

00377



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Facultad De Ciencias

ESTRUCTURA MICROSCÓPICA DEL OVARIO Y LA OVOGÉNESIS DE DOS ESPECIES DE PECES VIVÍPAROS: *Poeciliopsis gracilis* (POECILIIDAE) Y *Chapalichthys encaustus* (GOODEIDAE)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)

P R E S E N T A

SANDRA MILENA GUERRERO ESTÉVEZ

DIRECTORA DE TESIS: DR. MARÍA DEL CARMEN URIBE ARANZÁBAL

MÉXICO, D.F.

MAYO, 2005



COORDINACIÓN

m344305



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.



POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS COORDINACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 29 de noviembre del 2004, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Experimental) del(a) alumno(a) **Guerrero Esquivel Sandra Milena** con número de cuenta **501474029** con la tesis titulada: "**Estructura Microscópica del Ovario y la Ovogénesis de dos Especies de Peces Vivíparos: Poeciliopsis gracilis (Poeciliidae) y Chapalichthys encaustus (Goodeidae)**", bajo la dirección del(a) **Dra. Ma. Del Carmen Uribe Aranzábal**.

Presidente:	Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz
Vocal:	Dra. María Elena Ayala Escobar
Secretario:	Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal
Suplente:	Dra. Norma Angélica Moreno Mendoza
Suplente:	Dr. Edmundo Díaz Pardo

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F. a, 19 de mayo del 2005

Dr. Juan José Morrone Lupi
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección General de Estudios de Posgrado (DGEP) por el apoyo económico otorgado mediante una beca de maestría durante el período 2001-2003.

A los miembros del comité tutorial: Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal, Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz y Dr. Edmundo Díaz Pardo, por su asesoría en la realización de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis, Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal, por su apoyo, sus valiosos aportes y su amistad.

A los miembros del Jurado: Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz, Dra. María Elena Ayala Calderón, Dr. Edmundo Díaz Pardo, Dra. Norma Angélica Moreno y Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal, por sus valiosos comentarios para mejorar este trabajo.

A la Dra. Marcela Aguilar por su apoyo en la realización de las técnicas de tinción.

A la Dra. María Luisa Fanjul del Laboratorio de Neurofisiología, Facultad de Ciencias, UNAM, por permitirme el uso del digitalizador de imágenes.

A la M. en C. Patricia Trujillo y al M en C. Topiltzin Contreras de la UAEM, por la donación de veinte ejemplares hembras y machos de *Poeciliopsis gracilis*, para su revisión y disección.

Al Dr. Luis Zambrano por el préstamo de cinco ejemplares hembras de *Chapalichthys encaustus* de la Colección Nacional de Peces, del Instituto de Biología, UNAM, para su revisión y disección.

Al M. en C. Omar Domínguez de la Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo por la donación de quince ejemplares hembras y machos de *Chapalichthys encaustus*, para su revisión y disección.

Al Dr. Luis Zambrano, y a Teo, Joel y Noemí, del Instituto de Biología de la UNAM, por invitarme a sus salidas de campo en Michoacán, donde fue posible coleccionar los ejemplares de *C. encaustus*.

A la familia Vega Ramírez por su apoyo durante la realización de este trabajo.

A mis compañeros y amigos: Vicio: Mejía, Harol Urbano, Adriana Alarcón, Gabino de la Rosa, Juan Carlos Campuzano, Juana Hernández, Eva Mendoza, Arlette Hernández y Nydia Yañez.

*A Erving Javier Y Erving Leonardo,
Con quienes tengo la fortuna de compartir mi vida*

INDICE

Resumen	1
Abstract	2
I. Introducción	3
II. Antecedentes	10
1. Estructura del ovario de peces teleósteos	10
1.1 Especies ovíparas	11
1.2 Especies vivíparas	11
1.2.1 Tipos de gestación	12
1.2.2 Relaciones materno-embriónicas	12
2. Ovogénesis en peces teleósteos	14
2.1 Especies ovíparas	15
2.2 Especies vivíparas	18
2.3 Atresia folicular	20
3. Aspectos reproductivos de la familia Poeciliidae	21
4. Aspectos reproductivos de la familia Goodeidae	23
5. Aspectos reproductivos de <i>Poeciliopsis gracilis</i>	23
6. Aspectos reproductivos de <i>Chapalichthys encaustus</i>	24
III. Justificación	25
IV. Objetivos	25
V. Hipótesis	26
VI. Material y Métodos	27
1. Áreas de estudio	27
2. Recolecta	28
3. Procesamiento histológico	28
4. Análisis estadístico	30
VII. Resultados	35
1. Características generales del ovario de <i>Poeciliopsis gracilis</i> y <i>Chapalichthys encaustus</i>	35
2. Estructura ovárica y ovogénesis en <i>Poeciliopsis gracilis</i>	36
2.1 Estructura microscópica del ovario	36
2.2 Ovogénesis	36
2.3 Atresia folicular	39
2.4 Presencia de espermatozoides	39
2.5 Etapas reproductivas	40
3. Estructura ovárica y ovogénesis en <i>Chapalichthys encaustus</i>	56
3.1 Estructura microscópica del ovario	56
3.2 Ovogénesis	56
3.3 Atresia folicular	59
3.4 Presencia de espermatozoides	59
3.5 Etapas reproductivas	60
4. Cambios morfométricos de las variables microscópicas	73
VIII. Discusión	78
IX. Conclusiones	96
X. Literatura citada	98

RESUMEN

El ovario de teleósteos vivíparos es de gran interés por ser el sitio donde ocurren la ovogénesis, la fertilización y el desarrollo embrionario. El presente trabajo analiza la estructura ovárica y la ovogénesis de dos especies de teleósteos vivíparos pertenecientes a diferentes familias, *Poeciliopsis gracilis* (Poeciliidae) y *Chapalichthys encaustus* (Goodeidae), las cuales difieren en el tipo de gestación, intrafolicular e intraluminal respectivamente. Los ejemplares de *P. gracilis* se colectaron en el río Amacuzac (Jojutla, Morelos, México) y los de *C. encaustus* en el Manantial La Luz (Jacona, Michoacán, México). Los ovarios se disectaron y procesaron para técnicas histológicas de tinción H-E, PAS-AB, rojo oleoso, tricrómica de Masson y azul de toluidina. En ambas especies, el ovario es sacular, de tipo cistovárico, formado por cuatro capas histológicas, del exterior al interior: 1) serosa, con epitelio plano simple, y tejido conectivo con melanocitos dispersos, 2) músculo liso circular y longitudinal, 3) tejido conectivo, con fibras colágenas, fibroblastos y vasos sanguíneos, entre los elementos conectivos se localizan folículos en diferentes etapas, y 4) epitelio germinal, con ovogonias y ovocitos primarios. Las ovogonias inician la meiosis, se rodean de células foliculares y tecas. La ovogénesis se clasificó en seis estadios: I) folículos primarios, II) cromatina-nucléolo, III) perinucléolos, IV) vesículas vitelinas, V) gránulos vitelinos, y VI) vitelo homogéneo. Al final del estadio VI los ovocitos alcanzan su diámetro mayor: 2.0mm (± 0.2) en *P. gracilis* y 0.47mm (± 0.1) en *C. encaustus*. Esta diferencia se relaciona con el patrón nutricional, lecitotrófico, con abundante vitelo en *P. gracilis*; y matrotrófico en *C. encaustus*, donde la trofotenia de las crías absorbe nutrientes secretados por el epitelio germinal. La atresia ocurre en todas las etapas reproductivas y se caracteriza por la desintegración del citoplasma y proliferación de células foliculares. Se observaron espermatozoides en el ovario y el gonoducto en ambas especies. En *P. gracilis* en pliegues de la pared ovárica interna, en todas las etapas reproductivas, lo que sugiere su almacenamiento; y en *C. encaustus* dispersos en el lumen ovárico y sólo alrededor del tiempo de fertilización.

ABSTRACT

The ovary of viviparous teleosts is particularly interesting because it is the site where oogenesis, fertilization and embryonic development occur. This study analyses the ovarian structure and oogenesis of two viviparous teleosts species of different families, *Poeciliopsis gracilis* (Poeciliidae) and *Chapalichthys encaustus* (Goodeidae), which differ in the site of gestation, intrafollicular and intraluminal respectively. Specimens of *P. gracilis* were collected at Amacuzac River (Jojutla, Morelos, México); and *C. encaustus* at the Manantial La Luz (Jacona, Michoacán, México). Ovaries were dissected and processed for staining histological techniques: H-E, PAS-AB, oil red, Masson trichrome and toluidine blue. In both species the ovary is sacular, of cystovarian type, formed by four histological layers: from the exterior to interior: 1) serosa, with squamous epithelium and connective tissue with dispersed melanocytes, 2) circular and longitudinal smooth muscle, 3) connective tissue, with collagen fibers, fibroblasts and blood vessels; among connective elements there are follicles at different stages, and 4) germinal epithelium, with oogonia and primary oocytes. Oogonia enter meiosis, and are surrounded by follicular cells and thecas. Oogenesis was classified in six stages: I) primary follicles, II) chromatin-nucleolus, III) perinucleolus, IV) yolk vesicles, V) yolk granules and VI) homogenous yolk. At the end of stage VI eggs reach their maximal diameter: 2.0mm (± 0.2) in *P. gracilis* and 0.47mm (± 0.1) in *C. encaustus*. This difference is related to the trophic pattern, lecithotrophic with abundant yolk in *P. gracilis*; and matrotrophic in *C. encaustus* where embryos, through trophotaeniae, absorb nutrients secreted by the germinal epithelium. Atresia was seen at all reproductive stages and was characterized by ooplasm disintegration and proliferation of follicular cells. Sperm were observed in the ovary and gonoduct of both species. In *P. gracilis*, sperm were found in folds of the ovarian wall during all reproductive stages, which suggests sperm storage; while in *C. encaustus* sperm were seen dispersed in the ovarian lumen around the fertilization time.

I. INTRODUCCIÓN

La biología reproductiva involucra una variedad de interacciones estructurales y funcionales en diferentes niveles de organización dentro de un organismo, y entre el organismo y su ambiente (Lombardi 1998). En este contexto, un tema esencial es el análisis de los ciclos gonadales, el cual implica el estudio del desarrollo de los gametos y de los aspectos morfológicos y fisiológicos de los sistemas reproductivos. Estos análisis se aplican en estudios de diversos tipos, como son endocrinológicos, genéticos, ecológicos, etológicos, taxonómicos, biogeográficos, evolutivos y de biología del desarrollo, y se integran en el conocimiento sobre la calidad ambiental y el futuro de los ecosistemas acuáticos y terrestres (Norris 1997).

Los vertebrados exhiben gran variedad de patrones y estrategias reproductivas. Así, en los peces teleósteos se manifiesta en la estructura y función de los aparatos reproductores (ovarios pares o fusionados; testículos lobulares o tubulares); las formas de apareamiento relacionados con la fertilización externa o interna; el modo reproductivo ovíparo y vivíparo; las conductas reproductivas (patrones de cortejo, construcción del nido, cuidado parental); y los procesos cíclicos o continuos que definen la dinámica reproductiva (Hoar 1969, Norris y Jones 1987, Norris 1997).

La reproducción en los teleósteos es un fenómeno cíclico que puede clasificarse en los siguientes tipos: 1. Especies que desovan una sola vez y después mueren, 2. Las que desovan varias veces durante su vida, pero generalmente producen una sola camada al año, 3. Las que desovan varias veces durante su vida y producen más de una camada durante cada estación reproductiva (Scott 1987).

El ovario de teleósteos se ha clasificado en tres tipos de acuerdo al patrón de desarrollo de los ovocitos: 1. Ovario sincrónico, el cual contiene ovocitos en el mismo estadio de desarrollo, 2. Ovario sincrónico por grupo, que contiene al menos dos poblaciones de ovocitos en diferentes estadios de desarrollo, 3. Ovario asincrónico, presenta ovocitos en todos los estadios de desarrollo (Wallace y Selman 1981, Scott 1987, Nagahama et al. 1995, Norris 1997).

Las señales ambientales provenientes de factores como la temperatura, el fotoperíodo, la estimulación táctil, claves visuales, y la presencia de sitios apropiados para el apareamiento y la anidación son integradas por el sistema nervioso; como resultado, se modula el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, que a su vez regula la maduración gonadal y la secreción de hormonas sexuales (Norris 1997, Lombardi 1998). En los trópicos, donde el fotoperíodo y la temperatura presentan ligeras fluctuaciones, los ciclos reproductivos de teleósteos de agua dulce parecen estar controlados por el cambio de las estaciones húmeda y seca (Norris 1997).

La fertilización externa es la condición mayoritaria en teleósteos (Wourms 1981, Scott 1987, Norris 1997), mientras que la interna es un prerequisite para la viviparidad (Turner 1947, Wourms 1981, Wourms y Lombardi 1992, Norris 1997). Los teleósteos vivíparos poseen un órgano intromitente denominado gonopodio en Poeciliidae, andropodio en Anablepidae (*Anableps*) y espermatopodio en Goodeidae, que en los tres casos corresponde a una modificación de la aleta anal, en la que se fusionan 4-5 radios que hace posible el depósito de los espermatozoides en el sistema reproductor femenino (Wourms et al. 1988, Constantz 1989).

La viviparidad es un modo reproductor observado en los diferentes grupos de vertebrados, excepto en Ciclostomata, Crocodylia, Chelonia, Sphenodontia, Aves, y Monotremata (Amoroso 1981, Mossman 1937, Guillette 1987, 1991). Al respecto, Callard y Ho (1987) presentan una comparación sobre la presencia de la viviparidad en vertebrados no mamíferos (Tabla 1).

Tabla 1. Ocurrencia de viviparidad en vertebrados no mamíferos (Callard y Ho 1987)

Grupo de Vertebrado	Nº de familias con especies vivíparas (Nº total de familias)	Nº de géneros con especies vivíparas (Nº total de géneros)	Nº de especies vivíparas (Nº total de especies)
Clase Chondrychthyes	40	90	420
Subclase Elasmobranchii	(98)	(145)	(600)
Clase Osteichthyes	14	123	510
Subclase Teleostei	(425)	(3900)	(18000)
Clase Amphibia	3	8	11
	(27)	(278)	(3000)
Clase Reptilia	21	120	275
Orden Squamata	(27)	(887)	(6005)

La viviparidad en el contexto de los peces teleósteos se define como un proceso en el cual los huevos son internamente fertilizados y retenidos dentro del sistema reproductor de la madre por un período, durante el cual se desarrollan hasta una etapa embrionaria avanzada, la eclosión precede o coincide con el parto, y el resultado es un pez de vida libre (Wourms 1981, Wourms y Lombardi 1992).

En los Osteichthyes, el modo reproductivo vivíparo es característico de pocas especies; cerca de 510 de un total aproximado de 18.000 especies (2-3% del total de las especies) (Callard y Ho 1987, Wourms y Lombardi 1992), pertenecientes a 13 de las 425 familias actuales (Lydeard 1993) (Tabla 2).

Tabla 2. Familias de peces Osteichthyes vivíparos (Lydeard 1993)

CLASE OSTEICHTHYES

Subclase Actinopterygii

Orden Ophidiiformes

1. Parabrotulidae
2. Bythitoidei

Orden Atheriniformes

3. Hemiramphidae

Orden Cyprinodontiformes

4. Poeciliinae
5. Goodeinae
6. Anablepinac

Orden Scorpaeniformes

7. Sebastinae
8. Comephoridae

Orden Perciformes

9. Zoarcidae
 10. Embiotocidae
 11. Clinidae
 12. Labrisomidae
-

Algunas de las características reproductivas asociadas con la viviparidad de los Osteichthyes son: **1.** Sistemas de apareamiento que permiten la fecundación interna, **2.** Significativa disminución del número de ovocitos liberados y de su talla (Tabla 3), **3.** Disminución de la cantidad de vitelo, **4.** Cambios morfológicos en el sistema reproductivo de la hembra para la gestación (hipertrofia del epitelio ovárico interno, secreción de histotrofo), **5.** Desarrollo de estructuras que permiten el intercambio metabólico entre los tejidos embrionarios y maternos (placenta branquial, placenta trofoténial, placenta folicular), **6.** Posible almacenamiento de espermatozoides en la hembra (*Poeciliopsis*, *Xiphophorus maculatus*, *Heterandria formosa*) (Turner 1947, Amoroso 1981, Wourms 1981, Callard y Ho 1987, Guillette 1987, Wourms y Lombardi 1992, Schindler y Hamlett 1993, Tyler y Sumpter 1996).

Tabla 3. Talla comparada de ovocitos maduros en algunas especies de teleósteos ovíparos y vivíparos A. (Tyler y Sumpter 1996), B. (Mendoza 1943, Constantz 1989).

A. ESPECIES OVÍPARAS		B. ESPECIES VIVÍPARAS	
30.0 mm	(<i>Bagre marinus</i>)	2.00 mm	(<i>Poeciliopsis monacha</i>)
10.0 mm	(<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>)	1.40 mm	(<i>Anableps dowi</i>)
2.5 mm	(<i>Salmo trutta</i>)	0.95 mm	(<i>Ilyodon whitei</i>)
1.3 mm	(<i>Syngnathus scovelli</i>)	0.80 mm	(<i>Heterandria formosa</i>)
1.0 mm	(<i>Gasterosteus aculeatus</i>)	0.30 mm	(<i>Cymatogaster aggregatus</i>)

Entre los teleósteos vivíparos se encuentran las familias Poeciliidae y Goodeidae, que se distribuyen en el continente americano. La primera comprende cerca de 190 especies clasificadas en 22 géneros y 12 subgéneros (Parenti y Rauchenberger 1989); es considerada un grupo monofilético (Parenti 1981, Ghedotti 2000), en particular por caracteres derivados únicos del gonopodio, del *suspensorium gonopodial*, arcos branquiales y cráneo (Parenti y Rauchenberger 1989).

Los miembros de la familia Poeciliidae se localizan desde el noreste de Estados Unidos hasta el Río de la Plata, al norte de Argentina (Rosen y Bailey 1963); su mayor diversidad taxonómica se encuentra en México y Centroamérica (Parenti y Rauchenberger 1989), ocupan gran variedad de habitats: zonas templadas, tropicales y desérticas (Meffe y Snelson 1989). Típicamente habitan cuerpos de agua dulce poco profundos o áreas marginales de ríos y lagos, al igual que zonas litorales (Meffe y Snelson 1989, Parenti y Rauchenberger 1989, Contreras-McBeath y Ramírez-Espinoza 1996).

El género *Poeciliopsis* (Regan 1913), está conformado por 19 especies que se distribuyen en la vertiente del Océano Pacífico, desde el suroeste de Estados Unidos hasta Colombia, y en la vertiente del Océano Atlántico desde el sureste de México hasta Honduras (Parenti y Rauchenberger 1989).

Poeciliopsis gracilis (Heckel 1848) es de origen centroamericano, su distribución comprende la vertiente del Pacífico desde el río Verde, Oaxaca, México, hasta el río Choluteca en Honduras. En la vertiente del Atlántico se le encuentra desde el río

Coatzacoalcos, Veracruz, México hasta el Lago de Nicaragua (Contreras-McBeath y Ramírez-Espinoza 1996). También se ha registrado en el río Balsas en Morelos y Puebla, México (Mejía-Mojica 1992). Esta especie tiene el cuerpo de forma elongada y angosta, con la parte ventral abultada y redondeada; boca protráctil con la mandíbula inferior ligeramente más prolongada que la superior. Presenta de 9 a 10 manchas oscuras a lo largo de la línea lateral y una banda oscura en la base del pedúnculo caudal (Contreras-McBeath y Ramírez-Espinoza 1996).

La familia Goodeidae es considerada un grupo monofilético (Webb 1999). Contiene aproximadamente 17 géneros y 42 especies (Contreras-Balderas 2004) y está dividida en cuatro subfamilias: Ataeniobiinae, Goodeinae, Characodontinae y Girardinichthyinae, atendiendo al tipo de ovario (primitivo o derivado) (*Vide infra*) y a la presencia y tipo de trofotenia (listón o roseta) (Hubbs y Turner 1939, Grudzien et al. 1992) (Tabla 4).

Tabla 4. Subfamilias de la familia Goodeidae (Hubbs y Turner 1939, Grudzien et al. 1992)

Subfamilia	Tipo de Ovario	Tipo de Trofotenia
Ataeniobiinae	Primitivo	Sin trofotenia
Goodeinae	Primitivo	Roseta
Characodontinae	Intermedio	Listón
Girardinichthyinae	Derivado	Listón

Esta familia es endémica de la Meseta Central de México (Álvarez del Villar 1970, Uyeno et al. 1983). Se distribuye en el sistema hidrológico Lerma-Santiago, y en la parte alta de los ríos Pánuco y Balsas. Su centro de abundancia se presenta en la cuenca del río Lerma, donde, debido a una radiación adaptativa, es la familia de teleósteos dominante (Miller y Fitzsimons 1971). Los goodeidos habitan en cuerpos de agua superficiales (Contreras-McBeath 1995, Webb 1999).

El género *Chapalichthys* (Meek 1902) pertenece a la subfamilia Goodeinae (Grudzien et al. 1992) y está compuesto por tres especies: *C. encaustus*, *C. pardalis* y *C. peraticus* (Meyer et al. 1985).

Chapalichthys encaustus (Jordan y Snyder 1899) se distribuye en el Río Grande de Santiago y el Lago de Chapala en Jalisco y Michoacán, y el Río Tanhuato en Michoacán (Wischnath 1993). Su localidad tipo es el Lago de Chapala, Ocotlán, Jalisco, México y se el encuentra también en el Lago de Arandino y el Manantial La Luz, los cuales son tributarios del Lerma (Meyer et al. 1985).

Se le encuentra escondido entre la vegetación espesa principalmente formada por el lirio acuático (*Eichornia crassipes*) y otras especies de plantas subacuáticas (Wischnath 1993). Su dieta es amplia e incluyen material vegetal; requiere agua ligeramente alcalina, con un intervalo de temperatura de 20 a 28°C (Dawes 1995). Posee cuerpo delgado, con cabeza pequeña y puntiaguda, la parte superior del cuerpo es olivo-grisáceo o plateado, a menudo hay una banda negra irregular de puntos y manchas que se extiende a lo largo de la línea lateral. Las aletas son usualmente transparentes y rara vez amarillentas, la coloración del macho es generalmente más intensa que la de la hembra. El tamaño aproximado del adulto es de 60 mm en machos y 80 mm en hembras (Wischnath 1993).

II. ANTECEDENTES

1. ESTRUCTURA DEL OVARIO DE PECES TELEÓSTEOS

En los teleósteos ovíparos y vivíparos, el ovario es un órgano sacular, es decir, es de tipo cistovárico, contiene al interior un lumen (ovocele) limitado por el epitelio germinal. Es un órgano elongado, unido a la cavidad del cuerpo por medio del mesenterio dorsal y se sitúa en una posición media dentro de la cavidad del cuerpo, entre la vejiga gaseosa y el intestino (Turner 1933, Hoar 1969, Takashima e Hibiya 1995).

Una característica exclusiva del sistema reproductor femenino de teleósteos, a diferencia de lo que ocurre en los demás vertebrados, es la ausencia de oviductos derivados del conducto de Müller (Turner 1947, Hoar 1969, Wourms 1981, Norris 1997). De manera que el ovario se comunica al exterior por medio del gonoducto, una pequeña extensión de su extremo caudal, el cual abre al exterior a través del poro urogenital (Wourms et al. 1988, Schindler y Hamlett 1993). El gonoducto está formado por el crecimiento caudal de la túnica ovárica, su tejido conectivo elástico asociado y capas de músculo liso (Wourms 1981, Wourms y Lombardi 1992).

El ovario de teleósteos posee una capa de musculatura lisa debajo de la cubierta peritoneal. En la cápsula, el tejido conectivo incluye fibras, vasos sanguíneos y nervios. El epitelio germinal reviste la cavidad ovárica y puede estar altamente amplificado por varias especializaciones estructurales como pliegues o lamelas. La zona estrecha debajo del epitelio germinal se caracteriza por presentar una amplia red de capilares (Schindler y Hamlett 1993). El epitelio germinal está soportado por una membrana basal que lo separa del compartimento estromático. Está conformado por componentes somáticos, las células epiteliales y las prefoliculares y por componentes germinales, las ovogonias y los ovocitos primordiales (Grier 2000).

1.1 Especies ovíparas

En los teleósteos ovíparas, los ovarios son estructuras pareadas (Hoar 1969). El epitelio germinal y su tejido conectivo asociado sufren un plegamiento complejo para formar una serie de pliegues ovígeros o lamelas, las cuales se proyectan hacia el lumen (Hoar 1969, Takashima e Hibiya 1995, Lucano et al. 2001), y contienen los folículos en diferentes etapas de desarrollo (Jones 1978, Wallace y Selman 1990, Nagahama et al. 1995).

1.2 Especies vivíparas

El ovario de teleósteos vivíparas es diferente al de los demás vertebrados debido a que en su interior ocurren tanto el desarrollo de la ovogénesis como la gestación (Wourms et al. 1988, Grove y Wourms 1994). La mayoría de las especies presentan un solo ovario, debido a que durante el desarrollo embrionario ambos ovarios se fusionan (Wourms et al. 1988, Schindler y Hamlett 1993). Sólo en algunos taxa, el ovario es doble (*Sebastes*), o parcialmente fusionado (*Dermogenys*, *Stygicola*) (Mendoza 1943, Amoroso 1960, Hoar 1969).

Al igual que los teleósteos ovíparas, la pared interior del ovario de la mayoría de las especies vivíparas presenta pliegues, formados por tejido conjuntivo y epitelio germinal (Wourms 1981, Wourms et al. 1988). Sin embargo, estos pliegues no son característicos de todos los teleósteos vivíparas, en *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae), *Anableps anableps* (Anablepidae) y *Zoarcetes viviparus* (Scorpaenidae) no se presentan pliegues y los ovocitos se desarrollan a lo largo de la pared ovárica (Mendoza 1943). En tanto que en especies de la familia Goodeidae se describe la presencia o ausencia de pliegues como característica de las diferentes especies, como *Goodea atripinnis* que presenta numerosos pliegues en la pared, los cuales contienen tejido ovígero (Hubbs y Turner 1939) e *Ilyodon whitei* en la que se observan sólo dos pliegues con tejido ovígero, uno a cada lado del ovario (De la Rosa 2001).

1.2.1 Tipos de gestación

En teleósteos vivíparos, la gestación es siempre intraovárica, característica única entre los vertebrados (Wourms 1981, Wourms et al. 1988). Dentro del ovario, el desarrollo de las crías puede ocurrir en el lumen ovárico (gestación intraluminal), como se ha reportado en la mayoría de familias vivíparas, incluyendo Goodeidae (Mendoza 1940, Turner 1947, Schindler et al. 1988, Wourms et al. 1988, Hollenberg y Wourms 1994), o en el interior del folículo ovárico (gestación intrafolicular), como se ha descrito en especies de las familias Poeciliidae, Clinidae, Labrisomidae y Anablepidae (género *Anableps*) (Bailey 1933, Turner 1947, Thibault y Schultz 1978, Knight et al. 1985, Flores y Burns 1993).

En las especies con gestación intrafolicular, la fecundación ocurre en el folículo y allí continua el desarrollo embrionario (Wourms 1981, Wourms et al. 1988). En la mayoría de los teleósteos con gestación intraluminal, como los goodeidos, la fecundación también tiene lugar en el folículo, pero el desarrollo embrionario comienza en el folículo y se completa en el lumen ovárico (Turner 1947, Wourms 1981, Wourms y Lombardi 1992, Schindler y Hamlett 1993). En especies de las familias Zoarcidae y Scorpaenidae, la ovulación ocurre antes de la fertilización (Wourms y Lombardi 1992).

1.2.2 Relaciones materno-embrionarias

Debido a que en teleósteos no hay unión entre los tejidos maternos y embrionarios (Turner 1947, Schindler y Hamlett 1993), el intercambio de gases, electrolitos, nutrientes, desechos metabólicos e inmunoglobulinas entre la madre y el embrión es mediado por el embriotrofo, secreción producida por el epitelio germinal para la nutrición de los embriones en desarrollo (Schindler 1990).

Durante el desarrollo del embrión, en los dos tipos de gestación, intrafolicular o intraluminal, los embriones realizan intercambios metabólicos con los tejidos ováricos, que

se manifiestan en diversas características de los tejidos, los cuales se transforman a lo largo de la gestación (Wourms 1981, Wourms et al. 1988, Schindler y Hamlett 1993).

En la gestación intraluminal el epitelio ovárico interno (epitelio germinal) se especializa para la secreción de embriotrofo que permite establecer el ambiente adecuado para el desarrollo del embrión (Wourms et al. 1988, Schindler y Hamlett 1993). Se han reportado cambios en el grosor del epitelio ovárico interno y en la actividad secretora del ovario de *Skiffia bilineata* (Goodeidae) (Mendoza 1940) y en la estructura fina del epitelio ovárico interno de *Cymatogaster aggregatus* (Embiotocidae) (Gardiner 1978), asociados con la gestación. Por otra parte, en la gestación intrafolicular, el epitelio folicular es el principal tejido materno involucrado en el intercambio metabólico entre la madre y el embrión (Wourms et al. 1988, Schindler y Hamlett 1993, Grove y Wourms 1994).

En cuanto a la fuente de nutrientes, los peces vivíparos pueden ser lecitotróficos, es decir, la nutrición del embrión principalmente depende de las reservas de vitelo, o matrotrofos, condición en la cual durante la gestación el embrión recibe mayoritariamente nutrientes maternos adicionales al vitelo (Wourms 1981) (Tabla 5). La lecitotrofia se considera una forma primitiva de la viviparidad y es tróficamente no especializada (Wourms 1981). Su existencia se ha documentado en especies de las familias Poeciliidae (*Poeciliopsis monacha*) y Scorpaenidae (*Sebastes marinus*) (Constantz 1989, Wourms et al. 1988). La matrotrofia permite una distribución más eficiente de los recursos energéticos (Wourms y Cohen 1975). Este patrón nutricional se ha descrito en especies de Goodeidae (Schindler y Hamlett 1993), y en algunas de Poeciliidae (*Heterandria formosa*) (Grove y Wourms 1994). En ambos modos de nutrición, la madre satisface las necesidades respiratorias, osmorreguladoras y excretoras del embrión (Wourms 1981).

Tabla 5. Patrones tróficos en peces vivíparos (Wourms 1981)

Viviparidad	
A.	Lecitotrofia
B.	Matrotrofia
	1. Oofagia y adelfofagia
	2. Análogos placentarios
	a. Epidermis y epitelio de las aletas
	b. Epitelio branquial
	c. Trofonema
	d. Placenta branquial
	e. Saco vitelino
	f. Amnios y corion pericárdicos
	g. Placenta folicular
	h. Intestino hipertrofiado
	i. Trofotenia
	3. Placenta del saco vitelino

2. OVOGÉNESIS EN PECES TELEÓSTEOS

La ovogénesis incluye los cambios morfológicos y fisiológicos en el proceso de desarrollo de los ovocitos en el ovario a partir de las ovogonias (Norris 1997, Nagahama et al. 1995, Grier 2000).

En el ovario de teleósteos existe una población permanente de ovogonias (Tyler y Sumpter 1996). Estas células germinales pueden dividirse por mitosis (proliferación), algunas de estas ovogonias permanecen como tales con la capacidad de proliferación, otras entran en meiosis, convirtiéndose en ovocitos, los cuales continúan a un período de crecimiento (Nagahama et al. 1995, Grier 2000). Debido a la permanencia de ovogonias en el epitelio germinal, los teleósteos pueden producir un número indeterminado de ovocitos durante su vida reproductiva (Selman y Wallace 1989, Nagahama et al. 1995, Tyler y Sumpter 1996, Grier 2000).

