zool.* 21: 325-343.
- Weisel, G. F. (1949). The seminal vesicles and testes of *Gillichthy*, a marine teleost. *Copeia*. 2: 101-110.
- Yamamoto, K. y Yamazaki, F. (1961). Rhythm of development in the oocyte of the gold-fish, *Carassius auratus*. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* XII: (2)93-110.

ANEXO I
INFORMACIÓN GENERAL DE LOS ORGANISMOS CAPTURADOS EN TRONCONES, GUERRERO

Intervalos de talla para hembras.	2.1-2.5	2.6-3.0	3.1-3.5	3.6-4.0	4.1-4.5	4.6-5.0	5.1-6.0	6.1-6.5	6.6-7.0	7.1-7.5	total
Peso Corporal (g)	0.13	0.26 ± 0.02	0.37 ± 0.02	0.68	0.93 ± 0.03	1.352 ± 0.04	1.99 ± 0.06	2.98 ± 0.1	3.93 ± 0.2	4.06	
n Julio	1	6	2	0	7	3	10	3	1	1	34
n Octubre	0	1	1	1	4	11	20	10	5	0	53
n Diciembre	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	6
n Marzo	0	0	0	0	2	1	5	1	0	0	9
n total	1	7	3	1	13	15	41	14	6	1	102

Intervalos de talla para machos	2.1-2.5	2.6-3.0	3.1-3.5	3.6-4.0	4.1-4.5	4.6-5.0	5.1-5.5	5.5-6.0	6.1-6.5	6.6-7.0
Peso Corporal (g)	-	0.25 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.7 ± 0.06	0.89 ± 0.07	1.24 ± 0.05	1.76 ± 0.1	2.23 ± 0.09	3.1 ± 0.1	3.6 ± 0.1
n Julio	0	2	6	1	1	6	2	4	5	3
n Octubre	0	0	4	5	2	4	4	12	2	1
n Diciembre	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
n Marzo	0	0	0	0	1	1	2	2	2	3
n total	0	2	10	6	4	11	8	19	9	9

Intervalos de talla para machos.	7.1-7.5	7.6-8.0	8.1-8.5	8.6-9.0	9.1-9.5	total
Peso Corporal (g)	5.56±0.71	5.15±0.30	6.60±0.5	6.78	8.61±0.8	
n Julio	0	2	1	0	0	33
n Octubre	2	1	0	1	1	38
n Diciembre	0	2	1	0	2	6
n Marzo	0	1	1	0	0	13
n total	2	6	3	1	3	93

ANEXO II TÉCNICA DE INCLUSIÓN

(Modificada de Hinton, 1990; Aguilar *et al*; 1996)

- ④ Eliminar el fijador lavando abundantemente con agua corriente, hasta que el olor del fijador no se perciba.
- ④ Deshidratar con etanol gradualmente:
 - Etanol 70% (24 horas).
 - Etanol 96% (1 ó 2 horas^{*}).
 - Etanol absoluto (1 ó 2 horas^{*}).
- ④ Aclaramiento con cloroformo I durante 1 ó 2 horas^{*}.
- ④ Aclaramiento con cloroformo II durante 1 ó 2 horas^{*}.
- ④ Inclusión en parafina (56 °C) durante 1, 2 ó 3 horas^{*}.
- ④ Colado del bloque en moldes de plástico, dando la orientación deseada.

^{*} **Dependiendo del tamaño de la gónada.**

ANEXO III

TÉCNICA DE TINCIÓN HEMATOXILINA-EOSINA

(Modificada de Estrada, 1999 y Aguilar *et al.* 1996).

- Desparafinar con xilol I durante 1 hora.
- Desparafinar con xilol II durante 10 minutos.
- Lavar cada laminilla con etanol al 96 %, (limpiar el envés y los costados de cada laminilla con una gasa).
- Cambiar a agua destilada durante 5 minutos.
- Teñir con hematoxilina durante 5 minutos.
- Virar con agua corriente (2 cambios de 10 minutos cada uno).
- Teñir a cada la laminilla con eosina durante un minuto.
- Quitar el excedente de colorante con etanol al 96 %.
- Cambiar a carbol- xilol durante 5 minutos.
- Cambiar a xilol para montar.
- Montar las laminilla con resina sintética.