

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

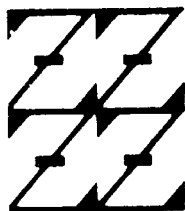
**ESTUDIO DEL POTENCIAL REPRODUCTIVO DEL
CHARAL *Chirostoma jordani* (Woolman 1894),
MEDIANTE LA EVALUACIÓN DEL LÍQUIDO SEMINAL
Y DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DEL
ESPERMATOZOIDE, EN CONDICIONES DE
CAUTIVERIO.**

**T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G O**

P R E S E N T A:

Ricardo Raúl Sánchez Rubio

**U N A M
F E S
Z A R A G O Z A**



**LO HUMANO ES
DE NUESTRA REFLEXIÓN**

Director de Tesis: Dr. Guillermo Artemio Blancas Arroyo.

México, D. F.

Septiembre 2008



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.

DEDICADA

A mis padres:

Graciela Rubio Ochoa y Raúl Sánchez Vilchiz

Quienes siempre me han brindado su apoyo y confianza, pero aun más su paciencia y amor.

LOS AMO.

AGARDECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por ser piedra fundamental de mi formación académica, a Guillermo y Cecilia, por su amistad y calidad humana ante todo. Al Dr. Guillermo A. Blancas Arroyo y la pronto Dra. Cecilia Morales por su apoyo y guía.

Al Dr. Arredondo y la Dra. Irene por permitir realizar este trabajo en las instalaciones de la Planta Experimental de Producción Acuícola de la UAM Iztapalapa.

A mis sinodales: Biol. Eloisa A. Guerra, M. en C. Ernesto Mendoza, Dr. Antonio Valencia y especialmente a el Dr. Isaías H. Salgado, por sus valiosas correcciones y sugerencias que sin duda enriquecieron este trabajo.

A mi familia y hermanos quienes no veían la hora, negro pero seguro.

A Todos, Todos, Todos mis amigos y cariñosas amigas, especialmente a la flota de Zaragoza quienes me presentaron lugares como la biblioteca y las rejas, (yo no conocía esos lugares).

GRACIAS A TODOS

Y a quienes no creyeron en mí, hicieron esto más interesante.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	3
MARCO TEÓRICO	5
a) Generalidades de la especie	5
b) Reproducción	6
c) Descripción y ubicación taxonómica de la especie	8
d) Antecedentes sobre la evaluación seminal	9
ZONA DE ESTUDIO	12
JUSTIFICACIÓN	14
OBJETIVOS	15
MATERIAL Y MÉTODO	16
a) Captura de reproductores	16
b) Ambientación y cuarentena	17
c) Ubicación taxonómica	17
d) Monitoreo de la calidad del agua	18
e) Mantenimiento de los organismos	18
f) Evaluación de líquido seminal	19
1) <u>Colecta de líquido seminal</u>	19
2) <u>Prueba de motilidad</u>	20
3) <u>Densidad espermática</u>	21
4) <u>Viabilidad</u>	21
5) <u>Cuantificación espermática</u>	21
6) <u>Morfología</u>	22
g) Análisis estadístico	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
a) Captura de reproductores	23
b) Ambientación y cuarentena	24
c) Ubicación taxonómica	26
d) Monitoreo de la calidad del agua	27
e) Fotoperiodo y temperatura	28
f) Mantenimiento de los organismos	29
g) Número de desoves	30
h) Evaluación de líquido seminal	30

1 <u>Colecta del líquido seminal</u>	30
2 <u>Motilidad</u>	32
Tiempo 1	32
Tiempo 2	34
Tiempo 3	36
Tiempo Total	37
3 <u>Densidad seminal</u>	40
Volumen del líquido seminal	40
Peso del líquido seminal	41
Densidad del líquido seminal	42
4 <u>Viabilidad</u>	44
5 <u>Cuantificación espermática</u>	45
5 <u>Morfología</u>	47
CONCLUSIONES	50
CONCLUSIONES SUGERIDAS	51
RECOMENDACIONES	52
REFERENCIAS	53

INTRODUCCIÓN

Las investigaciones en acuicultura se conciben como estrategias importantes para lograr reproducir a especies que se encuentran amenazadas y/o en peligro de extinción. El cultivo de los organismos acuáticos contempla dentro de sus principales objetivos la producción intensiva de especies de elevado valor económico y biológico, representando además una estrategia adecuada para el rescate ecológico de especies ícticas (Arredondo y Lozano, 2003) y en su caso, la posible re-introducción a su hábitat natural.

Existen tres puntos importantes en la acuicultura: la alimentación, la calidad del agua y la reproducción (Arredondo y Lozano op. cit.). Bajo este marco, las investigaciones en el campo de la biología de la reproducción en los peces, han sido elementos fundamentales para asegurar una reproducción controlada, así como la producción masiva de larvas de buena calidad durante gran parte del año y no únicamente en las épocas de reproducción.

Entre las especies amenazadas y de las cuales se carece de los conocimientos básicos para su cultivo y reproducción, se encuentran los peces del género *Chirostoma* (Blancas *et al.*, 2004), conocidos comúnmente como *charales* y *peces blancos* "silverside fish". Este género es endémico de nuestro país y está formado por 18 especies, las cuales se distribuyen en el altiplano, particularmente en la meseta central de la Republica Mexicana (Barbour, 1973 a y b). Son muy escasos los conocimientos de los procesos reproductivos en estos atherinópsidos, particularmente *Chirostoma jordani* Woolman (1894). Aunado a lo anterior, esta especie ha estado sometida a fuerte presión ambiental y ecológica, lo que consecuentemente pone en peligro su permanencia en nuestros ambientes lacustres (Paulo, 2000); en tal caso, se destaca la necesidad de realizar estudios enfocados a conocer con detalle los aspectos reproductivos para ambos sexos.

En nuestro país, los estudios en reproducción con peces machos de agua dulce incluyen evaluaciones de líquido seminal, éstos han sido enfocados principalmente a especies comerciales como las carpas y tilapias (Rodríguez *et al.*,

1991) y en lo que respecta a atherinópsidos, solo existen dos antecedentes sobre el estudio de *Chirostoma humboldtianum* (Blancas, 2002 y Blancas *et al.*, 2004).

En la presente investigación, se estudia el potencial reproductivo de *C. jordani* procedente de los canales de Xochimilco, y se detallan por primera vez las características del líquido espermático de reproductores durante un ciclo reproductivo en un periodo de ocho meses. Lo anterior, sentará las bases para diseñar estrategias en la reproducción de la especie, asegurando de esta manera su permanencia en los cuerpos de agua dulce de nuestro país. Los organismos fueron mantenidos en cultivo en la Planta Experimental de Producción Acuícola (PEXPA), de la Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa.

MARCO TEÓRICO

Las especies del género *Chirostoma* se dividen en dos grupos, los charales que son los peces de talla pequeña de aproximadamente 6 a 15 g, y el grupo de los peces blancos de mayor talla entre 200 y 300 g de peso (Sánchez, 1992). Estos peces, han representado desde tiempos prehispánicos una importante tradición como parte de la pesca artesanal para las culturas indígenas, han significado una fuente importante de alimento para las comunidades ribereñas de los lagos y lagunas donde habitan, y representan una fuente importante de ingresos económicos (Rojas-Carrillo, 2003).

a) Generalidades de la especie

El charal *C. jordani*, se distribuye de forma natural principalmente en algunas zonas de la cuenca Lerma-Santiago-Chapala y en la Cuenca del Valle de México. De Buen (1945), mostró que *C. jordani* invadió las cuencas de los ríos Lerma y Santiago, así como el lago de Chapala y el de Ocotlán (Jalisco), cerca del nacimiento del río Grande de Santiago y sobre el río Verde en Aguascalientes, Acámbaro y en Salamanca, en el río Lerma; en el lago de Cuitzeo y en el río Grande de Morelia (Michoacán), de igual forma se estableció en el río Mezquital (Durango); también arribó a la laguna de Zumpango; se asentó en la Cuenca del río Pánuco e inclusive en algunos sistemas de la cuenca del río del Balsas. En la Cuenca de México, particularmente se encontró en Chalco, Texcoco, canal de la Viga y en los lagos y canales de Xochimilco.

Las investigaciones en estos peces se han dirigido a informar aspectos sobre sistemática, biología, distribución y ecología (Álvarez del Villar y Navarro 1957, Álvarez 1970, Barbour 1973, Barriga-Sosa 2002).

Los estudios de la biología del género, han sido enfocados principalmente a las especies que alcanzan tallas grandes (peces blancos), debido a su gran demanda en el mercado nacional. Específicamente para *C. jordani* estos estudios son escasos, y entre ellos se encuentra el realizado por Navarrete (1981) en la presa Taxhimay, Estado de México, en él aborda aspectos de pesquerías, estima la longitud infinita del pez, la tasa metabólica y la época reproductiva en primavera, señala fecundidades

máximas de 1,870 huevos en hembras de 6,05 cm de longitud total y aspectos de mortalidad y sobrevivencia. Gómez y Ramírez de Arellano (1982), también en la presa Taxhimay, evaluaron el crecimiento en la población con métodos indirectos en la estimación de la edad en esta especie y reportaron, entre otros aspectos, un crecimiento isométrico y un periodo de reproducción que abarcó de mayo a agosto.

Cházaro (1989), reportó para el embalse La Trinidad Favela, ubicado en el Estado de México, que la temporada de reproducción es en primavera, además de mencionar aspectos de alimentación, hábitos alimentarios y crecimiento en tiempo. Hernández (1993), quien estudió la especie en el embalse Mácula Estado de México, informó que la época de reproducción abarca de enero a agosto en este cuerpo de agua, también menciona una talla mínima de reproducción de 28.45 mm, una tasa sexual con dominancia de los machos, y fecundidad promedio de 850 ovocitos, entre otros aspectos.

Nava *et al.* (2003), presentaron las bases biológicas para lograr el cultivo en cautiverio en un sistema de recirculación para esta especie. Olvera (2004), realizó un estudio de aspectos poblacionales de *C. jordani*, en el sistema lacustre de Xochimilco, Distrito Federal, donde analizó entre otros aspectos, la calidad del agua, y encontró una ligera dominancia de hembras en la población, además de reportar crecimiento y fecundidad (324 ovocitos maduros) en la especie.

b) Reproducción

Todas las especies del género *Chirostoma* (charales y peces blancos) son ovíparas, y las hembras presentan múltiples desoves a lo largo de la época reproductiva (Sánchez, 1992; Sasso, *et al.*, 1997). En condiciones naturales, estos peces presentan una conducta de cortejo, la cual inicia cuando las hembras y los machos llegan a zonas someras del cuerpo de agua que habitan y donde encuentran poco oleaje, buena oxigenación y vegetación sumergida que sirve como sustrato y protección para los huevos. Después de que la hembra libera los óvulos maduros, el macho deposita el semen sobre éstos (*espermiación*), el cual, al entrar en contacto con el agua se “activa” incrementando su movimiento (motilidad), para fertilizar a los óvulos. Los huevos tienen una serie de filamentos o estructuras adherentes (de 1 a 9 “Zarcillos”), los que se desarrollan al final de la ovogénesis, y que le sirven para

sujetarlos a las plantas acuáticas sumergidas (Jiménez y García, 1995; Sasso *et al.*, 1997; Paulo *et al.*, 2000; Blancas, 2002 y Blancas *et al.*, 2004).

Cházaro (1989) describió en la época de reproducción seis estadios gonadales de las hembras para esta especie y los relaciona con el Factor de Condición y la mortalidad; también calculó la fecundidad. Islas *et al.* (1995), realizaron estudios con charales de esta especie, en los cuales colectaron huevo en los canales de Xochimilco, D. F. y observaron el proceso de desarrollo embrionario, estimaron un tiempo de incubación de una semana, obtuvieron una tasa de sobrevivencia de 27% y tasas de crecimiento de 0,72 cm/mes y un peso de 0,093 g/mes. Estos autores son de los primeros en hacer investigaciones de *C. jordani* en cautiverio, y concluyen que pueden resistir una mala calidad del agua y experimentan una adaptación gradual a condiciones extremas.

Los desoves en este género ocurren durante varios meses del año, pero con variaciones de intensidad durante la época reproductiva. Lo anterior está relacionado con el clima y ubicación del cuerpo de agua en el que habitan (Blancas *et al.*, 2004). Cházaro *et al.* (1989), mencionan que *C. jordani* se reproduce en primavera verano.

Para el “charal blanco” (*C. grandocule*) por ejemplo, se observan dos épocas claramente separadas en la actividad reproductiva de esta especie. La primera representa una época intensa que abarca de enero a mayo, presentándose en marzo el valor más alto para después descender notoriamente. La segunda época (menos intensa que la primera), presenta a su vez, su valor más alto de índice gonadosomático (IG) pero variable y no concluyente puesto que reportan datos que varían desde 3.84 hasta 7.78. En la época reproductiva el IG desciende gradualmente, presentando en diciembre un nulo desarrollo de las gónadas, lo cual coincide con la menor temperatura y fotoperiodo de esa época (Sánchez, 1992).

La mayoría de los estudios sobre el ciclo reproductivo para los charales, coinciden en que éste inicia en noviembre-diciembre y finaliza de junio a agosto, con picos de marzo a junio conforme se incrementa la temperatura del agua (Jiménez y García, 1995; Paulo *et al.*, 2000), sin embargo, no existe un consenso, respecto si se presenta uno o dos picos reproductivos en la especie.

c) Descripción y ubicación taxonómica de la especie

Chirostoma jordani (Figura 1), es un pez fluvial de cuerpo alto y comprimido de 60 a 65 mm de longitud total promedio, boca oblicua, ojos grandes, espacio interorbitario translúcido, mejillas reducidas y rectangulares. Escamas pseudos-cicloideas, de borde entero, con 35 a 42 en la línea longitudinal. Dientes pequeños en ambas mandíbulas. Dorsales próximas, primera dorsal con 4 o 5 radios. La segunda dorsal 1,8 -11 radios. Aleta anal de base muy extensa con 16-20 radios. Color olivo claro con destacada mancha cerebral. La banda longitudinal de los flancos es estrecha (De Buen, 1945). *Chirostoma jordani*, estaba taxonómicamente ubicada en el Orden de los Mugiliformes, Suborden Atherinoidei y Familia Atherinidae. Sin embargo, a partir de estudios recientes en relaciones filogenéticas de Atheriniformes, Dyer y Chernoff (1996), propusieron ubicarla en el Orden Atheriniformes; Familia Atherinopsidae, Subfamilia Menidiinae y la Tribu Menidiini; el Género es *Chirostoma* y la especie *C. jordani*.



Figura 1. Ejemplares adultos de Charal *Chirostoma jordani* (Woolman, 1894)

Sistemática.

Reino:	Animalia
Subreino:	Metazoa
Phyllum:	Chordata
Subphyllum:	Vertebrata
Grupo II:	Gnathostomata
Superclase:	Pises
Clase:	Osteichthyes
Subclase:	Actinopterygii
Superorden:	Teleostei
Orden:	Atheriniformes (Rosen)
Familia:	Atherinopsidae (Fowler), antes Atherinidae (Berg, 1965)
Subfamilia:	Menidiinae (Schultz)
Tribu:	Menidiini (Schultz)
Género:	<i>Chirostoma</i> (Swainson)
Especie:	<i>Chirostoma jordani</i> (Woolman, 1894)

d) Antecedentes de evaluación seminal

Una de las primeras evidencias anatómicas de la morfología, histología y ultraestructura de los testículos en atherinópsidos, es el trabajo que realizaron Uria *et al.* (1998), con el pez blanco *Chirostoma humboldtianum*, y en donde concluyen que: El tipo de madurez gonádica es “espermatoγονial restringido”, y reportan que: “el desarrollo de las células germinales es sincrónico dentro del cisto el cual está rodeado por células de Sertoli”; finalmente encuentran que dentro del lóbulo los cistos presentan “desarrollo asincrónico”. Por último, compararon los estadios de madurez gonadal anatómico e histológico, en relación con la edad de los ejemplares y la época del año.

Cárdenas-Reygadas y Barrera-Escorcía (1998), describieron para *C. jordani* algunas características de la morfología del espermatozoide, reportando una estructura globular en la cabeza del gameto, y hacia una de las partes laterales los autores ubican las mitocondrias y el origen del flagelo, también, se describe además la ubicación y morfología general de las células de Sertoli y de Leydig en el testículo del charal *C. jordani*.