La ovogénesis en teleósteos, como en otros vertebrados, se ha dividido en dos etapas: una fase de crecimiento y una fase de maduración (Nagahama 1994). La regulación endocrina de estas dos fases involucra la acción de las gonadotropinas hipofisiarias (GTH-I y GTH-II). GTH-I y GTH-II son estructural y funcionalmente homólogas a FSH y LH de mamíferos, respectivamente (Nagahama et al. 1995).

La producción de gonadotropinas en teleósteos es regulada por un complejo de interacciones entre esteroides sexuales, neurotransmisores y la hormona liberadora de gonadotropina (GnRh) (Nagahama 1994, Nagahama et al. 1995). Sin embargo, la transformación de ovogonias en ovocitos y el crecimiento de ovocitos primarios no son inhibidos por la hipofisectomía, lo que probablemente sugiere que su crecimiento es afectado por factores que controlan el crecimiento del cuerpo como la hormona del crecimiento y tiroideas (Scott 1987).

La fase de crecimiento está regulada principalmente por GHT-I, que estimula la esteroidogénesis gonadal y la toma de vitelogenina. Por otra parte, durante la fase de maduración, en la cual los ovocitos llegan a ser fertilizables, la principal hormona es la GTH-II, que estimula la esteroidogénesis, en particular la producción por parte de las células foliculares de $17\alpha,20\beta$ -DP, conocida como la hormona inductora de la maduración (MIH) (Nagahama 1994, Tyler y Sumpter 1996).

2.1 Especies ovíparas

La ovogénesis se ha estudiado ampliamente en especies de teleósteos ovíparos (Wallace y Selman 1981, 1990, Begovac y Wallace 1988, Nagahama et al. 1995, Tyler y Sumpter 1996, Lucano et al. 2001).

El folículo es un derivado del epitelio germinal y está conformado por el ovocito, las células foliculares circundantes y la membrana basal, que lo separa de la teca que lo rodea (Wallace y Selman 1990, Grier 2000). Las células que forman la teca interna son derivadas de células pretecales del estroma ovárico. La teca interna es vascularizada y la teca externa es fibrosa (Nagahama et al. 1995, Grier 2000).

La foliculogénesis empieza cuando una ovogonia inicia la meiosis, convirtiéndose en ovocito, entrando en fase leptoteno de la primera profase meiótica, y se completa cuando las células foliculares y la membrana basal envuelven por completo al ovocito (Grier 2000). La meiosis comienza cuando los ovocitos están aun dentro del epitelio germinal y procede hasta su arresto en fase diploteno de la primera profase meiótica, en la cual permanecerán hasta la maduración final de la ovogénesis (Nagahama et al. 1995). La primera fase de crecimiento del ovocito comienza cuando los ovocitos están dentro del epitelio germinal, o unidos a él, aislados o formando nidos celulares (Grier 2000).

Durante la fase de crecimiento primario del ovocito se desarrolla la zona pelúcida, una envoltura acelular localizada alrededor del ovocito, entre éste y las células foliculares, la cual continúa su diferenciación e incrementa su complejidad a través del resto del crecimiento del ovocito (Tyler y Sumpter 1996). La zona pelúcida está integrada por múltiples microvellosidades del ovocito y de las células foliculares que se interdigitan entre sí, y un constituyente glicoproteico que es sintetizado en el hígado bajo la influencia del 17β -estradiol o por el mismo ovocito (Nagahama et al. 1995, Tyler y Sumpter 1996).

La vitelogénesis, responsable de la mayor parte del crecimiento del ovocito, involucra la acumulación de vitelo, cuyo precursor, la vitelogenina, se sintetiza en el hígado. Esta proteína es transportada a través del sistema circulatorio al ovario donde es tomada por los ovocitos por endocitosis mediada por receptores (Nagahama 1994). Respecto a la regulación endocrina de esta fase en teleósteos, varios estudios indican que GTH-I, estimula la producción de 17β -estradiol en las células foliculares, el cual va al sistema vascular y estimula la síntesis y secreción de vitelogenina por parte del hígado (Nagahama et al 1995). De manera que las concentraciones de vitelogenina y 17β -estradiol en plasma están correlacionadas positivamente (Scott 1987, Nagahama et al 1995).

Esta riqueza de vitelo contiene los elementos nutritivos necesarios para el desarrollo de la cría hasta su eclosión (Yamamoto y Yamazaki 1961, Zanuy y Carrillo 1973, Ho 1987, Begovac y Wallace 1988, Tyler y Sumpter 1996). En la mayoría de teleósteos el vitelo se acumula en esferas, las cuales migran centrípetamente y se fusionan para formar un vitelo homogéneo (Scott 1987).

Los ovocitos presentan cambios notables en el citoplasma y el núcleo durante la ovogénesis que en los teleósteos ovíparos se ha clasificado en diferentes etapas: **I.** Cromatina-nucléolo, **II.** Perinucléolos, **III.** Alvéolos corticales, **IV.** Gránulos de vitelo I, **V.** Gránulos de vitelo II, **VI.** Maduración (Wallace y Selman 1990, Takashima e Hibiya 1995, Tyler y Sumpter 1996):

I. Cromatina-nucléolo. Esta fase involucra varios estadios cromosómicos desde leptoteno hasta el inicio del paquiteno durante la profase de la primera división meiótica. Su núcleo es grande, esférico y con un solo nucléolo. Los cromosomas se observan como fibras delgadas distribuidas en el núcleo. El ovocito se encuentra parcialmente rodeado por una capa de células foliculares y su membrana basal.

II. Perinucléolos. Esta fase se caracteriza por la presencia de múltiples nucléolos en la periferia de la membrana nuclear. El núcleo del ovocito es grande y se denomina vesícula germinal. Durante este estadio inicia la fase de diploteno, en la cual ocurre el arresto meiótico. Los ovocitos son rodeados por una capa continua de células foliculares.

III. Alvéolos corticales. Esta fase constituye la vitelogénesis endógena. También se usa el término vesículas vitelinas para describir esta etapa. Las vesículas vitelinas inician su formación como pequeñas vacuolas de mucopolisacáridos situadas en la región periférica del ooplasma que se disponen en forma centrípeta. Se inicia la formación de la zona pelúcida entre el ovocito y las células foliculares. Las células foliculares son cúbicas y

alrededor se observa la teca constituida por tejido conjuntivo con algunos vasos sanguíneos.

IV. Gránulos de vitelo I. En esta fase se inicia la vitelogénesis exógena. Los nucléolos se distribuyen cerca de la membrana nuclear. Se observan los primeros gránulos de vitelo esféricos en la periferia del ovocito. Las vesículas vitelinas se disponen en pocas hileras en la periferia del ooplasma. La zona pelúcida es evidente. Las células foliculares aumentan en altura. La teca mantiene sus características.

V. Gránulos de vitelo II. Los nucléolos muestran características similares a la etapa anterior. Los gránulos de vitelo aumentan en número y tamaño y se acumulan llenando el ooplasma. Las vesículas vitelinas se distribuyen en la periferia del ovocito y al final sólo se observan en una o dos hileras adyacentes a la membrana del ovocito. La zona pelúcida es más amplia y con estriaciones notorias. Las células foliculares son vacuoladas.

VI. Maduración. El núcleo (vesícula germinal) se desplaza hacia el polo animal y posteriormente se rompe. Los nucléolos son escasos y al romperse la membrana nuclear, quedan inmersos en la masa núcleo-citoplasmática del polo animal. Los gránulos de vitelo se agrandan y en algunos casos se fusionan hasta formar una masa homogénea de vitelo. La zona pelúcida es aún más amplia y con estriaciones más evidentes. Las células foliculares se observan altamente vacuoladas.

2.2 Especies vivíparas

La ovogénesis en teleósteos vivíparos ha sido escasamente estudiada en comparación con los ovíparos. Los estudios realizados sobre el proceso de ovogénesis en especies vivíparas incluyen descripciones generales (revisión de Wourms et al. 1988) y en algunas especies como *Xiphophorus helleri* (Bailey 1933), *Skiffia bilineata*, *Zoarces viviparus*, *Jenynsia bilineata* (Mendoza 1941, 1943), *Xenoophorus captivus* (Schindler et

al. 1988), *Xiphophorus maculatus* y *X. nigrensis* (Flores y Burns 1993), *Gambusia affinis* (Koya et al. 1998) e *Ilyodon whitei* (De la Rosa 2001).

En teleósteos vivíparos, durante el proceso de ovogénesis se forman ovocitos con escasa cantidad de vitelo, característica que se relaciona con la retención de las crías en el ovario, que permite el intercambio metabólico entre la madre y el embrión durante la gestación (Wourms 1981, Wourms et al. 1988).

Respecto a la ovogénesis en especies de la familia Poeciliidae, se han descrito las ovogonias en *Xiphophorus maculatus* y *X. nigrensis* como células grandes, ovaladas a redondas, con el núcleo central y un nucléolo prominente, localizadas en el epitelio ovárico interno, y rodeadas por extensiones de las células foliculares (Flores y Burns 1993).

Bailey (1933) presenta el ciclo ovárico de *X. helleri* (Poeciliidae), en el cual describe algunas características morfológicas de los ovocitos a medida que avanza la ovogénesis. El ovocito más temprano descrito presenta un núcleo grande y central, rodeado por algunas células foliculares. En un estadio posterior, el citoplasma es basófilo y el núcleo presenta un nucléolo; las células foliculares son planas y forman una capa alrededor del ovocito. A medida que el crecimiento continúa, el citoplasma se hace menos basófilo. Alrededor de las células foliculares, el estroma se condensa para formar la teca. Con el inicio del depósito de grasa (vitelo lipídico), las células foliculares cambian a una forma cuboidal. Pequeños gránulos acidófilos cerca de la periferia dan inicio a la formación del vitelo; de manera que el citoplasma del ovocito empieza a llenarse con glóbulos de grasa y vitelo. Adicionalmente, Koya et al. (1998) clasifican la ovogénesis de *Gambusia affinis* en 6 etapas: cromatina-núcleo, perinucleolos tempranos, perinucleolos tardíos, gotas lipídicas, glóbulos de vitelo tempranos y glóbulos de vitelo tardíos.

Por otra parte, la ovogénesis en especies de Goodeidae se ha estudiado en *Skiffia bilineata* (Mendoza 1941, 1943). En esta especie, el tejido germinal está confinado a los pliegues ovígeros. Las células germinales más tempranas observadas están agrupadas en pequeños nidos. En los ovocitos tempranos el núcleo es vesicular y ocupa dos tercios del diámetro celular. A medida que el ovocito crece, el núcleo se torna granular; la cromatina forma cromosomas plumosos. En etapas tempranas los nucléolos son numerosos y basófilos; más tarde son pocos y grandes y con menor basofilia. El vitelo de *S. bilineata* consta de una masa floculenta regularmente distribuida en el citoplasma, las células foliculares son columnares, la teca está compuesta por una capa fina de fibras de tejido conectivo con capilares.

En *Ilyodon whitei*, la ovogénesis ocurre en los pliegues ovígeros, donde se observan folículos en diferentes etapas de desarrollo. Las ovogonias se localizan en el epitelio interno del ovario y pueden encontrarse aisladas o en su mayoría formando nidos. Estas células son esféricas u ovaladas, con núcleo esférico y citoplasma hialino. En el epitelio germinal se encuentran también ovocitos en etapas iniciales de la meiosis, desde la fase leptotena hasta la diplotena de la profase I, caracterizados por un citoplasma homogéneo. Algunos ovocitos rodeados por una capa incompleta de células foliculares escamosas y por la lámina basal, se invaginan aislados o en nidos hacia el estroma (De la Rosa 2001).

2.3 Atresia folicular

En muchos vertebrados, la degeneración de los ovocitos, referida como atresia, puede ocurrir en cualquier estadio de desarrollo (Tyler y Sumpter 1996, Norris 1997). Todos los grupos de peces óseos desarrollan folículos atrésicos preovulatorios (Norris 1997). Se ha sugerido que la atresia juega un papel en la determinación del número de ovocitos que son reclutados, afectando el número de ovocitos en desarrollo que eventualmente formarán huevos maduros (Tyler y Sumpter 1996).

Estudios en poblaciones naturales de teleósteos ovíparos indican que el grado de atresia varía con la etapa del ciclo reproductor, pero en general su incidencia es baja. La mayoría de los trabajos sobre la incidencia de la atresia se han limitado a ovocitos en etapas avanzadas de desarrollo, y por lo mismo se conoce poco sobre la atresia durante los estadios tempranos de desarrollo (Tyler y Sumpter 1996).

En teleósteos vivíparos se ha reportado el proceso de atresia, caracterizado por desintegración del citoplasma, pérdida de la estructura alveolar, irregularidad en la forma del ovocito, proliferación e hipertrofia de las células foliculares; plegamiento y fragmentación de la zona pelúcida. Las células foliculares retienen su posición periférica por algún tiempo mientras el citoplasma se desintegra. Finalmente, el espacio ocupado por el ovocito se convierte en una masa de desechos (Turner 1933, Mendoza 1943).

Lambert (1970b) divide el proceso de atresia en *Poecilia reticulata* (Poeciliidae) en cuatro etapas: **Etapa α** . se caracteriza por la hipertrofia de la capa granulosa y la degeneración del ovocito, las células de la teca también penetran el ovocito. **Etapa β** . El ovocito ha desaparecido y su cavidad se llena con las células de la granulosa, que han incrementado en número, y vasos sanguíneos; el resultado es una estructura compacta. **Etapa γ** . El folículo atrésico disminuye en tamaño, las células de la granulosa son más pequeñas y entre ellas hay elementos del tejido conectivo. **Etapa δ** . El tamaño del folículo atrésico continúa reduciéndose y el número de células disminuye a medida que son reabsorbidas por el material estromático.

3. ASPECTOS REPRODUCTIVOS DE LA FAMILIA POECILIIDAE

Los miembros de la familia Poeciliidae presentan fertilización interna y un modo reproductivo vivíparo, a excepción de *Tomeurus gracilis*, que es ovípara (Wourms 1981, Wourms et al. 1988, Constantz 1989).

Los machos presentan el gonopodio, un órgano intromitente que corresponde a una modificación de la aleta anal, el cual hace posible el depósito de los espermatozoides en el sistema reproductor femenino (Constantz 1989), que permite la fecundación interna y el almacenamiento de espermatozoides entre los pliegues de la pared del ovario y del gonoducto (Constantz 1984, 1989, Potter y Kramer 2000).

El ovario es un órgano en forma de saco, dorsalmente suspendido en la cavidad del cuerpo por el mesovario (Wourms 1981, Constantz 1989, Potter y Kramer 2000). La fertilización y el desarrollo embrionario ocurren dentro del folículo ovárico (gestación intrafolicular) (Wourms 1981, Constantz 1989).

En los miembros de la familia Poeciliidae el período de gestación dura de 20 a 30 días dependiendo de la especie y la temperatura (Constantz 1989). Los embriones permanecen en el folículo hasta el momento inmediato antes del parto (Amoroso 1960, Wourms 1981). Los pecílidos exhiben gran diversidad en los mecanismos de transferencia de nutrientes de la madre al embrión, desde lecitrotrofia estricta hasta matrotrofia pronunciada (Wourms 1981, Constantz 1989). En especies lecitotróficas (*Poecilia latipinna*, *Gambusia affinis*) el vitelo es la fuente nutricional para el desarrollo embrionario y los ovocitos maduros tienen un diámetro aproximado de 2 mm. Por otra parte, en especies matrotróficas (*Heterandria formosa*, *Poeciliopsis elongata*), la madre aporta nutrientes para el desarrollo embrionario y los ovocitos maduros son de menor diámetro, entre 0.4 y 0.8 mm (Wourms 1981, Constantz 1989). Las especies matrotróficas presentan un análogo placentario denominado placenta folicular que consiste de la pared folicular con sus microvellosidades, el espacio folicular y los vasos sanguíneos embrionarios del sistema porta que cubren los sacos vitelino y pericárdico (Wourms et al. 1988).

Algunas especies (*Poeciliopsis prolifica*, *Poeciliopsis occidentalis*, *Heterandria formosa*) presentan superfecundación, condición en la cual una hembra puede llevar

simultáneamente varias camadas de embriones en diferentes etapas de desarrollo (Wourms 1981, Constantz 1989). En general, las especies con mayor grado de viviparidad (matrotrofia) exhiben superfetación (Constantz 1989).

4. ASPECTOS REPRODUCTIVOS DE LA FAMILIA GOODEIDAE

Las especies de la familia Goodeidae presentan fertilización interna y son vivíparas (Parenti 1981, Wourms 1981). La fertilización ocurre dentro del folículo y el desarrollo embrionario tiene lugar en el lumen ovárico (gestación intraluminal). Los embriones reciben nutrientes de la madre a través de la placenta trofoténica, la cual consiste de un componente embrionario, la trofotenia, que son prolongaciones del intestino posterior del embrión, y un componente materno, el epitelio ovárico interno (Wourms 1981, Lombardi y Wourms 1985a, b). Todas las especies de la familia Goodeidae, a excepción de *Ataeniobius toweri*, poseen trofotenia (Lombardi y Wourms 1985b).

Se han descrito dos tipos de ovarios en la familia Goodeidae. El primero se considera un estado primitivo y se caracteriza porque la pared del ovario y el septo presentan tejido germinal. El segundo, considerado un estado derivado, se distingue porque el tejido germinal se localiza sólo en los pliegues de la mucosa ovárica que se extienden hacia el lumen, en tanto que el septo y el resto de la pared ovárica carecen de tejido germinal (Hubbs y Turner 1939, Parenti 1981).

En los machos se encuentra un órgano muscular urogenital o pseudofalo, formado por los primeros cinco a siete radios de la aleta anal del macho, los cuales no se ramifican, son más cortos y se separan del resto por medio de una muesca (Parenti 1981).

5. ASPECTOS REPRODUCTIVOS DE *Poeciliopsis gracilis*

En *Poeciliopsis gracilis* la talla de la primera reproducción en hembras es de 36mm (LP) y en machos 22 mm (LP) (Contreras-McBeath y Ramírez-Espinoza 1996), con

evidencias de actividad reproductiva durante todo el año en una población del río Cuautla, Morelos, en la cual se encontró que el tamaño de la camada es variable, de 1-140 embriones, con una fecundidad media de 18; este número no está influenciado por el tamaño de la hembra (Contreras-McBeath y Ramírez-Espinoza 1996).

Contreras-McBeath y Ramírez-Espinoza (op. cit.) registran seis etapas de maduración en hembras de *P. gracilis*, basados en la morfología macroscópica, color, datos morfométricos y presencia o ausencia de ovocitos y embriones: **I. Inmaduros**, se caracteriza por presentar ovarios muy pequeños, fusiformes y de color blanco, **II. Primera reproducción**, los ovarios son flácidos, de color blanco a amarillo y presentan ovocitos de diferente talla, **III. Madurez**, los ovarios son de color ámbar y los ovocitos miden de 0.6 a 2.85 mm en diámetro, **IV. Ovocitos y embriones**, se observan embriones en diferentes estadios de desarrollo y algunos ovocitos pequeños **V. Pre-parto**, los ovarios tienen embriones bien desarrollados, **VI. Postparto**, los ovarios son de forma elongada, flácidos y no presentan embriones.

6. ASPECTOS REPRODUCTIVOS DE *Chapalichthys encaustus*

Existen pocos datos publicados sobre los aspectos reproductivos de *C. encaustus*. Al respecto se ha documentado que es una especie poco prolífica, y las hembras rara vez producen más de 10 crías por vez. El período de gestación dura de 6 a 8 semanas y las crías al nacer miden 15 mm en promedio (Wischnath 1993). Los machos adultos alcanzan una longitud total de 60 mm y las hembras de 80 mm (Meyer et al. 1985).

III. JUSTIFICACIÓN

El análisis de los aspectos reproductivos de los peces vivíparos incluye elementos morfológicos y fisiológicos de especial importancia. Por lo cual, se plantea el análisis histológico comparado de la ovogénesis de dos especies de teleósteos *Poeciliopsis gracilis* y *Chapalichthys encaustus*, pertenecientes a las familias Poeciliidae y Goodeidae, las cuales coinciden en la condición de viviparidad, pero difieren en el tipo de gestación, intrafolicular e intraluminal respectivamente.

Las características microscópicas del proceso de ovogénesis y de los elementos ováricos de *P. gracilis* y *C. encaustus* no se han descrito. Se propone contribuir al análisis comparado de su estructura histológica, relacionando la estructura del ovario con la condición de gestación y sus transformaciones durante la ovogénesis, el posible almacenamiento de espermatozoides y el desarrollo de las crías en los dos tipos de gestación: intrafolicular e intraluminal.

IV. OBJETIVOS

Objetivo General

Definir y comparar las características estructurales del ovario gestante y no gestante, y la ovogénesis de *Poeciliopsis gracilis* (Poeciliidae) y *Chapalichthys encaustus* (Goodeidae).

Objetivos Particulares

- Describir la estructura del ovario en cada una de las especies seleccionadas
- Comparar las características morfológicas de la ovogénesis entre las especies.
- Determinar los cambios histológicos de los elementos ováricos de acuerdo con su etapa reproductiva: ovogénesis temprana y avanzada, y gestación temprana y avanzada.
- Relacionar las etapas de la ovogénesis con la condición de gestación.

- Determinar si ocurre almacenamiento de espermatozoides y la relación que éstos establecen con el ovario.

V. HIPÓTESIS

Considerando que el desarrollo embrionario en las dos especies seleccionadas de teleósteos vivíparos es diferente, en *Chapalichthys encaustus* intraluminal y en *Poeciliopsis gracilis* intrafolicular, lo que establece relaciones distintas entre el embrión en desarrollo y los tejidos maternos, se esperaría que el desarrollo folicular refleje esta diferencia en las características de la ovogénesis y los demás elementos foliculares. En particular, las relacionadas con la estructura de las células foliculares y las tecas que rodean al folículo y su relación con el tipo de nutrición embrionaria (matrotrofia y lecitotrofia).

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

1. Áreas de estudio

- *Poeciliopsis gracilis*

Se estudiaron 26 hembras adultas de *P. gracilis* (Fig. 1a) en las siguientes etapas reproductivas: ovogénesis temprana, ovogénesis avanzada, gestación temprana y gestación avanzada (Tabla 6), recolectadas en el río Amacuzac, Cuenca del Balsas, en Chisco, Jojutla, Morelos, cuya geoposición es 18°33' y 99°14', altitud 835 msnm (Fig. 2). El clima de esta zona es del tipo cálido-subhúmedo con lluvias en verano, una temperatura promedio anual de 22.3°C y una precipitación media anual que fluctúa entre 800 y 1000 mm. Este clima se encuentra asociado a zonas de vegetación, como selva baja y pastizales (CRM 2000).

- *Chapalichthys encaustus*

Se analizaron 20 hembras adultas de *C. encaustus* (Fig. 1b) en las etapas reproductivas de ovogénesis temprana, ovogénesis avanzada, gestación temprana y gestación avanzada (Tabla 6), procedentes del manantial La Luz, Jacona, Michoacán (Fig. 3), con coordenadas geográficas 101° 17' y 27° 55' y altitud de 1633 msnm, ubicada en la región del eje neovolcánico. El clima de esta zona es semicálido, con temperaturas medias anuales que oscilan entre 18.1 y 21.9°C, su precipitación anual varía de 720 a 1699 mm. La vegetación es de tipo matorral subtropical (CRM 1996).

Tabla 6. Número de ejemplares recolectados de *P. gracilis* y *C. encaustus*.

ESPECIE	ETAPA REPRODUCTIVA				TOTAL
	Ovogénesis Temprana	Ovogénesis Avanzada	Gestación Temprana	Gestación Avanzada	
<i>P. gracilis</i>	5	9	7	5	26
<i>C. encaustus</i>	7	4	2	7	20

2. Recolecta

Se realizó con un chinchorro de 2.5 m de ancho por 1m de largo y con trampas tipo nasa. Para el reconocimiento taxonómico se emplearon los trabajos de Álvarez del Villar (1970).

3. Procesamiento histológico

Los ovarios se obtuvieron mediante un corte longitudinal ventral, se disecaron y procesaron para su estudio histológico con los siguientes pasos (Aguilar et al. 1996):

1. Fijación con formol 10% o Solución de Bouin (8 a 12 horas)
2. Deshidratación con alcoholes graduales (70%, 80%, 90%, 96% y absoluto), y aclaración en alcohol-xilol y xilol
3. Inclusión en Paraplast con punto de fusión de 56-58°C
4. Obtención de cortes seriados con un grosor de 5-7 μm , realizados con un micrótopo de rotación American Optical modelo 820.
5. Tinciones: Hematoxilina-Eosina (panorama general, núcleos, límites celulares, elementos sanguíneos, basofilia y acidofilia), Tricrómica de Masson (contraste entre tejidos conjuntivo y epitelial, entre fibras colágenas y musculares, sangre),

azul de Alciano y PAS (glucosaminoglucanos, otras secreciones, láminas basales y glándulas), rojo oleoso (grasas).

6. Montaje de los cortes con bálsamo de Canadá o resina sintética.
7. Observación de preparaciones histológicas en un microscopio American Optical 100.
8. Toma de fotomicrografías de las estructuras seleccionadas con un fotomicroscopio Zeiss III.

Algunas muestras de tejido se procesaron para la obtención de cortes semifinos. Estas se fijaron en glutaraldehído, incluyeron en resina araldita, se cortaron a $2\mu\text{m}$ en promedio y se tiñeron con azul de toluidina.

La ovogénesis se clasificó en diferentes estadios de desarrollo teniendo en cuenta las características morfológicas de los ovocitos: I. Folículos primarios, II. Cromatina-nucléolo, III. Perinucléolos, IV. Vesículas vitelinas, V. Gránulos vitelinos y VI. Vitelo homogéneo, de acuerdo con las descripciones de Wallace y Selman (1990) y Takashima e Hibiya (1995) para peces ovíparos.

De igual forma, los ovarios se clasificaron en las etapas reproductivas correspondientes:

1. Ovogénesis temprana: los ovarios presentan ovocitos en estadios de desarrollo I, II, III, IV y en la fase inicial del estadio V de gránulos vitelinos.

2. Ovogénesis avanzada: los ovarios presentan principalmente ovocitos en la fase final del estadio de gránulos de vitelo y ovocitos con vitelo homogéneo.

3. Gestación temprana: los ovarios contienen folículos después de la fertilización y embriones en los que se ha formado la vesícula óptica.

4. Gestación avanzada: los ovarios contienen embriones en los que se han formado la totalidad de los órganos.

4. Análisis estadístico

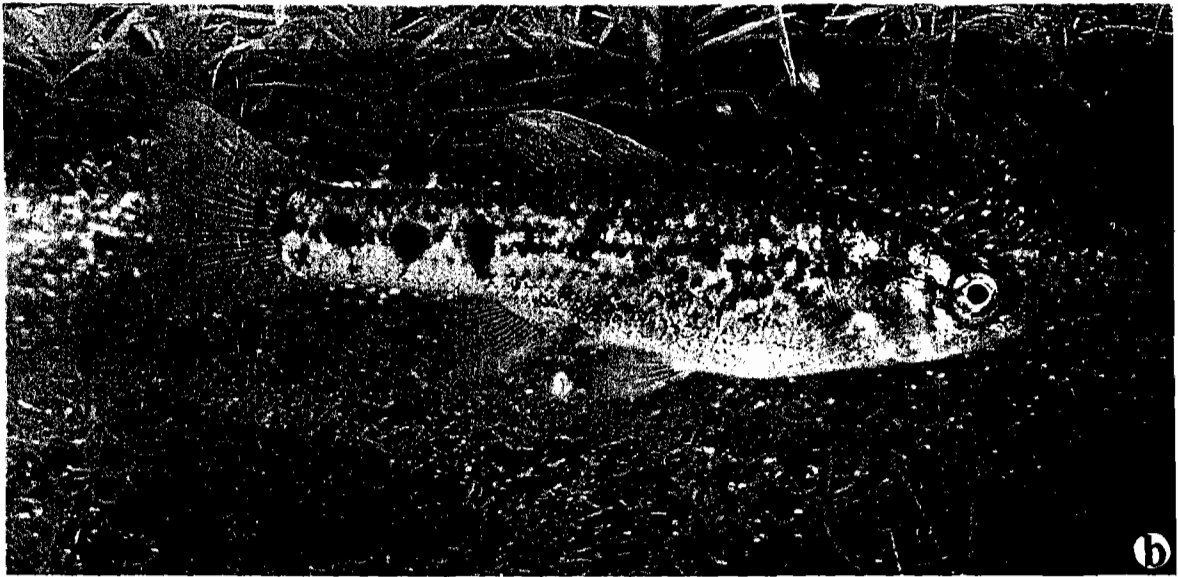
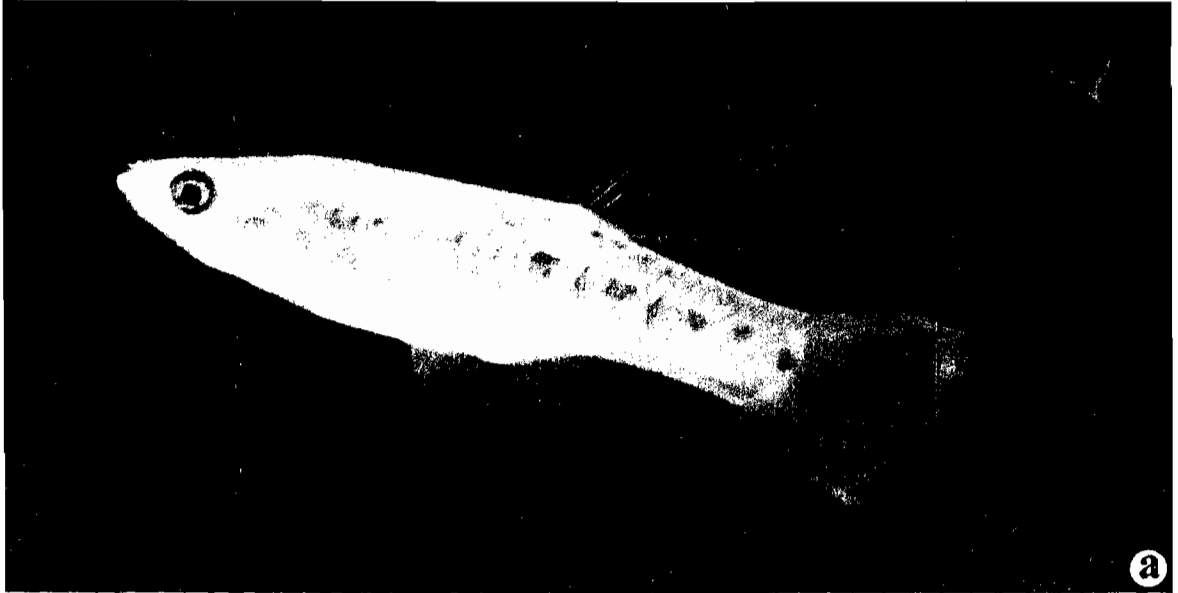
Con un digitalizador de imágenes, se tomaron 30 medidas en promedio de la altura de las células foliculares y el diámetro folicular en cada uno de los estadios de la ovogénesis, y de la altura del epitelio germinal en cada una de las etapas reproductivas: ovogénesis temprana y avanzada y gestación temprana y avanzada.

Con el fin de determinar si en el análisis se empleaban pruebas paramétricas o no paramétricas, se aplicaron las pruebas de homogeneidad de varianzas (test de Levene) y de distribución normal (Zar 1996).

Para determinar si existen cambios de las variables altura de las células foliculares y diámetro folicular con el estadio de la ovogénesis y de la altura del epitelio germinal con la etapa reproductiva en cada especie, se llevaron a cabo pruebas de ANOVA (paramétrica) o Kruskal-Wallis (no paramétrica), según el caso; seguido de una prueba de comparaciones múltiples (test de Tukey) (Zar 1996).

Finalmente, con el fin de establecer si existen diferencias significativas entre las dos especies, en las variables altura de las células foliculares y diámetro folicular por estadio de la ovogénesis, y altura del epitelio germinal por etapa reproductiva, se realizó la prueba paramétrica de t (test de Student) ó la no paramétrica de U (Mann-Whitney) (Zar 1996), según el caso. Las pruebas estadísticas se realizaron con el programa STATISTICA 6.0 a un nivel de significancia de 0.05.

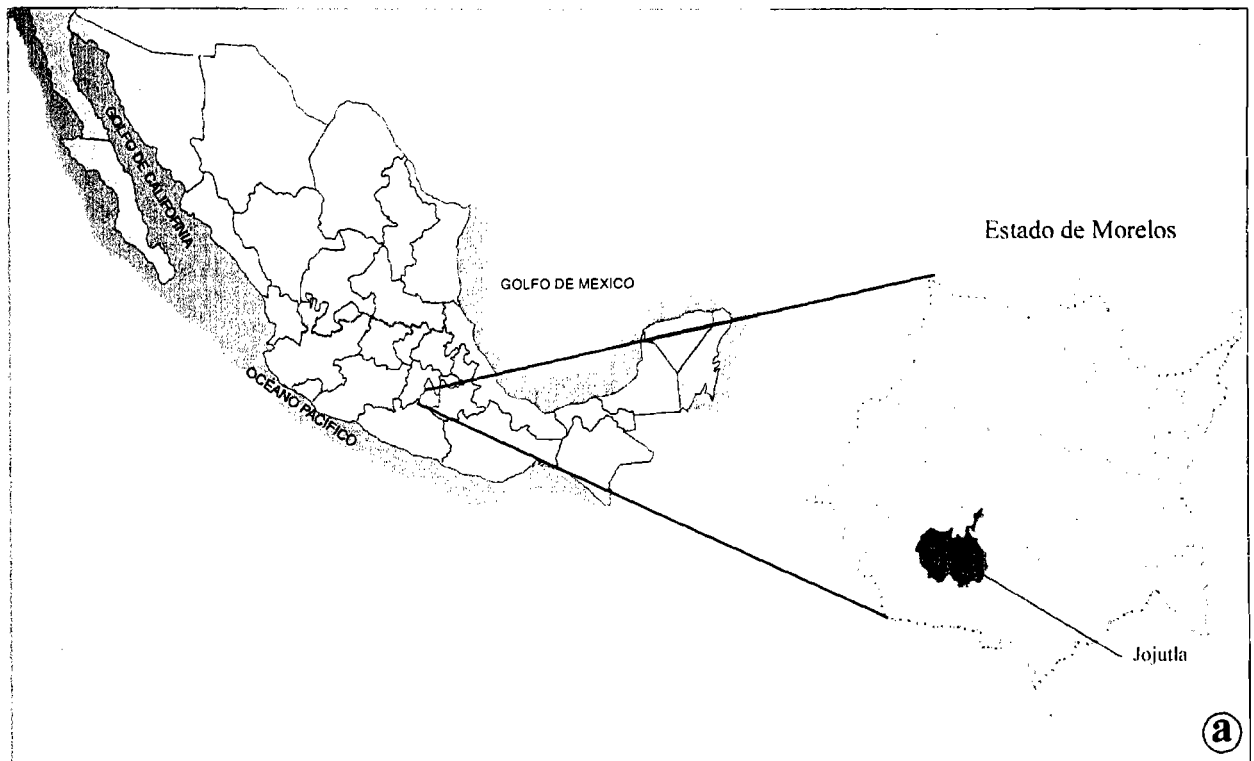
Figura 1. Ejemplares de las especies seleccionadas



a. Hembra adulta de *Poeciliopsis gracilis*

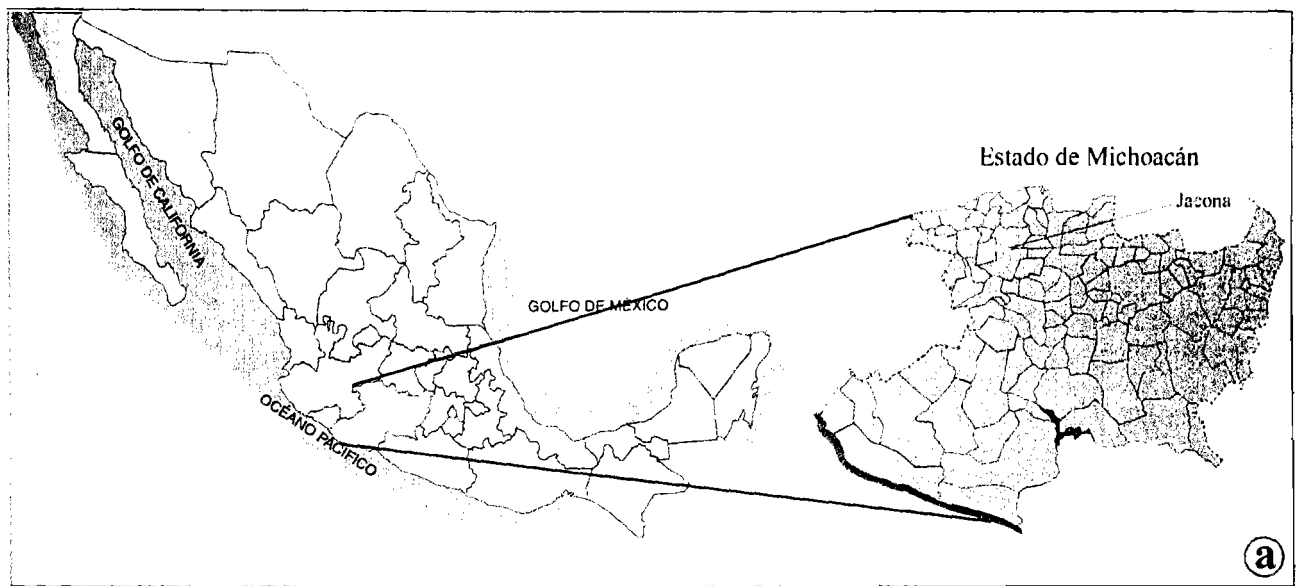
b. Hembra adulta de *Chapalichthys encaustus*

Figura 2. Localización y Sitio de Colecta de *Poeciliopsis gracilis*



- a. Localización geográfica del sitio de colecta de *Poeciliopsis gracilis*
b. Río Amacuzac, Jojutla, Estado de Morelos.

Figura 3. Localización y Sitio de Colecta de *Chapalichthys encaustus*



- a. Localización geográfica del sitio de colecta de *Chapalichthys encaustus*
 b. Manantial La Luz, Jacona, Estado de Michoacán
 c. Zona del manantial donde se recolectaron los ejemplares

VII. RESULTADOS

1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL OVARIO DE *Poeciliopsis gracilis* Y

Chapalichthys encaustus

Los ovarios de las dos especies analizadas, *P. gracilis* y *C. encaustus* presentan algunas características histológicas similares que se ilustran en este capítulo, en la sección correspondiente a cada una de ellas. El ovario es de tipo sacular y cistovárico, y de forma alargada (Fig. 4a,4b), ubicado en la pared dorsal de la cavidad del cuerpo, entre la vejiga gaseosa y el intestino, y soportado por el mesenterio dorsal. Está rodeado por una membrana peritoneal delgada y pigmentada y se comunica con el exterior a través del gonoducto.

La pared ovárica está formada por elementos somáticos y germinales, dispuestos en cuatro capas de tejidos que, del exterior al interior, forman: a) una capa de serosa constituida por epitelio plano simple y tejido conjuntivo laxo con melanocitos, b) una capa de músculo liso dispuesta longitudinal y circularmente, c) una capa de tejido conectivo laxo que contiene fibroblastos, fibras colágenas, vasos sanguíneos de diferente calibre y folículos en distintos estadios de desarrollo, y d) una capa de epitelio germinal de tipo columnar o cúbico que delimita el lumen (Figs. 4c, 18b) constituido por dos tipos celulares, células somáticas y células germinales (ovogonias y ovocitos tempranos) (Fig. 18c). La pared del ovario se continúa en el gonoducto, el cual desemboca al exterior a través del poro urogenital (Fig. 4b).

Las ovogonias son células esféricas u ovoides, con núcleo esférico y citoplasma claro, que se localizan en el epitelio germinal. El proceso de ovogénesis presenta los estadios de folículos primarios, cromatina-nucléolo, perinucléolos, vesículas vitelinas,

gránulos vitelinos y vitelo homogéneo. La etapa de previtelogénesis incluye los estadios I, II y III, y la de vitelogénesis los estadios IV, V y VI.

2. ESTRUCTURA OVÁRICA Y OVOGÉNESIS EN *Poeciliopsis gracilis*

2.1 Estructura microscópica del ovario

El ovario de *P. gracilis* es sacular con una cavidad interior o lumen (Fig. 4b). Su pared está formada por a) serosa, b) músculo liso, c) tejido conectivo laxo y d) epitelio germinal.

2.2 Ovogénesis

El proceso de ovogénesis tiene lugar a lo largo de la pared ovárica, en donde se observan los folículos en diferentes estadios de desarrollo. En la tabla 7 se presentan los promedios del diámetro folicular y la altura de las células foliculares en cada uno de los estadios de desarrollo.

Tabla 7. Datos morfométricos de folículos de *P. gracilis* en los diferentes estadios de la ovogénesis

Estadio	Diámetro folicular (\pm SD)	Altura de células foliculares (\pm SD)
I. Folículos primarios	13.09 (\pm 2.5 μ m)	1.3 (\pm 0.2 μ m)
II. Cromatina-nucléolo	28.3 (\pm 8.2 μ m)	1.2 (\pm 0.3 μ m)
III. Perinucléolos	54.4 (\pm 11.2 μ m)	1.3 (\pm 0.3 μ m)
IV. Vesículas vitelinas	120.6 (\pm 26.9 μ m)	3.2 (\pm 1.6 μ m)
V. Gránulos vitelinos	230 (\pm 51.4 μ m)	5.6 (\pm 1.8 μ m)
VI. Vitelo homogéneo	2032.9 (\pm 201.5 μ m)	2.7 (\pm 0.7 μ m)

Estadio I: Previtelogénesis: folículos primarios

En el epitelio germinal se encuentran las ovogonias y los ovocitos primarios en etapas cigoteno, paquiteno o diploteno de la profase I meiótica. Estos ovocitos se observan

aislados o en grupos, formando nidos celulares en el estroma (Fig. 5a,b). Su talla promedio es de 13.09 μm de diámetro y se caracterizan por tener citoplasma hialino y un núcleo esférico con cromosomas evidentes; algunas células foliculares de 1.3 μm de altura en promedio lo rodean.

Estadio II: Previtelogénesis: cromatina-nucléolo

Los ovocitos incrementan su tamaño y alcanzan un diámetro promedio de 28.3 μm . El citoplasma es levemente basófilo, el núcleo es grande, esférico, presenta cromosomas plumosos (Fig. 5c) y un nucléolo (Fig. 5d). En algunas secciones histológicas se observan gránulos acidófilos en el citoplasma (Fig. 5c). Algunas células foliculares planas de 1.2 μm de altura en promedio, rodean al ovocito (Fig. 5c,d).

Estadio III: Previtelogénesis: perinucléolos

El diámetro promedio del ovocito es de 54.4 μm . El citoplasma es basófilo y finamente granular (Fig. 6a), con algunos gránulos acidófilos, similar a lo observado en el estadio anterior (Fig. 6b). El núcleo es esférico y se observan varios nucléolos dispuestos en la periferia de la membrana nuclear (Fig. 6a,c). Una capa de células foliculares planas de 1.3 μm de altura en promedio, rodean por completo al ovocito (Fig. 6a,c).

Estadio IV: Vitelogénesis temprana: vesículas vitelinas

Los ovocitos alcanzan un diámetro promedio de 120.6 μm . Se caracteriza por la formación de vesículas vitelinas claras en el citoplasma (Fig. 7a,b,c,d), las cuales aumentan progresivamente de la periferia hacia el centro. La zona pelúcida se observa como una membrana delgada entre el ovocito y las células foliculares. Las células foliculares forman que constituyen una sola capa, son de forma irregular y alcanzan 3.2 μm de altura en

promedio (Fig. 7a,b,c,d). La teca contiene células alargadas, vasos sanguíneos y fibras colágenas (Fig. 7a,b,d).

Estadio V: Vitelogénesis intermedia: gránulos vitelinos

El diámetro promedio del ovocito de 230 μm . Entre las vesículas vitelinas se observan algunos gránulos de vitelo, acidófilos y esféricos (Fig. 8a,b). La zona pelúcida es delgada. Las células foliculares son irregulares en forma y altura, por lo que la capa folicular muestra un límite ondulado, alcanzando una altura promedio de 5.6 μm . La teca que rodea al folículo (Fig. 8a,b) es similar al estadio anterior.

En la fase inicial, el número de gránulos de vitelo aumenta progresivamente en el citoplasma (Fig. 9a,b). Al final de esta fase se inicia la homogeneización del vitelo y se observan glóbulos lipídicos en el citoplasma (Fig. 9c). Las células foliculares mantienen su forma irregular y se encuentran rodeadas por la teca (Fig. 9a,b,c).

Estadio VI: Vitelogénesis avanzada: formación de vitelo homogéneo

El ovocito alcanza un diámetro promedio de 2.03 mm y presenta una gran masa de vitelo acidófila homogéneamente distribuida en el citoplasma, producto de la fusión de los gránulos vitelinos (Fig. 10a,b). En algunas secciones histológicas se observa el polo animal (Fig. 10b,c), con el núcleo rodeado de citoplasma (Fig. 10c). Se observan glóbulos lipídicos distribuidos en el citoplasma (Fig. 10a,b), los cuales reaccionan positivamente con la tinción de rojo oleoso (Fig. 11a). Las células foliculares son planas o cúbicas, con una altura promedio de 2.7 μm (Fig. 11b), rodeadas por la teca.

2.3 Atresia folicular

En *P. gracilis*, la atresia folicular es un fenómeno que se presenta en todos los estadios de desarrollo del ovocito, tanto en etapa de previtelogénesis como de vitelogénesis (Fig. 12a,b,c,d,e). Los folículos atrésicos se caracterizan por presentar un contorno irregular (Fig. 12a,d); desorganización del citoplasma y su reducción progresiva (Fig. 12b,d,e); plegamiento y fragmentación de la zona pelúcida (Fig. 12d,e); proliferación e hipertrofia de las células foliculares (Figs. 12a,c); y desprendimiento de algunas células foliculares hacia el citoplasma (Fig. 12a,d,e), a manera de fagocitos. La atresia folicular se presenta en ovarios no gestantes (Fig. 12a) y gestantes (Fig. 12c).

2.4 Presencia de espermatozoides

En el ovario y gonoducto de *P. gracilis* se observaron abundantes espermatozoides durante todas las etapas reproductivas. La superficie interna de la pared del ovario muestra pliegues, dentro de los cuales se observan los espermatozoides (Fig. 13a,b,c,d). Las cabezas basófilas de los espermatozoides se sitúan cercanas a las células del epitelio germinal y los flagelos se proyectan hacia el lumen (Fig. 13c,d). Se observaron escasos espermatozoides dispersos en el lumen.

Adicionalmente, en pliegues de la mucosa ubicados en la región cefálica del ovario (Fig. 14a) se observan espermatozoides, algunos dispersos en el lumen (Fig. 14b). En la región caudal, correspondiente al gonoducto se observan pliegues (Fig. 14c) con espermatozoides adyacentes al epitelio (Fig. 14d).

2.5 Etapas reproductivas

Las hembras de *P. gracilis* se clasificaron en diferentes etapas reproductivas: ovogénesis temprana, ovogénesis avanzada, gestación temprana y gestación avanzada. Los estadios iniciales de la ovogénesis I, II, III, correspondientes a la previtelogénesis, están presentes en los ovarios de todas las etapas reproductivas, en tanto que los estadios de la vitelogénesis IV, V y VI y gestación varían de acuerdo a la etapa reproductiva.

Ovogénesis temprana

Los ovarios (Fig. 4b) se caracterizan por presentar ovocitos previtelogénicos en estadios I de folículos primarios, II de cromatina-nucléolo, III de perinucléolos, y ovocitos vitelogénicos en estadios IV de vesículas vitelinas y V de gránulos vitelinos, en su fase inicial (Fig. 14 a,c). Se observan folículos atrésicos, principalmente en los estadios III y IV (Fig. 12a), así como abundantes espermatozoides en pliegues del epitelio de la mucosa (Fig. 13a,c).

Ovogénesis avanzada

Los ovarios se distinguen por presentar folículos de mayor tamaño, en estadios V de gránulos vitelinos, en su fase final (Fig. 9c) y VI de formación de vitelo homogéneo (Figs. 4a, 10a). También se observan algunos folículos en estadios tempranos de desarrollo (Figs. 4c, 10b). Durante esta etapa, son abundantes los folículos atrésicos en estadios de desarrollo del III al VI. Se observan espermatozoides en el lumen ovárico entre pliegues de la mucosa (Fig. 13b,d).

Gestación temprana

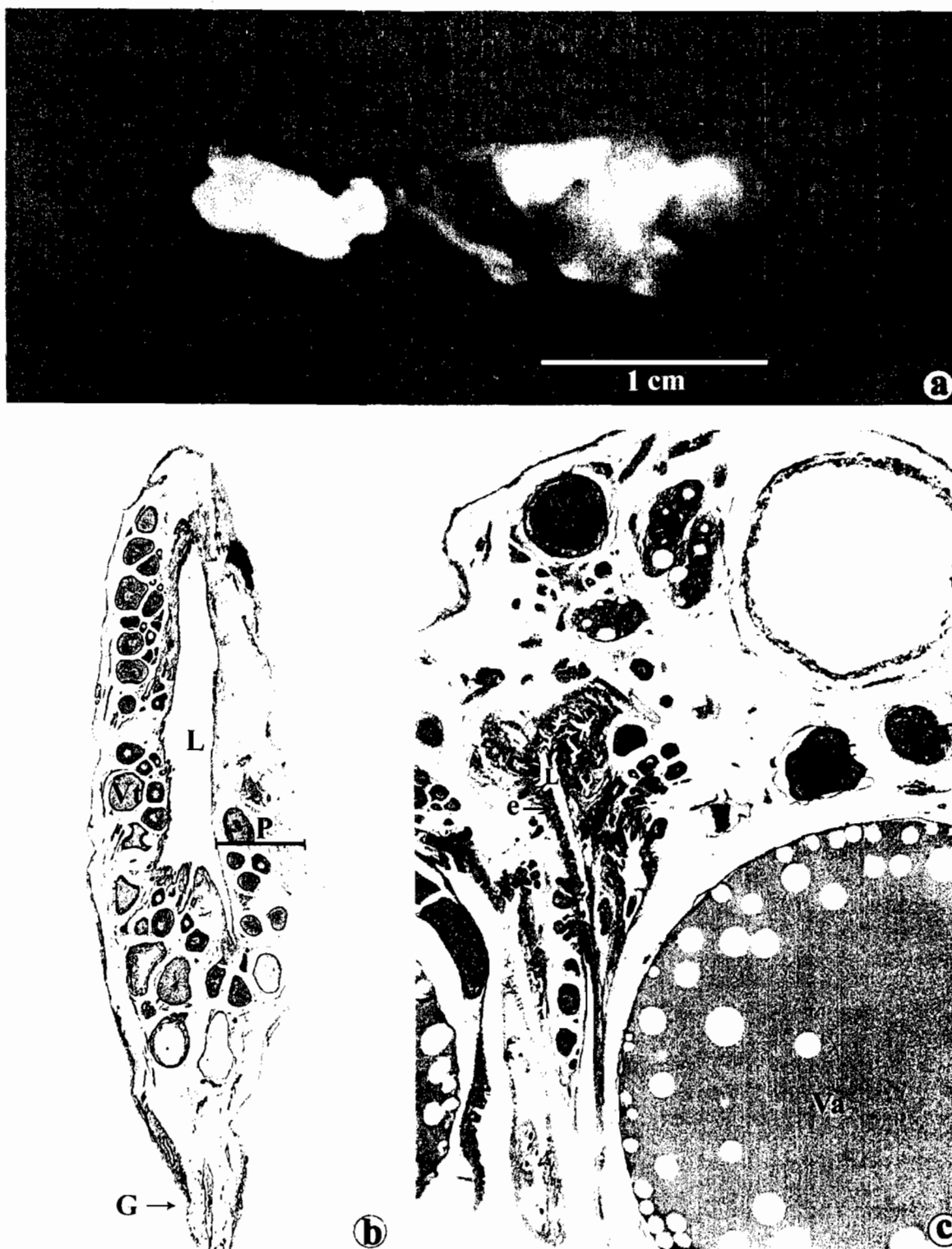
En *P. gracilis* la gestación es de tipo intrafolicular, es decir, el desarrollo embrionario se lleva a cabo dentro del folículo ovárico (Figs. 15a,b, 16a, 17a).

En ovarios en esta etapa, los folículos con embriones en desarrollo presentan vitelo homogéneo y glóbulos lipídicos (Fig. 15a,b,d). Algunos embriones se encuentran en etapa de neurulación. Las células foliculares son planas o cúbicas y pueden observarse en aposición al tejido embrionario; en el polo embrionario en relación a la epidermis (Fig. 15c) y en el polo vegetal en relación a los vasos sanguíneos del saco vitelino (Fig. 15d). Se encuentran folículos en estadios tempranos de desarrollo, algunos con rasgos de atresia (Fig. 15b), así como folículos maduros no fertilizados, algunos de ellos atrésicos (Fig. 15a). Se observan espermatozoides en pliegues de la pared ovárica, con sus cabezas cercanas al epitelio germinal.

Gestación avanzada

Se observan los embriones en etapas de desarrollo avanzado al interior de los folículos. La estructura de los órganos de los sentidos como vesículas ópticas y óticas, el músculo esquelético y los sistemas digestivo, circulatorio y excretor se definen con claridad (Fig. 16a, 17a). Algunos ovarios presentan a la vez embriones en etapa de discoblástula (Fig. 16a,b). El vitelo homogéneo prevalece, pero se ha reducido de manera significativa respecto a la etapa anterior (Figs. 16a, 17a). En algunos embriones se observa la formación inicial de la gónada (Fig. 17c), en la que se distingue la cresta gonadal que contiene gonocitos esféricos entre células somáticas (Fig. 17d). También se observan folículos maduros no fertilizados, algunos con rasgos de atresia.

Figura 4. Ovario de *Poeciliopsis gracilis*.

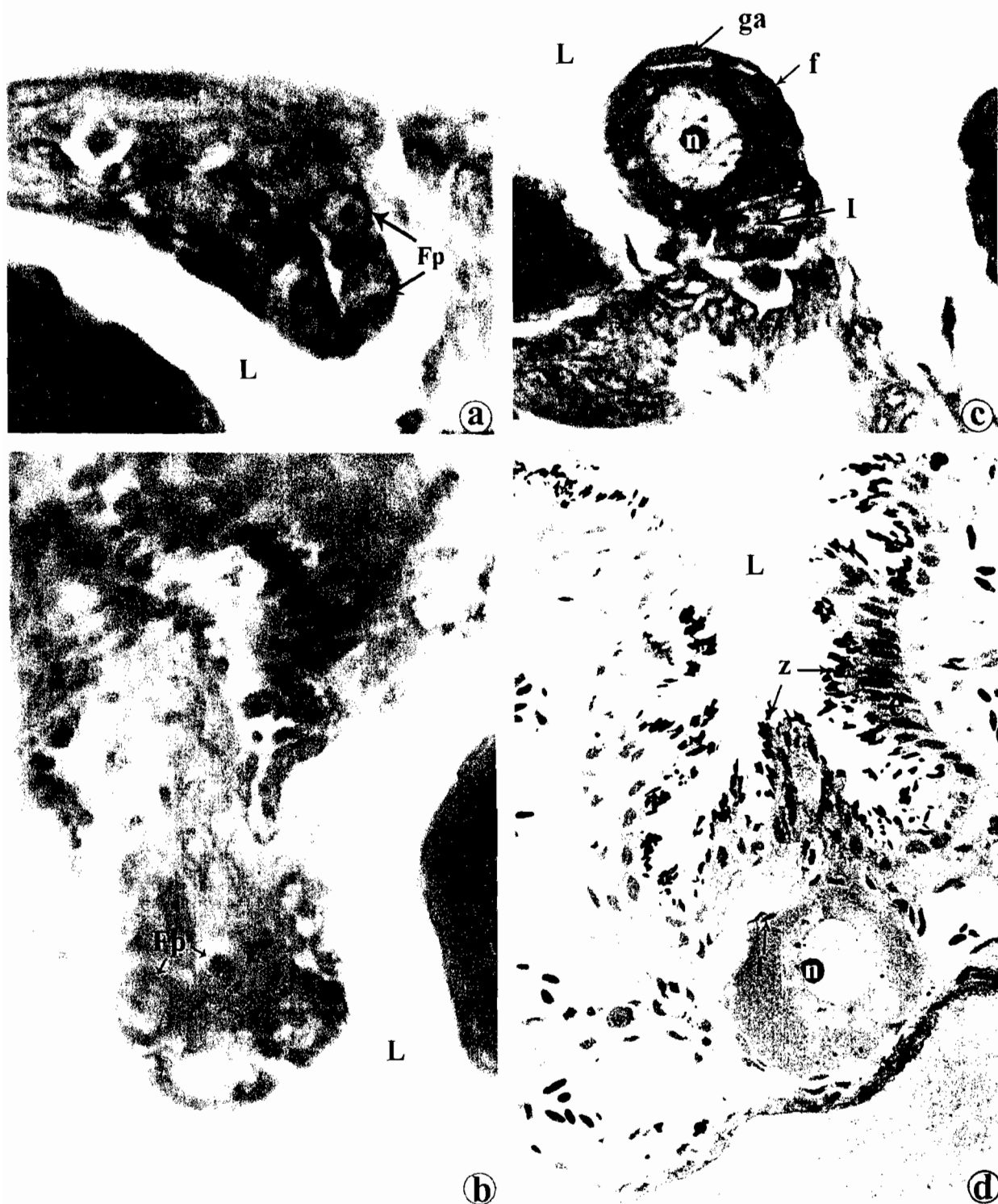


a. Vista macroscópica de un ovario vitelogénico.

b. Sección longitudinal de un ovario en vitelogénesis temprana. Pared (P), lumen (L), gonoducto (G), ovocitos vitelogénicos tempranos (Vt). H-E, 10X.

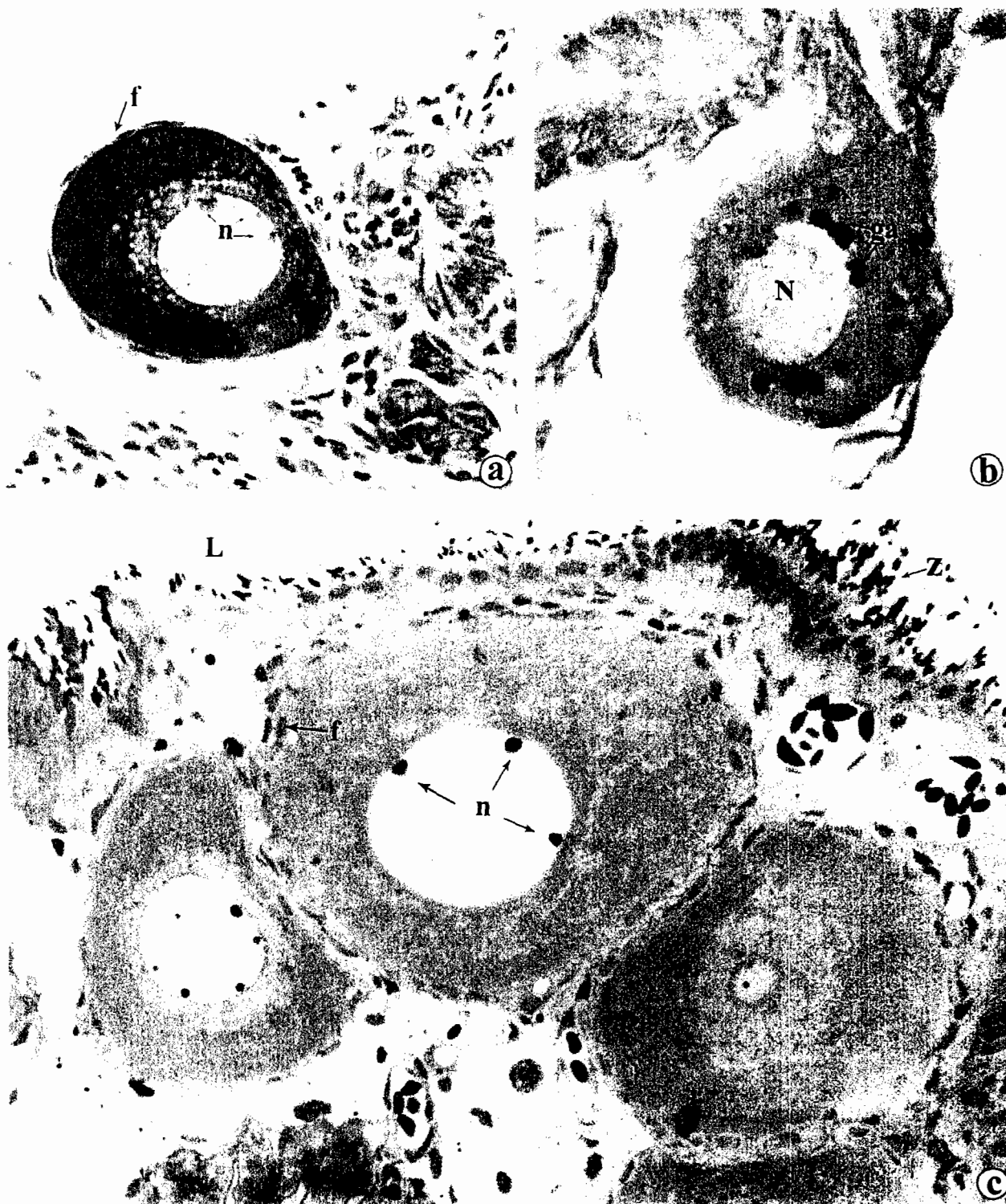
c. Pared del ovario. Ovocitos vitelogénicos tempranos (Vt) y vitelogénicos avanzados (Va), epitelio germinal (e), lumen (L). H-E, 78X.