El uso de gametos de buena calidad en peces en cautiverio es de gran importancia para asegurar la producción de crías valiosas en acuicultura, y como lo menciona Rurangwa (2004), la calidad del espermatozoide es medida como la capacidad de éste para fertilizar de manera exitosa al óvulo. Sin embargo, medir la capacidad de fertilización aloja dificultades externas, no propias del espermatozoide, como puede ser la calidad de los óvulos a fertilizar, siendo esta una variable importante a considerar en pruebas de fertilización. Por lo cual se ha optado por medir esta calidad correlacionando parámetros físicos como son: el espermatozoide, la densidad espermática, la osmolaridad y el pH del plasma seminal, la composición química del plasma seminal, la actividad enzimática, la concentración de adenosintrifosfato (ATP), la motilidad, la morfología y ultra estructura, y la capacidad de fertilización, entre otras.

La motilidad es la medida mas importante de calidad del esperma (Rurangwa, 2004), por esta razón inmediatamente después de la obtención de la muestra se procedió a la activación y observación al microscopio, si bien es cierto que los espermatozoides permanecen inactivos antes de ser expulsados, existen condiciones y eventos a nivel molecular que desencadenan el movimiento del flagelo, condiciones como el choque hiposmótico, el balance iónico, pH, radicales libres, óxido nítrico, AMPC, y en algunos casos la temperatura (Tabares, 2005), que dan como resultado la motilidad del espermatozoide, la cual es uno de los mayores indicadores de la funcionalidad del espermatozoide. En ella están involucrados la activación, el flagelo, el complejo axonema y la maquinaria energética (mitocondrias) ubicadas en forma helicoidal en la pieza media, dando así el característico movimiento del espermatozoide, que es el resultado final de una compleja red de interacciones y reacciones intracelulares. La prueba de motilidad es importante ya que su vigor dependerá en gran parte del éxito de la fecundación. La valoración de la motilidad implica la estimación subjetiva del vigor de los espermatozoides, la calidad de la motilidad, así como el tiempo en el que transcurre ésta.

La motilidad del espermatozoide está dada por su correcta morfología y su viabilidad, valorar su morfología al microscopio es de vital importancia, pues en las muestras que presentan un porcentaje elevado de formas anormales, tienden a ser de baja fertilidad. Las anomalías de los espermatozoides de acuerdo con Cruca, 1969 (citado en Rodríguez, 1992), pueden ser:

Primarias

- a) Todas las anomalías de la cabeza, incluyendo células inmaduras.
- b) Dobles flagelos.
- c) Gotas de citoplasma en el flagelo y próximas a la cabeza.

Secundarias

- a) Gotas libres o distales de protoplasma en el flagelo.
- b) Flagelos curvados y doblados.
- c) Cabezas sin flagelos.

Lo antes mencionado destaca la poca información existente sobre el proceso de la espermatogénesis y del potencial reproductivo en los machos de *C. jordani*. Como ya se mencionó, el único antecedente de una evaluación de líquido seminal en este género, es el reportado por Blancas *et al.* (2004), donde se da una primera aproximación de sus propiedades en *C. humboldtianum*. En el presente estudio, se reportarán las concentraciones de espermatozoides por mililitro, consistencia del líquido seminal, tiempos de motilidad y porcentaje de viabilidad espermática, y aspectos relacionados con variables fototérmicas.

ZONA DE ESTUDIO

Hoy en día Texcoco y Xochimilco son considerados como los últimos bastiones del sistema lacustre de la Cuenca de México, por lo cual, en la actualidad existe un gran interés en estos lagos y muy particularmente en Xochimilco, pues es considerado como un símbolo de la ciudad y ha sido declarado patrimonio cultural de la humanidad por la UNESCO desde 1987. Xochimilco es además un lugar de historia y tradición, el cual está sujeto también a las condiciones por las que atraviesan las cuencas hidrológicas del país, como la insuficiencia, la sobreexplotación y la transferencia de agua de una región a otra (Pérez, 1993).

Xochimilco es una de las 16 delegaciones políticas del Distrito Federal y se localiza al sureste de la capital mexicana. El Lago pertenece a esta delegación y se localiza en los 19°09' y 19°19' de latitud norte y los 98°58' y 99°10' longitud oeste y una altitud de 2240 msnm (Figura 2), (INEGI-2000).

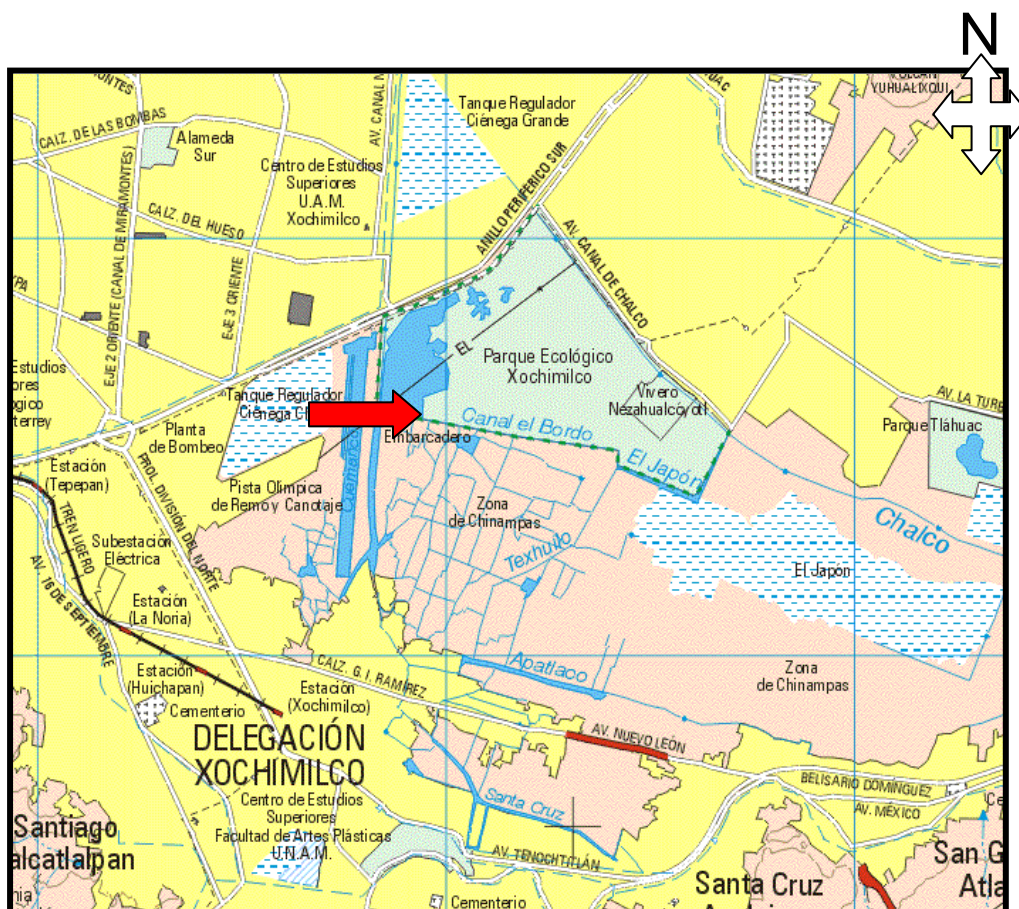


Figura 2. Zona lacustre de Xochimilco México D. F. la flecha muestra el sitio de captura (INEGI-2000).

Como consecuencia de los cambios ecológicos en el sistema lacustre de Xochimilco, éste ha perdido paulatinamente su riqueza tanto faunística como florística. La fauna de estos ambientes acuáticos, ha estado caracterizada por ajolotes, tortugas, ranas, almejas y acociles y dentro de la ictiofauna por Cyprinidos, Poecilidos y Atherinópsidos como *C. humboldtianum* y *C. jordani*. Esta diversidad se incrementa al incluir en la lista a Cíclidos, como tilapias (varias especies). Al respecto, Ávila (2000), registró las siguientes especies: *Chirostoma jordani*, *Cichlasoma sp.*, *Cyprinus carpio*, *Carassius auratus*, *Girardinichthys viviparus*, *Poecilia reticulata* y *Heterandria bimaculata*.

Los reportes de calidad del agua, aspectos físicos, químicos y bacteriológicos de los canales de Xochimilco, denotan un claro deterioro, reflejado en las concentraciones de iones (lo que tiende a formar aguas salino-sódicas) y elevados niveles de bacterias coliformes fecales, así como la presencia de organismos patógenos (Bojórquez, 1994; Olvera 2004).

JUSTIFICACIÓN

Los cambios en las condiciones lacustres de nuestro país, caracterizados por la reducción en el volumen de los cuerpos de agua naturales, el impacto ambiental que sufren por la actividad antropogénica, y la sobreexplotación del recurso acuífero; han provocado la pérdida de hábitats naturales de la fauna nativa de nuestro país. El sistema lacustre que caracterizaba la Cuenca de México, es un ejemplo de la pérdida de estos hábitats para la ictiofauna nativa. En esta cuenca hidrológica, actualmente solo quedan remanentes representados por los canales de Xochimilco, en cuyas aguas aún habita *C. jordani*. Por otro lado, la sobre pesca de esta especie y la introducción de especies exóticas, están presionando ambientalmente a esta especie nativa e incrementando las posibilidades de su desplazamiento ecológico, poniendo en peligro su permanencia en aguas nacionales.

Existen pocas investigaciones encaminadas al cultivo y reproducción de los peces del género *Chirostoma* y en especial del charal *C. jordani*. En nuestros días, aún se desconocen aspectos en los procesos reproductivos y del potencial fecundativo de estos machos. Las investigaciones encaminadas a obtener el conocimiento de la composición del líquido seminal y las propiedades del esperma de este pez, así como las características morfológicas del gameto masculino; contribuirán a sentar las bases para el control de la reproducción en cautiverio y lograr la reproducción intensiva.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Caracterizar la calidad del líquido seminal y describir la morfología del espermatozoide de *C. jordani*, bajo condiciones de cautiverio en un periodo de ocho meses.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Describir y evaluar los diferentes tipos de motilidades del espermatozoide de *C. jordani*.
2. Evaluar la densidad del líquido seminal y su relación con el número de espermatozoides por mililitro.
3. Evaluar la viabilidad del espermatozoide.
4. Describir la morfología externa del espermatozoide de *C. jordani*.
5. Analizar los cambios de la calidad de líquido espermático, caracterizada por su carga espermática, los tiempos de motilidad y el porcentaje de viabilidad de los gametos durante ocho meses, y su posible relación con las condiciones ambientales (fotoperiodo natural y temperatura del agua), propias del periodo reproductivo y de descanso sexual de la especie en la ciudad de México.

MATERIAL Y MÉTODO

El trabajo se realizó en la Planta Experimental de Producción Acuícola (PEXPA) de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, con organismos procedentes de Xochimilco. Se utilizaron estanques circulares de 5,000 litros de capacidad, los cuales contaron con un sistema individual de recirculación a un biofiltro cuya capacidad de recambio de ocho veces el volumen total en 24 horas. Al respecto, Ingle (2003), reportó la eficiencia de este sistema de circulación para la práctica de la piscicultura en algunas especies mexicanas de agua dulce.

a) Captura de los reproductores

Los organismos se obtuvieron en una sola captura en el mes de febrero en los canales del sistema lacustre de Xochimilco. Para la captura se empleó una red triangular de cuchara de 1.5 m² de superficie y con luz de malla de 1.0 cm. Con la colaboración de pescadores de la zona, fueron ubicados los sitios específicos donde se encuentran los “bancos” de estos peces que se capturaron en las orillas de los canales, se conoce que estos peces presentan los hábitos de refugiarse en zonas donde existe vegetación (Paulo, 2000). Una vez colectados, se colocaron en contenedores con 20 litros de agua limpia bien oxigenada para su revisión y selección de organismos con apariencia saludable. Los criterios de selección fueron: aquellos peces de más de 3 cm. de longitud total, sin daño aparente y sin ectoparásitos a simple vista. Posteriormente se empacaron en bolsas con 20 L con agua limpia o clara saturada de oxígeno y 5 UPS (Unidades Porcentuales de Salinidad), la salinidad tiene como objetivo reducir el estrés, según lo reportado por Blancas (2002), y de esta forma se transportaron a la PEXPA donde fueron ambientados y liberados en los estanques receptores. El tamaño de la captura fue de 350 organismos de ambos sexos, este número permitió cubrir el tamaño de muestra para la investigación que fue de 100 peces machos.

b) Ambientación y Cuarentena

Conforme a lo reportado por Blancas (2002), para la ambientación de los organismos, primero fue necesario igualar la temperatura de las bolsas de transporte con la del estanque receptor y así evitar un “shock térmico”, para ello, se colocaron las bolsas cerradas dentro del estanque por un período de 15 a 20 minutos, más tarde éstas fueron abiertas permitiendo la mezcla de agua y facilitando a los peces su liberación hacia el estanque utilizando su propio nado. Posteriormente, los organismos permanecieron bajo observación por un intervalo de 40 días antes de iniciar las evaluaciones, esto con el objetivo de supervisar su aclimatación y detectar síntomas de enfermedad o presencia de algún ectoparásito. Durante este período, se registró la tasa de sobrevivencia respectiva y se aplicaron los tratamientos comunmente recomendados para la prevención y control de enfermedades de peces (Anónimo, 1999), y en particular para estos Atherinópsidos como los baños de agua salada al 20 UPS, limpieza con azul de metileno y la extirpación de ectoparásitos, según lo recomendado por Nava *et.al.* (2003).

c) Ubicación taxonómica

Se comprobó que la población en estudio verdaderamente pertenece a la especie *C. jordani*, como lo indican los antecedentes consultados (véase marco teórico). Para lo cual, se procedió a realizar una diagnosis de 30 peces, basado en el análisis de algunas medidas merísticas y biométricas; empleando las claves genéricas respectivas. Lo anterior se realizó mientras los peces en estudio se encontraban en cuarentena.

Las medidas merísticas fueron:

- a) Número de escamas de la línea lateral
- b) Número de branquiespinas
- c) Longitud del Hocico
- d) Longitud del pedúnculo caudal
- e) Longitud de la base de la aleta anal
- f) Altura de la 2ª Dorsal
- g) Longitud patrón y total

Estos parámetros se compararon con los obtenidos por Barriga-Sosa (2002), y se corroboró que la especie de charal corresponda a *Chirostoma jordani* (Woolman 1894).

d) Monitoreo de la calidad del agua

Uno de los principales problemas que presentan los sistemas cerrados de recirculación, es la eliminación constante de metabolitos tóxicos (Ingle *et. al.* 2003), por lo cual durante el estudio y con el objetivo de mantener a los organismos en las mejores condiciones de cultivo, se evaluaron frecuentemente la calidad del agua, asegurando que ésta se mantuviera dentro de lo que recomendó Blancas (2002) (temperatura de 20 a 22 C°, pH de 8.4 a 8.7 y salinidad 10 UPS), quien trabajó en este sistema con organismos del mismo género. Los parámetros evaluados fueron: la temperatura del agua (°C), el oxígeno disuelto (mg/L), el pH, la dureza y la alcalinidad total expresada como mg/L de (CaCO₃), el amoníaco (NH₃ mg/L), los nitritos (NO₂⁻ mg/L) y la salinidad en Unidades Porcentuales de Salinidad (UPS) ó (%). El seguimiento diario consistió en la medición del oxígeno disuelto y la temperatura del agua del estanque con un oxímetro digital marca YSI con termómetro integrado (modelo 55). Además se llevó un registro de la cantidad de horas luz (hL) a las que estuvieron expuestos los organismos (página web CAN Servicio Meteorológico Nacional smn.cna.gob.mx). Una vez a la semana, se tomó el pH con un potenciómetro (Beckman 50) y la dureza, la alcalinidad total, NH₃⁻, NO₂⁻ y NH₄⁺ con un equipo portátil de multi-parámetros HACH (modelo 2000/DR).

e) Mantenimiento de los organismos

Los organismos fueron alimentados 2 veces por día a saciedad (Blancas *et al.*, 2004). El alimento vivo consistió en “artemias” (*Artemia* sp.) y “pulgas de agua” (*Daphnia pulex*, *D. magna* y *Moina* sp.). También se incluyó en la dieta de los organismos el alimento peletizado, a base de alimento para tilapias (Chao Purina con 45% de proteína), se observó su aceptación por los organismos como lo cita Sasso y colaboradores (1997) para peces del mismo género.