**Figura 5. Previtelogénesis en *Poeciliopsis gracilis*.
 Estadio I: Folículos primarios y estadio II: Cromatina-nucléolo**



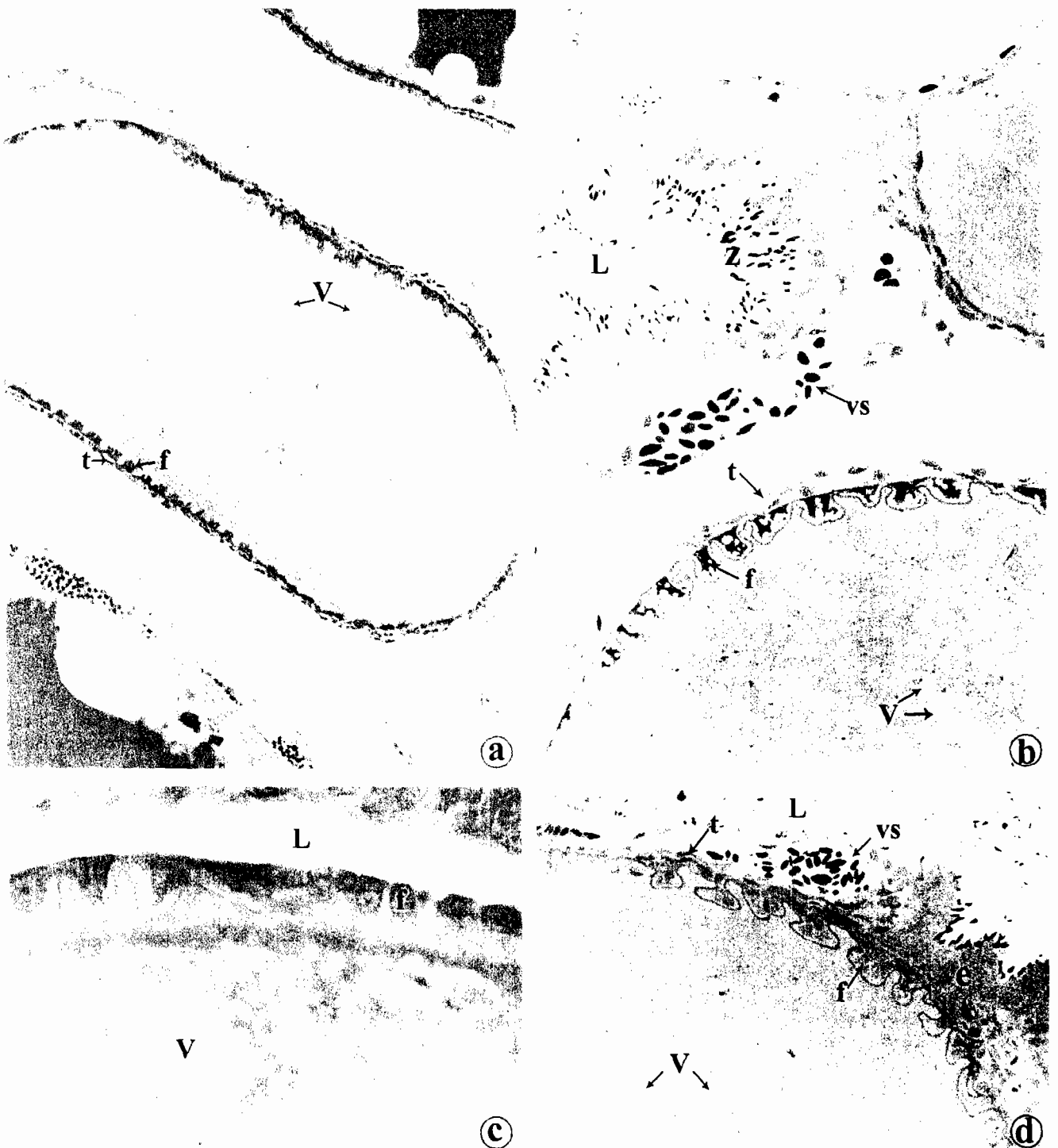
a. b. Ovocitos en estadio I: Folículos primarios (Fp), lumen (L). H-E, 500X.
c. Ovocito en estadio II: Cromatina-nucléolo. Nucléolo (n), gránulos acidófilos (ga), células foliculares (f), folículo en estadio I (I), lumen (L). H-E, 200X.
d. Ovocito en estadio II. Nucléolo (n), células foliculares (f), epitelio germinal (e), lumen (L), espermatozoides (z). Azul de Toluidina, 200X.

Figura 6. Previtelogénesis en *Poeciliopsis gracilis*. Estadio III: Perinucléolos.



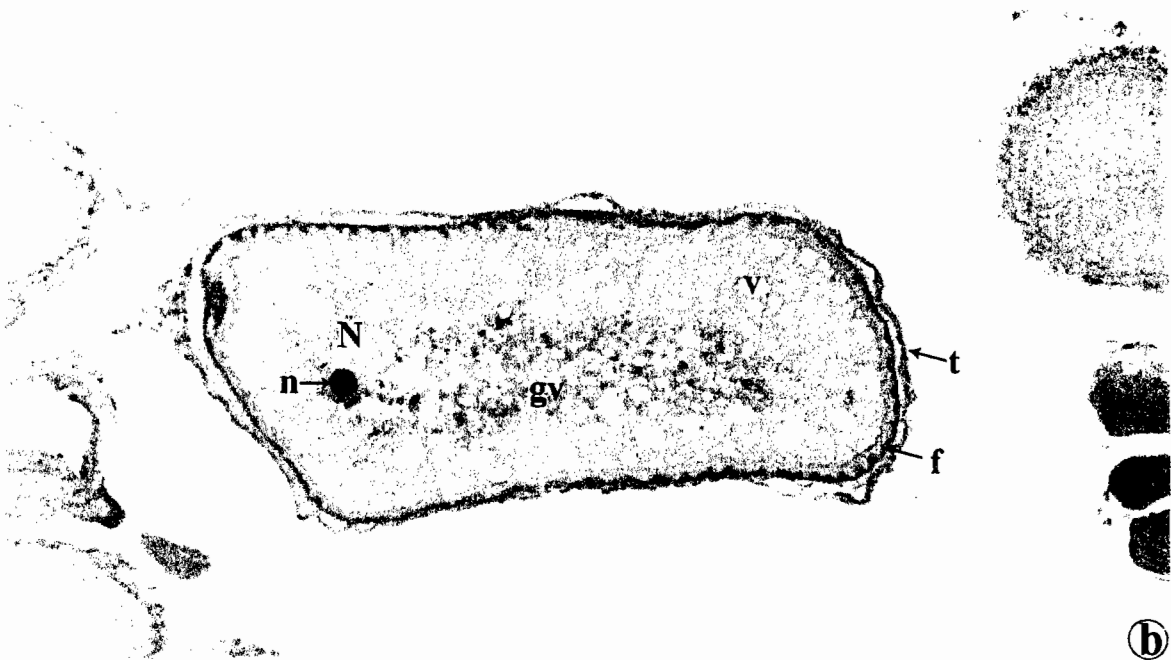
- a. Ovocito en estadio III: Perinucléolos. Nucléolos (n), núcleos alargado de las células foliculares (f). H-E, 200X.
- b. Gránulos acidófilos. Núcleo (N), gránulos acidófilos en el citoplasma (ga). PAS-AB, 200X.
- c. Ovocitos en estadio III. Nucléolos (n), células foliculares (f), lumen (L), presencia de espermatozoides (z). Azul de Toluidina, 200X.

Figura 7. Vitelogénesis en *Poeciliopsis gracilis*.
 Estadio IV. Vitelogénesis temprana: vesículas vitelinas



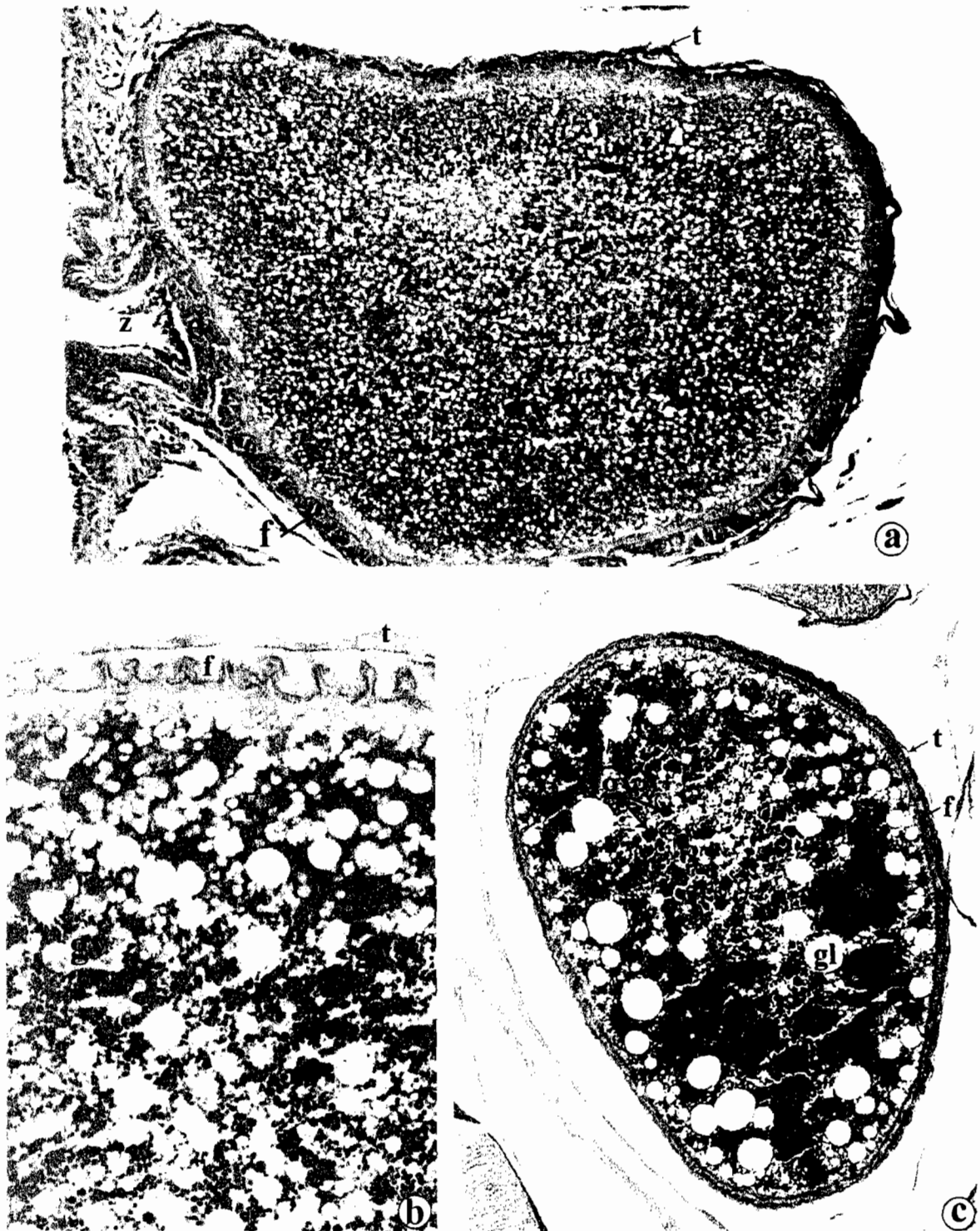
- a. Ovocito en estadio IV: vesículas vitelinas. Vesículas (V), células foliculares (f), teca (t). H-E, 78X.
- b. Ovocito en estadio IV. Vesículas (V), células foliculares (f), teca (t), vaso sanguíneo (vs), lumen (L), espermatozoides (z). Azul de Toluidina, 200X.
- c. Detalle de ovocito en estadio IV. Células foliculares (f), vesículas (V), lumen (L). H-E, 1250X.
- d. Detalle de ovocito en estadio IV. Vesículas (V), células foliculares (f), teca (t), vaso sanguíneo (vs), epitelio germinal (e), lumen (L). Azul de Toluidina, 200X.

**Figura 8. Vitelogénesis en *Pociliopsis gracilis*.
Estadio V. Vitelogénesis intermedia: gránulos vitelinos**



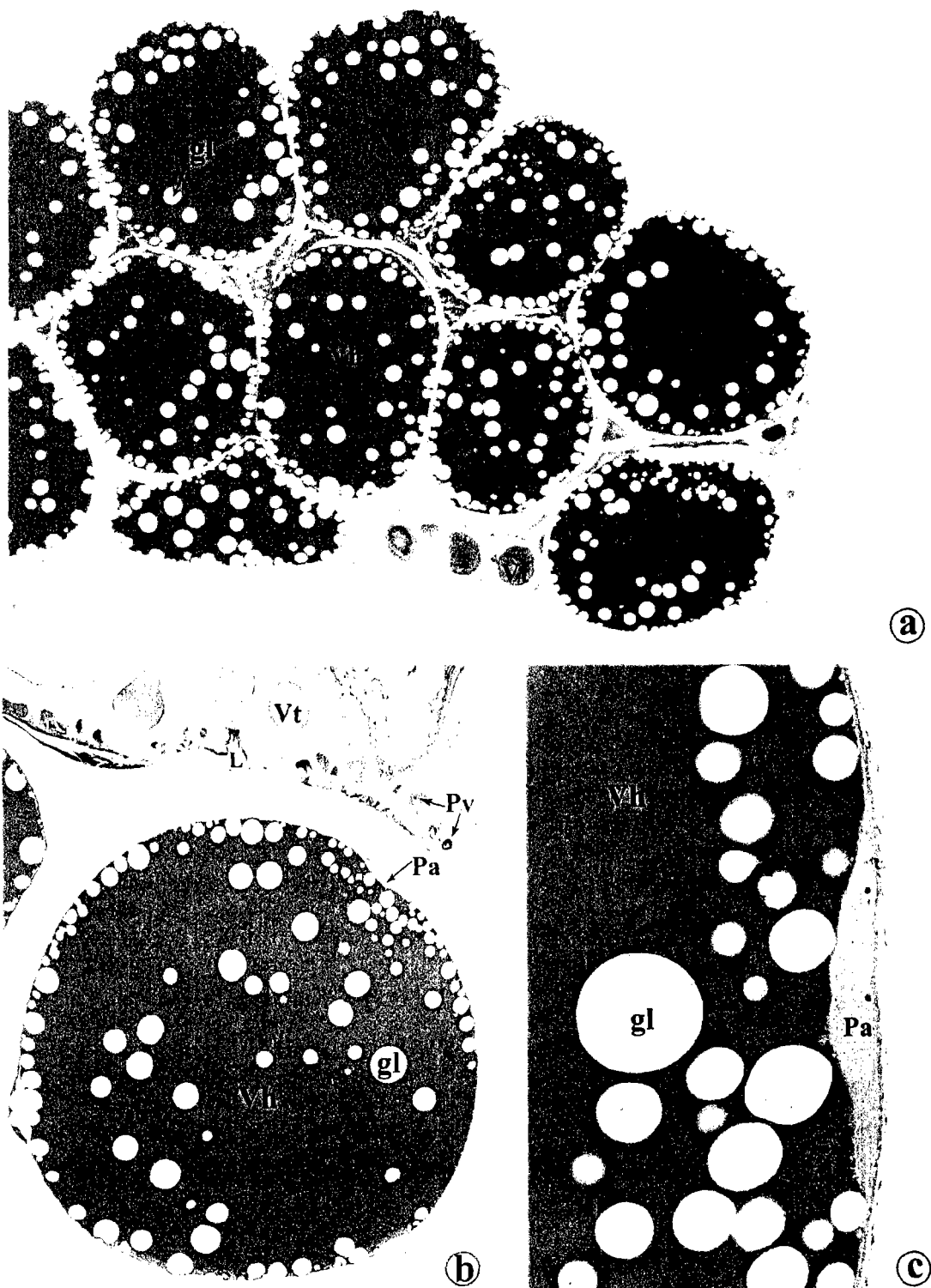
- a. Ovocito en estadio V: Gránulos vitelinos.** Se observan algunos gránulos vitelinos (gv) en el citoplasma. Vesículas vitelinas (V), células foliculares (f), teca (t). H-E, 200X.
- b. Ovocito en estadio V.** Gránulos vitelinos (gv), vesículas vitelinas (V), células foliculares (f), teca (t), núcleo (N), nucléolo (n). H-E, 125X.

Figura 9. Vitelogénesis en *Poeciliopsis gracilis*.
 Estadio V. Vitelogénesis intermedia: gránulos vitelinos



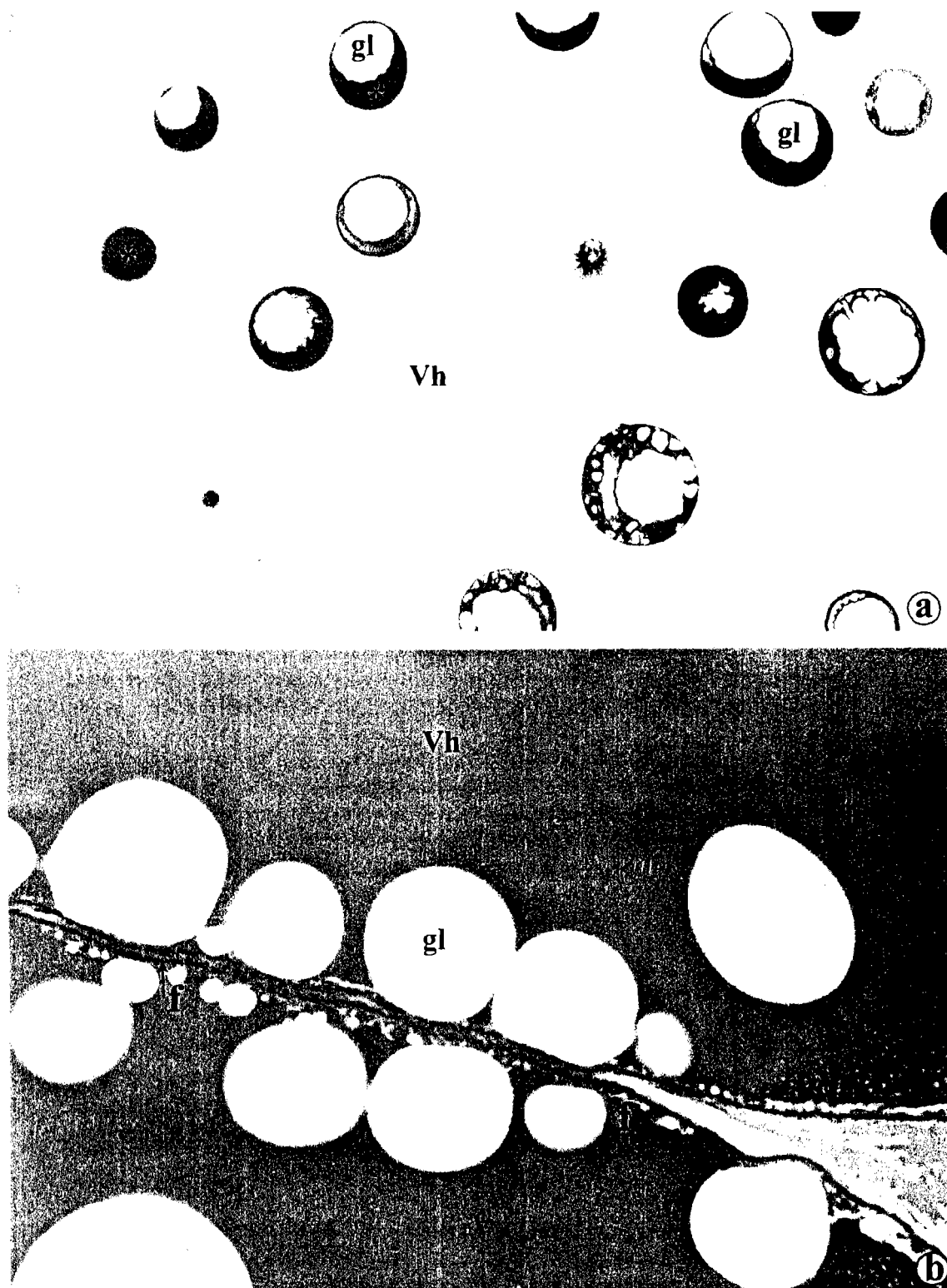
- a. Ovocito en estadio V: Gránulos vitelinos. Se observan abundantes gránulos vitelinos (gv) en el citoplasma. Células foliculares (f), teca (t), epitelio germinal (e), espermatozoides (z). PAS-AB, 78X.
- b. Detalle de ovocito en estadio V. Gránulos vitelinos (gv), células foliculares (f), teca (t). PAS-AB, 200X.
- c. Ovocito en estadio V. Se inicia la homogeneización (*) del vitelo. Gránulos vitelinos (gv), glóbulos lipídicos (gl), células foliculares (f), teca (t). PAS-AB, 32X.

Figura 10. Vitelogénesis en *Poeciliopsis gracilis*.
 Estadio VI. Vitelogénesis avanzada: formación de vitelo homogéneo



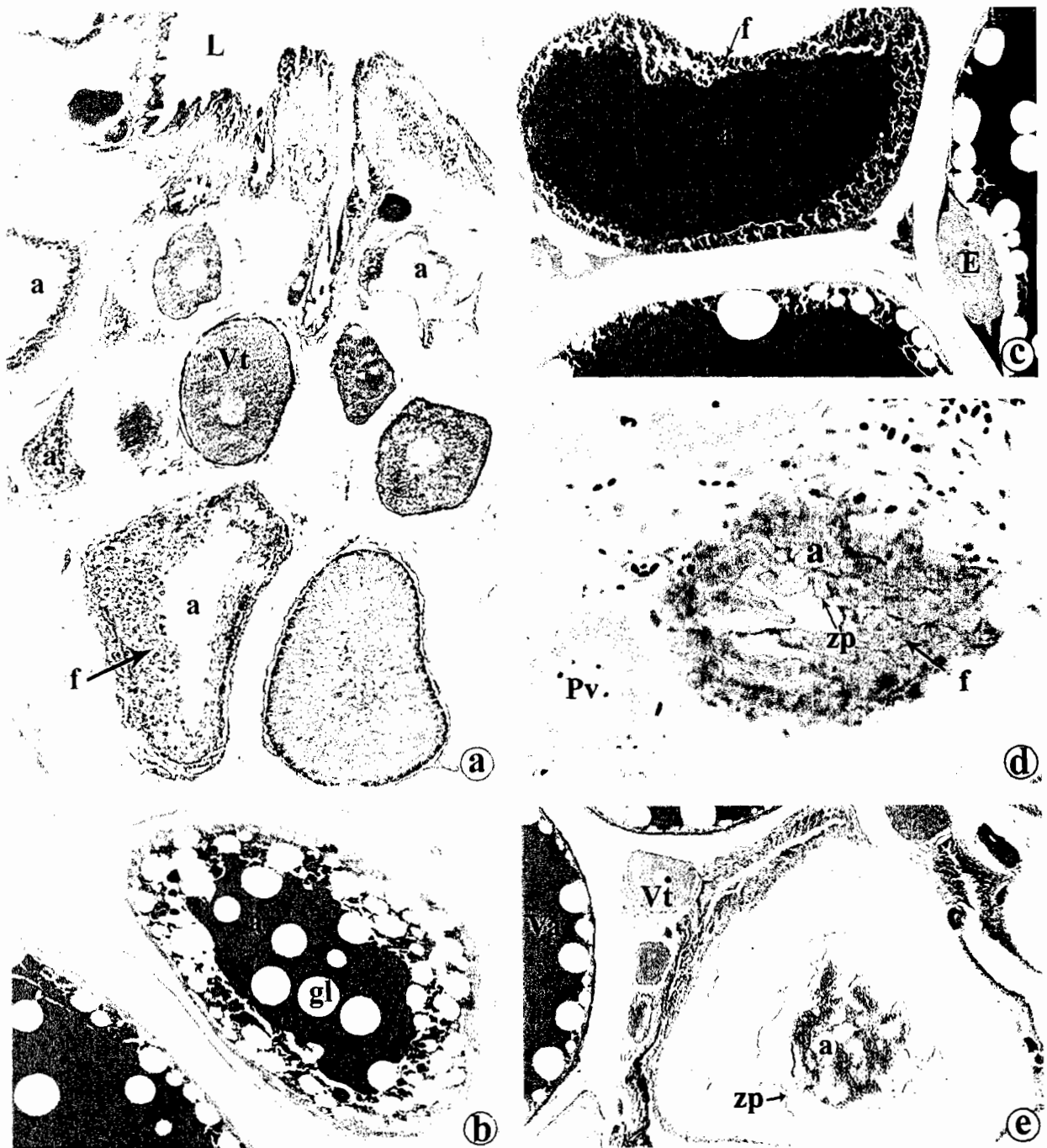
- a. Vista panorámica de un ovario en estadio VI. Vitelo homogéneo (Vh), glóbulos lipídicos (gl), ovocitos previtelogénicos (Pv) y vitelogénicos tempranos (Vt). H-E, 10X.
- b. Ovocito en estadio VI. Vitelo homogéneo (Vh), glóbulos lipídicos (gl), polo animal (Pa), ovocitos vitelogénicos tempranos (Vt), lumen ovárico (L). H-E, 32X.
- c. Detalle del polo animal. Polo animal (Pa), vitelo homogéneo (Vh), glóbulos lipídicos (gl). H-E, 500X.

**Figura 11. Vitelogénesis en *Poeciliopsis gracilis*.
Estadio VI. Vitelogénesis avanzada: formación de vitelo homogéneo**



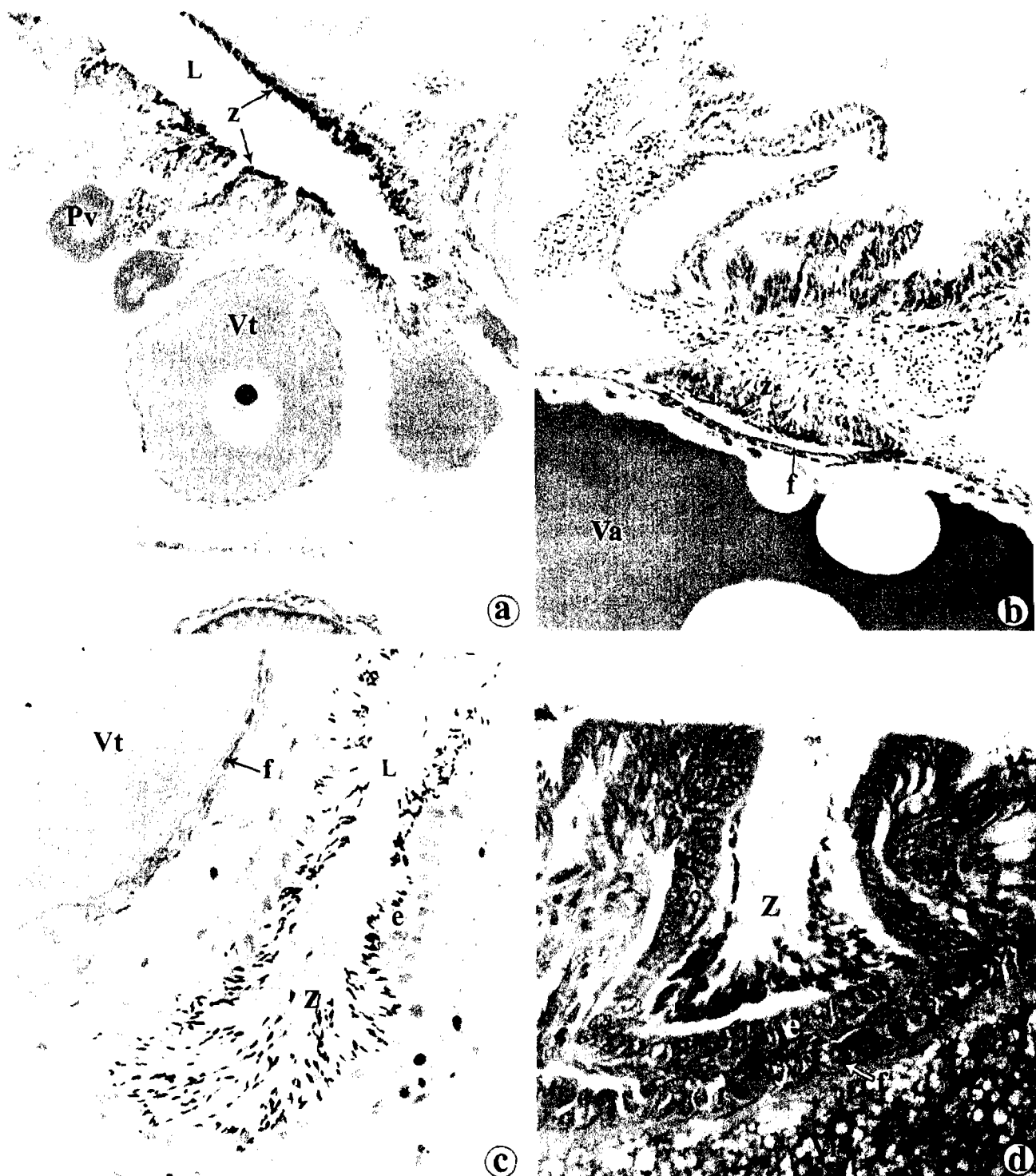
- a. Glóbulos lipídicos durante el estadio VI: vitelo homogéneo.** Glóbulos lipídicos (gl), reacción positiva al rojo oleoso (*), vitelo homogéneo (Vh). Rojo Oleoso, 500X.
- b. Detalle de células foliculares de dos ovocitos en estadio de vitelo homogéneo.** Células foliculares (f), glóbulos lipídicos (gl), vitelo homogéneo (Vh). H-E, 500X.

Figura 12. Folículos atrésicos en el ovario de *Poeciliopsis gracilis*.



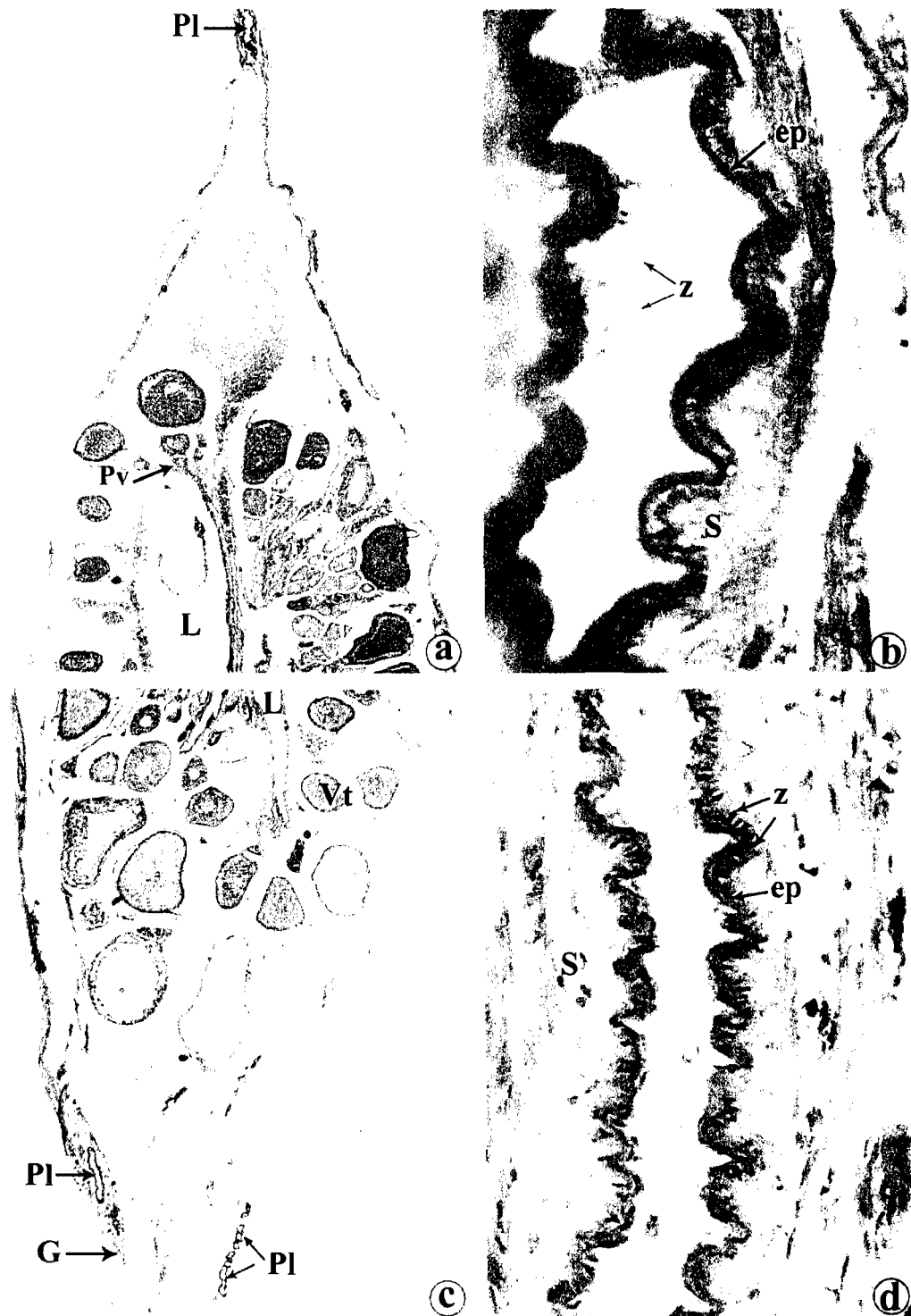
- a. Folículos atrésicos en ovario en etapa de ovogénesis temprana.** Folículos atrésicos (a), células foliculares en el citoplasma (f), ovocitos en vitelogénesis temprana (Vt), lumen ovárico (L). H-E, 78X.
- b. Folículo atrésico en ovario en etapa de gestación temprana.** Folículo atrésico (a), glóbulos lipídicos (gl). Note los límites irregulares del folículo. PAS-AB, 78X.
- c. Folículo atrésico en estadio de vitelo homogéneo.** Folículo atrésico (a), proliferación de células foliculares (f), embrión en desarrollo (E). PAS-AB, 78X.
- d. Folículo en etapa avanzada de atresia.** Folículo atrésico (a), plegamiento de la zona pelúcida (zp), células foliculares (f), ovocitos previtelogénicos (Pv). Azul de Toluidina, 125X.
- e. Folículo vitelogénico en atresia avanzada.** Folículo atrésico (a), plegamiento de la zona pelúcida (zp), ovocitos en vitelogénesis temprana (Vt) y avanzada (Va). H-E, 78X.

Figura 13. Presencia de espermatozoides en el ovario de *Poeciliopsis gracilis*.

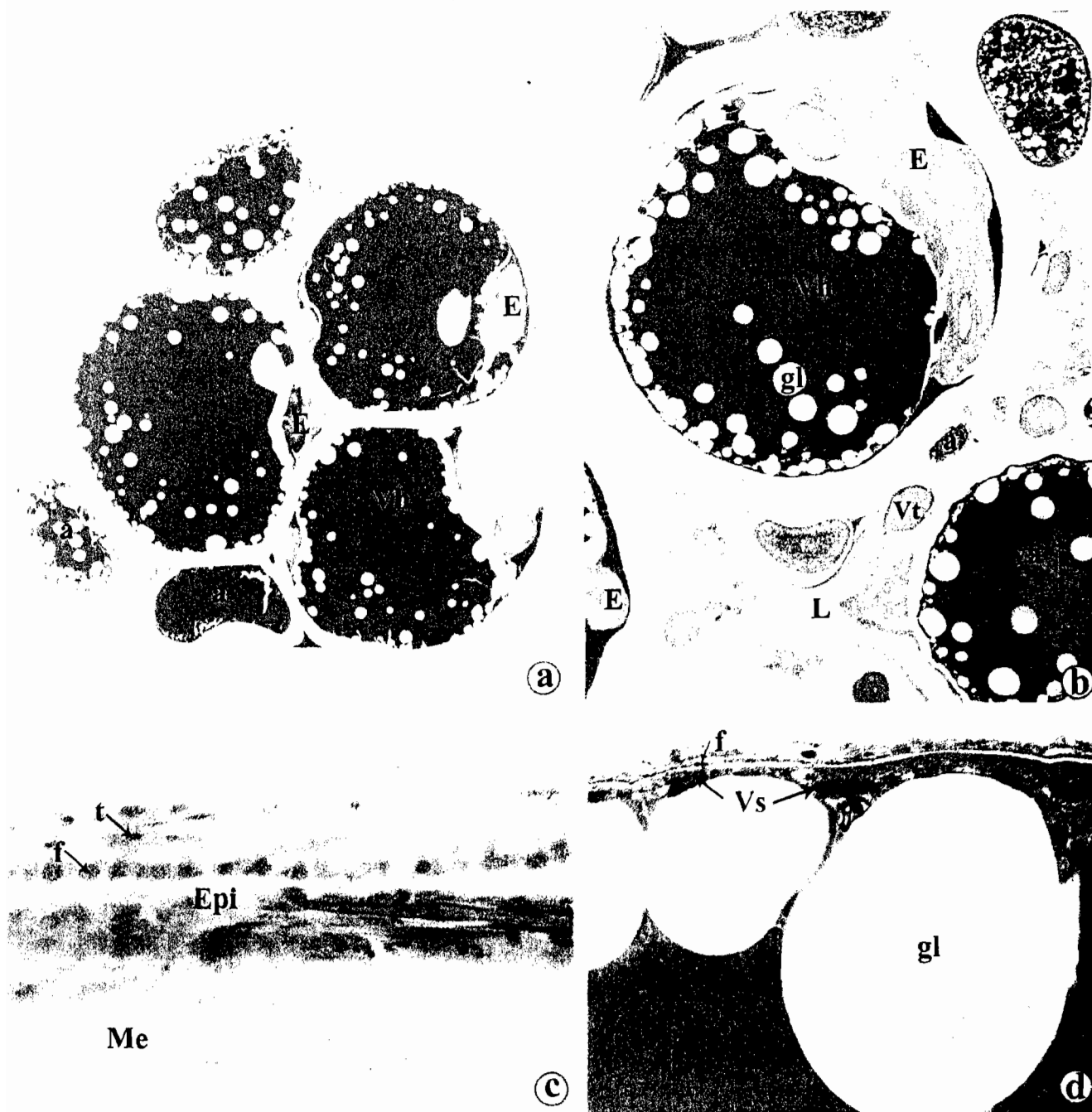


- a. Vista panorámica de espermatozoides cercanos al epitelio germinal. Espermatozoides (z), ovocitos previtelogénicos (Pv) y vitelogénicos tempranos (Vt), lumen ovárico (L). H-E, 78X.
- b. c. d. Espermatozoides en pliegues del epitelio germinal. Cerca a estos pliegues, se observan ovocitos en el estroma en distintas fases de la vitelogénesis: temprana (Vt), intermedia (Vi) y avanzada (Va). Espermatozoides (z), epitelio germinal (e), células foliculares (f).
 b. H-E, 78X. c. Azul de Toluidina, 200X. d. H-E, 500X.

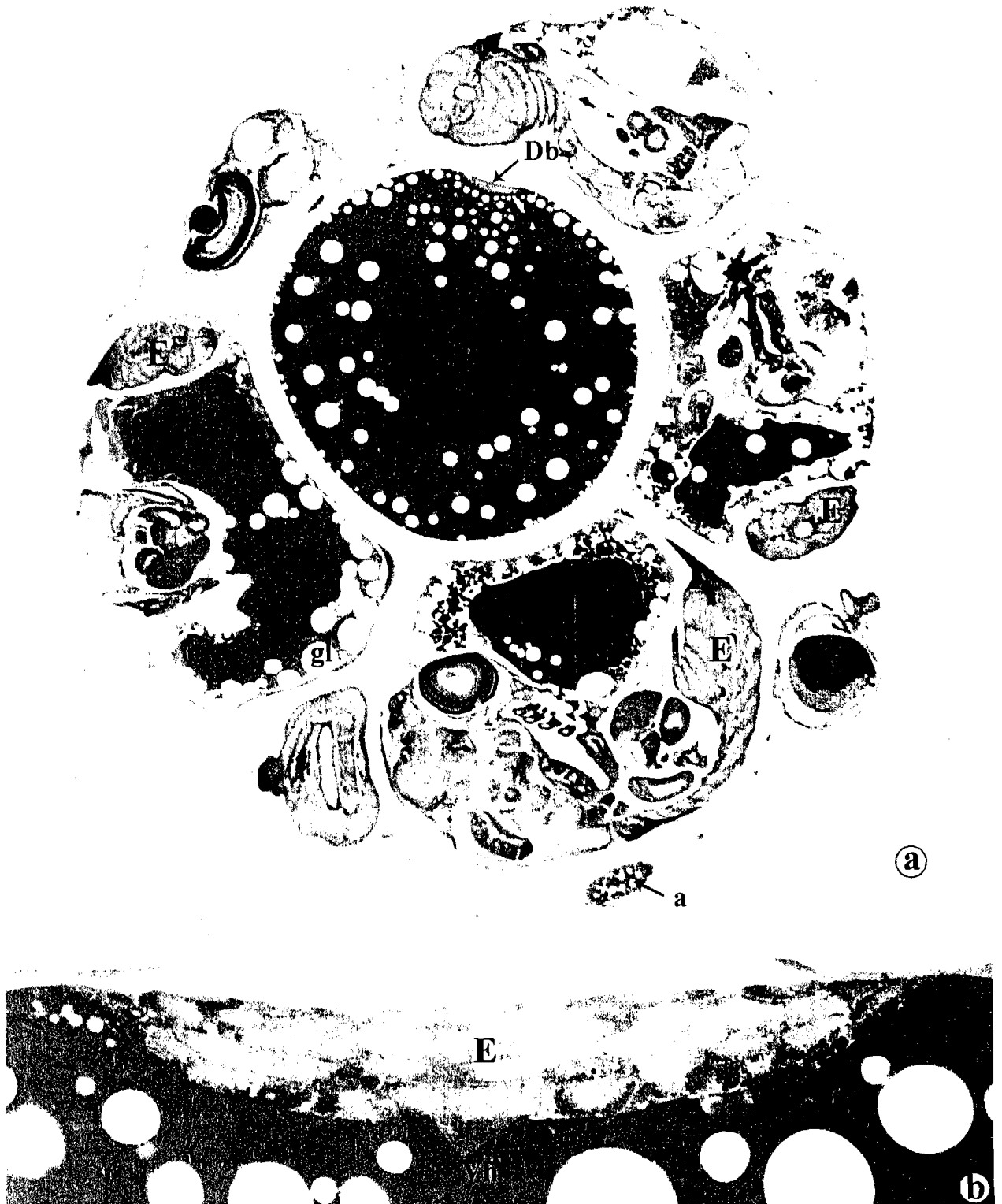
Figura 14. Presencia de espermatozoides en el ovario de *Poeciliopsis gracilis*.



- a. Región cefálica del ovario con pliegues que contienen espermatozoides. Pliegue (pl), ovocitos previtelogénicos (Pv) lumen ovárico (L). H-E, 32X.
- b. Detalle del pliegue ovárico. Espermatozoides (z), epitelio columnar simple (ep), estroma (s). H-E, 200X.
- c. Región caudal del ovario con pliegues que contienen espermatozoides. Pliegues (pl), ovocitos vitelogénicos tempranos (Vt), lumen (L), gonoducto (G). H-E, 32X.
- d. Detalle del pliegue ovárico. Espermatozoides (z). Note la relación de la cabeza del espermatozoide con el epitelio (ep) del pliegue, estroma (S). H-E, 200X.

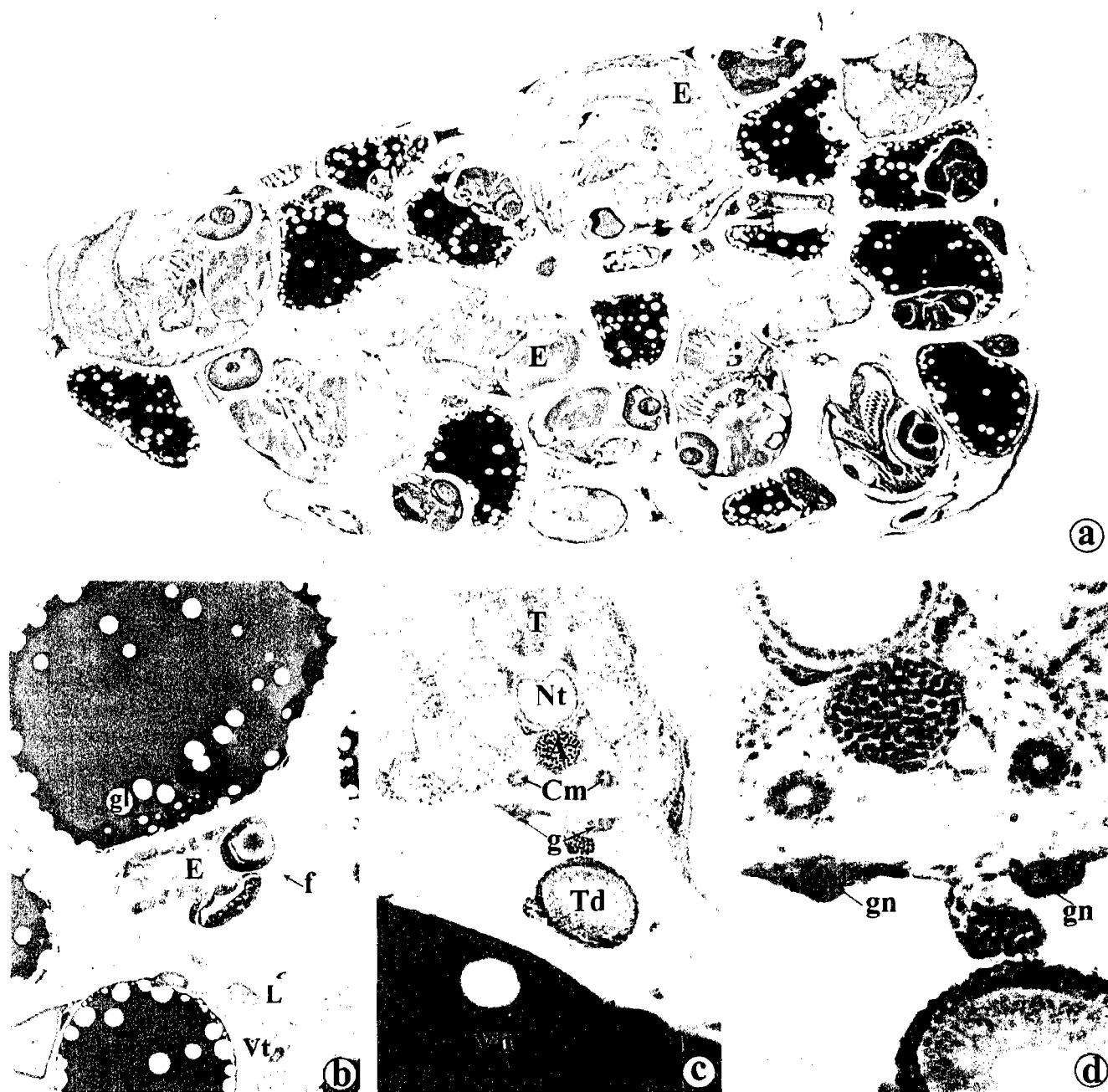
Figura 15. Gestación temprana en *Poeciliopsis gracilis*.

- a. Vista panorámica de un ovario en gestación temprana. Embriones en desarrollo (E), ovocitos vitelogénicos atrésicos (a), vitelo homogéneo (Vh). H-E, 10X.
- b. Embrión en desarrollo intrafollicular. Embrión (E), vitelo homogéneo (Vh), glóbulos lipídicos (gl), ovocitos en vitelogénesis temprana (Vt), intermedia (Vi) y avanzada (Va), folículo atrésico (a), lumen (L). PAS-AB, 32X.
- c. Relación de tejidos maternos y fetales en el polo embrionario. Tejidos maternos: células foliculares (f) y de la teca (t). Tejidos embrionarios: epidermis (Epi) y músculo esquelético (Me). H-E, 500X.
- d. Relación de tejidos maternos y embrionarios en el polo vitelino. Tejido materno: células foliculares (f), tejido embrionario: vasos sanguíneos (Vs) del saco vitelino. Glóbulos lipídicos (gl). H-E, 500X.



a. Vista panorámica de un ovario en gestación avanzada. Embriones (E) en desarrollo dentro de los folículo, vitelo homogéneo (Vh), glóbulos lipídicos (gl), folículo atrésico (a). Se observa un folículo con un embrión en desarrollo en etapa de discoblástula (Db). H-E, 32X.
b. Detalle de embrión en etapa de discoblástula. Embrión (E), vitelo homogéneo (Vh). PAS-AB, 500X.

Figura 17. Gestación avanzada en *Poeciliopsis gracilis*.



- a. Vista panorámica de un ovario en gestación avanzada. Embriones (E) en estado avanzado de desarrollo. Vitelo homogéneo (Vh), glóbulos lipídicos (gl). H-E, 10X.
- b. Detalle de un embrión en desarrollo dentro del folículo. Embrión (E), capa de células foliculares (f), glóbulos lipídicos (gl), ovocitos en vitelogénesis temprana (Vt), lumen ovárico (L). H-E, 78X.
- c. Detalle de un embrión en desarrollo. Se observan las gónadas (g) en desarrollo. Tubo neural (T), notocorda (Nt), aorta dorsal (A), conductos mesonéfricos (Cm), tubo digestivo (Td). Vitelo homogéneo (Vh). H-E, 78X.
- d. Detalle de la gónada embrionaria. Se observan los gonocitos (gn). H-E, 200X.

3. ESTRUCTURA OVÁRICA Y OVOGÉNESIS EN *Chapalichthys encaustus*

3.1 Estructura microscópica del ovario

El ovario de *C. encaustus* (Fig. 18a) presenta un septo que divide el lumen en dos compartimentos. El septo es altamente plegado y está conformado por tejido conectivo vascularizado y limitado por epitelio germinal que contiene ovogonias, ovocitos primarios y células epiteliales. La pared del ovario presenta pliegues ovígeros que se proyectan hacia el lumen. Tanto en los pliegues como en el septo se encuentra el tejido germinal, constituido por ovogonias en el epitelio germinal y folículos en diferentes estadios de desarrollo en el estroma. En el septo, el tejido germinal se encuentra principalmente en los extremos dorsal y ventral, y, en la pared ovárica, el tejido germinal se limita a las zonas laterales cercanas al nacimiento del septo.

La pared del ovario está integrada por: a) serosa, b) músculo liso, c) tejido conectivo laxo que contiene folículos en distintos grados de desarrollo, y d) epitelio germinal de tipo columnar bajo o cúbico con elementos somáticos y germinales (ovogonias y ovocitos) (Fig. 18b,c).

3.2 Ovogénesis

Dentro del epitelio germinal las células germinales, ovogonias y ovocitos, se caracterizan por ser esféricas, con núcleo esférico y citoplasma claro (Fig. 19a,b,c). Tanto las características de la ovogénesis como de los folículos atrésicos de *C. encaustus* muestran rasgos similares a los mencionados para *P. gracilis*.

La tabla 8 muestra los promedios del diámetro folicular y la altura de las células foliculares de los ovocitos en los diferentes estadios de desarrollo de la ovogénesis.

Tabla 8. Datos morfométricos de folículos de *C. encaustus* en los diferentes estadios de la ovogénesis

Estadio	Diámetro folicular (\pm SD)	Altura de células foliculares (\pm SD)
I. Folículos primarios	12.31 (\pm 2.86 μ m)	1.8 (\pm 0.2 μ m)
II. Cromatina-nucléolo	19.0 (\pm 2.7 μ m)	2.0 (\pm 0.3 μ m)
III. Perinucléolos	39.3 (\pm 17.1 μ m)	1.8 (\pm 0.2 μ m)
IV. Vesículas vitelinas	93.2 (\pm 35.4 μ m)	2.5 (\pm 0.7 μ m)
V. Gránulos vitelinos	148.5 (\pm 27.9 μ m)	4.4 (\pm 0.9 μ m)
VI. Vitelo homogéneo	467.4 (\pm 95.5 μ m)	5.2 (\pm 0.6 μ m)

Estadio I: Previtelogénesis: folículos primarios

Los ovocitos primarios en etapas tempranas de la profase I de la meiosis: cigoteno, paquiteno y diploteno se observan en el epitelio germinal. En el estroma, los folículos primarios se encuentran aislados o en grupos, formando nidos celulares (Fig. 19d), rodeados por algunas células foliculares planas de 1.8 μ m de altura promedio. Su núcleo es esférico y el citoplasma homogéneo está ligeramente teñido. Su talla promedio es de 12.31 μ m de diámetro.

Estadio II: Previtelogénesis: cromatina-nucléolo

Los ovocitos presentan un citoplasma levemente basófilo, el núcleo es grande y contiene un nucléolo basófilo (Fig. 20 a,b). Su diámetro promedio es de 19.0 μ m. En algunas secciones se observan los cromosomas plumosos. Algunas células foliculares planas de 2.0 μ m de alto rodean de forma incompleta al ovocito (Fig. 20b).

Estadio III: Previtelogénesis: perinucléolos

Los ovocitos alcanzan un diámetro promedio de 39.3 μm , su núcleo es esférico, con varios nucléolos dispuestos en la periferia de la membrana nuclear (Fig. 20c). El citoplasma es basófilo y finamente granular. Una capa de células foliculares planas de 1.8 μm de altura en promedio, rodean por completo al ovocito, seguida de la teca con células también planas (Fig. 20c).

Estadio IV: Vitelogénesis temprana: vesículas vitelinas

Se distingue por la formación de vesículas vitelinas en el citoplasma, las cuales aumentan de la periferia hacia el centro del ovocito, otorgándole una apariencia vacuolada (Fig. 21a). La zona pelúcida corresponde a una membrana delgada entre el ovocito y las células foliculares. Las células foliculares cúbicas forman una sola capa de 2.5 μm de altura en promedio, rodeada por la teca que está formada por células alargadas, vasos sanguíneos y fibras colágenas (Fig. 21 a,b). El diámetro folicular es de 93.2 μm en promedio.

Estadio V: Vitelogénesis intermedia: gránulos vitelinos

Los ovocitos alcanzan un diámetro promedio de 148.5 μm . Se observan algunos gránulos de vitelo, acidófilos y esféricos entre las vesículas vitelinas, los cuales incrementan de la periferia al centro (Fig. 22a,b). La zona pelúcida es más notoria que en el estado anterior y presenta afinidad acidófila (Fig. 22b). Las células foliculares cúbicas de 4.4 μm de altura promedio, están rodeadas por la teca que presenta características similares al estadio anterior.

Estadio VI: Vitelogénesis avanzada: formación de vitelo homogéneo

Los ovocitos se caracterizan por presentar una gran masa de vitelo acidófila homogéneamente distribuida en el citoplasma (Fig. 23a,b). Alcanzan un diámetro promedio de 467 μm , las células foliculares son cúbicas con 5.2 μm de altura promedio y la teca es similar al estadio anterior. El vitelo homogéneo se mantiene durante la etapa inicial del desarrollo embrionario (Fig. 23c).

3.3 Atresia folicular

En todos los estadios de la ovogénesis en *C. encaustus* se observaron folículos atrésicos (Fig. 24a,b,c,d,e). Estos se reconocen por el plegamiento de la zona pelúcida (Fig. 24a), un contorno irregular del folículo (Fig. 24b,d,e), pérdida de definición del contorno nuclear (Fig. 24a,d), proliferación irregular de las células foliculares y desintegración progresiva del citoplasma (Fig. 24e). La atresia folicular se observa tanto en ovarios gestantes como no gestantes, y los folículos atrésicos de mayor grado de desarrollo se encuentran en el estadio V de formación inicial de gránulos vitelinos.

3.4 Presencia de espermatozoides

En *C. encaustus* se observaron espermatozoides en la luz del ovario (Fig. 25a,b,c) y del gonoducto (Fig. 26a,b,c). Dentro del lumen ovárico, en etapa de gestación temprana, algunos espermatozoides están rodeados por una secreción amorfa (Fig. 25a), y generalmente asociados con células del sistema inmunológico (Fig. 25b,c). En el lumen del gonoducto, se observan abundantes espermatozoides durante la etapa de ovogénesis temprana (Fig. 26a), también asociados con células del sistema inmunológico (Fig. 26b,c).

3.5 Etapas reproductivas

Ovogénesis temprana

Los ovarios (Fig. 18a, 20a) se distinguen por la presencia de ovocitos previtelogénicos en estadios de folículos primarios (I), cromatina-nucléolo (II) y perinucléolos (III), y ovocitos vitelogénicos en estadios de vesículas vitelinas (IV) y gránulos vitelinos (V), en su fase inicial. Se observan abundantes folículos atrésicos, especialmente en estadio IV (Fig. 18a). En el lumen del gonoducto se observan espermatozoides (Fig. 26a).

Ovogénesis avanzada

Los ovarios presentan folículos en estadio VI, con vitelo homogéneo (Fig. 23a,b). Se observan ovocitos en previtelogénesis y vitelogénesis temprana (Fig. 23b), así como folículos atrésicos (Fig. 23a). No se observaron espermatozoides.

Gestación temprana

La gestación en *C. encaustus* es de tipo intraluminal, esto es, el desarrollo embrionario tiene lugar en el lumen ovárico. Los embriones en estadio temprano de desarrollo se observan en la luz ovárica y con abundante vitelo homogéneo (Figs. 23c, 27a). El ovario presenta folículos en estadios tempranos de desarrollo, folículos atrésicos últimos principalmente en estadios de vesículas vitelinas (IV) y formación inicial de gránulos vitelinos (V), y folículos postovulatorios (Fig. 27a). El lumen del ovario contiene espermatozoides (Fig. 25 a,b,c).

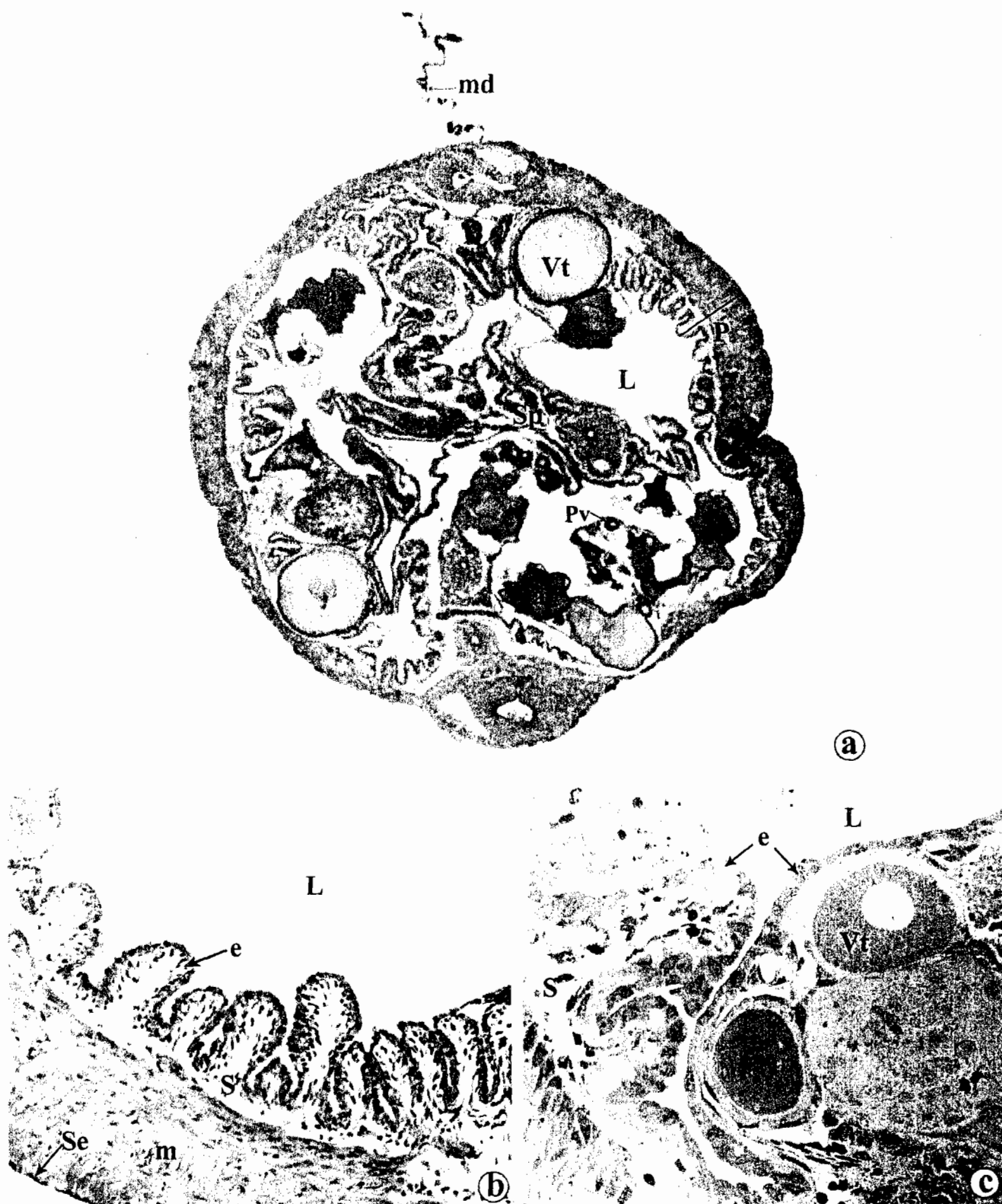
Gestación avanzada.

Los embriones se ubican en el lumen, paralelamente al eje mayor del ovario (Fig. 27b) y se encuentran en etapa de organogénesis avanzada (Fig. 28a,b,c). El vitelo se ha degradado

completamente y se observa la trofotenia (Fig. 28b), de tipo listón, como una extensión del intestino posterior del embrión que se proyecta hacia el lumen, revestida por un epitelio columnar, adyacente al tejido conjuntivo laxo vascularizado.