La limpieza se realizó diariamente por la mañana y la tarde, extrayendo por succión (Sifón) el exceso de alimento no consumido y los desechos de los organismos, de igual forma se retiraron los peces muertos según el caso. Finalmente, cada semana se efectuó un recambio del 25% del volumen de agua por agua limpia, sin cloro y bien oxigenada conforme lo recomendado por Nava *et al.*, (2003).

f) Evaluación de líquido seminal

Las evaluaciones se realizaron mensualmente de abril a noviembre para abarcar meses tanto de la época de actividad como de descanso reproductivo y se registraron los eventos de desove. El número programado fue de 10 peces como mínimo por mes.

1) Colecta del líquido seminal. Para la obtención del esperma, los peces se anestesiaron con benzocaina al 1.6% (Blancas *et al.*, 2004). Posteriormente se tomaron las medidas biométricas de longitud total (lt) y longitud estándar o patrón (lp) con un vernier (1mm de precisión). El peso total (pt) se registró con una balanza granataria digital OHAUS (modelo GT 4800) con una precisión de 0.01g. Posteriormente, se determinó el sexo del organismo presionando lateralmente el abdomen desde la base de los opérculos hacia el poro genital, para observar el tipo de productos sexuales arrojados, de esta manera se identificó el sexo del organismo como: macho si hay presencia de esperma (líquido blanquecino), hembra al obtener ovocitos o notar la característica coloración negra de las gónadas (estos peces presentan cierta transparencia en su cuerpo), y finalmente se clasificó como "Indeterminado" cuando no se obtenía ningún producto sexual.

La colecta del líquido seminal se realizó con una micropipeta electrónica digital de 10 µl. marca Rainin. Las puntillas se pesaron previamente en una balanza analítica marca OHAUS (modelo APII05, NJ) para posteriormente marcar con un plumón indeleble el nivel de la muestra en la puntilla. La colecta de líquido seminal terminó cuando con la presión el flujo es nulo.

2) Prueba de motilidad.

En *C. jordani* debido a la complejidad en la obtención de la muestra, se adaptó la técnica, tanto en la toma de esperma como en la activación de ésta. La motilidad del espermatozoide está dada por su correcta morfología y su viabilidad (Rodríguez, 1992) esta prueba es importante ya que su vigor dependerá en gran parte del éxito de la fecundación. La valoración de la motilidad implica la estimación subjetiva del vigor de los espermatozoides, la calidad de la motilidad, así como el tiempo en el que transcurre ésta. Para evaluar la motilidad, se colocó una "microgota" en un portaobjetos escavado, posteriormente se agregó una gota de solución fertilizante (3g Urea + 4g NaCl en 1000 ml de agua destilada (d_dH_2O)) y se observó en el microscopio. Con un cronómetro se tomó el tiempo en el cual se distinguen las diferentes fases de movimiento del espermatozoide. Los criterios establecidos para definir los tiempos de motilidad se basaron en el porcentaje de espermatozoides vivos, y en la uniformidad del movimiento en la mayoría de éstos (Rodríguez, 1992). Las características de cada tipo de movimiento son las siguientes:

Tiempo 1: Del 90 al 100% de los espermatozoides con movimiento muy activo, no se aprecia definitivamente la cabeza del espermatozoide y presenta movimientos circulares. Si esta muy diluida la muestra el espermatozoide sale del campo visual.

Tiempo 2: Del 80 al 50% de los espermatozoides vivos con una clara disminución en la motilidad, permitiendo apreciar el contorno de la cabeza del espermatozoide, el movimiento de traslación ya no es circular si no ligeramente hacia adelante, también se aprecia claramente el movimiento del flagelo.

Tiempo 3: El 30% de los espermatozoides vivos. En este punto la motilidad es muy baja, la cabeza del espermatozoide únicamente se mece desapareciendo por completo el movimiento de traslación.

Tiempo 4: Este tiempo es únicamente de referencia y termina cuando del 90 al 100% de los espermatozoides ha dejado de moverse.

3) Densidad espermática. Para evaluar la densidad, fue necesario conocer el volumen y el peso de la muestra, lo cual se obtiene prepesando las puntillas y restando el peso con muestra en la balanza analítica, y el volumen con la pipeta electrónica digital.

La densidad se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$D = W/V$$

Donde:

D = Densidad

W =Peso del semen (g)

V = Volumen del semen (ml)

4) Viabilidad. Para determinar el número de espermatozoides vivos y muertos se aplicó la técnica de Bloom tomada de Lynch *et. al.* (1972) (citado en Rodríguez, 1992), con las siguientes modificaciones a la solución: En un portaobjetos se colocó una microgota de semen y se mezcló con otra microgota de la solución de eosina-nigrosina (1.45 g de Citrato de Sodio + 0.835 g de Eosina azulosa + 5 g de Nigrosina y 50 ml de d_dH_2O). Se elaboró un *frotis* delgado, y una vez seco se montó con resina (Merk); los espermatozoides muertos se tiñeron de color rojo o rosa y los vivos no, se cuantificó con un contador manual de rotación y se calculó el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos.

5) Cuantificación espermática. El conteo del número de espermatozoides por ml se realizó con la cámara de Neubauer, empleando la técnica de Coffin (1986) (citado en Rodríguez, 1992). El método consistió en cargar la pipeta de glóbulos rojos hasta la marca de 0.1 con la muestra, con solución diluyente se diluye hasta la marca de 101 y se agitó durante 1 minuto para homogenizar. Posteriormente se cargó la cámara de Neubauer por capilaridad. Se dejó reposar durante 15 minutos y se observó en el microscopio. En el microscopio se seleccionaron cinco cuadros al azar, contando el número de espermatozoides que contiene cada cuadro. Cuando el número obtenido en los cinco cuadros fue similar se procedió a sacar el promedio del conteo, este número se multiplicó por 5×10^7 para obtener dadas las diluciones el número de espermatozoides por mililitro.

6) Morfología. La descripción de la morfología se realizó mediante la técnica de Coffin 1986 (citado en Rodríguez, 1992), se montó una preparación con una gota de semen diluido, agregándole cloramina al 1%, y posteriormente se lavó con alcohol al 95% y tiñendo más tarde con fucsina fenólica para observar en el microscopio. Las cabezas se tiñeron de color púrpura, las colas y porciones intermedias en rosa o rojo. Las imágenes de los gametos se digitalizaron con una cámara adaptada al microscopio Olympus CX31 (Olympus, Corporate Center Drive, Melville, NY), las mediciones se realizaron con una reglilla marca Olympus Tokio 0.01 mm graduada, para posteriormente realizar su descripción morfológica.

g) Análisis estadístico.

A los valores obtenidos se les aplicó un análisis exploratorio de datos, en el cual se elaboraron diagramas de cajas y bigotes para observar el comportamiento de cada parámetro. Para observar si había diferencia significativa entre los meses, se realizó una ANDEVA de una vía, y para corroborar la homoscedasticidad se utilizaron las pruebas de Bartlett y Levene donde:

Si p de Bartlett $< \alpha$ se aplica Levene

Si p de Levene $< \alpha$ se aplica In se realiza ANDEVA y Bonferroni si H_0 se rechaza

Si p de Levene $> \alpha$ se realiza ANDEVA y si H_0 se rechaza se aplica Bonferroni

Estas pruebas se realizaron con el software Stata 9.1

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

a) Captura de los reproductores

Se capturaron 350 organismos de ambos sexos de la especie *C. jordani*, en el lago de Xochimilco el 23 de febrero del 2005, al respecto diversos autores mencionan que la temporada en la que esta especie se reproduce coincide con la primavera teniendo una disminución en el verano (Olvera, Blanco 2004). Obteniendo de esta forma organismos al principio de la época reproductiva (febrero).

El traslado duró aproximadamente 45 minutos, en el cuadro 1 se muestran algunos de los parámetros físicos y químicos del agua que prevalecieron durante su recorrido.

Cuadro 1. Condiciones de traslado.

Parámetro	Condiciones
Tiempo	45 min.
Temperatura del agua	18 °C
Salinidad UPS*	10
Oxígeno disuelto	7.8 mg/L
pH	7.5
Tipo de envase	Bolsa plástica
Capacidad de carga	1 Org./ 800ml
Sobrevivencia	86.71%

* Unidades porcentuales de salinidad

Los resultados de la sobrevivencia al transporte fueron satisfactorios con un 86.71% de organismos vivos. De esta forma se corroboró la eficiencia de la técnica descrita por Blancas (2002) para el transporte de organismos del mismo género.

a) Ambientación y cuarentena

Las condiciones de cautiverio alteran el ciclo reproductivo; de hecho, numerosas especies no se reproducen durante el primer año en cautiverio y otras no lo hacen nunca (Matsuyama et. al, 1991), la ambientación y aclimatación de los organismos a los estanques de la PExPA fue crucial para lograr su adaptación a su nuevo ambiente (Figura 3).



Figura 3. Liberación de los organismos en los estanques de cuarentena de la PExPA.

Los organismos permanecieron en un periodo de cuarentena y observación del 23 de febrero al 01 de abril del 2005, periodo durante el cual se monitorearon diariamente algunos parámetros físicos y químicos del agua (cuadro 2).

Cuadro 2. Parámetros físico químicos durante el periodo de cuarentena.

Parámetros	Valores Promedio	Desv. Est.
Temperatura	18.2°C	1.108
Oxígeno disuelto	6.67 mg/L	0.420
Horas Luz	12:01 h	0:8
Salinidad	10 UPS	0
pH	7.9	0.57

Durante la cuarentena además de llevar el registro de organismos muertos y enfermos, también se tomó nota del número de desoves y tamaño de puesta (cuadro 3). Se observó una pequeña actividad reproductiva en este periodo como resultado del estrés, pues es sabido que bajo condiciones extremas algunos organismos pueden liberar una pequeña carga de gametos (Arroyo et al, 1998).

Cabe mencionar, que en este periodo de cuarentena se incluyó alimento peletizado logrando su aceptación e inclusión en la dieta normal, de esta manera se alternó con alimento vivo, (ver mantenimiento de organismos Pág. 19).

Cuadro 3. Número de organismos muertos, enfermos y número de huevos durante el periodo de cuarentena.

Parámetro	n
Desoves	2
Huevos	15
Organismos enfermos	6
Organismos muertos	97

La incidencia de organismos enfermos fue escasa, sin embargo se presentaron sintomatologías principalmente del tipo micótico, como es la saprolegniasis, en estos casos los peces eran apartados del resto y tratados con una solución de formol 0.12%. También se encontraron algunos ectoparásitos en los organismos, principalmente lerneas (*L. elegans*) y algunos casos aislados de eustrongilidiasis ocasionada por la larva de *Eustrongylides* (Anónimo, 1999).

La adaptación de los organismos al sistema durante este periodo fue gradual como se puede observar en la curva de sobrevivencia (Figura 4). En los primeros 5 días se presentó el mayor número de muertes, estabilizándose la población a partir del día 10, a diferencia de de otras especies de género como es el caso de *C. humboldtianum*, donde se informa que es necesario un periodo 60 días para su adaptación a las condiciones de cautiverio (Blancas, 2002), lo que pone en claro la gran adaptabilidad de los charales, apoyando la tesis de sobrevivencia en los canales de Xochimilco en donde las condiciones son adversas.

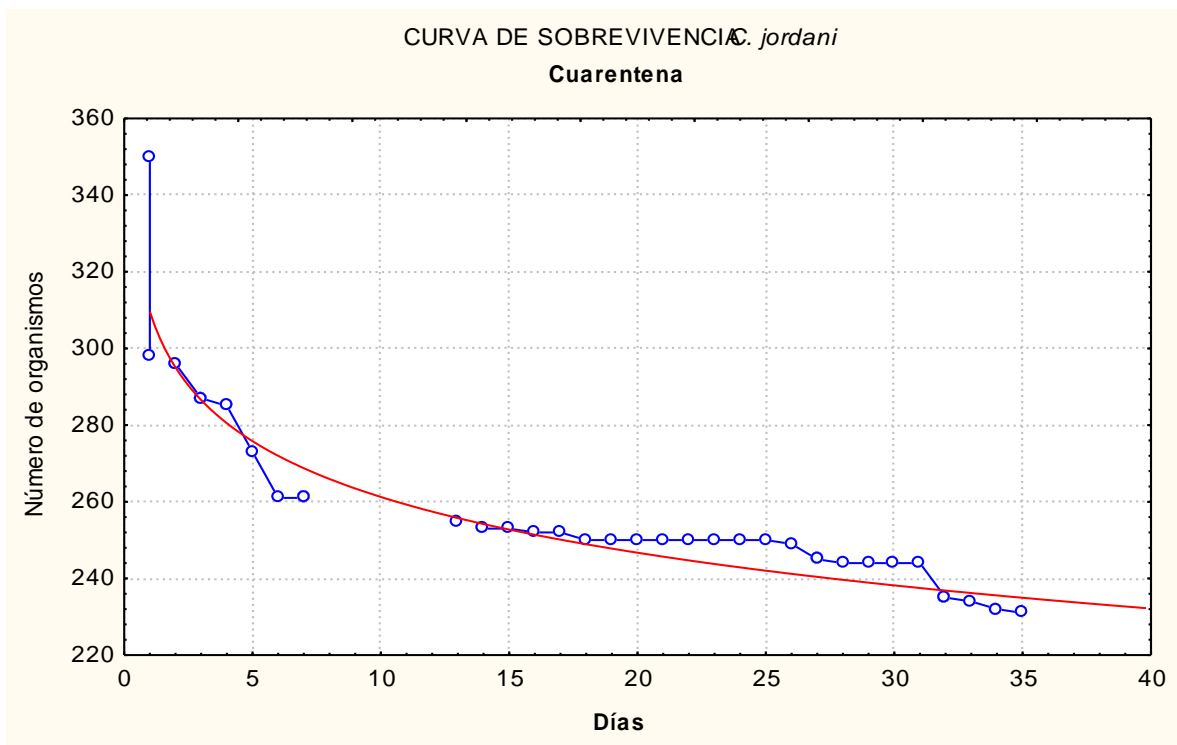


Figura 4. Curva de sobrevivencia durante el periodo de cuarentena.

c) Ubicación taxonómica

Con el objetivo de verificar que la especie en estudio correspondía a *C. jordani*, se compararon los resultados de algunas medidas merísticas y biométricas apoyados en el trabajo realizado por Barriga – Sosa (2002), en donde se realiza una diagnosis completa del género *Chirostoma*. Se tomaron 30 organismos que habían muerto, obteniendo así los siguientes resultados (cuadro 4).

Cuadro 4. Comparación de caracteres biométricos y merísticos.

CARACTERES	1 (n=39)	2 (n=2708)	3 (n=30)
Escamas serie longitudinal	34-41	36-48	34-48
Branquiespinas	20-18	22-14	20-16
Longitud Hocico (mm)	9.52-5.6	9.8-4.8	10.3-3.4
Longitud Pedúnculo caudal (mm)	26.9-18.2	26.2-18.2	23.8-14.9
Altura 2da dorsal (mm)	19.6-14.3	22.2-13.4	18.6-12.06
Longitud base aleta anal (mm)	22-13.3	32.4-18	20.29-13.5

N = tamaño de muestra 1= Barriga-Sosa(2002), 2= Barbur (1973) y 3= presente trabajo.

Como se puede observar en el cuadro 4, los valores de la columna 3 que corresponden al presente trabajo, caen dentro de los parámetros establecidos por los trabajos anteriores, por lo tanto se atribuye que la especie con la que se trabajó es *C. jordani*, además de apoyarnos en reportes anteriores en los cuales se señala que la única especie del género *Chirostoma* que habita los canales de Xochimilco es *C. jordani* (Olvera, 2004).

d) Monitoreo de la calidad del agua

Los resultados del análisis de calidad del agua registrados durante el periodo experimental en la PExPA se presentan en el cuadro 5. Es importante mencionar que en general, los valores no variaron significativamente a lo largo del año, por lo que solo se reportan datos en forma de intervalo para cada parámetro y de esta forma contrastarlo con los valores reportados por Limón y Lind (1989), quienes informan los valores considerados como intervalos óptimos para otras especies del género *Chirostoma*, que habitan en el lago de Chapala, Jalisco y Michoacán.

Cuadro 5. Parámetros físico químicos óptimos y obtenidos durante el cultivo en la PExPA.