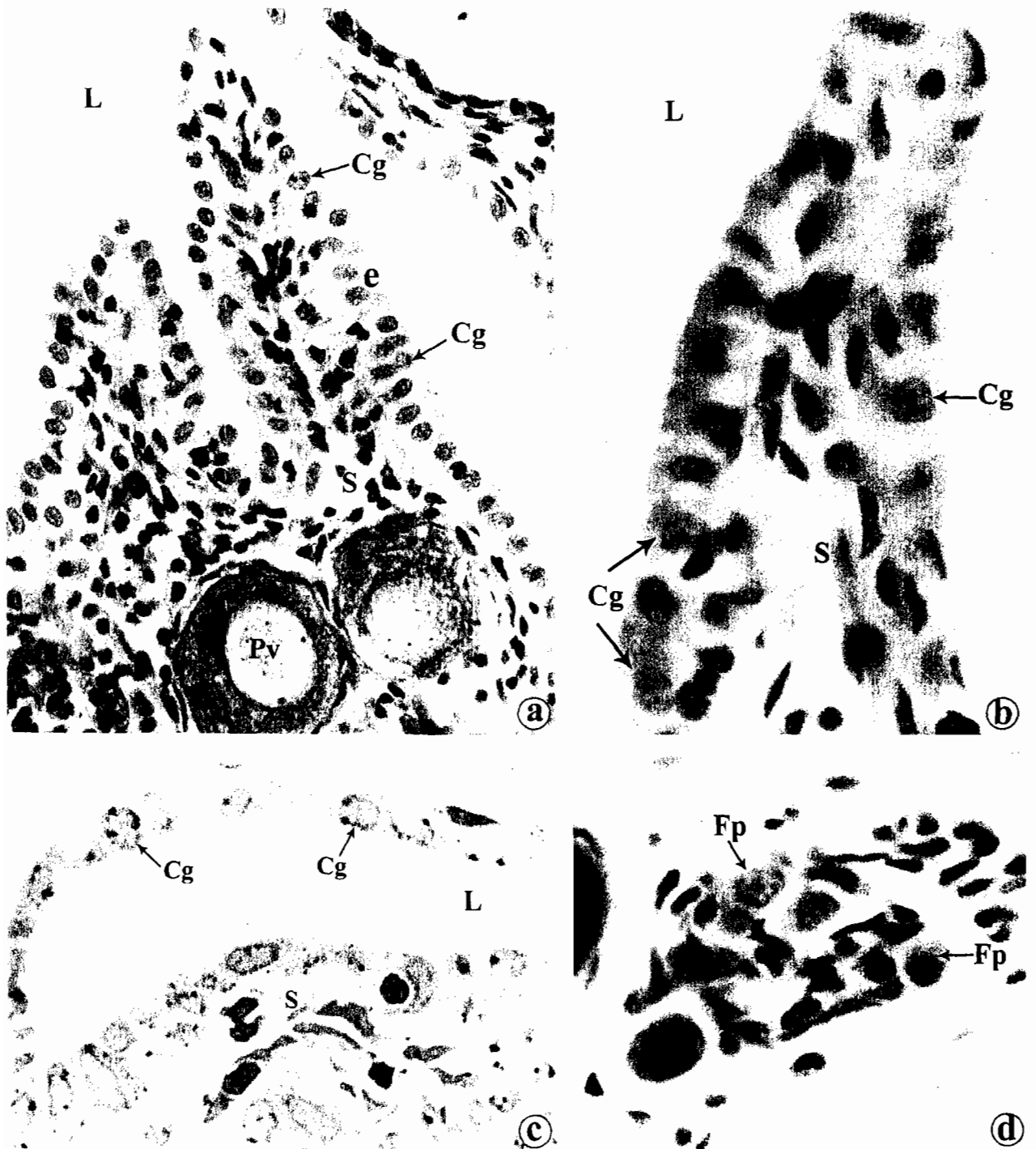
En la pared del ovario, se encuentran algunos ovocitos en estadios de previtelogénesis: folículos primarios (I), cromatina-nucléolo (II), perinucléolos (III) y vitelogénesis temprana: vesículas vitelinas (IV). La mayoría de los ovocitos en estadios III y IV presentan características de atresia.

Figura 18. Ovario de *Chapalichthys encaustus*.



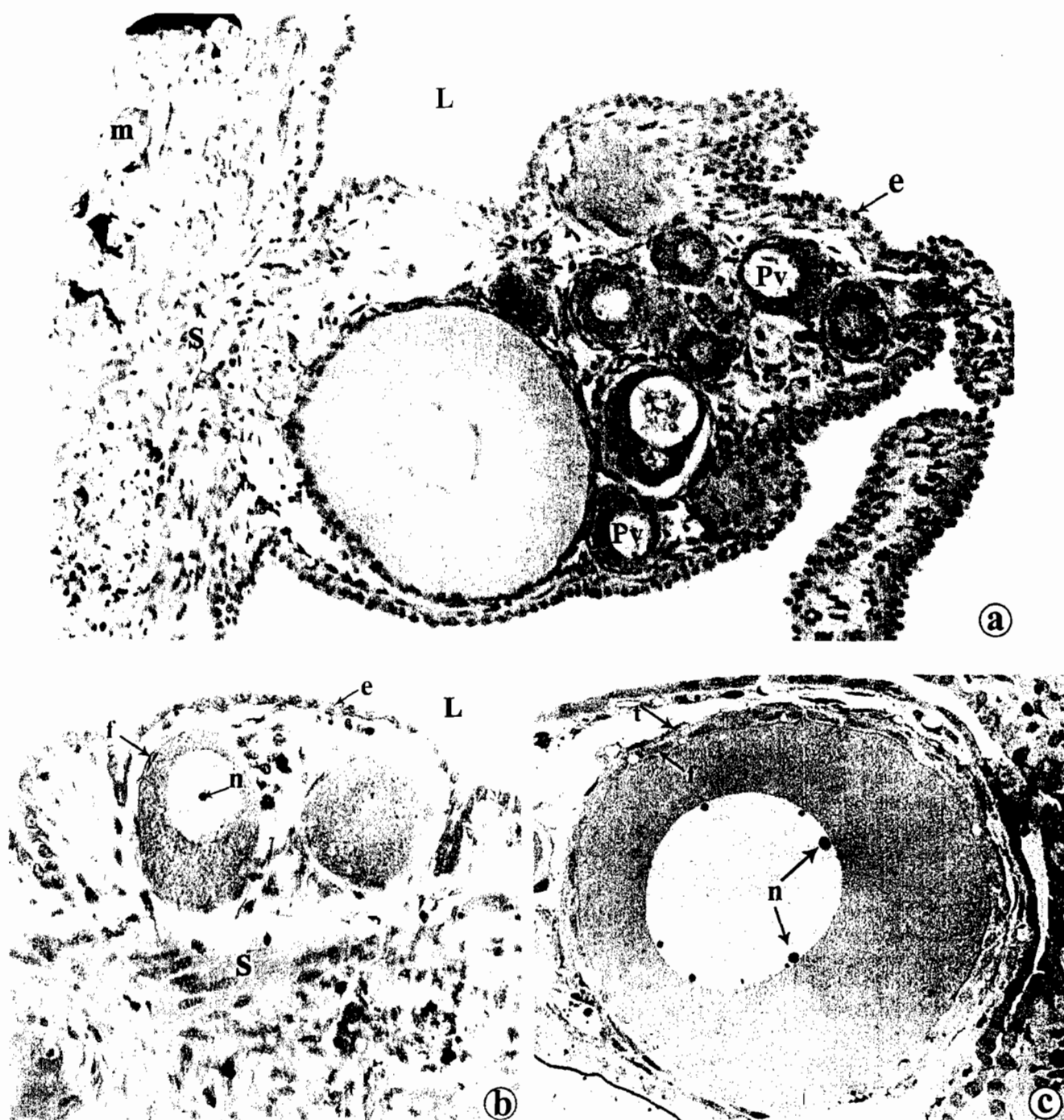
- a. Vista panorámica de un ovario en ovogénesis temprana. Pared (P), ovocitos previtelogénicos (Pv), vitellogénicos tempranos (Vt), folículos atrésicos (a), lumen ovárico (L), septo ovárico (Sp), mesenterio dorsal (md). H-E, 32X.
- b. c. Detalle de la pared. Epitelio germinal (e), estroma (S), músculo liso (m), serosa (se), lumen ovárico (L), ovocitos vitelogénicos tempranos (Vt). b. H-E, 200X. c. Azul de Toluidina, 200X.

Figura 19. Previtelogénesis en *Chapalichthys encaustus*
 Estado I: folículos primarios



- a. Epitelio germinal. Se observan algunas células germinales (Cg) dentro del epitelio germinal (e). Lumen ovárico (L), ovocitos previtelogénicos (Pv), estroma (S). H-E, 78X.
- b. c. Detalle del epitelio germinal. Células germinales (Cg), lumen ovárico (L), estroma (S). H-E, 500X. c. Azul de Toluidina, 500X.
- d. Folículos primarios en un nido celular. Folículos primarios (Fp). H-E, 500X.

Figura 20. Previtelogénesis en *Chapalichthys encaustus*.
 Estado II: cromatina-nucléolo y estado III: perinucléolos



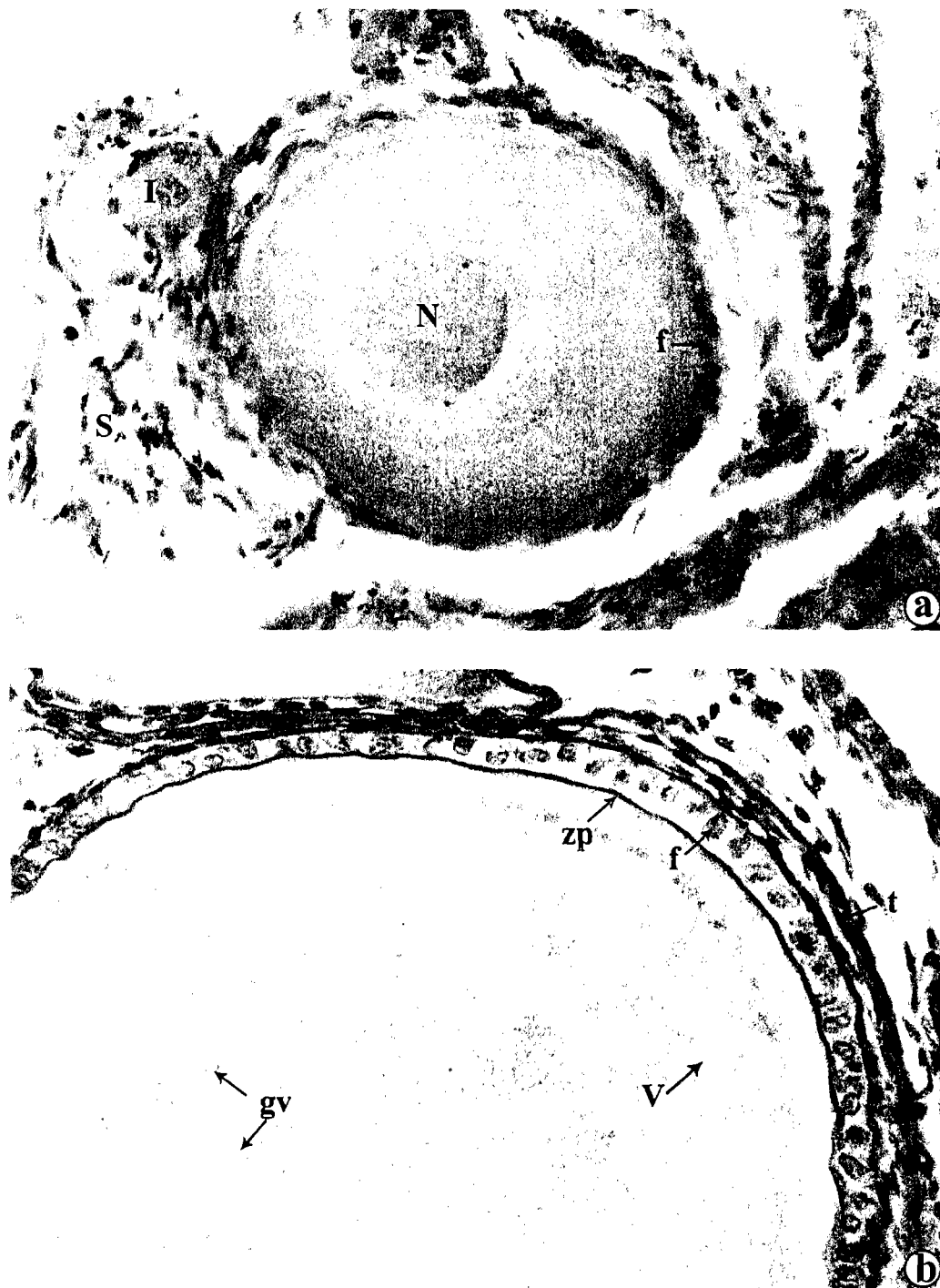
- a. Pliegue de la pared ovárica con ovocitos previtelogénicos. Estroma (S), músculo liso (m), ovocitos previtelogénicos (Pv), epitelio germinal (e), lumen ovárico (L). H-E, 78X.
- b. Ovocito en estado II: Cromatina-nucléolo. Nucléolo (n), células foliculares (f), epitelio germinal (e), estroma (S), lumen ovárico (L). H-E, 125X.
- c. Ovocito en estado III: Perinucléolos. Nucléolos (n), células foliculares (f), teca (t). Azul de Toluidina 125X.

Figura 21 . Vitelogénesis en *Chapalichthys encaustus*.
 Estadio IV. Vitelogénesis temprana: vesículas vitelinas



- a. Ovocito en estadio IV: vesículas vitelinas.** Vesículas vitelinas (V), capa de células foliculares (f), teca (t). H-E, 78X.
- b. Detalle de ovocito en estadio IV.** Vesículas vitelinas (V), capa de células foliculares (f), teca (t). H-E, 200X.

Figura 22. Vitelogénesis en *Chapalichthys encaustus*.
 Estado V. Vitelogénesis intermedia: gránulos vitelinos



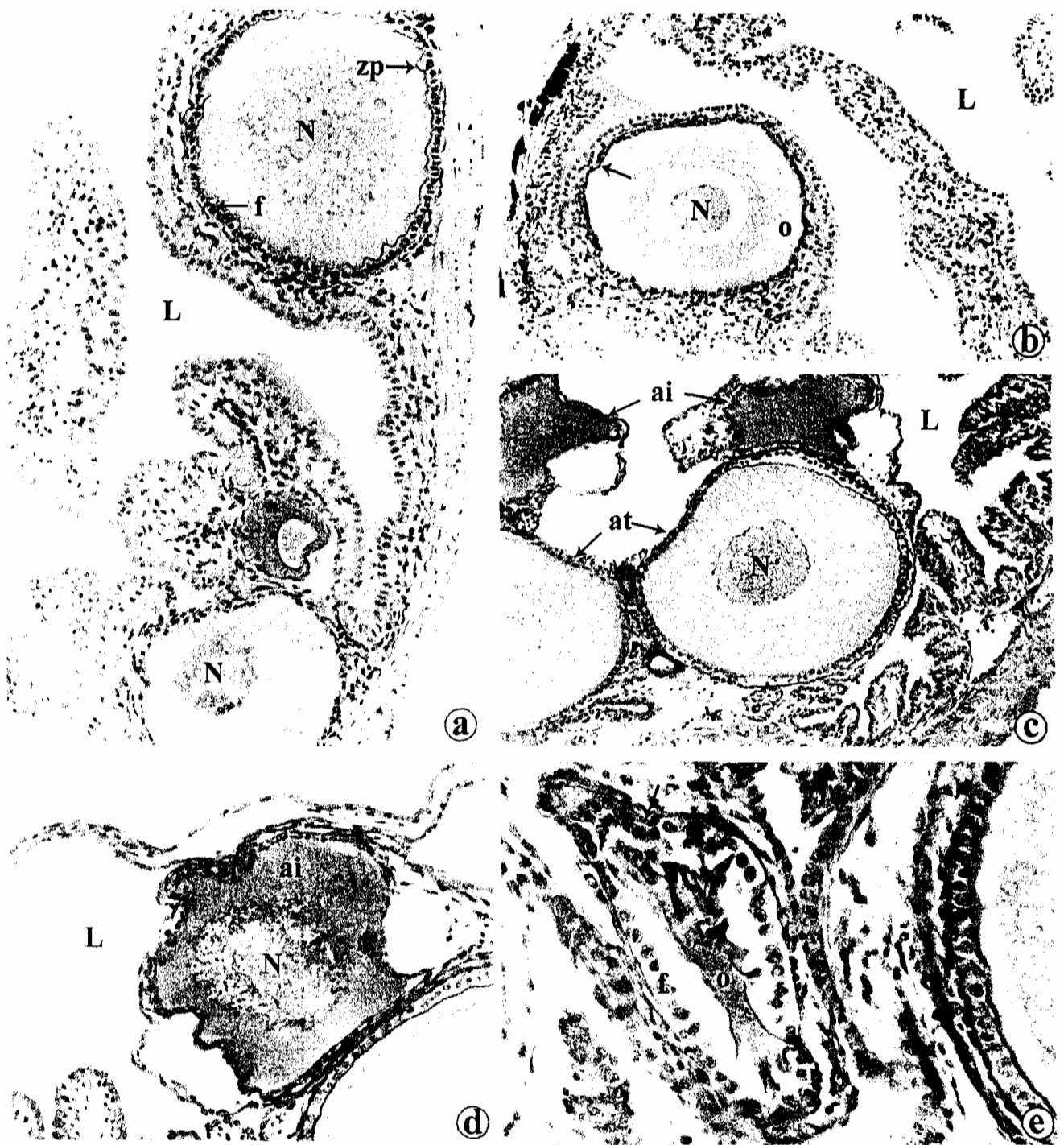
- a.** Ovocito en estadio V: gránulos vitelinos. El citoplasma contiene pequeños gránulos de vitelo. Células foliculares (f), estroma (S), núcleo (N). Ovocito en estadio I (I). H-E, 78X.
- b.** Detalle de ovocito en estadio V. Gránulos vitelinos (gv), vesículas vitelinas (V), zona pelúcida (zp), células foliculares (f), teca (t). H-E, 200X.

Figura 23. Vitelogénesis en *Chapalichthys encaustus*.
 Estado VI. Vitelogénesis avanzada: formación de vitelo homogéneo



- a. b. Ovocitos en estadio VI: vitelo homogéneo. Vitelo homogéneo (Vh), folículos atrésicos (a) y en vitelogénesis temprana, lumen ovárico (L).
 a. H-E, 32X. b. H-E, 78X.
- c. Folículo con vitelo homogéneo. Se observa un embrión en desarrollo (E), septo ovárico (Sp), lumen ovárico (L), ovocitos en previtelogénesis (Pv) y en vitelogénesis temprana (Vt). H-E, 78X.

Figura 24. Folículos atrésicos en el ovario de *Chapalichthys encaustus*



- a. Vista panorámica de folículos atrésicos. Se observa el plegamiento de la zona pelúcida (zp) y el contorno irregular del núcleo (N), células foliculares (f), lumen ovárico (L). H-E, 78X.
- b. Folículo atrésico en etapa temprana. Contorno irregular del folículo (→), ooplasma (o), núcleo (N), lumen ovárico (L). H-E, 32X.
- c. d. Folículos atrésicos en etapas temprana e intermedia. Folículos atrésicos tempranos (at), folículos atrésicos intermedios (ai). Núcleo con contorno plegado (N), lumen ovárico (L). c. H-E, 78X, d. H-E, 78X.
- e. Folículo atrésico en etapa avanzada. Se observa el contorno irregular del folículo (→) y restos de ooplasma (o). Células foliculares (f). H-E, 200X.

Figura 25. Presencia de espermatozoides en el ovario de *Chapalichthys encaustus*

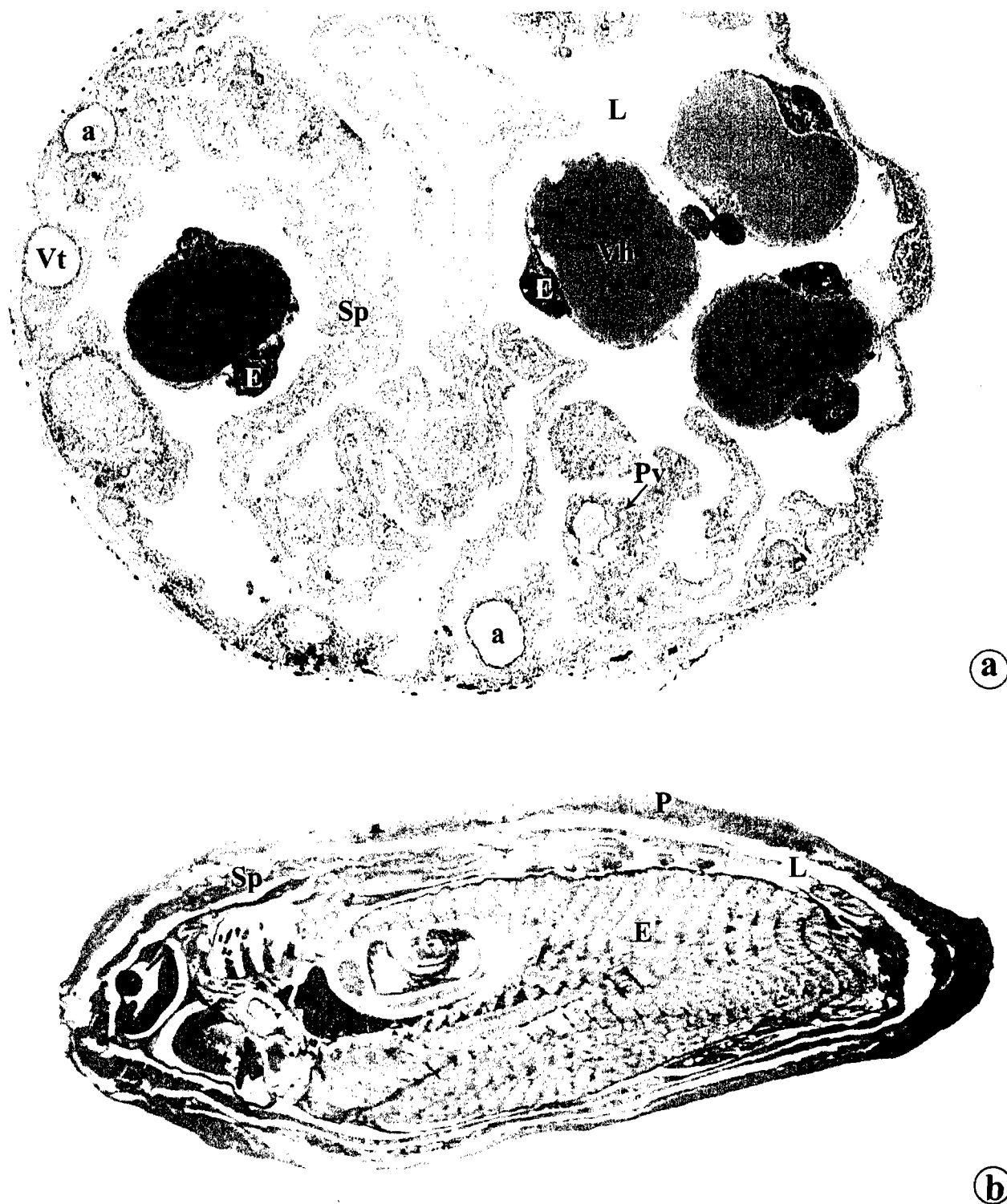


- a.** Espermatozoides inmersos en secreciones del epitelio germinal. Secreción (Sc), espermatozoides (z), epitelio germinal (e), lumen ovárico (L), ovocitos previtelogénicos (Pv) y vitelogénicos tempranos (Vt). H-E, 200X.
- b. c.** Espermatozoides en el lumen ovárico. Espermatozoides (z), células del sistema inmunológico (Ci), lumen ovárico (L), epitelio germinal (e). b. c. H-E, 200X.

Figura 26. Presencia de espermatozoides en el gonoducto de *Chapalichthys encaustus*



- a. Sección transversal del gonoducto. En el lumen se observan espermatozoides. Lumen (L), epitelio (ep), estroma (S), músculo liso (m). H-E, 78X.
- b. c. Detalle de espermatozoides en el lumen. Se observan células del sistema inmunológico (Ci) entre los espermatozoides (z). Estroma (S), epitelio (ep), lumen (L). b. H-E, 200X. c. H-E, 500X.

Figura 27. Ovario gestante de *Chapalichthys encaustus*

- a. Ovario en gestación temprana.** Se observan los embriones (E) en desarrollo dentro del lumen ovárico (L). Vitelo homogéneo (Vh), septo ovárico (Sp), ovocitos previtelogénicos (Pv) y en vitelogénesis temprana (Vt), folículos atrésicos (a). H-E, 32X.
- b. Ovario en gestación avanzada.** Se observa un embrión (E) en etapa avanzada de desarrollo dentro del lumen ovárico (L). Pared ovárica (P), septo (Sp). H-E, 10X.



a. Embriones en sección longitudinal. Embriones (E), músculo esquelético (Me), septo ovárico (Sp), lumen ovárico (L). H-E, 78X.

b. Embriones en estadio avanzado de desarrollo. Músculo esquelético (Me), Trofotenia (Tr), hígado (h), corazón (C), intestino (I). Septo ovárico (Sp). Tricrómica de Masson, 32X.

c. Embrión en estadio avanzado de desarrollo. Músculo esquelético (Me), vesícula óptica (Vo), branquias (Br), encéfalo (Ef). Septo ovárico (Sp). H-E, 32X.

4. CAMBIOS MORFOMÉTRICOS DE LAS VARIABLES MICROSCÓPICAS

Diámetro folicular y altura de las células foliculares

El diámetro folicular varía de manera significativa con el estadio ovogenético en *P. gracilis* (Kruskal-Wallis; $H_{5,178}=166.9$, $P<0.001$) y en *C. encaustus* (Kruskal-Wallis; $H_{5,128}=118.3$, $P<0.001$) (Fig. 29a,b). Igualmente, existe variación significativa en la altura de las células foliculares con el estadio ovogenético en *P. gracilis* (Kruskal-Wallis; $H_{5,245}=185.2$, $P<0.001$) y en *C. encaustus* (Kruskal-Wallis; $H_{5,122}=89.3$, $P<0.001$) (Fig. 30a,b).

Entre las especies estudiadas se presentan diferencias significativas en el diámetro folicular y la altura de las células foliculares por estadio ovogenético (Tabla 9). Siendo el diámetro folicular mayor en *P. gracilis* en todos los estadios, a excepción del estadio I de folículos primarios, en el que son similares. La altura de las células foliculares es diferente en las dos especies, a excepción del estadio IV de vesículas vitelinas. En las tablas 7 (Pág. 36) y 8 (Pág. 57) se presentan los promedios de estas variables para *P. gracilis* y *C. encaustus* respectivamente.

Tabla 9. Comparación estadística del diámetro folicular y la altura de las células foliculares entre especies (Prueba de t o de U). Diferencias significativas a $P<0.05$.

Estadio Ovogenético	Diámetro folicular	Altura de células foliculares
1. Folículos Primarios	$T_{0.05(2)31} = -0.75$, $P= 0.45$	$z= 3.7$, $P<0.001$
2. Cromatina-nucléolo	$z= -3.73$, $P<0.001$	$t_{0.05(2)59} = -9.1$, $P<0.001$
3. Perinucleólos	$t_{0.05(2)63} = -4.2$, $P<0.001$	$t_{0.05(2)55} = 5.8$, $P<0.001$
4. Vesículas vitelinas	$t_{0.05(2)51} = -3.0$, $P<0.005$	$z= -1.44$, $P= 0.14$
5. Gránulos vitelinos	$z= -5.2$, $P<0.001$	$z= -2.9$, $P<0.005$
6. Vitelo Homogéneo	$z= -5.7$, $P<0.001$	$t_{0.05(2)64} = 13.5$, $P<0.001$

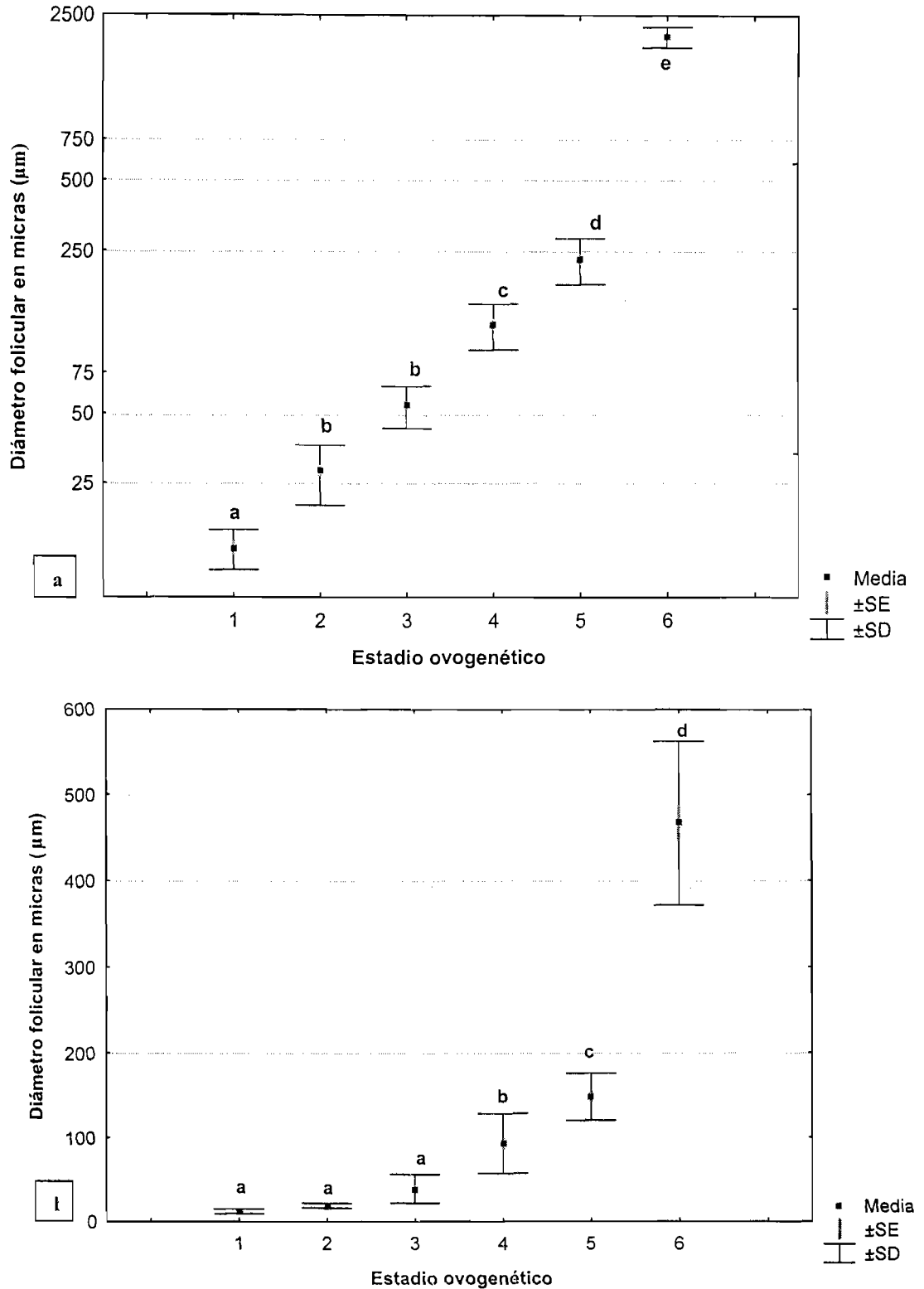


Fig. 29. Variación significativa del diámetro folicular con el estadio de la ovogénesis: 1. Folículos primarios, 2. Cromatina-núcleo, 3. Perinucleólos, 4. Vesículas vitelinas, 5. Gránulos vitelinos, 6. Vitelo homogéneo. a. *P. gracilis* (Kruskal-Wallis; $H_{5,178}=166.9$, $P<0.001$). b. *C. encaustus* (Kruskal-Wallis; $H_{5,128}=118.3$, $P<0.001$). Las letras similares indican diferencias no significativas.