Parámetros	Intervalo Óptimo (Limón y Lind 1989)	Intervalo PExPA
Temperatura (°C)	20-22	17-21.6
Oxígeno Disuelto (mg/L)	7	5.77-7.06
pH	8.4-8.7	7.9-8.5
Salinidad (UPS)	10	10
NAT* (mg/L)	0.001	0.001
NO ₂ ⁻ (mg/L)	0.40	0.20
NO ₃ ⁻ (mg/L)	0.20-0.40	0.10

NAT: Nitrógeno amoniacal total.

e) Fotoperíodo y temperatura

De la misma manera se llevó un registro de las condiciones de fotoperíodo (Figura 5) obtenido del sistema meteorológico nacional (Pag. web CNA) y temperatura del agua durante el periodo experimental (Figura 6).

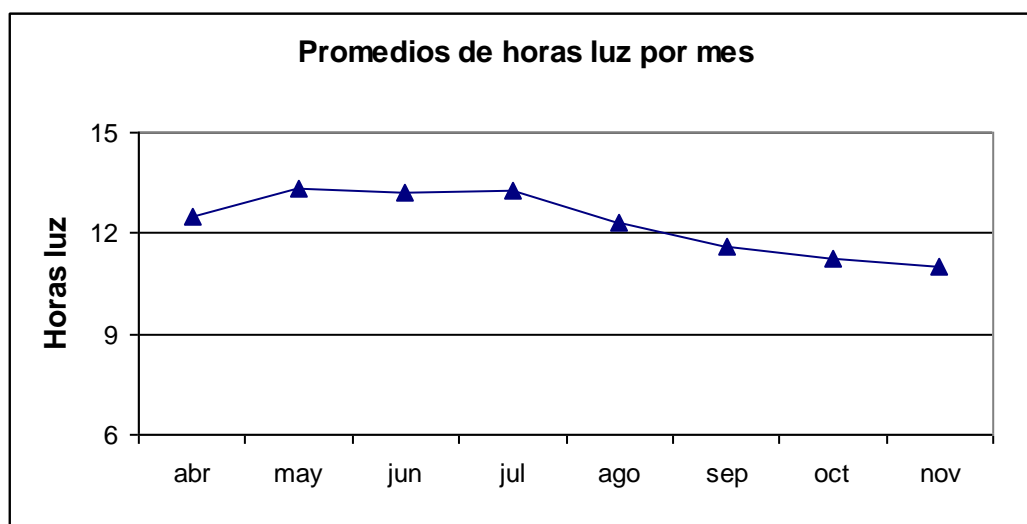


Figura 5. Variación de las horas luz a lo largo del periodo experimental.

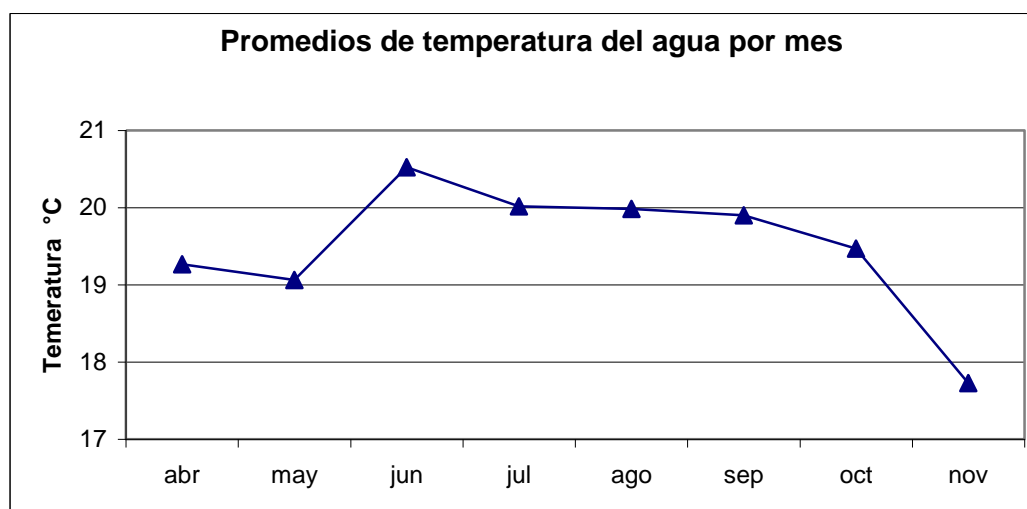


Figura 6. Variación de la temperatura del agua a lo largo del periodo experimental.

Como se puede observar en las gráficas, es en el periodo de abril a julio en los cuales se registran los días con más horas luz, disminuyendo paulatinamente hasta noviembre. Por otra parte, en este mismo lapso se puede observar que la temperatura presenta una fluctuación importante, incrementándose de mayo a junio, ambas variaciones coinciden con la época reproductiva encontradas en esta especie (Olvera Blanco, 2004), lo cual se discutirá mas adelante.

f) Mantenimiento de los organismos

Conforme a lo reportado por Blancas – Arroyo (2003), los organismos se alimentaron a saciedad, con una dieta específica de alimento comercial, su aceptación al alimento vivo (cladóceros (*Daphnia pules*, *D. magna* y *Monia spp.*), artemia (*Artemia franciscana*) e inerte o pelet (iniciarina Chow Purina 45% proteína) fue buena, lo que permitió combinarlos como se muestra en la figura 7. Corroborando lo descrito por Hernández (1991), quien señala que este organismo es un oportunista. Además en ciertas ocasiones en función de la disponibilidad, se complementó la dieta con larvas de peces de la familia Cichlidae (*Oreochromis niloticus*).

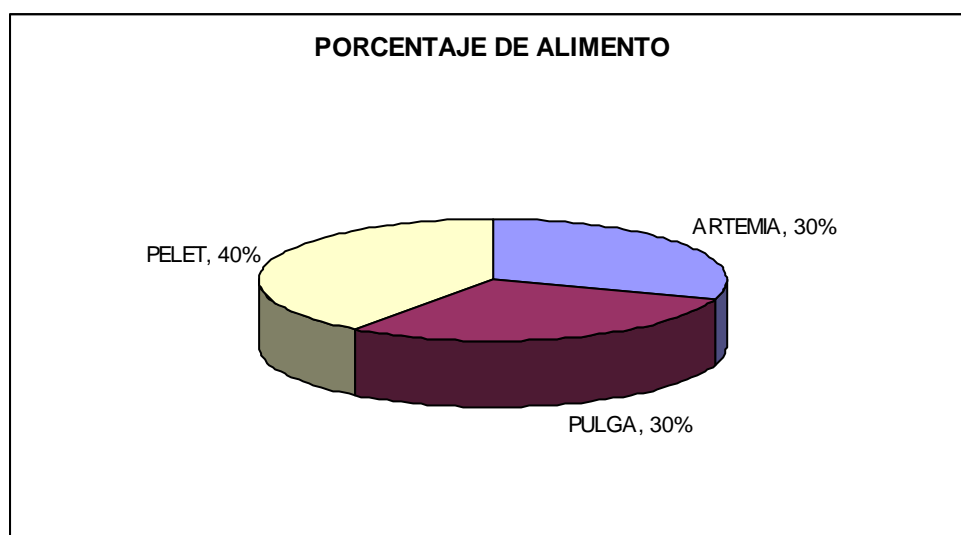


Figura 7. Porcentaje de alimento proporcionado.

g) Número de desoves

El número de desoves que se registró durante el estudio fue de 13, de los cuales se obtuvieron 949 huevos, se puede observar que es en el mes de julio en el cual se presenta el mayor número de huevos, teniendo un intervalo importante que va de junio a agosto (Figura 8).

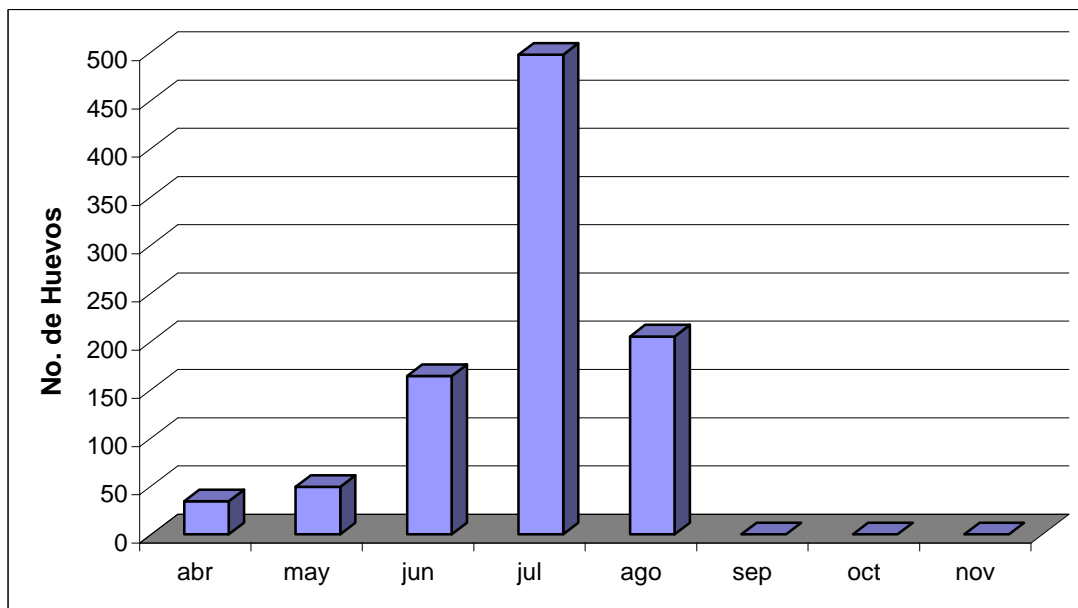


Figura 8. Número de huevos durante el periodo de estudio.

f) Evaluación de líquido seminal

1) Colecta de líquido seminal

La muestra poblacional utilizada en el estudio fue de 98 organismos machos, los que presentaban las siguientes características morfológicas mostradas en el siguiente cuadro.

Cuadro 6. Características morfométricas de la población.

Parámetro	Promedio	Media	Desv. Est.
Longitud Total (LT)	5.99 (cm)	6	0.44
Longitud Estándar (LS)	5.06 (cm)	5.04	0.36
Peso (w)	1.63 (g)	1.41	0.29

El muestreo se realizó a lo largo de ocho meses abril – noviembre (Figura 9). El total de organismos muestreados por mes, así como el número de organismos con y sin muestra de líquido seminal, se observan en la figura 9.

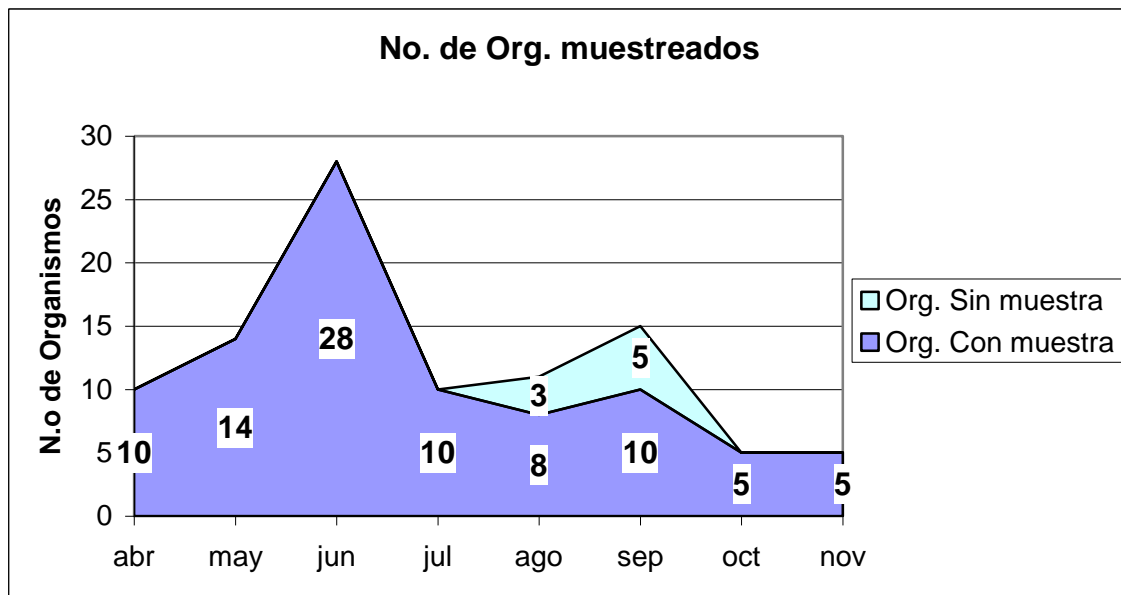


Figura. 9. Número de organismos muestreados por mes.

Durante el estudio se obtuvo muestra de los organismos evaluados, los cuales contaron con la madurez sexual apropiada para la toma de muestra. Cabe mencionar que solo en los meses de agosto y septiembre se encontraron organismos sin muestra (muy escasa), lo que corrobora la disminución de la actividad reproductiva para esta época del año (Olvera, Blanco 2004), es por esto que en los meses de septiembre, octubre y noviembre, al no tener peces maduros solo se cuenta con pocos ejemplares evaluados.

De esta manera fue posible hacer un seguimiento de la condición reproductiva de los machos durante este periodo. Cabe señalar que debido a la pequeña cantidad de muestra obtenida de estos organismos, se ponderó hacia algunas pruebas como motilidad, densidad y número de espermatozoides, ya que con estos resultados se describe claramente las condiciones en las que se encuentra el esperma.

2) Prueba de motilidad. En *C. jordani* fue posible caracterizar la motilidad del espermatozoide; debido a su duración se lograron describir cuatro tiempos espermáticos, tomando en cuenta factores como la intensidad del movimiento reflejada en las ondulaciones del flagelo y la cabeza, el tipo de traslación y el porcentaje de espermatozoides en el mismo estadio.

Al microscopio fue posible observar un movimiento errático principalmente circular y en las muestras diluidas un claro movimiento de traslación. Con base a estas características se pudieron definir los criterios para caracterizar el tiempo No.1 de motilidad espermática, que es el siguiente:

Tiempo No. 1

Tiempo 1: Del 90 al 100% de los espermatozoides con movimiento muy activo, no se aprecia definitivamente la cabeza del espermatozoide, presentan movimientos circulares. Si está muy diluida la muestra el espermatozoide sale del campo visual, el tiempo de motilidad No. 1 para *C. jordani* va de los 26 segundos (0.43 min.), hasta los 521 segundos (8.68 min.).

Estadísticamente entre los meses de abril a noviembre, se encontró en el tiempo No. 1 una diferencia con un valor de $p= 0.051$, la tendencia es mayor en los meses de mayo, junio y julio, y una total ausencia de este tiempo en el mes de agosto (Figura 10).