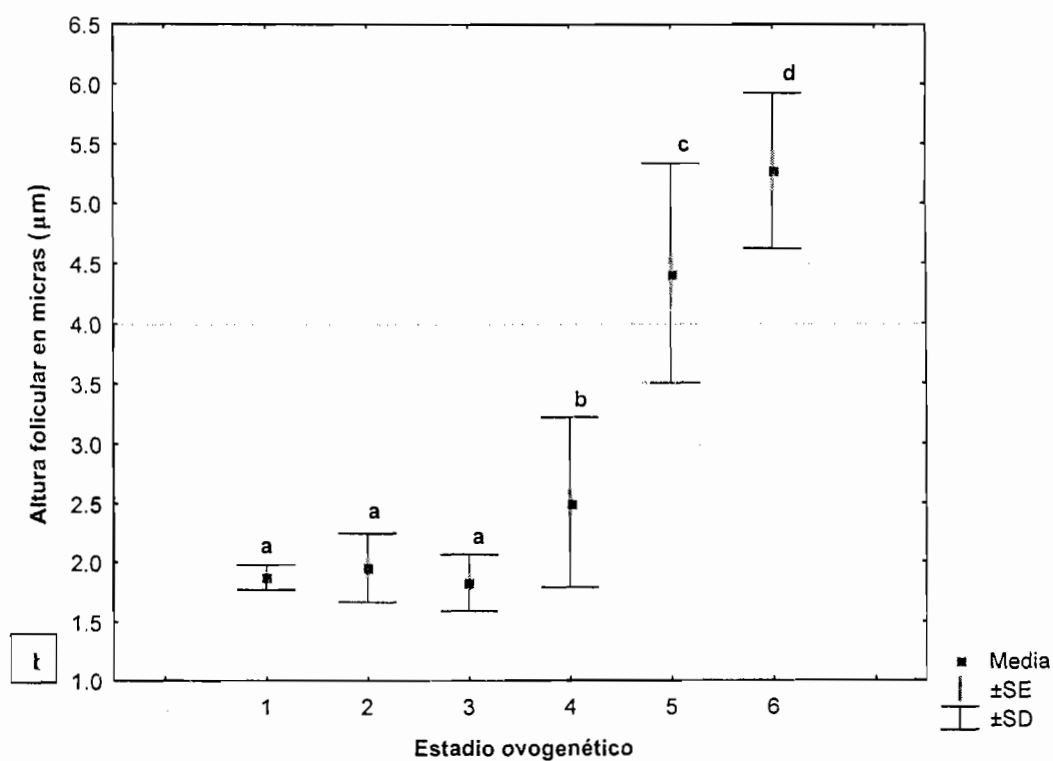
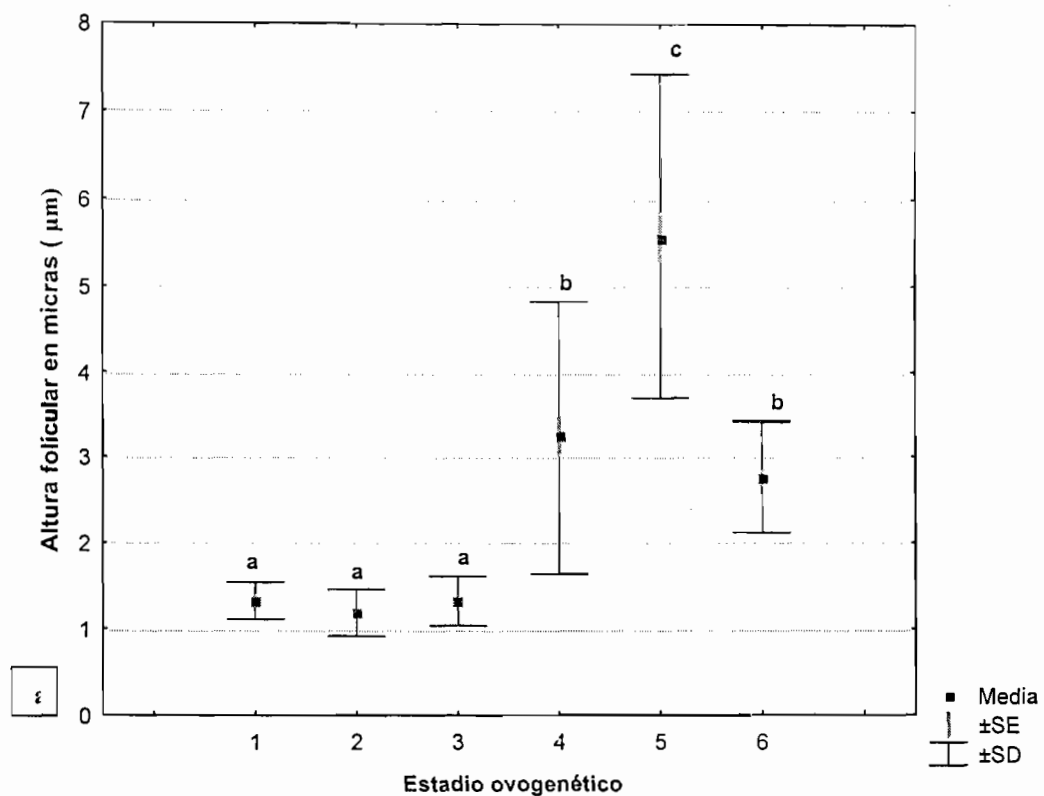


Fig. 30. Variación significativa de altura de las células foliculares con el estadio de la ovogénesis: 1. Folículos primarios, 2. Cromatina-nucléolo, 3. Perinucléolos, 4. Vesículas vitelinas, 5. Gránulos vitelinos, 6. Vitelo homogéneo. a. *P. gracilis* (Kruskal-Wallis; $H_{5,245}=185.2$, $P<0.001$). b. *C. encaustus* (Kruskal-Wallis; $H_{5,122}=89.3$, $P<0.001$). Las letras similares indican diferencias no significativas.

Altura del epitelio germinal

Al analizar estadísticamente la altura del epitelio germinal de *P. gracilis* se encontró que existe variación significativa de acuerdo con la etapa reproductiva (Kruskal-Wallis; $H_{3,148}=23.9$, $P<0.001$) (Fig. 31a). De igual forma, la altura del epitelio germinal de *C. encaustus* presenta cambios significativos con la etapa reproductiva (Kruskal-Wallis; $H_{3,138}=53.0$, $P<0.001$) (Fig. 31b).

Por otra parte, entre especies, existen diferencias significativas en la altura del epitelio germinal por etapa reproductiva (Tabla 10). Siendo mayor en *P. gracilis* en la etapa de ovogénesis temprana, mayor en *C. encaustus* en las etapas de ovogénesis avanzada y gestación temprana, y similar en las dos especies durante la gestación avanzada.

Tabla 10. Comparación estadística de la altura del epitelio germinal (EG) entre especies. Diferencias significativas a $P<0.05$.

Etapa Reproductiva	Altura del EG (\pm SD)		Prueba Estadística (Prueba de <i>t</i> o de U)
	<i>P. gracilis</i>	<i>C. encaustus</i>	
1. Ovogénesis temprana	8.5 (\pm 2.7 μ m)	7.0 (\pm 2.7 μ m)	$t_{0.05(2)119} = -2.8$, $P<0.005$
2. Ovogénesis avanzada	6.7 (\pm 1.5 μ m)	10.9 (\pm 1.9 μ m)	$t_{0.05(2)82} = 11.2$, $P<0.001$
3. Gestación temprana	6.8 (\pm 1.4 μ m)	11.5 (\pm 2.6 μ m)	$z = 5.0$, $P<0.001$
4. Gestación avanzada	8.9 (\pm 1.4 μ m)	8.9 (\pm 1.2 μ m)	$t_{0.05(2)34} = 0.17$, $P = 0.4$

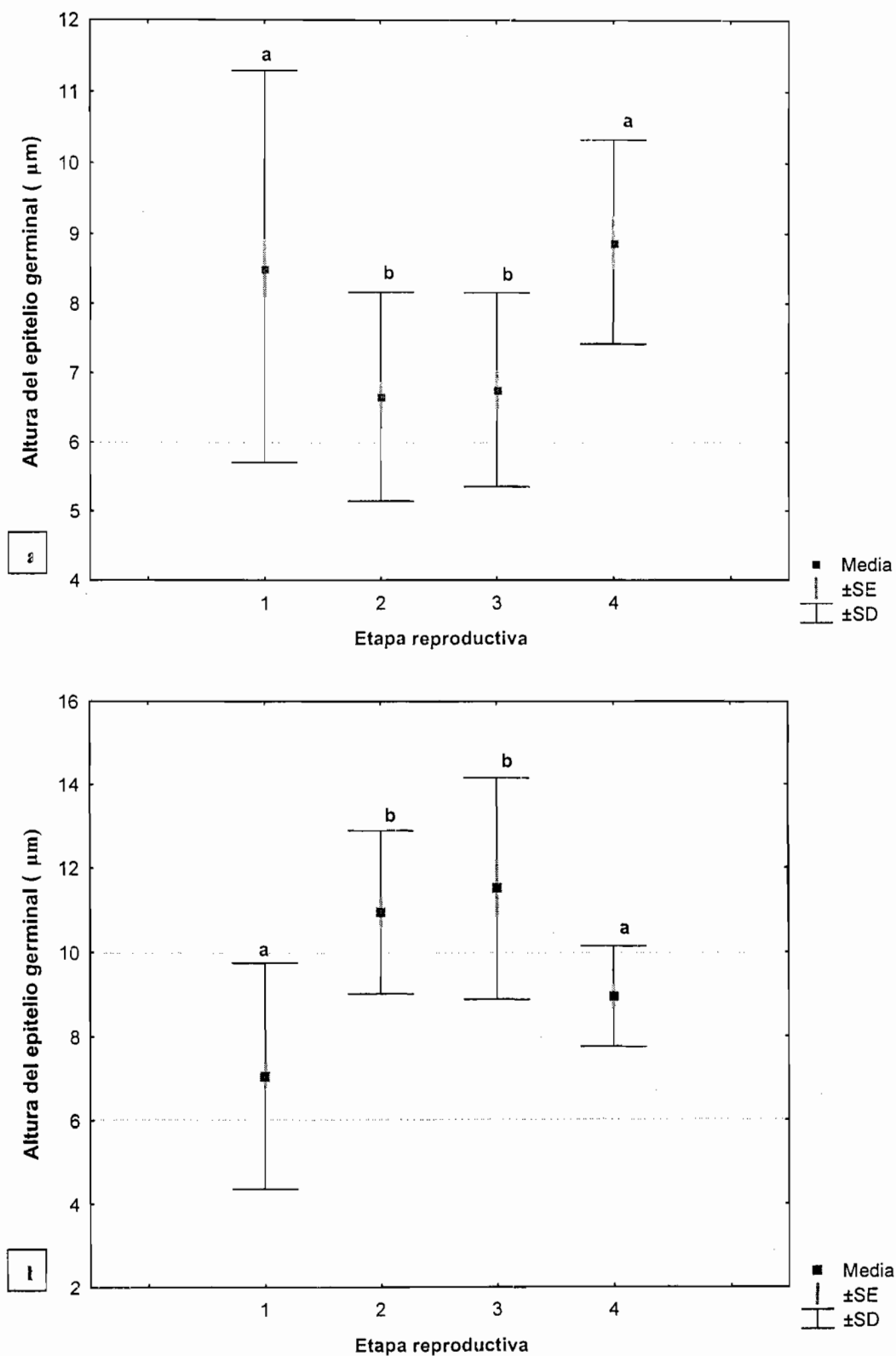


Fig. 31. Variación significativa en la altura del epitelio germinal con la etapa reproductiva: 1. Ovogénesis temprana, 2. Ovogénesis avanzada, 3. Gestación temprana, 4. Gestación avanzada. a. *P. gracilis* (Kruskal-Wallis; $H_{3,148}=23.9$, $P<0.001$). b. *C. encaustus* (Kruskal-Wallis; $H_{3,138}=53.0$, $P<0.001$) Las letras similares indican diferencias no significativas.

VIII. DISCUSIÓN

El análisis comparado de elementos morfológicos del proceso reproductor de dos especies vivíparas pertenecientes a distintas familias, *Poeciliopsis gracilis* (Poeciliidae) y *Chapalichthys encaustus* (Goodeidae) presenta similitudes y diferencias en la estructura ovárica, la ovogénesis, la presencia de espermatozoides en el ovario, y el sitio de gestación, intrafolicular e intraluminal respectivamente. A continuación se discuten los aspectos de cada uno de estos elementos.

Estructura del ovario

El ovario de *P. gracilis* y *C. encaustus* corresponde a un solo órgano de tipo sacular y cistovárico, con un espacio interior o lumen, similar a lo reportado en general para los teleósteos vivíparos (Hoar 1969, Wourms 1981, Wourms et al. 1988) y en particular para las familias Goodeidae (Turner 1938a, Mendoza 1940, 1962, Lombardi y Wourms 1985a) y Poeciliidae (Bailey 1933, Constantz 1989, Grove y Wourms 1994, Potter y Kramer 2000, Koya et al 2003). Respecto al origen de este tipo de ovario único, Hoar (1969) y Wourms (1981) afirman que en la mayoría de los teleósteos vivíparos, el ovario se origina como estructuras pareadas, pero durante el desarrollo embrionario se fusionan, formando uno solo, exceptuando el caso de *Sebastes rubrovinctus* (Scorpaeniformes), especie en la cual los ovarios son dobles, y *Dermogenys pusillus* (Atheriniformes) y *Stygicola dentata* (Ophidiiformes), en las cuales están parcialmente fusionados (Mendoza 1943, Wourms 1981).

Se han hecho algunas referencias a la anatomía ovárica de *P. gracilis* (Contreras-MacBeath y Ramírez-Espinoza 1996) y de *C. encaustus* (Hubbs y Turner 1939). En ambas especies la pared del ovario está conformada por elementos somáticos y germinales,

dispuestos en cuatro capas de tejido: serosa, músculo liso, tejido conectivo y epitelio germinal. De forma similar, se ha descrito esta conformación del ovario en especies de la familia Poeciliidae (Turner 1933, Amoroso 1960, Constantz 1989) y Goodeidae (Turner 1933, Mendoza 1940, Lombardi y Wourms 1985a, Lombardi y Wourms 1988).

Hubbs y Turner (1939) plantean que el ovario de *C. encaustus* es similar al de *Goodea luitpoldii*, es decir con tejido germinal en todo el septo y en la pared ovárica. Sin embargo, en este estudio se observó que el tejido germinal de *C. encaustus* no está distribuido de la misma manera que en *G. luitpoldii*, puesto que sólo se encuentra en los extremos dorsal y ventral del septo. Aunque coincide con la distribución del mismo en la pared ovárica, ya que se limita a las zonas laterales cercanas al nacimiento del septo. De manera que de acuerdo a nuestros resultados, el ovario de *C. encaustus* correspondería al tipo de distribución del tejido germinal más similar al de *Alloophorus robustus* y *Xenotoca variata*, descritos por Hubbs y Turner (1939).

Epitelio germinal. El epitelio germinal que reviste la superficie interna del ovario de *C. encaustus* y de *P. gracilis* es de tipo columnar o cúbico y varía de acuerdo a la etapa reproductiva. El epitelio contiene células somáticas y germinales (ovogonias y ovocitos tempranos). Una conformación similar del epitelio germinal se ha descrito en otras especies de teleósteos vivíparos como *Skiffia bilineata* (Mendoza 1940), *Amecca splendens* (Lombardi y Wourms 1985a), *Xenophorus captivus* (Schindler et al. 1988), *Xenotoca eiseni* y *Girardinichthys viviparus* (Schindler 1990).

La variación en altura del epitelio germinal con la etapa reproductiva que se presenta en *P. gracilis* y en *C. encaustus*, se relaciona con su actividad. Comparando

ambas especies se encontraron diferencias respecto a la altura del epitelio germinal de acuerdo con la etapa reproductiva. En *C. encaustus* el valor promedio más alto ($11.5 \pm 2.6\mu\text{m}$) se alcanza durante la etapa de gestación temprana, período durante el cual se inicia la formación del embriotrofo, que servirá para la nutrición de los embriones. En *P. gracilis*, el valor promedio más alto ($8.9 \pm 1.4\mu\text{m}$) se alcanza durante la etapa de gestación avanzada, lo que podría reflejar mayor actividad fisiológica del ovario durante la gestación y posiblemente la preparación para el momento del parto, aunque los embriones no están en relación directa con el epitelio germinal.

En *C. encaustus* el incremento en altura del epitelio germinal y la presencia de actividad secretora del mismo durante la gestación temprana se relaciona con la nutrición de los embriones, similar a lo reportado en otras especies de la familia Goodeidae: *Skiffia bilineata* (Turner 1933, Hubbs y Turner 1939), *Ameca splendens* (Lombardi y Wourms 1985a) y *Xenophorus captivus* (Schindler 1990). En *A. splendens* la presencia de retículo endoplasmático rugoso, complejo de Golgi y vesículas esféricas dentro del citoplasma apical del epitelio germinal, sugieren que los procesos secretores de estas células son similares a los de las células secretoras de proteínas, tales como las de los acinos pancreáticos (Lombardi y Wourms 1985a). De acuerdo con Schindler y Hamlett (1993) estas características indican la formación del embriotrofo, secreción producida por el epitelio germinal para la nutrición de los embriones en desarrollo, el cual es tomado por el embrión a través de la trofotenia, que provee áreas de absorción. Las proteínas del embriotrofo pueden ser elaboradas por células glandulares del epitelio germinal, ó bien el epitelio germinal puede ser una ruta de tránsito de sustancias derivadas de la sangre materna (Schindler et al. 1988, Schindler 1990).

Por otra parte, la disminución en altura del epitelio germinal durante la gestación avanzada en *C. encaustus* ($8.9 \pm 1.2 \mu\text{m}$), puede deberse a un aumento de la vascularización y al cambio del plexo capilar a una posición más cercana a la superficie, como ocurre en *Skiffia bilineata*, especie en la cual se presenta un adelgazamiento del epitelio germinal en esta etapa reproductiva (Mendoza 1940, 1943).

Septo. El ovario de *C. encaustus* se encuentra dividido por un septo, característica que se ha reportado para la familia Goodeidae (Hubbs y Turner 1939). En tanto que en *P. gracilis*, al igual que en todos los miembros de la familia Poeciliidae, no existe septo. Esta estructura en *C. encaustus* se conforma por tejido conectivo con fibroblastos y vasos sanguíneos, y por epitelio ovárico; una conformación similar se ha descrito en otras especies de la familia Goodeidae (Lombardi y Wourms 1985a). Adicionalmente, en *C. encaustus* el septo divide por completo el ovario como se ha descrito en *Alloophorus robustus*, *Girardinichthys viviparus* y *Goodea atripinnis* (Hubbs y Turner 1939, Díaz-Pardo y Ortiz-Jiménez 1986, Barragán y Magallón 1994), en contraste a lo reportado para *Xenophorus captivus*, *Neophorus diazi* y *Xenotoca eiseni*, especies en las que el ovario está parcialmente dividido por el septo y los dos compartimentos pueden estar en comunicación (Hubbs y Turner 1939, Schindler 1990).

En *C. encaustus* el septo es altamente plegado, similar al de otras especies de Goodeidae: *Goodea luitpoldii* (Hubbs y Turner 1939), *Ameca splendens* (Lombardi y Wourms 1985a) y *Goodea atripinnis* (Barragán y Magallón 1994). Por otra parte, en *Skiffia bilineata*, *Girardinichthys viviparus* e *Ilyodon whitei* el septo es recto (Mendoza 1940, Díaz-Pardo y Ortiz-Jiménez 1986, De la Rosa 2001). La disminución del

plegamiento del septo tiene relación con la reducción de tejido germinal en el mismo y con la formación de pliegues ovígeros, a los cuales se restringe el tejido germinal.

La presencia de tejido germinal en el septo, como es el caso de *C. encaustus*, se ha descrito en otras especies de la familia Goodeidae: *Alloophorus robustus*, *Goodea atripinnis* (Hubbs y Turner 1939, Barragán y Magallón 1994); mientras que en algunas más, el septo carece de elementos germinales: *Ameca splendens*, *Girardinichthys viviparus* e *Ilyodon whitei* (Lombardi y Wourms 1985a, Díaz-Pardo y Ortiz-Jiménez 1986, De la Rosa 2001). La presencia de tejido germinal en el septo es considerada una característica primitiva (Hubbs y Turner 1939). Aunque la presencia de septo y sus características histológicas se han descrito en varias especies de la familia Goodeidae, su función y aspectos evolutivos no se han interpretado a fondo. Al respecto, Hubbs y Turner (1939) sostienen que el septo aparentemente representa la fusión de las paredes del ovario doble.

Pliegues ovígeros. En *C. encaustus* el tejido germinal se observa en la pared del ovario, en pequeños pliegues ovígeros y en el septo. Los pliegues ovígeros se han descrito en varias especies de la familia Goodeidae: *Skiffia bilineata* (Mendoza 1941), *Ameca splendens* (Lombardi y Wourms 1985a) e *Ilyodon whitei* (De la Rosa 2001). El primero de estos taxa tiene dos pliegues, uno a cada lado del septo medio, y las células germinales están confinadas sólo a estos pliegues (Mendoza 1941). Los pliegues ovígeros no son característicos de todas las especies de teleósteos vivíparos, como lo describe Turner (1933) en la familia Poeciliidae, y Mendoza (1940) en otras especies como *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae), *Anableps anableps* (Anablepidae) y *Zoarcetes viviparus* (Zoarcidae), que carecen de ellos. Este es el caso de *P. gracilis*, que no presenta pliegues de la pared, y los elementos germinales se sitúan dispersos en toda la pared ovárica.

Hubbs y Turner (1939) señalan que el ovario de *C. encaustus* es de tipo primitivo por presentar tejido germinal en la pared del ovario y en el septo, característica presente en las subfamilias Goodeinae, a la cual pertenece el género *Chapalichthys*, y Ataeniobiinae, y a diferencia del tipo derivado presente en la subfamilia Girardinichthyinae, en donde el tejido germinal está confinado a dos pliegues, y la pared ovárica y el septo carecen de tejido ovífero (Grudzien et al. 1992).

Gonoducto. El gonoducto en *P. gracilis* y en *C. encaustus* corresponde a una extensión de la pared del ovario que se comunica con el exterior a través del poro urogenital. Está conformado por serosa, una capa gruesa de músculo liso, tejido conectivo y el epitelio interno, como se ha descrito para las familias Poeciliidae (Constantz 1989, Potter y Kramer 2000) y Goodeidae (Mendoza 1943).

Ovogénesis

El proceso de ovogénesis en *P. gracilis* y en *C. encaustus* se lleva a cabo en los sitios donde se localiza tejido ovífero, donde se encuentran los folículos en diferente grado de desarrollo rodeados por estroma.

Foliculogénesis. La foliculogénesis en *C. encaustus* y *P. gracilis* es similar a la descrita para otras especies, la cual consiste en la proliferación de ovogonias que permite el inicio de la ovogénesis formando nuevos ovocitos que maduran en cada estación reproductiva (Mendoza 1940, 1972, Wourms 1981, Grier 2000). De acuerdo con Grier (2000), la dinámica de proliferación de las ovogonias está vinculada con el ciclo reproductor. Cuando se inicia el proceso meiótico se forman ovocitos preprimarios en el epitelio germinal, estableciéndose en la fase diplotena. En esta etapa, células prefoliculares del epitelio

germinal rodean al ovocito formando la granulosa, que a su vez es rodeada por la lámina basal, constituyendo los folículos preprimarios, los cuales se desplazan al tejido conectivo subyacente formando folículos primarios, donde continúan su desarrollo. En el estroma, el folículo primario es rodeado por la teca interna vascular y la teca externa fibrosa.

El folículo de *P. gracilis* y *C. encaustus* en consecuencia, se deriva del epitelio germinal y está formado por el ovocito, una capa de células foliculares planas a cúbicas y la membrana basal. Externamente al folículo, y derivada del estroma se encuentra la teca interna vascular y la teca externa fibrosa. Esta conformación del folículo es similar a la descrita en general para vertebrados (Dodd 1977, Jones 1978) y en particular para peces teleósteos ovíparos (Takashima e Hibiya 1995, Tyler y Sumpter 1996) y vivíparos (Bailey 1933, Mendoza 1941, Jollie y Jollie 1964, Potter y Kramer 2000).

Estadios de la ovogénesis. El proceso de ovogénesis en *P. gracilis* y *C. encaustus*, en las etapas de previtelogénesis y vitelogénesis, presentó estadios similares entre sí y a los descritos para especies de peces teleósteos ovíparos (Begovac y Wallace 1988, Wallace y Selman 1990, Takashima e Hibiya 1995, Tyler y Sumpter 1996) y vivíparos: *Sebastes rastrelliger* (Moore et al. 2000) y *Gambusia affinis* (Koya et al. 1998). Estos incluyen las fases de folículos primarios, cromatina-nucléolo, perinucléolos, vesículas vitelinas, gránulos de vitelo y vitelo homogéneo.

a) Previtelogénesis.

La etapa de previtelogénesis incluye los estadios de folículos primarios, cromatina-nucléolo y perinucléolos. Las características de la previtelogénesis son similares en las dos especies *P. gracilis* y *C. encaustus*, y a las descritas en teleósteos vivíparos (Mendoza

1943, Koya et al 1998). Sin embargo, entre las dos especies existen diferencias en el diámetro folicular. Al final de esta etapa el diámetro promedio es de $(54.4 \pm 11.2 \mu\text{m})$ en *P. gracilis* y de $(39.3 \pm 17.1 \mu\text{m})$ en *C. encaustus*. Estas diferencias de tamaño sugieren que en *P. gracilis* hay mayor acumulación de citoplasma, que involucra la producción RNA, ribosomas y retículo endoplasmático, como preparación para la etapa vitelogénica siguiente, en la cual la cantidad de vitelo acumulado en *P. gracilis* es mayor.

b) Vitelogénesis

Vitelogénesis temprana e intermedia.

En *P. gracilis* y *C. encaustus*, durante la etapa de vitelogénesis temprana, que incluye el estadio de formación de vesículas de vitelo (vitelo lipídico) y en la vitelogénesis intermedia, que involucra el estadio de formación de gránulos vitelinos, hay aumento en la altura de las células foliculares las cuales cambian de escamosas a columnares bajas, similar a lo reportado en *Xiphophorus helleri* y *Skiffia bilineata* (Bailey 1933, Mendoza 1943). Esta característica se relaciona con un incremento en la actividad de la capa de células foliculares, debido a la secreción y el paso de sustancias, y en el intercambio metabólico con el ovocito, proceso que también se refleja en la vascularización de la teca interna que rodea al folículo.

De igual forma, el diámetro folicular aumenta en las dos especies. Como se observó en la previtelogénesis, la cantidad de vitelo acumulado durante la vitelogénesis temprana e intermedia es mayor en *P. gracilis*, lo que se refleja en un mayor diámetro promedio de los ovocitos durante el estadio de formación de gránulos vitelinos: $(230.5 \pm 51.4 \mu\text{m})$ en *P. gracilis* y $(148.5 \pm 27 \mu\text{m})$ en *C. encaustus*.

Vitelogénesis avanzada.

Los ovocitos maduros de ambas especies presentan homogeneización del vitelo en la etapa final de vitelogénesis avanzada, con la diferencia que en *P. gracilis* se observan glóbulos lipídicos distribuidos por el citoplasma y en la periferia, característica que se mantiene durante el desarrollo embrionario, similar a lo reportado para otras especies de Poeciliidae: *Xiphophorus helleri* y *Gambusia affinis* (Bailey 1933, Koya et al. 1998). El vitelo homogéneo se ha descrito en *X. helleri* y algunos goodeidos (*Skiffia bilineata*, *Girardinichthys multiradiatus*) (Mendoza 1943). Este autor también observó el vitelo homogéneo en especies de otras familias como Scorpaenidae (*Zoarcetes viviparus*) y Jenynsidae (*Jenynsia bilineata*).

En la etapa de vitelogénesis avanzada, cuando el ovocito alcanza su talla máxima, en *P. gracilis* las células foliculares se reducen en altura, y llegan a ser escamosas al igual que ocurre en *Xiphophorus helleri* (Bailey 1933). De acuerdo con este autor, las células foliculares gradualmente se reducen en altura, probablemente debido a dos factores: la disminución de su actividad secretora y a una causa mecánica del crecimiento del ovocito.

La diferencia en el tamaño de los ovocitos maduros entre las dos especies analizadas es una característica que se relaciona con el patrón nutricional de las crías durante la gestación. *P. gracilis* es lecitotrófico (índice de matrotrofia 0.6, Reznick et al. 2002). En cambio *C. encaustus* es matrotrófico, ya que adicionalmente a las reservas de vitelo, la madre aporta nutrientes al embrión mediante la secreción de embriotrofo, que es absorbido por el embrión a través de la trofotenia. De manera que en *P. gracilis* se mantiene el saco vitelino durante la gestación y en *C. encaustus* el saco vitelino permanece durante un período corto.

Zona pelúcida. La zona pelúcida en *P. gracilis* y *C. encaustus* se observa como una zona delgada, diferente a lo descrito para teleósteos ovíparos (Wallace y Selman 1981). Los miembros de la familia Goodeidae presentan una envoltura reducida (Riehl y Greven 1992), la cual se ha descrito como moderadamente gruesa y sin la compleja zonación reportada para teleósteos ovíparos (Schindler y de Vries 1989). En estudios de ultraestructura de la zona pelúcida de ocho especies de goodeidos, se describe una estructura de 0.5-1.5 μm de grosor, compuesta por tres zonas de diferente electrodensidad y con gliconjugados, posiblemente secretados por el ovocito (Schindler y de Vries 1989, Riehl y Greven 1992). De acuerdo con Riehl y Greven (1992), en teleósteos vivíparos una zona pelúcida reducida o delgada puede facilitar el intercambio gaseoso, haciéndolo más efectivo, ya que el espacio entre el embrión y las células foliculares se reduce. Sin embargo, no existe una clara correlación entre el grado de reducción de la zona pelúcida y el grado de viviparidad (lecitotrofia-matrotrofia), puesto que la reducción ocurre incluso en especies donde todos los requerimientos para el embrión se encuentran en el vitelo.

Atresia folicular. La atresia es un fenómeno presente en folículos en diferentes estadios de la ovogénesis y en ovarios en las distintas etapas reproductivas en *C. encaustus* y *P. gracilis*. Sus características morfológicas coinciden con las descritas por Mendoza (1943), Lambert (1970) y Tyler y Sumpter (1996), quienes consideran que los folículos atrésicos están relacionados con el control del número de folículos que lleguen a la ovulación, y en consecuencia con el número de crías que inicien su desarrollo.

Los rasgos característicos de atresia se hacen evidentes a partir del estadio III de perinucleólos. Entre las dos especies, la diferencia respecto a la atresia radica en el estadio

de la ovogénesis en que se encuentra el folículo atrésico en el ovario gestante. En *C. encaustus*, los folículos atrésicos de mayor grado de desarrollo se encuentran en estadio V de formación inicial de gránulos vitelinos, en tanto que en *P. gracilis* durante esta misma etapa reproductiva, se observan folículos atrésicos hasta en estadio VI de vitelo homogéneo. En contraste, durante la gestación de *C. encaustus* todos los folículos vitelogénicos se observaron atrésicos, lo que sugiere que durante la etapa de gestación no continúa la vitelogénesis.

Presencia de espermatozoides

En las dos especies estudiadas se observaron espermatozoides en la luz del ovario y gonoducto. En *P. gracilis* los espermatozoides se encuentran asociados con el epitelio germinal, algunos localizados en pliegues de la mucosa del ovario. Estos pliegues forman invaginaciones que sugieren el desarrollo de estructuras específicas para el almacenamiento de espermatozoides en el ovario y gonoducto.