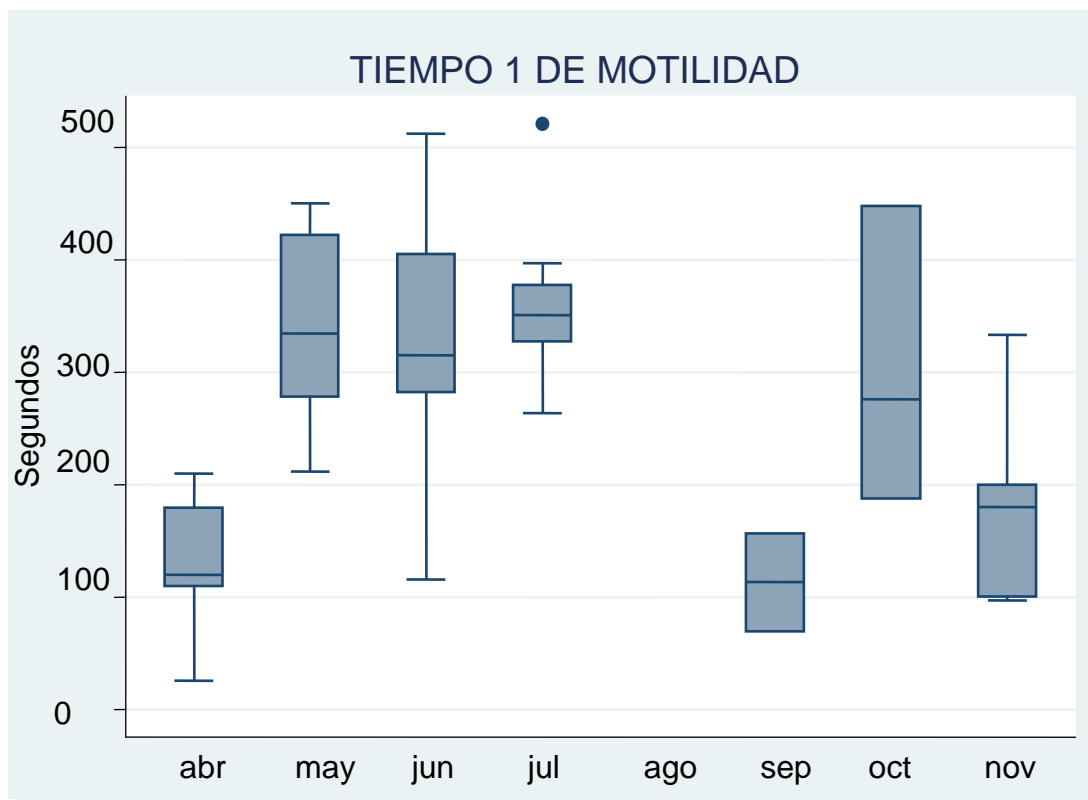


Figura 10. Diagrama de caja del tiempo de motilidad espermática No. 1

La significancia indica que el tiempo de motilidad cambia a lo largo del periodo de muestreo, se observó que no solo los meses de mayo, junio y julio se encontraron los tiempos mas largos de motilidad, sino también es en este lapso en donde se encontraron valores extremos como se observa en los bigotes de las cajas. La uniformidad a lo largo de estos tres meses nos revela un periodo determinado en el cual el potencial reproductivo alcanza un clímax, y estadísticamente los podemos catalogar como un grupo con semejanzas entre si, sin embargo se observa que en el mes de octubre y noviembre se incrementan estos tiempos. De acuerdo con (Rurangwa, 2004), el tiempo No.1 es el más importante por su intensidad que se refleja en una alta capacidad de desplazamiento, elevando la posibilidad de fertilización.

Es sabido que los vertebrados responden a los estímulos del medio ambiente, estos estímulos se reciben a través de los órganos de los sentidos. La información llega al sistema nervioso central a través de la médula espinal, y es en el cerebro donde se integra y se da una respuesta específica al estímulo que se recibió (Langler, 1977). Se compararon los resultados obtenidos en la motilidad, en donde se puede

observar que en el lapso de mayo a julio se incrementa la exposición de luz, es decir los días son más largos, ya que los organismos están expuestos a 13:26 horas luz en promedio; esto coincide con los valores mas largos de motilidad de tiempo No.1 (véase Figura 5). La temperatura por su parte, en el mes de mayo presentó un incremento de 19 °C a 20.5 °C (Figura 6); esta fluctuación se da dentro de los tres meses de mayor tiempo de motilidad al igual que el fotoperiodo. En comparación con pez Blanco los mayores tiempos de motilidad se registraron en condiciones por arriba de los 19 °C y 12 horas luz (Blancas 2002), similares a las obtenidas en este trabajo, por lo cual podemos sugerir que tanto *C. humboldtianum*, como *C. jordani* se comportan de manera similar en este periodo.

Si bien como se muestra en la gráfica se puede observar que a partir del mes de agosto decae drásticamente el volumen de semen, los valores altos de motilidad tan solo de tiempo 1 llegan en este periodo hasta los 400 segundos por arriba de otras especies, confiriéndole así una ventaja adicional (Rurangwa, 2004).

La ausencia de tiempo 1 en el mes de agosto, nos puede indicar que los organismos han pasado por un intenso periodo reproductivo, las muestras de esperma encontradas no cumplían con las características descritas para el tiempo No. 1, sin embargo sí se registran muestras con espermatozoides en diferentes tiempos de motilidad.

Tiempo No. 2

El tiempo 2 para *C. jordani* va de los 43 segundos (0.71 min.) hasta los 903 segundos (15.05 min.), caracterizado por un 50 a 80% de espermatozoides vivos, con una clara disminución en la motilidad, lo que permitió apreciar el contorno de la cabeza del espermatozoide. El movimiento de traslación ya no es circular sino ligeramente hacia adelante, también se aprecia claramente el movimiento del flagelo, esto sin duda debido al déficit energético a nivel mitocondrial, si sabemos que la activación del movimiento del flagelo conlleva una cascada de eventos moleculares encaminados al ensamble de complejos enzimáticos responsables de la regulación de la dineína y la producción del ATP, que es a su vez el responsable de proveer la energía requerida para el deslizamiento entre los brazos y microtúbulos que conforman el flagelo

(Olivera, 2006), el cambio del movimiento intenso característico de la activación (tiempo No. 1) es debido al desgaste energético. A pesar de esta drástica disminución en el movimiento, el espermatozoide aún cuenta con la energía necesaria para que el bateo de la cola proporcione la fuerza suficiente para generar un movimiento de traslación, elevando la posibilidad de fecundar el huevo.

El análisis estadístico no muestra diferencia significativa en este lapso ($p=0.257$), sin embargo podemos observar que los meses de abril y noviembre que corresponden a los extremos se registraron los menores tiempos de motilidad, que corresponden al inicio y fin de la época reproductiva, también observamos una cierta uniformidad en el periodo de mayo a junio, en donde se encuentran valores extremos Figura 11.

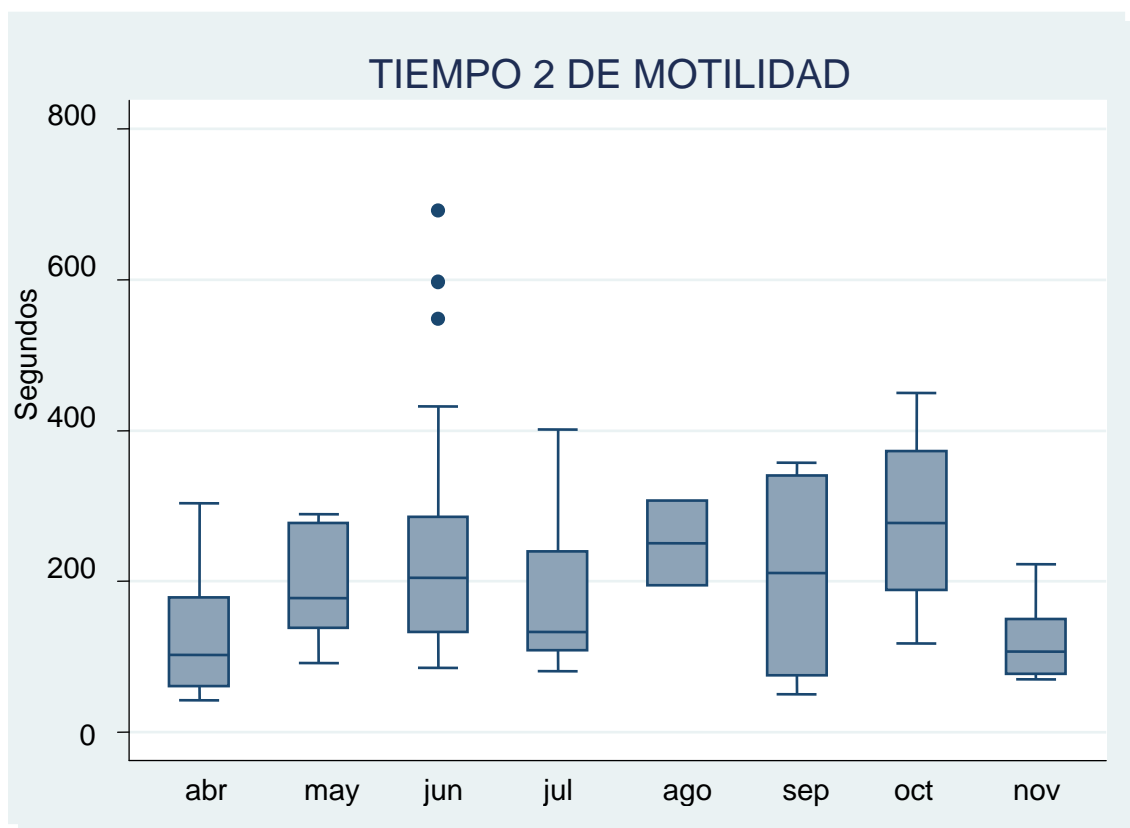


Figura 11. Diagrama de caja del tiempo de motilidad No. 2

Si bien el tiempo 1 es el más importante por la explosión en el movimiento que provoca un desplazamiento rápido del espermatozoide, la duración y calidad de movimiento en el estadio 2 le confiere una importancia relevante. Como valor máximo de duración en el tiempo 1 tenemos 521 segundos (8.68 min.), sin embargo en el tiempo 2 llegamos a encontrar el valor más largo de todos los tiempos observados con 903 segundos (15.05 min.), lo que eleva el potencial de fertilización, si bien es sabido que una de las estrategias de algunas especies es alargar el tiempo¹, también la duración de los movimientos subsecuentes, como también el tamaño del flagelo son estrategias que sin duda confieren éxito a la fecundación (Burness, *et. al.* 2004).

Tiempo No.3

En el tiempo No. 3 cesa por completo el movimiento de traslación, se observa únicamente un ligero balanceo en la cabeza del espermatozoide. El “bateo” en el flagelo es tan ligero que no alcanza a producir la ondulación característica que proporciona el movimiento de traslación. Debido a las propiedades de este movimiento, podemos sugerir que en este punto las capacidades de fertilización se ven atenuadas.

En este tiempo el 30% de los espermatozoides vivos, la motilidad es muy baja, la cabeza del espermatozoide únicamente se mece y desaparece por completo el movimiento de traslación.

La gráfica muestra cierta uniformidad en los meses de mayo a julio, en donde podemos encontrar nuevamente la presencia de valores extremos, por lo cual los datos se transformaron a logaritmo natural (Figura 12), donde se encontró grupos significativamente diferentes ($p= 0.035$). Una vez más se puede apreciar un valor bajo al inicio en abril, y en noviembre al final del experimento. El tiempo No. 3 fluctuó entre los 26 segundos y los 826 segundos (13.7 min).

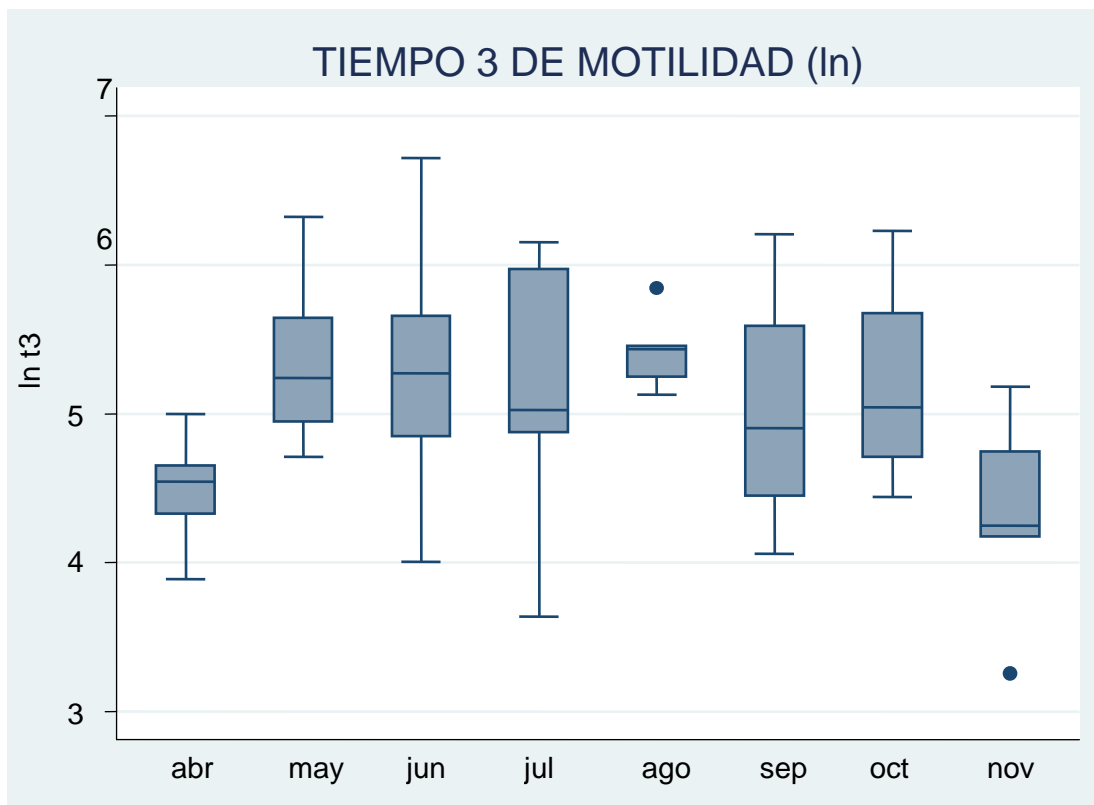


Figura 12. Diagrama de caja del logaritmo natural (ln) del tiempo de motilidad No. 3

Tiempo total

El tiempo de motilidad total se tomó como referencia para establecer el periodo en el cual, la muestra permanecía con algún signo de movimiento, en este tiempo el 90% de la muestra aproximadamente había perdido el movimiento. El tiempo de motilidad total para *C. jordani* va de los 33 segundos (0.55 min.), hasta los 1231 segundos (20.52 min.) que puede durar un espermatozoide después de haber sido activado. El movimiento del espermatozoide está directamente relacionado con las reservas energéticas de éste, si se conoce que los tiempos 1 y 2 son aquéllos en los que el espermatozoide tiene la energía necesaria para que el flagelo proporcione la fuerza suficiente para lograr un impulso, una estimación del tiempo total de un espermatozoide que permanece en movimiento, puede sugerir el potencial energético del gameto. Si bien es cierto que estas estimaciones son subjetivas tanto por el criterio del observador, así como la naturaleza de los eventos responsables de la activación que no pueden ser identificados a simple vista, esta estimación del tiempo total puede vislumbrar las cualidades energéticas del espermatozoide de esta especie.

En el análisis estadístico se obtuvo un valor de $p= 0.0613$ lo que nos indica que no existe diferencia significativa, a pesar de observarse el mismo patrón de distribución de las cajas. Al realizar el análisis con el ln del tiempo total, solo se pudo encontrar una relación entre los mayores tiempos (mayo y octubre que corresponden a los dos picos reproductivos) y los menores abril y noviembre que marcan el inicio y al fin de este periodo (Figura 13).

Tiempo total: Este tiempo es únicamente de referencia y termina cuando del 90 al 100% de los espermatozoides han dejado de moverse.

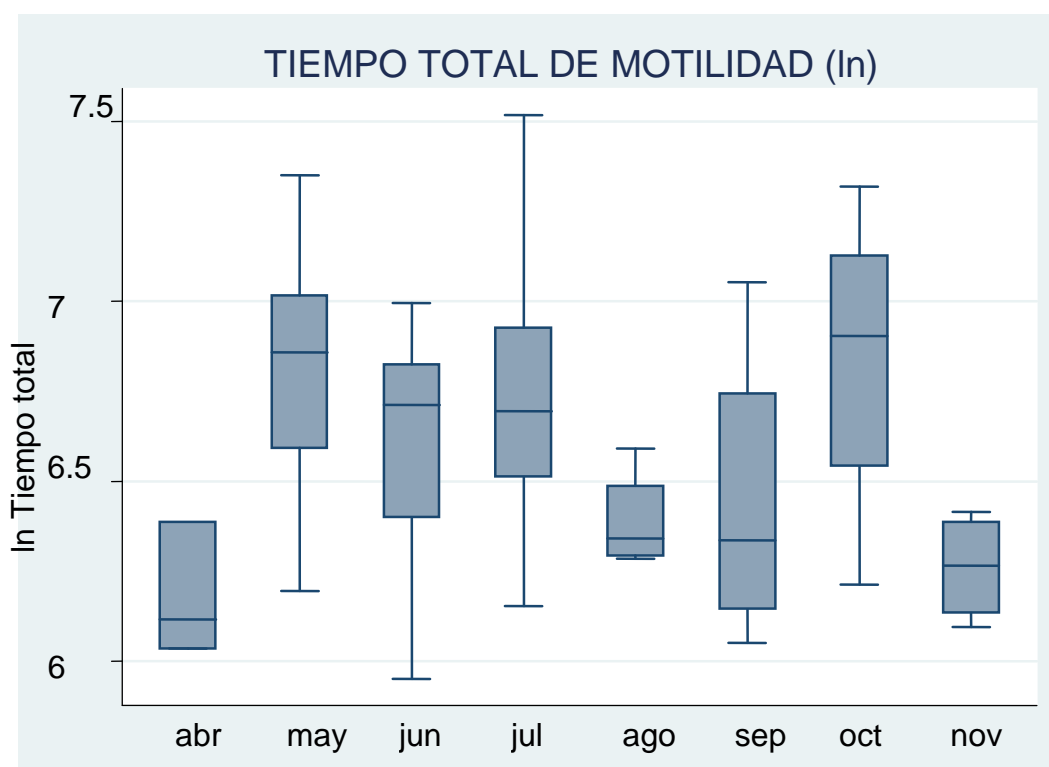


Figura 13. Diagrama de caja del logaritmo natural (ln) tiempo total de motilidad.