El almacenamiento de esperma dentro del ovario y gonoducto se ha descrito en especies de las familias Poeciliidae (Constantz 1989, Potter y Kramer 2000), Embiotocidae (Turner 1938a, Gardiner 1978), Anablepidae (Turner 1938b) y Scorpaenidae (Muñoz et al 2002). En los miembros de Poeciliidae, los espermatozoides se han observado en asociación con el epitelio ovárico interno (epitelio germinal), especialmente en pliegues del ovario y del gonoducto: *Xiphophorus helleri* (Bailey 1933, Wourms 1981, Constantz 1989) y *Xiphophorus maculatus* (Potter y Kramer 2000). En algunas especies el esperma puede permanecer almacenado en el ovario y el gonoducto hasta por 8 ó 10 meses (Constantz 1989, Potter y Kramer 2000).

El almacenamiento de espermatozoides dentro de zonas específicas del epitelio interno del ovario se ha reportado en *Cymatogaster aggregatus* (Embiotocidae) (Gardiner 1978) y en *Xiphophorus maculatus* (Poeciliidae) (Potter y Kramer 2000). En la primera, la inseminación y la ovulación están separadas aproximadamente por 6 meses, tiempo durante el cual el esperma es mantenido dentro de invaginaciones del epitelio ovárico interno, las cuales presentan células epiteliales morfológicamente diferentes a las que revisten la cavidad ovárica Gardiner (1978). En *X. maculatus*, las cabezas de los espermatozoides se han observado asociadas con células epiteliales específicas del epitelio ovárico y gonoducto, lo cual se relaciona con su mantenimiento. Se reportan dos formas de asociación: 1) el esperma se encuentra dentro de invaginaciones de la superficie y 2) los espermatozoides son tomados e incorporados dentro del citoplasma de las células epiteliales específicas (Potter y Kramer 2000). En *P. gracilis* se observan dos formas de asociación similares a las reportadas en *X. maculatus*, la primera en pliegues del ovario y la segunda en pliegues del gonoducto.

En *P. gracilis* se observaron espermatozoides en pliegues de la pared ovárica en ovarios que contienen embriones en estado avanzado de desarrollo, similar a lo reportado en *Anableps anableps* (Turner 1938b). La presencia de espermatozoides en todas las etapas reproductivas de *P. gracilis*, así como los sitios donde se observaron, en profundas invaginaciones de la pared ovárica, sugiere que los espermatozoides pueden ser almacenados.

En tanto que en *C. encaustus* la presencia de espermatozoides sólo en la luz del ovario y no en pliegues de la pared ovárica, y exclusivamente alrededor del tiempo de la fertilización sugiere que no ocurre un proceso de almacenamiento. Además, la presencia de

macrófagos rodeando a los espermatozoides en el ovario y gonoducto puede sugerir un proceso de eliminación de los mismos.

De acuerdo con estas observaciones, consideramos que en *C. encaustus* cada camada requiere una inseminación, coincidiendo con Mendoza (1962), quien en los goodeidos *Allophorus robustus*, *Goodea luitpoldii* y *Neophorus diazi* no observó almacenamiento de espermatozoides en el ovario. El almacenamiento de espermatozoides y fertilizaciones sucesivas de dos o más camadas sin necesidad de inseminaciones separadas, se ha descrito en especies de otras familias de teleósteos vivíparos como *Jenynsia lineata* (Jenynsidae), *Cymatogaster aggregatus* (Embiotocidae), *Gambusia affinis*, *Xiphophorus helleri* y *Xiphophorus maculatus* (Poeciliidae) (Mendoza 1962). El almacenamiento de esperma y las inseminaciones múltiples son adaptaciones que juegan un papel importante en la reproducción de estas especies, mediante la competencia espermática (Vallowe 1953), la permanencia del esperma de la inseminación del último macho y la disponibilidad de espermatozoides en el momento de la maduración folicular, independientemente de la época de inseminación (Potter y Kramer 2000).

Gestación

La gestación en *C. encaustus* es de tipo intraluminal, como se ha descrito en 10 familias de teleósteos vivíparos, entre ellas Goodeidae, Embiotocidae, Ophidiidae, Jenynsidae y Zoarcidae (Turner 1947, Wourms 1981, Wourms et al. 1988, Schindler y Hamlett 1993). En tanto que en *P. gracilis*, la gestación es de tipo intrafolicular, característica de las familias Poeciliidae, Anablepidae, Clinidae y Labrisomidae (Turner 1947, Wourms 1981, Wourms et al. 1988, Hollenberg y Wourms 1994). Los embriones de

todos los poecílidos, excepto los de *Tomeurus gracilis*, especie ovípara, se desarrollan dentro de los folículos (Constantz 1989).

La lecitotrofia presente en *P. gracilis*, donde los embriones son nutricionalmente autónomos, es la forma más primitiva de viviparidad; en tanto que la matrotrofia, presente en *C. encaustus*, en donde los metabolitos están disponibles a los embriones a medida que lo demandan, en vez de ser acumulados durante la vitelogénesis, es considerada una característica derivada, la cual puede evitar posibles pérdidas de nutrientes almacenados debido a un evento de mortalidad de la hembra antes del parto (Wourms y Cohen 1975, Wourms et al. 1988, Wourms y Lombardi 1992). Con la evolución de formas más especializadas de viviparidad, hay una tendencia a reducir la dependencia embrionaria sobre las reservas de vitelo producidas durante la ovogénesis y a contar con una transferencia continua de nutrientes maternos al embrión durante la gestación (Lombardi y Wourms 1985a). En ambos tipos de patrón nutricional, a través de la aposición de los tejidos maternos y embrionarios se realiza la osmorregulación y la eliminación de desechos (Wourms et al. 1988).

Tomando en cuenta que la gestación en *P. gracilis* es intrafolicular y en *C. encaustus* es intraluminal, la formación de folículos postovulatorios solamente ocurre en *C. encaustus*. Sin embargo, estos folículos sólo se observan en la etapa de gestación temprana. No se ha definido la función de los folículos postovulatorios en peces teleósteos vivíparos.

Durante la gestación los tejidos embrionarios y ováricos realizan intercambios metabólicos que se manifiestan en diversas formas de acuerdo con cada tipo de desarrollo. Estas relaciones se definen por características de los tejidos ováricos, como son la mayor

actividad secretora del epitelio germinal y el incremento de la vascularización del estroma, en particular el subyacente al epitelio germinal, que se observan a lo largo de la gestación (Mendoza 1943, Wourms et al. 1988).

En *C. encaustus* el epitelio germinal es más alto y presenta actividad secretora durante la etapa de gestación temprana, lo que sugiere su participación en la formación y paso de metabolitos hacia el lumen, complementado con el desarrollo de la trofotenia en las crías, extensión del intestino embrionario con gran capacidad absorbora, como lo describen Turner (1947), Wourms (1981), Wourms et al. (1988), y Schindler y Hamlett (1993). En el caso de *P. gracilis*, se presenta un incremento en la actividad de las células foliculares que rodean al embrión y en la vascularización de la teca, similar a lo mencionado para otras especies de la familia Poeciliidae Constantz (1989), Wourms (1981), Wourms et al. (1988). En *P. gracilis*, las células del folículo en gestación se observan escamosas a cúbicas y la teca es delgada y vascularizada, coincidiendo con lo descrito para *Xiphophorus helleri* (Bailey 1933).

La trofotenia de *C. encaustus* es de tipo cinta o listón coincidiendo con (Lombardi y Wourms 1988). Está constituida por membranas externas que emanan de la región anal del embrión y yacen en aposición directa con el epitelio germinal del ovario (Lombardi y Wourms 1985a,b); consta de un epitelio de absorción que rodea un centro de tejido conectivo laxo vascularizado, al igual que en otros goodeidos (Mendoza 1972, Lombardi y Wourms 1985b).

En *P. gracilis* durante la etapa de gestación avanzada se observan embriones en segmentación y folículos maduros en estadio VI. De manera que antes o al momento del

nacimiento de las crías, hay ovocitos listos para ser fecundados e igualmente hay embriones iniciando su desarrollo. Esta característica puede relacionarse con el fenómeno de superfetación, el cual se ha reportado en especies de la familia Poeciliidae: *Heterandria formosa*, *Poeciliopsis occidentalis*, *Poeciliopsis prolifica* (Wourms 1981, Constantz 1989) y en algunas poblaciones naturales de *P. gracilis* (Burns 1985, Contreras-MacBeath y Ramírez-Espinoza 1996). En una población de *P. gracilis* del río Cuautla, Morelos, México se hallaron hasta tres camadas en diferente estadio de desarrollo en una sola hembra (Contreras-MacBeath y Ramírez-Espinoza 1996). En el presente estudio se observaron embriones en diferente estadio de desarrollo dentro del mismo ovario solamente en algunos ejemplares del mismo taxón, sin embargo, Burns (1985) encontró que en una misma población de *P. gracilis* sólo el 25% de las hembras presentaron superfetación.

En la familia Poeciliidae la superfetación ha surgido de forma independiente y su grado de desarrollo varía entre las especies (Constantz 1989, Downhower et al. 2002). En general, aquellas con mayor grado de viviparidad (matrotrofia), como las especies del género *Heterandria*, muestran superfetación bien desarrollada, hasta con ocho camadas de diferentes edades (Turner 1937, Constantz 1989). En la mayoría de las otras especies, como es el caso de *P. gracilis*, rara vez todas las hembras presentan superfetación y aquellas que la presentan llevan sólo dos o tres camadas diferentes; las hembras son lecitotróficas y producen ovocitos grandes (Turner 1937, Downhower et al. 2002).

De acuerdo con Turner (1940), la superfetación ha resultado de la siguiente combinación de factores: 1) el proceso independiente de maduración de ovocitos en un ovario grávido, 2) la fertilización del ovocito dentro del folículo, sin ovulación, 3) ciclos

reproductivos cortos, 4) el comportamiento sexual receptivo de la hembra durante el estado de gravidez, 5) la producción continua de esperma en el testículo del macho y su capacidad para copular en cualquier momento, y 6) la capacidad del ovario de almacenar esperma viable. El desarrollo de la superfetación es dependiente de la disponibilidad alimenticia en el ambiente y del almacenamiento de esperma en el ovario para fertilizaciones sucesivas (Wourms 1981). Su significado adaptativo está relacionado con la reducción de la mortalidad juvenil y el incremento del número de descendencia por unidad de tiempo (Downhower et al. 2002).

En contraste, en *C. encaustus* no se observaron ovocitos maduros durante la etapa de gestación y los ovocitos de mayor grado de desarrollo se encuentran en estadio IV de vesículas vitelinas y en estadio V de formación inicial de gránulos vitelinos; la mayoría de los cuales presentan atresia. De forma que en esta especie, los folículos que van a ser fecundados se desarrollan a partir de los ovocitos que se encuentran en estadios de folículos primarios, cromatina-nucléolo, o perinucléolos. De manera que el nacimiento de las crías y la fecundación de nuevos ovocitos son eventos que están temporalmente separados.

Viviparidad en las familias Poeciliidae y Goodeidae

La viviparidad ha surgido de manera independiente en peces teleósteos y presenta paralelismo y convergencia en los rasgos que la caracterizan (Wourms y Lombardi 1992). Las familias Poeciliidae y Goodeidae pertenecen al orden Cyprinodontiformes (Parenti 1981). De acuerdo con Meyer y Lydeard (1993), quienes realizaron un estudio sobre la evolución de la viviparidad en dicho orden, inferida de una hipótesis filogenética basada en el gen tirosin kinasa *X-src*, la viviparidad ha surgido tres veces de forma independiente: 1.

En la familia Goodeidae, en el linaje que conduce a la subfamilia Goodeinae, 2. En la subfamilia Poeciliinae, después del origen de *Tomeurus gracilis*, especie ovípara basal, y 3. A lo largo del linaje que une *Anableps* y *Jenynsia*. De manera que en *P. gracilis* y *C. encaustus*, la viviparidad es un modo reproductivo que ha evolucionado de forma independiente, dado que pertenecen a familias diferentes de teleósteos vivíparos, Poeciliidae y Goodeidae, que no representan grupos hermanos.

IX. CONCLUSIONES

- El ovario de *Poeciliopsis gracilis* y de *Chapalichthys encaustus* son órganos únicos, de tipo sacular y cistovárico que se comunican con el exterior a través del gonoducto.
- La pared ovárica en ambas especies está constituida por cuatro capas histológicas que del exterior al interior son: peritoneo, músculo liso longitudinal y circular, tejido conectivo laxo y epitelio germinal.
- El ovario de *C. encaustus* está dividido por un septo completo y altamente plegado, a diferencia de *P. gracilis* que no presenta septo.
- En *C. encaustus*, los elementos germinales se encuentran en pliegues ovígeros que forma la pared y en el septo del ovario. En tanto que en *P. gracilis*, los ovocitos en diferentes estadios de desarrollo se encuentran a lo largo de la pared del ovario.
- El proceso de ovogénesis en las dos especies es similar y se clasificó en los estadios de: folículos primarios, cromatina-nucléolo, perinucléolos, vesículas vitelinas, gránulos vitelinos y vitelo homogéneo. En ambas especies el proceso de vitelogénesis culmina con la formación de vitelo homogéneo.
- La diferencia en la talla de los ovocitos maduros de las dos especies se relaciona con el patrón de nutrición, lecitotrófico en *P. gracilis* y matrotrofico en *C. encaustus*.

- En ambas especies la atresia ocurre en todas las etapas del desarrollo folicular y en las diferentes etapas reproductivas, y se caracteriza por un contorno irregular del folículo y del núcleo, desintegración del citoplasma, plegamiento de la zona pelúcida y proliferación de las células foliculares.

- La gestación en las dos especies es intraovárica, de tipo intrafolicular en *P. gracilis* e intraluminal en *C. encaustus*.

- En los tipos de gestación, se lleva a cabo el intercambio metabólico entre los tejidos maternos y embrionarios. En *C. encaustus* mediante el epitelio germinal del ovario y la trofotenia de la cría en desarrollo, aunque no ocurre aposición de tejidos. Y, en *P. gracilis* las células foliculares en aposición alrededor del embrión.

- En *P. gracilis* se observaron ovarios con embriones en dos etapas diferentes de desarrollo, lo cual sugiere la ocurrencia de superfecundación.

- En *P. gracilis* los espermatozoides se encuentran en sitios específicos del ovario y el gonoducto, invaginaciones de la superficie luminal, en todas las etapas reproductivas, lo que sugiere un proceso de almacenamiento de espermatozoides. En *C. encaustus*, los espermatozoides se observaron dispersos en el lumen del ovario y el gonoducto, solamente en el tiempo cercano a la fertilización.

X. LITERATURA CITADA

- Aguilar ME, Coutiño B, Salinas R. 1996. Manual general de técnicas histológicas y citoquímicas. Las Prensas de Ciencias. Facultad de Ciencias. UNAM. México, 130pp.
- Álvarez del Villar J. 1970. Peces Mexicanos (Claves). Edit. Comisión Nacional Consultiva de Pesca: 100-114.
- Amoroso EC. 1960. Viviparity in fishes. Symp Zool Soc Lond 1:153-181.
- Amoroso EC. 1981. Viviparity. En: Glasser SR, Bullock DW (editores). Cellular and Molecular aspects of implantation, Plenum Press p:3-24.
- Bailey RJ. 1933. The ovarian cycle in the viviparous teleost *Xiphophorus helleri*. Biol Bull 64:206-225.
- Barragán J, Magallón S. 1994. Peces dulceacuícolas mexicanos X. *Goodea atripinnis* (Cyprinodontiformes: Goodeidae). Zoología informa (28):27-36.
- Begovac PC, Wallace RA. 1988. Stages of development in the pipefish *Sygnathus scovelli*. J Morphol 197:353-369.
- Burns JR. 1985. The effect of low-latitude photoperiods on the reproduction of female and male *Poeciliopsis gracilis* and *Poecilia sphenops*. Copeia 1985(4):961-965.
- Callard IP, Ho SM. 1987. Vitellogenesis and viviparity. En: Chester-Jones I, Inglenton PM, Phillips JG (editores). Fundamentals of Comparative Vertebrate Endocrinology. Plenum Press, New York, p:255-282.
- Constantz J. 1984. Sperm competition in poeciliid fishes. En: Smith LR (editor). Sperm competition and the evolution of animal mating systems. New York: Ac. Press. p.465-485.
- Constantz J. 1989. Reproductive biology of the Poeciliid fishes. En: Meffe GK, Snelson FF (editores.). Ecology and Evolution of live bearing fish (Poeciliidae), Prentice Hall. New Jersey, p: 35-50.
- Contreras-Balderas S. 2004. Conservation status of Mexican freshwater viviparous fishes. En: Grier HJ, Uribe MCA (editores). Proceedings of the I and II Symposia on Viviparous Fishes, New life Publications. USA.
- Contreras-McBeath. 1995. Ecosistemas acuáticos del Estado de Morelos. Con énfasis en los peces. Cienc Des 21:42-51.

- Contreras-McBeath T, Ramírez-Espinoza H. 1996. Some aspects of the reproductive strategy of *Poeciliopsis gracilis* (Osteichthyes: Poeciliidae) in the Cuautla River, Morelos, Mexico. *J Freshwater Ecology* 11(3):327-338.
- CRM (Consejo de Recursos Minerales). 1996. Monografía geológico-minera del estado de Michoacán. México Cap. I: 1-30.
- CRM (Consejo de Recursos Minerales). 2000. Monografía geológico-minera del estado de Morelos. México. Cap. I:1-39.
- Dawes JA. 1995. Livebearing fishes, a guide to their aquarium care, biology and classification. Blandford Publications, United Kingdom. 240pp.
- De la Rosa G. 2001. Estructura ovárica del pez vivíparo *Ilyodon whitei* (Goodeidae) en distintas etapas reproductivas. Tesis de Maestría (Biología Animal). Facultad de Ciencias. UNAM. México D.F. 72pp.
- Díaz-Pardo E, Ortiz-Jiménez D. 1986. Reproducción y ontogenia de *Girardinichthys viviparus* (Pisces: Goodeidae). *An Esc Nac Cienc Biol. IPN México* 30:45-66.
- Dodd JM. 1977. The structure of the ovary of nonmammalian vertebrates. En: Zuckerman S, Weir B (editores). *The ovary*, 2nd ed. General aspects, vol 1. New York, Academic Press. p. 219-263.
- Downhower JF, Brown LP, Matsui ML. 2002. Litter overlap in *Gambusia hubbsi*: superfetation revisited. *Env Biol Fish* 65:423-430.
- Flores JA, Burns JR. 1993. Ultrastructural study of embryonic and early adult germ cells, and their support cells, in both sexes of *Xiphophorus* (Teleostei: Poeciliidae). *Cell Tissue Res* 271:263-270.
- Gardiner DM. 1978. Cyclic changes in fine structure of the epithelium lining the ovary of the viviparous teleost, *Cymatogaster aggregata* (Perciformes: Embiotocidae). *J morphol* 156:367-380.
- Ghedotti MJ. 2000. Phylogenetic analysis and taxonomy of the poeciliid fishes (Teleostei: Cyprinodontiformes). *Zool J Linn Soc* 130(1):1-53.
- Grier H. 2000. Ovarian germinal epithelium and folliculogenesis in the common snook, *Centropomus undecimalis* (Teleostei:Centropomidae). *J Morphol* 243:265-281.
- Grove BD, Wourms JP. 1994. Follicular placenta of the viviparous fish, *Heterandria formosa*: II. Ultrastructure and development of the follicular epithelium. *J Morphol* 220: 167-184.
- Grudzien TA, White MM, Turner BJ. 1992. Biochemical systematics of the viviparous fish family Goodeidae. *J Fish Biol* 40:801-814.

- Guillette LJ. 1987. The evolution of viviparity in fishes, amphibians and reptiles: an endocrine approach. En: Norris DO, Jones RE (editores). *Hormones and Reproduction in fishes, amphibians and Reptiles*. Plenum Press, New York-London, p:523-562.
- Guillette LJ. 1991. The evolution of viviparity in amniotes vertebrates: new insights, new questions. *J Zool Lond* 223:521-526.
- Ho SM. 1987. Endocrinology of vitellogenesis. En: Norris DO, Jones RE (editores). *Hormones and Reproduction in fishes, amphibians and Reptiles*. Plenum Press, New York-London, p:145-169.
- Hoar WS. 1969. Reproduction. En: Hoar WS, Randall DJ (editores). *Fish Physiology*, Academic Press, New York. Vol 3. p:1-72.
- Hollenberg F, Wourms JP. 1994. Ultrastructure and protein uptake of the embryonic trophotaeniae of four species of goodeid fishes (Teleostei: Atheriniformes). *J Morphol* 219:105-119.
- Hubbs CL, Turner CL. 1939. Studies of the fishes of the order cyprinodonts. XVI. A revision of the Goodeidae. *Misc Publ Mus Zool Univ Mich* 42:1-80.
- Jollie WP, Jollie LG. 1964. The fine structure of the ovarian follicle of the ovoviviparous poeciliid fish, *Lebistes reticulatus*. Formation of follicular pseudoplacenta. *J Morphol* 114:503-526.
- Jones RE. 1978. Ovarian cycles in nonmammalian vertebrates. En: Jones RE (editor). *The vertebrate ovary*. Plenum Press, New York, p:731-739.
- Knight FM, Lombardi J, Wourms JP, Burns JR. 1985. Follicular placenta and embryonic growth of the viviparous four-eyed fish (*Anableps*). *J Morphol* 185:131-142.
- Koya Y, Itazu T, Inoue M. 1998. Annual reproductive cycle based on histological changes in the ovary of the female mosquitofish, *Gambusia affinis*, in central Japan. *Ichthyol Res* 45(3):241-248.
- Koya Y, Fujita A, Niki F, Ishihara E, Miyama H. 2003. Sex differentiation and pubertal development of gonads in the viviparous mosquitofish, *Gambusia affinis*. *Zool Sci* 20:1231-1242.
- Lambert JGD. 1970. The ovary of the guppy, *Poecilia reticulata*. The atretic follicle, a corpus atreticum or a corpus luteum praeovulationis. *Z Zellforsch* 107:54-67.
- Lombardi J, Wourms JP. 1985a. The trophotaenial placenta of a viviparous goodeid fish. I. Ultrastructure of the internal ovarian epithelium, the maternal component. *J Morphol* 84:277-292.

- Lombardi J, Wourms JP. 1985b. The trophotaenial placenta of a viviparous goodeid fish. II. Ultrastructure of the trophotaeniae, the embryonic component. *J Morphol* 184:293-309.
- Lombardi J, Wourms JP. 1988. Embryonic growth and trophotaenial development in goodeid fishes (Teleostei: Atheriniformes). *J Morphol* 197:193-208.
- Lombardi J. 1998. Comparative vertebrate reproduction. Kluwer Academic Publishers. Boston, p:253-275.
- Lydeard C. 1993. Phylogenetic analysis of species richness: has viviparity increased the diversification of actinopterygian fishes?. *Copeia* 1193(2):514-518.
- Lucano G, Villagrán M, Ruiz S. 2001. Cambios estructurales en las gónadas de *Lutjanus peru* (Pisces: Lutjanidae), en la costa sur de Jalisco, México. *Bol Centro Invest Biol* 35: 295-316.
- Meffe GK, Snelson FF Jr. 1989. An ecological overview of Poeciliid fishes. En: Meffe GK, Snelson FF (editores). *Ecology and Evolution of live bearing fish (Poeciliidae)*. Prentice Hall, New Jersey, p:13-31.
- Mejía-Mojica MH. 1992. Nuevo registro de *Poeciliopsis gracilis* (Heckel, 1848) (Pisces: Poeciliidae), para la cuenca del río Balsas. *Univ Cienc Tecnol Morelos, México* 2(2):131-135.
- Mendoza G. 1940. The reproductive cycle of the viviparous teleost *Neotoca bilineata*, a member of the family Goodeidae. II. The cyclic changes in the ovarian soma during gestation. *Biol Bull* 78(3):349-365.
- Mendoza G. 1941. The reproductive cycle of the viviparous teleost *Neotoca bilineata*, a member of the family Goodeidae. III. The germ cell cycle. *Biol Bull* 81:70-79.
- Mendoza G. 1943. The reproductive cycle of the viviparous teleost, *Neotoca bilineata*, a member of the family Goodeidae. IV. The germinal tissue. *Biol Bull*:87-97.
- Mendoza G. 1962. The reproductive cycles of three viviparous teleosts, *Allophorus robustus*, *Goodea luitpoldii* and *Neophorus diazi*. *Biol Bull* 123(2):351-365.
- Mendoza G. 1972. The fine structure of an absorptive epithelium in a viviparous teleost. *J Morphol* 136:109-130.
- Meyer A, Lydeard C. 1993. The evolution of copulatory organs and viviparity in killifishes (Cyprinodontiformes) inferred from a DNA phylogeny of the tyrosine gene *X-src*. *Proc R Soc Lond B* 254:153-162.
- Meyer MK, Wischnath L, Foester W. 1985. Lebendgebärende Zierfische. Arten der Welt. Herausgeber: H.A: Baensch. Mergus, p:23-393.

- Miller RR, Fitzsimons JM. 1971. *Ameca splendens*, a new genus and species of goodeid fish from western Mexico, with remarks on the classification of the goodeids. *Copeia* 1970 (1):1-13.
- Moore RK, Scott AP, Collins PM. 2000. Circulating C-21 steroids in relation to the reproductive condition of a viviparous marine teleost, *Sebastes rastrelliger* (grass rockfish). *Gen Comp Endocrinol* 117(2):268-280.
- Mossman HW. 1937. Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accessory uterine structures. *Contrib Embryol Carnegie Inst* 26:129-246.
- Muñoz M, Koya Y, Casadeval M. 2002. Histochemical analysis of sperm storage in *Helicolenus dactylopterus dactylopterus* (Teleostei: Scorpaenidae). *J Exp Zool* 292:156-164.
- Nagahama Y. 1994. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *Int J Dev Biol* 38:217-229.
- Nagahama Y, Yoshikuni M, Yamashita M, Tokumoto T, Katsu Y. 1995. Regulation of oocyte growth and maturation in fish. *Current Topics in Developmental Biology* 30:103-145.
- Norris DO, Jones RE. 1987. *Hormones and Reproduction in Fishes, Amphibians and Reptiles*. Plenum- Press, New York, p:283-314.
- Norris DO. 1997. *Reproduction in bony fishes*. *Vertebrate Endocrinology*. Academic Press, New York, p:222-228.
- Parenti LR. 1981. A phylogenetic and biogeographic analysis of cyprinodontiform fishes (Teleostei, Atherinomorpha). *Bull Am Mus Nat Hist* 168(4):341-475.
- Parenti LR, Rauchenberger M. 1989. Systematics overview of the poeciliines. En: Meffe GK, Snelson FF (editores). *Ecology and evolution of livebearing fish (Poeciliidae)*. Prentice Hall, New Jersey, p:3-12.
- Potter H, Kramer CR. 2000. Ultrastructural observations on sperm storage in the ovary of the platyfish, *Xiphophorus maculatus* (Teleostei: Poeciliidae): The role of the duct epithelium. *J Morphol* 245:110-129.
- Reznick DN, Mateos M, Springer MS. 2002. Independent origins and rapid evolution of the placenta in the fish genus *Poeciliopsis*. *Science* 298:1018-1020.
- Riehl R, Greven H. 1992. Fine structures of egg envelopes in some goodeid fishes, with comments on the relation of envelope thinness to viviparity. *Can J Zool* 71:91-97.
- Rosen DE, Bailey RM. 1963. The poeciliid fishes (Cyprinodontiformes), their structure, zoogeography and systematics. *Bull Am Mus Nat Hist* 126:1-176.

- Schindler JF, Kujat R, de Vries U. 1988. Maternal-embryonic relationships in the goodeid teleost *Xenoporphus captivus*. The internal ovarian epithelium and the embryotrophic liquid. *Cell Tissue Res* 254:177-182.
- Schindler JF, De Vries U. 1989. Polarized distribution of binding sites for concavalin A and wheat-germ agglutinin in the zona pellucida of goodeid oocytes (teleostei). *Histochemistry* 91:413-417.
- Schindler JM. 1990. Retrograde trafficking of tracer protein by the internal ovarian epithelium in gravid goodeid teleosts. *Anat Rec* 226:177-186.
- Schindler JF, Hamlett WC. 1993. Maternal-embryonic relations in viviparous teleosts. *J Exp Zool* 266:378-393.
- Scott AP. 1987. Reproductive endocrinology of fish. En: Chester-Jones I, Ingleton PM, Phillips JG (editores). *Fundamentals of Comparative Vertebrate Endocrinology*. Plenum Press, New York, p:223-256.
- Selman K, Wallace RA. 1989. Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. *Zool Soc* 211-231.
- Takashima F, Hibiya T. 1995. An atlas of fish histology. Kodansha Ltd. Tokio, p:128-144.
- Thibault RE, Schultz RJ. 1978. Reproductive adaptations among viviparous fishes (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Evolution* 32:320-333.
- Turner CL. 1933. Viviparity superimposed upon ovo-viviparity in the Goodeidae, a family of Cyprinodont teleosts fishes of the Mexican plateau. *J Morphol* 55(2):207-251.
- Turner CL. 1937. Reproductive cycles and superfetation in poeciliid fishes. *Biol Bull* 72:145-164.
- Turner CL. 1938a. Histological and cytological changes in the ovary of *Cymatogaster aggregata* during gestation. *J Morphol* 62:323-349.
- Turner CL. 1938b. Adaptations for viviparity in embryos and ovary of *Anableps anableps*. *J Morphol* 62:323-349.
- Turner CL. 1940. Superfetation in viviparous cyprinidont fishes. *Copeia* 1940:88-91.
- Turner CL. 1947. Viviparity in teleost fishes. *Sci Monthly* 65:508-518.
- Tyler CR, Sumpter JP. 1996. Oocyte growth and development in teleosts. *Rev Fish Biol Fish* 6:287-318.
- Uyeno T, Miller RR, Fitzsimons JM. 1983. Kariology of the Cyprinodontoid fishes of the Mexican family Goodeidae. *Copeia* 1983(2):497-510.

- Vallowe HH. 1953. Some physiological aspects of reproduction in *Xiphophorus maculatus*. Biol Bull 104:240-249.
- Wallace RA, Selman K. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. Amer Zool 21:325-343.
- Wallace RA, Selman K. 1990. Ultrastructural aspects of oogenesis and oocyte in fish and amphibians. J Electron Microscopy Technique. 16:175-201.
- Webb S. 1999. A phylogenetic analysis of the Goodeidae: Dissertation Abstracts International Part B. Science and Engineering. 59(10):5274.
- Wischnath L. 1993. Atlas of livebearers of the world. T.F.H. Publications Inc. TS-180, 336 pp.
- Wourms JP, Cohen D. 1975. Trophotaeniae, embryonic adaptations in the viviparous ophidioid fish, *Oligopus longhursti*: a study of museum specimens. J. Morphol 147:385-401.
- Wourms JP. 1981. Viviparity: The maternal-fetal relationships in fishes. Am Zool 21:473-515.
- Wourms JP, Grove BD, Lombardi J. 1988. The maternal-embryonic relationships in viviparous fishes. En: Hoar WS, Randall DJ (editores). Fish Physiology, Vol. XI Ac. Press, New York, p:1-134.
- Wourms JP, Lombardi J. 1992. Reflections on the evolution of piscine viviparity. Am Zool 32:276-293.
- Yamamoto K, Yamazaky F. 1961. Rhythm of development in the oocyte of the goldfish *Carassius auratus*. Bull Fac Fish Hokkaido Univ XII. 2:93-100.
- Zar JH. 1996. Biostatistical analysis. 3rd ed. Prentice Hall, New Jersey.
- Zanuy S, Carrillo M. 1973. Estudio histológico del ovario de cabrilla (*Paracentris cabrilla*) L., en relación con la ovogénesis. Invest Pesquera 37(1):147-165.