En comparación con otras especies y como referencia se pueden citar algunos trabajos realizados con otros peces, tal es el caso de los resultados reportados por Vuthiphandchai – Zohar (1999), con el robalo rayado (*Morone saxatilis*) y el de Williot con el esturión Siberiano (*Acipenser baeri*). En tales trabajos se indican tiempos máximos de motilidad cercanos a los 72 segundos, el caso de bluegill (*Lepomis macrochirus*) se encontraron valores de motilidad de 5, 10, 15, 30 45, 60 y 90 segundos, encontrando que a los 60 segundos cesaba el movimiento de traslación del espermatozoide y a los 90 segundos terminaba el movimiento (Gary, Stephen, et al.,

2004), que en nuestro caso correspondería a el tiempo total respectivamente. En coho salmon *Oncorhynchus kisutch* se encontraron tiempos de motilidad de 10, 20 y 30 segundos (Fitzpatrick, et al. 2005). En European swea bass *Dicentrachus labrax* encontraron un máximo de 80 segundos de motilidad en esperma fresco y 40 segundos en criopreservado (Schiavone, et. al. 2006).

No se encontraron antecedentes de tiempos de motilidad para charal, sin embargo datos tomados por Blancas (2002) en los cuales se evalúa la motilidad espermática en *Chirostoma humboldtianum*, se encontró que las motilidades mas altas fueron de 86 ± 5.7 segundos bajo condiciones fototérmicas de 19°C/12HL. *C. jordani* supera estos valores de motilidad, a pesar de que las condiciones ambientales en las que fueron cultivadas ambas especies son muy similares.

En la mayoría de los peces de agua dulce, los espermatozoides usualmente se mueven por un periodo menor a los 2 minutos, y en algunos casos por solo 30 segundos (Rurangwa, 2004), En el caso de *C. jordani* podemos encontrar que en general los tiempos de motilidad sobrepasan incluso a especies cercanas filogenéticamente como es el caso de *C. humboldtianum*. Una de las explicaciones a este evento podría apuntar que los animales han desarrollado varios mecanismos por los cuales reducen la frecuencia de hibridación, son conocidos algunos casos en los que especies emparentadas, no solo conviven juntas sino también convergen en tiempo en los eventos reproductivos como lo hicieron en algún tiempo estas dos especies. Se ha llegado a la conclusión de que es posible la fertilización accidental, por lo cual no solo el esperma sino también el huevo desarrollan factores selectivos que evitan la hibridación (Hubbs Clark, 1690). La evidencia de tácticas reproductivas refleja la competitividad entre espermatozoides por fecundar al huevo, el tamaño del flagelo como el tiempo de movimiento pueden ser adaptaciones en las cuales el aprovechamiento de la energía pueda ser factor crucial en la fertilización, razón por la cual y para fines prácticos de evaluación seminal tanto en campo como en laboratorio, y debido a la escasa muestra, podemos proponer la estimación de la motilidad como una de las pruebas que reflejan la calidad seminal en esta especie.

3) Densidad seminal

Para estimar la densidad es necesario conocer previamente los valores de volumen y peso de la muestra, parámetros que arrojan información importante en el análisis final de la densidad, por lo cual, se analizan por separado cada uno inicialmente y se complementan para obtener el valor de densidad.

Volumen del líquido seminal

El volumen de muestra espermática a lo largo de los ocho meses varió significativamente con un valor de $p > 0.0015$, según la prueba de ANDEVA se observan valores altos (aunque también con una mayor dispersión) hacia la primera mitad del año, se tiene en mayo un pico importante en este valor, seguido por junio y julio al igual que la motilidad (Figura 14). Ya en la segunda mitad del año el volumen de la muestra fue menor comportándose así en los cuatro meses finales de muestreo.

Uno de los parámetros comúnmente utilizados para comparar especies de diferente tamaño, es el análisis del volumen producido, expresado en unidades de peso corporal. Para *C. jordani* se registró un volumen promedio de 2.14 ± 0.2 ml/kg, que es menor en comparación con otras especies como en yamu *Brycon amazonicus* que es de 6.2 ± 0.7 a 4.8 ± 0.4 ml/kg (Pardo-Carrasco, 2006) y Striped bass *Morone saxatilis* en los que se registraron 7.5 ± 2.1 a 5.6 ± 0.5 ml /kg (Verapong y Jonathan, 1999). Sin embargo esto no es una limitante, puesto que como se ha ido observando, la extraordinaria motilidad de esta especie, le confiere una ventaja significativa con respecto a otras especies a pesar de los valores de volumen emitidos.

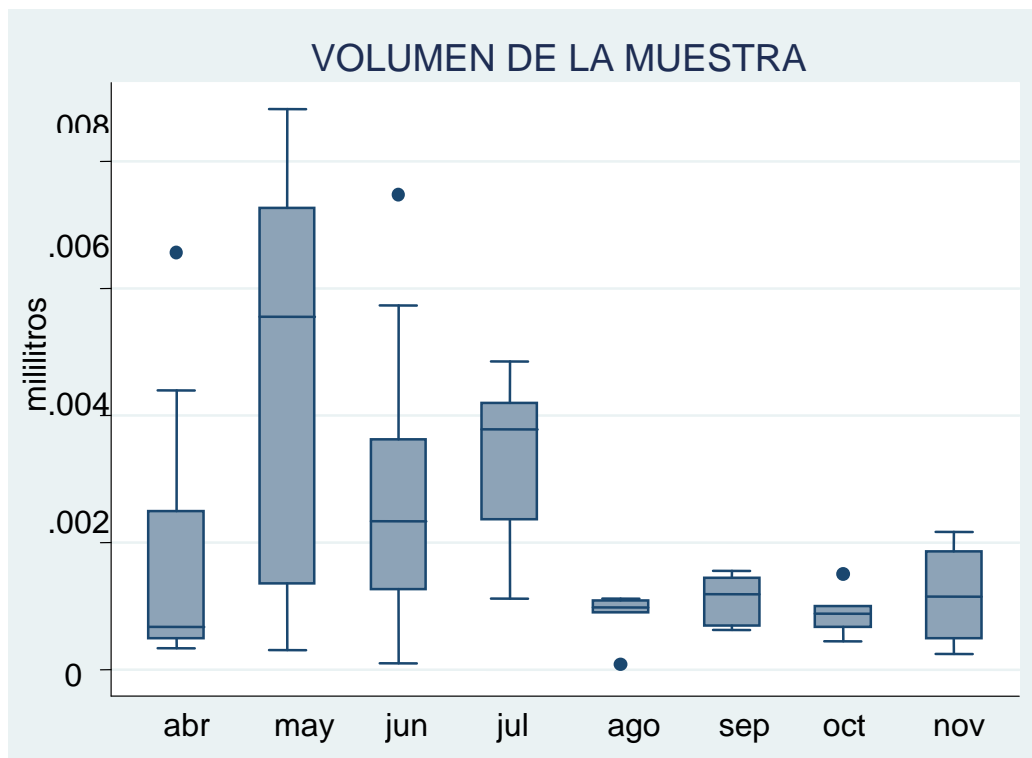


Figura 14. Diagrama de caja volumen (ml) de la muestra.

Peso del líquido seminal

Los valores de peso obtenidos se comportan de manera similar al volumen, esto es, valores altos los meses de mayo, junio y julio y una disminución en los últimos meses, sin embargo, en la segunda mitad del año a diferencia del volumen, la disminución no es tan drástica lo que hace suponer que a pesar de ser volúmenes bajos la cantidad de componentes espermáticos es mayor.

Los valores de peso de muestra fluctúan entre los 0.0093 gramos a los 0.0003 gramos, en el análisis estadístico con una $p= 0.0067$ podemos decir que si hay una diferencia significativa en los pesos a lo largo de estos ocho meses. Se observan dos grupos de datos divididos a partir del mes de agosto (Figura 15), al igual que el volumen ambos datos evidencian una intensa producción seminal en la primera mitad del año, dato que coincide con lo reportado por (Olvera Blanco, 2004) quien asegura que la época reproductiva para *C. jordani* comprende este periodo.

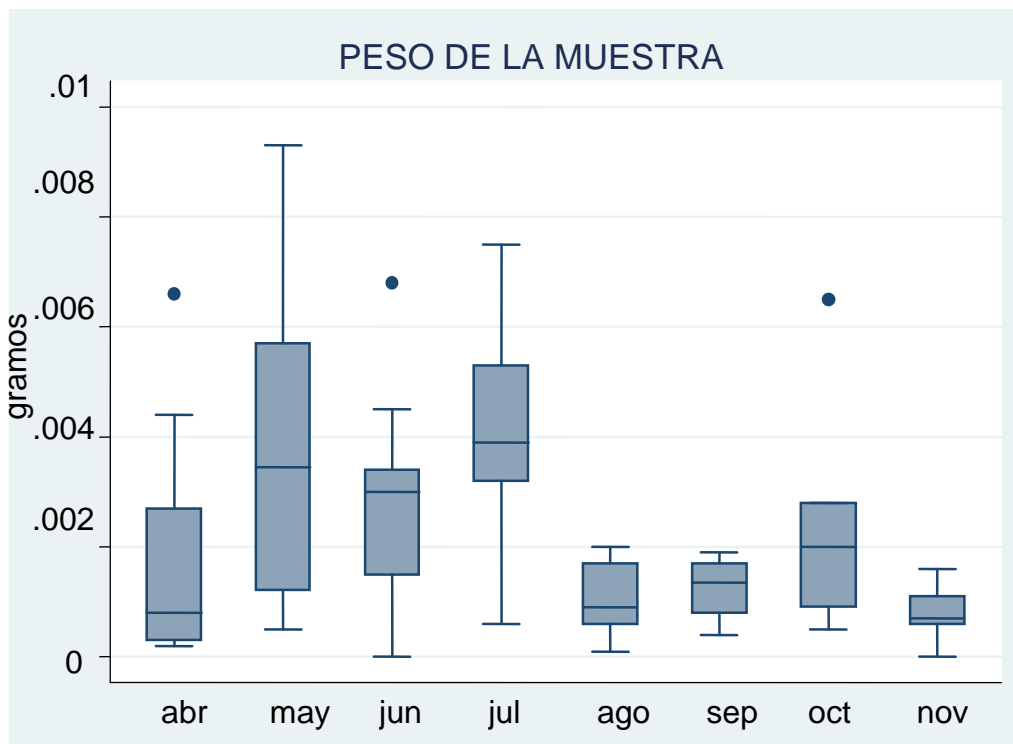


Figura 15. Diagrama de caja peso (g) de la muestra.

Densidad del líquido seminal

Relacionando el volumen y el peso podemos calcular la densidad, la cual se comporta de manera contraria a lo que se ha observado, con un valor de $p= 0.4561$ encontramos que no existe diferencia significativa, esto es que al obtener valores de volumen muy pequeños la densidad se ve afectada, si la carga espermática sigue siendo importante obtendremos como se observa en graficas valores altos de densidad en periodos en los cuales el volumen es escaso (Figura 16).

Se puede descartar una homogeneidad aparente en la densidad, debido a la dispersión observada en los valores, sin embargo durante el experimento se observó una variación en la consistencia del líquido, a pesar de las pocas muestras con que se contó en los dos últimos meses.

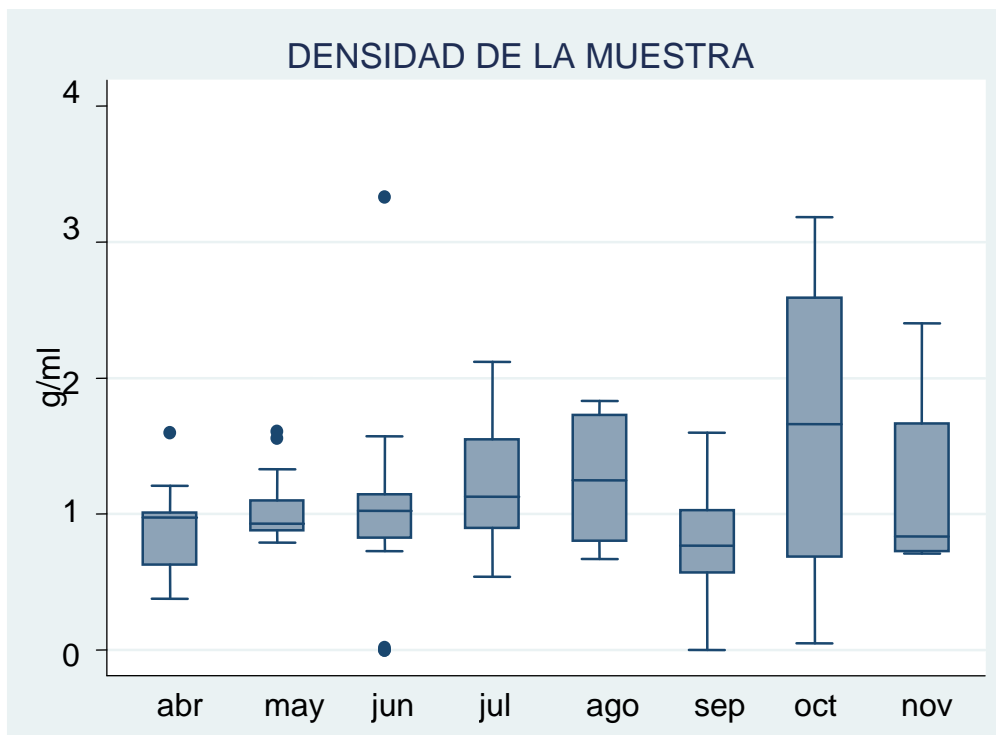


Figura 16. Diagrama de caja densidad espermática.

Rodríguez 1992, señala que los machos tienen un potencial reproductivo que esta dado por el número de espermatozoides por mililitro, su viabilidad, morfología y motilidad principalmente, los cuales están asociados a la densidad. Si cualquiera de ellos se desbalancea automáticamente el poder fecundativo decrece, lo cual se traduce en bajas tasas de fertilidad. Sin embargo, el calificar una muestra de esperma sólo por su apariencia (volumen y consistencia) no resulta una herramienta confiable que pueda ayudarnos a seleccionar una muestra o un macho "apto", por lo contrario como se puede ver en este caso los valores de densidad altos se encuentran al final del periodo reproductivo, en el cual, tanto el volumen como los tiempos de motilidad son los mas bajos.

Otro punto a resaltar es la participación de estructuras accesorias en la producción de fluido espermático, que ha sido sugerida junto con sus posibles roles en la reproducción de peces (Lahnteiner *et al.* 1992 citado en Marconato, 1996). Se conoce que todos los Gobilidos (Perciformes) tienen ductos espermáticos granulares usualmente llamados vesículas seminales (Eggert 1931, Millar 1984,1992, Cole 1988), y en un número limitado de especies estas estructuras han sido reportadas. Se menciona que producen derivados androgénicos, que sirven como feromonas

durante la reproducción (Fishelson, 1991), mientras tanto en todas las especies secretan un fluido viscoso de glicoproteínas el cual se mezcla con el esperma en la expulsión (Young & Fox 1937, Fishelson, 1991, Lahnsteiner *et al.* 1992) para explicar el papel de estas secreciones varias hipótesis han sido sugeridas incluyendo la participación de estas para facilitar el contacto de los espermatozoides con el huevo (Vivien 1938, Fishelson, 1991) o probablemente como protector del esperma y del huevo contra parásitos (Fishelson, 1991).

De cualquier forma la densidad en *C. jordani* no parece estar afectada por el número de espermatozoides, como se observa en la Figura 16, ya que se encuentran meses con muestra perecida a la época reproductiva, sin embargo la presencia de volúmenes bajos pudiera estar asociada a la producción de estas secreciones, que en su ausencia o en menor grado le confieren mayor densidad a la muestra.

4) Viabilidad

Los datos de viabilidad del espermatozoide de *C. jordani* muestran que en los primeros cuatro meses la viabilidad es alta, ya que de un 70% a 90% de los espermatozoides se tiñen como vivos. A partir del mes de agosto se puede observar una marcada disminución de espermatozoides vivos en las tinciones, siguiendo los meses de octubre y noviembre como los más bajos (Figura 17). Sin embargo como se mencionó anteriormente debido a la escasez de la muestra no fue posible realizar una prueba estadística, pues en algunas ocasiones solo se contaba con una laminilla de tinción por mes, sin embargo los datos reflejan el comportamiento que se ha ido observando. Se recomienda en un futuro ahondar más en este tipo de pruebas para *C. Jordani*.

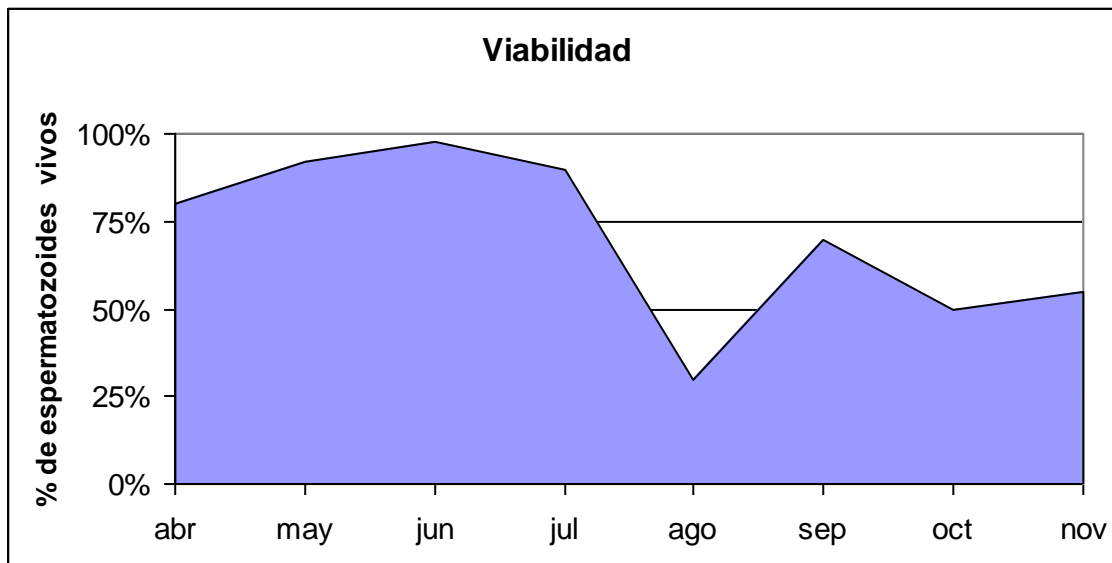


Fig. 17 La parte sombreada indica el porcentaje de espermatozoides vivos.

5) Cuantificación espermática

Con respecto al número de espermatozoides, podemos observar que en la primera mitad de año se presentan los valores más altos, siendo el mes de junio el mayor, seguido de julio y mayo respectivamente. Ya en la segunda mitad a partir de agosto, los valores decaen significativamente, teniendo en septiembre un repunte importante (Figura 18).

Se encontró una diferencia significativa ($p= 0.0042$) entre los ocho meses de muestreo y un comportamiento similar a los parámetros antes evaluados, con un promedio de 93.16×10^9 espermatozoides por mililitro, observamos que esta especie cuenta con un gran aporte de células germinales, que en comparación con otras especies como es el caso de *C. humboldtianum* según lo reportado por Blancas (2002) se obtuvieron valores de 16.250×10^9 a 22.903×10^9 espermatozoides por mililitro. Se encontró que la diferencia es muy marcada entre estas dos especies a pesar de su parentesco.

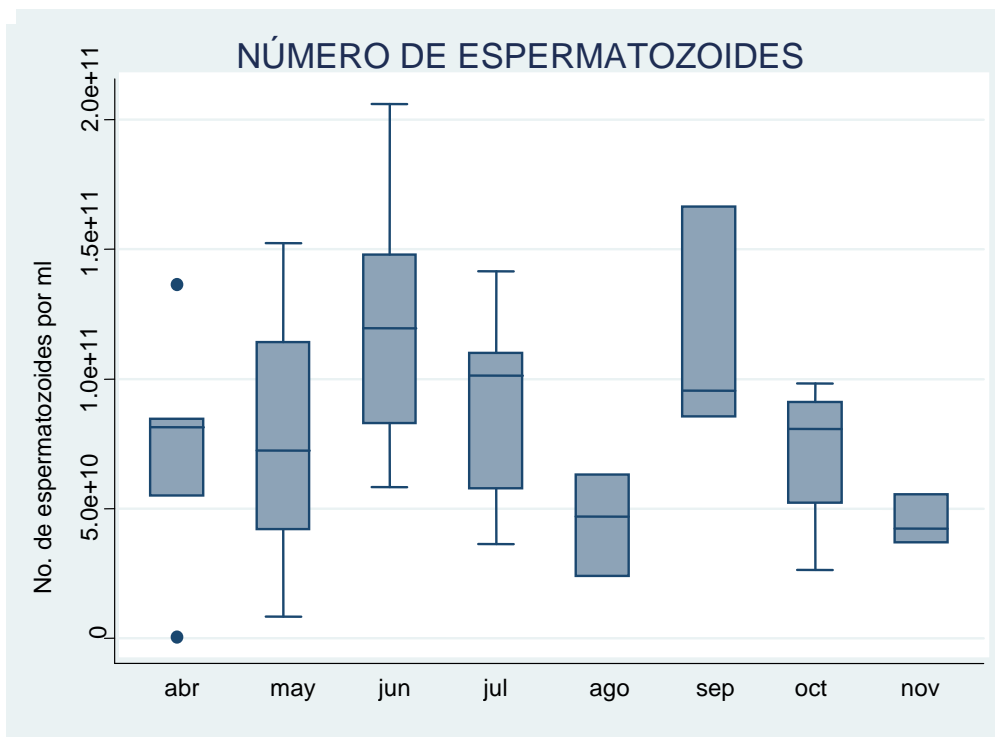


Figura 18. Diagrama de caja del número de espermatozoides por mililitro.

Al parecer las especies del género *Chirostoma* producen un gran número de espermatozoides en comparación con otros organismos como el *Oncorhynchus mykiss*, en donde los valores de espermatozoides van de $4.1 \times 10^9 \pm 2.3 \times 10^9$ ml (Lahnsteiner *et al.* 1998).

Vuthiphandachai y Zoar (1999) reportan que la cantidad de espermatozoides por ml de semen depende del tamaño y peso del reproductor pero sobre todo de la edad de este, según el método de muestreo aleatorio, se descarta la posibilidad de sesgo en cuanto a la edad del pez teniendo por lo tanto valores altos por la calidad y cantidad del esperma en cierta época y no como un reflejo de la selección de edades, pues fueron evaluados en cada mes tanto peces juveniles como adultos para así reflejar las condiciones generales de esta población.

En relación con el peso el número de espermatozoides por kg. para *C. jordani* tenemos que produce 57157×10^9 por kilogramo, por su parte *Chirostoma humboldtianum* produce de 422×10^9 a 590×10^9 por kilogramo de peso Blancas

(2002), el yamu *Brycon amazonicus* $199 \pm 47 \times 10^8$ por kg (Pardo-Carrasco, *et al.* 2006), en el robalo rayado *Morone saxatilis* se reportan valores máximos de entre 447×10^9 y 100×10^9 de espermatozoides por kilogramo de peso (Vuthiphandchai y Zohar, 1999)

6) Morfología

La estructura del espermatozoide en varias clases de vertebrados ha sido frecuentemente estudiada, revelando su aparentemente baja diversidad en comparación con invertebrados (Baccettii, 1970; Mattei *et al.* 1989). Sin embargo, esta diversidad es mas notoria en poiquilotermos, especialmente en peces, en los que podemos encontrar espermatozoides con cabezas redondas o alargadas (Lahnsteiner and Patzner, 1990), con acrosoma o sin él, (Baccetti, 1970) y hasta con dos flagelos (Mattei, 1988, 1989; Jamieson, 1991) (Fishelson, and Delarea, 1995). Las principales diferencias entre espermatozoides se observan en la cabeza, la parte media (cuando la tienen) y en la cola (Howell, 1983).

En cuanto a la longitud del flagelo, los datos no concuerdan con los reportados por Cárdenas-Reygadas y Barrera-Escorcía 1998, en este estudio se encontró, casi el doble de longitud en el flagelo para esta especie que habita en el lago de Xochimilco, en comparación con los colectados por los autores en la represa de Corrales en el estado de Hidalgo a unos 70 Km del Distrito Federal. Sin embargo, las otras estructuras coinciden con lo descrito en la literatura, donde describen al espermatozoide con una estructura globular en la cabeza de 3 a 4 μ y un flagelo que constituye la mayor parte de éste, sin parte media visible. En general, el espermatozoide de *C. jordani* mide en promedio 34 μ (Figura 20 y 21), datos que concuerdan con los reportados por (Howell, 1983) quien describe algunas características de peces de fertilización externa de tipo aquaesperma (Grier, 1981; Jaimenson, 1991).

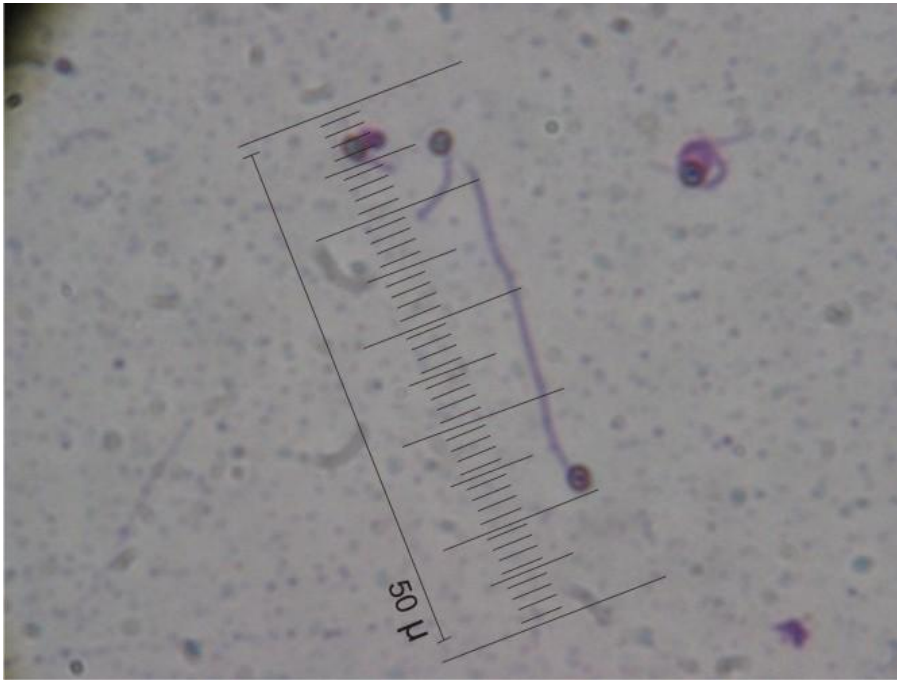


Figura 20. Espermatozoide de *C. jordani* 100X, 7.5 Zoom Digital.

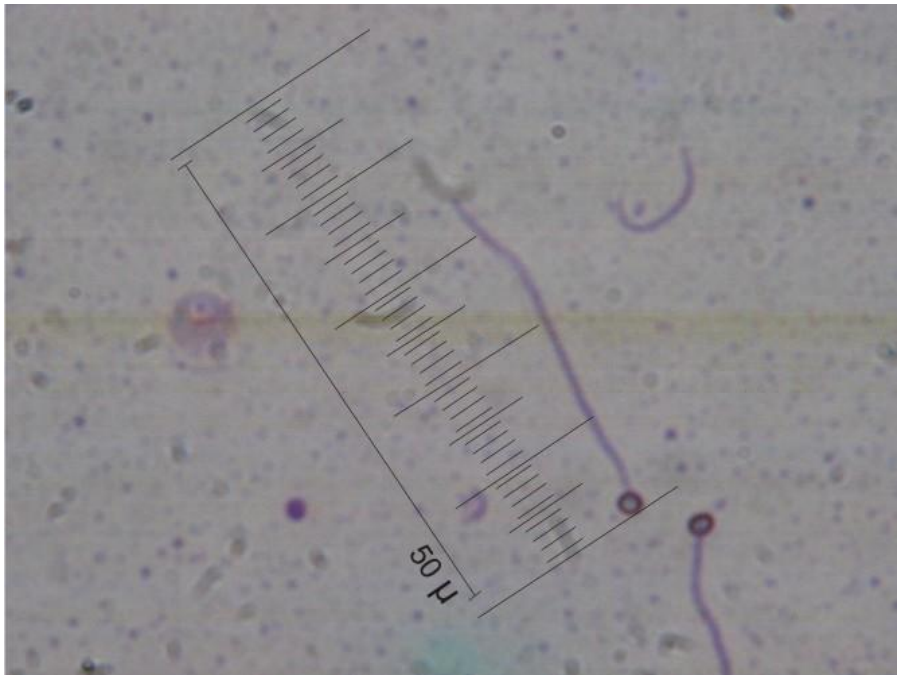


Figura 21. Espermatozoide de *C. jordani* 100X, 7.5 Zoom Digital.

Al respecto, Fishelson *et al*, (2006) menciona que las diferencias entre espermatozoides se deben a adaptaciones microecológicas especie - específicas del microambiente fisiológico en donde se da la reproducción, incluso en especies relacionadas y cercanas existe este tipo de morfología espermática extremadamente divergente, lo cual es reflejo del tipo de reproducción que presentan (Grier, 1981).

En estas investigaciones, las malformaciones que se pudieron observar fueron ocasionales del tipo primario que corresponderían principalmente a defectos en la parte de la cabeza y dobles flagelos.

En recientes estudios se ha reportado que el cloruro de mercurio afecta a la estructura del espermatozoide acortando el flagelo, se observa una hinchazón en la parte de la cabeza, y la motilidad se ve afectada al parecer por el flagelo que se observa enrollado o cortado. Esto concuerda con estudios previos realizados tanto en mamíferos como en invertebrados, en los cuales describen la interrupción del flagelo cuando este es expuesto *in vitro* o *in vivo* a metales pesados o componentes organometálicos. (Mohamed, *et al*, 1986; Rao, 1989; Citado en Van Look and Kime, 2003).

Según los últimos estudios el impacto por la actividad humana en Xochimilco va en incremento, se han encontrado concentraciones de metales pesados como plomo y cadmio, los cuales rebasan los límites máximos permisibles estipulados en la NOM-027-SSA1-1993, por otra parte en el mismo estudio se encontró que en los charales, las concentraciones más altas de plomo y cadmio se registraron en organismos de talla chica (Ramos, 2004). Por todo lo anterior se podría sugerir un estudio morfológico del espermatozoide de *C. jordani* de diferentes poblaciones aunado a un análisis de la calidad de agua, enfocado principalmente a detectar concentraciones de metales pesados, entre otros contaminantes.

CONCLUSIONES

- Los tiempos de motilidad espermática extensos le confieren a esta especie una ventaja evidente, elevando el poder fecundativo de la especie, caracterizado principalmente por el tiempo 1, donde se obtuvieron valores extensos en los meses de mayo, junio y julio
- Los valores de motilidad (T1 y T total), volumen, peso de la muestra y número de espermatozoides caracterizan un periodo de mayor calidad en el líquido seminal que va de mayo a julio.
- El pico reproductivo basado en el número de huevos, coincide con el intervalo de tiempo en el que la calidad del líquido seminal es alta, esto como una estrategia que garantiza la mayor fertilización de huevos.
- La época reproductiva de *C. jordani* concuerda con lo reportado para esta especie, en la cual la sitúan en la primera mitad del año, sin embargo se encontró evidencia que apoya la posibilidad de un periodo mas extenso (agosto – noviembre), en el cual podría continuar la actividad reproductiva.
- Se descarta a la densidad y la consistencia de la muestra como un instrumento de la calidad espermática.
- El flagelo del espermatozoide de *C. jordani* capturado en los canales de Xochimilco, es de mayor tamaño en comparación con el capturado en la represa de corrales en el estado de Hidalgo, sin embargo las demás estructuras coinciden en forma y tamaño.
- Según el patrón de desoves y la producción de espermatozoides, se puede proponer la clasificación de esta especie como sincrónico por grupos múltiples.

CONCLUSIONES SUGERIDAS

- *C. jordani* tiene una buena sobrevivencia a los métodos de captura y transporte.
- La rápida aclimatación a condiciones de cautiverio evidencia la gran adaptabilidad y su resistencia a cambios en el ambiente.
- La aceptación de alimento inerte es una ventaja que facilita el cultivo y corrobora el oportunismo del organismo ante el alimento.

RECOMENDACIONES

- Experimentar con diferentes dietas y grupos tróficos, aprovechando el oportunismo que presenta esta especie ante el alimento.
- Enfocar los estudios en hembras, con el fin de proponer mecanismos que ayuden a su conservación.
- Realizar estudios de la carga energética a nivel molecular del espermatozoide, esto por sus tiempos tan extensos de motilidad, así como una descripción mas detallada de su morfología.

REFERENCIAS

- Álvarez del Villar, J. 1970. Peces mexicanos (claves). Instituto Nacional de Investigación Biológica Pesquera, Serie de Investigación Pesquera. México D. F. 62 p.
- Álvarez del Villar, J. y Navarro. L. 1957. Los peces del Valle de México. Secretaría de Marina, Instituto Nacional de Pesca e Industrias Conexas. México, D. F. pp. 3-22.
- Andrade, R. B., Bazoil, N., Rizzo, E., Sato, Y., 2001. Continuous gametogenesis in the neotropical freshwater teleost, *Bryconops affinis* (Pisces: Characidae), *Tissue & cell*. 33:524-532.
- Anónimo. 1999. *Manual de Sanidad Piscícola*. Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. SEMARNAP. México D. F. pp. 171
- Arredondo- Figueroa, J. L. y Lozano- García, S. D. 2003. La acuicultura en México. Departamento de Hidrobiología. Universidad Autónoma Metropolitana, México. D. F. 266 p.
- Arroyo, H. V., A. F. Garibay, V., C. Martínez, D., D. R. Rodríguez M., S. Saldivar, H., y G. Contreras R, 1998. Selección alimenticia del charal (*Chirostoma jordani*) en el embalse La Galeta Edo. De Mex., México, Resúmenes de las memorias de la primera reunión nacional sobre pequeños embalses. México D.F. pp. 28
- Ávila, R. B. E. 2000. Composición actual de la ictiofauna del lago de Xochimilco. Tesis Licenciatura. E. N. E. P. Iztacala. U.N.A.M. México, 73 p.
- Barbour, C. D., 1973a. A biogeographical history of *Chirostoma* (Pisces: Atherinidae), A Species Flock the Mexican Plateau. *Copeia* 3:533-556.
- Barbour, C. D. 1973b. The systematics and evolution of the genus *Chirostoma* Swainson. *Tulane Studies in Zoology and Botany*, 18 (3):97 – 141.
- Barriga-Sosa, I. D. L. A., Ibáñez-Aguirre, A. I., Arredondo-Figueroa, J. L., 2002. Morphological and genetic variation on seven species of the endangered *Chirostoma* "humboldtianum species group" (Atheriniformes: Atherinopsidae). Tesis Doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. México, 199 p.
- Blancas, A. G. A., 2002. Efecto de los ciclos estacionales artificialmente comprimidos (temperatura y fotoperiodo), en el desarrollo gonádico del pez blanco (*Chirostoma humboldtianum* Valenciennes, 1835) (Pisces: Atherinopsidae), Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa, México, 85 p.
- Blancas-Arroyo G. A., Figueroa-Lucero G., Barriga-Sosa I. A., Arredondo-Figueroa J. L., 2004. Effects of an artificial photothermal cycle on the reproduction of the shortfin silverside, *Chirostoma humboldtianum*, Valenciennes, 1835 (Pisces: Atherinopsidae). *Aquaculture*. 241:575-585. doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.08.014
- Bojórquez, C. L. 1994. Calidad del agua de los canales de Xochimilco en relación con el PREX. Informe Técnico. U. A. M. Xochimilco. México, 417 p.
- Burness, G., Casselman, J.S., Schulte-Hostedde, A.I., 2004. Sperm swimming speed and energetics vary with sperm competition risk in bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Behav Ecol Sociobiol*. 56:65 – 70.
- Cárdenas-Reygadas R. y Barrera-Escorcia H. 1998. Histología y ultraestructura del testículo del charal *Chirostoma jordani*. *Revista de Biología Tropical*. 46 (4): 1-22.

- Cházaro, O. S. 1989. Estudio sobre algunos aspectos de la biología del charal *Chirostoma jordani* en el embalse Trinidad Favela, Estado de México. Tesis de Licenciatura. E.N.E.P. Iztacala. U.N.A.M. México. 78 p.
- Cházaro, O. S., Navarrete, S. N. y Sánchez, M. R. 1989. Reproducción y crecimiento del charal *Chirostoma jordani* (Woolman) del embalse Trinidad Favela, Estado de México. *Revista de Zoología, ENEPI*, México, No. 1: 10-18.
- Cole, K.S. 1988. Predicting the potential for sex change on the basis of ovarian structure in gobiid fishes. *Copeia* 1988: 1082-1086.
- De Buen, F. 1945. Investigaciones sobre Ictiología Mexicana. An. Inst. Biol. UNAM. México D. F: XIV: pp. 475-532.
- Dyer, B. S., Chernoff, B. 1996. Phylogenetic relationships among atheriniform fishes (Teleostei: Atherinomorpha). *Zoological Journal of the Linnean Society*. 117:1-68.
- Eggert, B. 1931. Die Geschlechtsorgane der Gobiiformes und Blenniiformes. *Zeitschr. Wiss. Zool.* 139: 249-558.
- Fishelson, L. 1991. Comparative cytology and morphology of seminal vesicles in male gobiid fishes. *Ichthyol.* 38: 17-30.
- Fishelson, L., Delarea, Y., 1995. Unilateral winged flagellum of sperma in *Badis badis* (Pisces: Teleostei). *Copeia*, Vol. M1995, No. 1, pp. 241 – 243.
- Fishelson, L., Delarea, Y., Gon, O., 2006. Testis structure, espermatogenesis, espermatocytogenesis, and sperm structure in cardinal fish (Apogonidae, Perciformes). *Anat. Embryol* 211 : 31-46
- Fitzpatrick, J. L., Henry, J.C., Liley, N.R., Devlin, R.H., 2005. Sperm characteristics and fertilization success of masculinized coho salmo (*Oncorhynchus kisutch*), *Aquaculture* 249, (2005) 459-468.
- Gary, B., Stephen, J., Albrecht, I., Christopher, D., 2004. Sperm swimming speed and energetics vary with sperm competition risk in bluegill (*Lepomis macrochirus*), *Behav Ecol Sociobiol* , 56:65-70.
- Gómez, M. J. L. y D. Ramírez de Arellano. 1982, Contribución al conocimiento de la biología del charal *Chirostoma jordani* en la presa Taxhimay, Estado de México. Tesis de licenciatura. E.N.E.P. Zaragoza. U.N.A.M. México, 48 p.
- Grassiotto, Q., Negrão, J. N., Carvalho, E.D., Foresti, P., 2001. Ultraestructura de espermatogénicas y espermatozoos en *Hoplias malabaricus* (teleostei, Characiformes, Erythrinidae) *J Fish Biol.* 59: 1494-1502.
- Grier, H. J., Linton, J. R., Leatherland, J. F., de Vlaming, V. L., 1980. Structural Evidence of two different testicular types in teleost fishes. *Am J Anat* 159: 331-345.
- Hernández, O. F. 1993. Evaluación de algunos aspectos de alimentación y reproducción del charal *Chirostoma jordani* (Woolman) en el embalse Macua, Estado de México. Tesis de Licenciatura, E.N.E.P. Iztacala. México, 37 p.
- Hernández, J. L. E., 1991. Variaciones de la dieta en *C. jordani* (Pisces: Atherinidae) y *Yuriria alta* (Pisces: Cynprinidae) en la presa Begonias, Guanajuato México, Tesis licenciatura Biología, UNAM, México, pp. 66

Hubbs Clark, 1960. Duration of esperm function in the Percid Fisher *Etheostoma lepidium* and *E. Sectabile*, associated with simoatry of the parental populations. *Copeia*, Vol. No. 1 (Mar. 25, 1960,) pp. 1-8.

Islas, Y, J., Arana, F., Pérez. R.1995. Estudio preliminar sobre la producción en cautiverio de *Chirostoma jordani* Woolman (Pisces: Atherinidae) de la zona lacustre de Xochimilco, D. F. Segundo Seminario Internacional de Investigación de Xochimilco. Asociación Internacional de Investigadores de Xochimilco A.C. pp: 342-345.

INEGI-2000. Xochimilco, D.F. Cuaderno Estadístico Delegacional. México, D.F. pp: 3-15.

Ingle, Genoveva de la M., Villareal E., Arredondo, F., Ponce, P., Barriga, S. 2003. Evaluación de algunos parámetros de la calidad del agua en un sistema cerrado de recirculación para la acuicultura, sometido a diferentes cargas de biomasa de peces. *Hidrobiológica* 13 (4): 247 – 253.

Jiménez, B. M. L. y García, G. A. 1995. Evaluación de pesquerías multiespecíficas de charales (*Chirostoma* spp., Pisces: Atherinidae) del Lago de Pátzcuo Michoacán México. Anales del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, *Ser. Zool.* 66(2): 205-231.

Jiménez, F. G., Garza, H. F. 1999. Manual de sanidad piscícola, Dirección General de Acuicultura SEMARNAP, Centro Nacional de Sanidad Acuícola, Universidad Regiomontana, Monterrey Nuevo León, México, pp.580-52, 88-89.

Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., Patzner, R.A., 1998. Determination of semen quality of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by sperm motility, seminalplasma parameters, and spermatozoal metabolism, *Aquaculture* 163 (1998) 163-181.

Langler, K. F., Bardach, E. J., Miller, R. R., Passino, D. R., 1977. *Ictiología*, A. G. T. Editor México, 2a Ed. Méx. D. F. pp. 305 – 307

Limón, J. G. M., Lind, O. T. 1989. Long and short term variation in the physical and Chemical Limnology of a lake Shallow, Turbid Tropical Lake (Lake Chapala, México). *Archiv. Hydrobiol./Suppl. México*,83(1): 57 – 81.

Nava V. J. L., Jiménez. G. C. P., Blancas, A. G. A. 2003. Bases biológicas para el cultivo del charal (*Chirostoma jordani* Woolman) del lago de Xochimilco. Primera Reunión Nacional de Atherinópsidos. U.A.M.-I., I.N.P., S.I.M.A.C., E.N.C.B-IPN, PExPA. Resúmenes. México D. F: p 34.

Navarrete, S. N. 1981. Contribución a la biología del charal (*Chirostoma jordani*) de la presa Taxhimay. Tesis de Licenciatura. E.N E P Iztacala. U.N.A.M. México, 86 p.

Olvera, B. Y. M. 2004."Aspectos poblacionales de *Chirostoma jordani* (Woolman) (PISCES: Atherinidae) en el sistema lacustre de Xochimilco, México, D. F. Tesis de Maestría U.N.A.M. Facultad de Ciencias. México, 115 p.

Pardo-Carrasco, S., C., 2006. Evaluation of milt quality of the yamú *Brycon amazonicus* under hormonal induction. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Vol. 19:2

Paulo, M. P., 2000. Situación actual sobre el conocimiento de la biología del género *Chirostoma* Swaison (Pises: Atherinopsidae). Ejercicio predoctoral ENCB-IPN, México, 175 p.

Paulo, M., Figueroa, L. G. y Soria, B. M. 2000. Peces dulceacuícolas mexicanos XIX *Chirostoma humboldtianum* (Atheriniformes: Atherinopsidae). *Zoología Informa*. ENCB-IPN. (3): 59-74.

Pérez-Fons, R., 1993. Xochimilco: Rescate de un pueblo y de un paisaje, Tiempo, México. pp. 6-13.

Ramos Ortiz J. B., 2004. Evaluación de la contaminación por metales pesados en *Oreochromis niloticus* y *Chirostoma jordani* presentes en la zona chinampera de Xochimilco, UNAM F. E. S. Zaragoza., Serv. Soc. Limnología.

Rodríguez, M., Garza, G. y Marañón, S. 1991. Evaluación anual del líquido seminal en carpa *Ciprinus Carpio*, en organismos de primera reproducción. *Universidad Ciencia y Tecnología*. 1(4)53-60.

Rodríguez G. M., 1992. *Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces*, A.G.T. Editor, México D.F. 51p.

Rojas-Carrillo, P. 2003. Reseña histórica. En: Rojas-Carrillo, P. y Fuentes-Castellano, D. (eds.). *Historia y avances del cultivo de pescado blanco*. Instituto Nacional de la Pesca, SAGARPA, México, D. F. pp.15-27.

Rurangwa, E., Kime, D.E., Olliver, F., 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*. 234(2004)1-28

Sánchez, P. S. 1992. Biología reproductiva del charal blanco *Chirostoma grandocule* (STEINDACHNER, 1894 – Pisces: ATHERINIDAE), del lago de Pátzcuaro, Mich., México. Tesis de Licenciatura Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Michoacán México, 62 p.

Salgado-Ugarte I. H. 1992. *El análisis exploratorio de datos biológicos. Fundamentos y Aplicaciones*. UNAM F. E. S. Zaragoza, México D. F. 243 p.

Sasso, Y. L., Gutiérrez, M. R., Casas, S. S. 1997. *Estudio de factibilidad técnica, económica y financiera para el cultivo del Pescado Blanco en Jalisco*, SEMARNAP. Subsecretaría de Pesca. Dirección General de Acuicultura. Acuagranjas. Consultores en Acuicultura S. A. de C.V. México, 223 p.

Schiavone, R., Zilli, L., Vilella, S., Fauvel, C., 2006. Human chorionic gonadotropin induces spermatogenesis and spermiation in 1 – year – old European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): Assessment of sperm quality. *Aquaculture*, 255 (2006), 522-531.

StataCorp. 2003. Stata statistical software. Release 9.1. College Station, Texas, USA.

Tabares, C., Tarazona, A. M., Olivera, M., 2005. Fisiología de la activación del espermatozoide en peces de agua dulce. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Vol. 18:2.

Uria, G. E., Moncayo, L. Ma. y Garibay, G. R. 1998. Desarrollo y madurez testicular del charal *Chirostoma humboldtianum* (Pisces: Atherinidae), del embalse Huapango, Edo. de México. *Hidrobiológica* 8(1): 9-18.

Van Look, K.J., Kime D.E., 2003. Automated sperm morphology analysis in fishes: the effect of mercury on goldfish sperm, *Journal of biology*, 63, 1020 – 1033.

Verapong, V., y Jonathan, Z., 1999. Age-Related Sperm Quality of Captive Striped Bass *Morone saxatilis*. *Journal of the world aquaculture society*, Vol. 30, No.1, March, 1999.

Vuthipandchai, V. Y Zohar, Y. 1999. Age-Related sperm Quality of captive Striped Bass *Morone saxatilis*. *Journal of the world aquaculture society* 30.(1):65 – 72.

Williot, P., Kopeika, E. F., y Goncharov, B. F., 2000. Influence of testis state, temperature and delay in semen collection on spermatozoa motility in the aultured Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt). *Aquaculture*, 189: 53-61.

Zanuy, S. Y Carrillo, M., 1987. La reproducción de los Teleósteos y su aplicación en la acuicultura en: Reproducción en acuicultura. Espinosa de los Monteros, J. y Labarta. U. Plan de formación de técnicos superiores en acuicultura. Madrid. 131 p.

Paginas Web consultadas.

CNA, Servicio Meteorológico Nacional smn.cna.gob.mx

www/civa2003. Blancas Arroyo G. A., Figueroa-Lucero G., Arredondo-Figueroa J. L., 2003. Primeras experiencias sobre el manejo de reproductores de pez blanco (*Chirostoma humboldtianum* Valenciennes, 1835) bajo condiciones controladas. Civa 2003.