



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Facultad de Ciencias

ESTRUCTURA HISTOLÓGICA COMPARADA DEL
GONODUCTO DE DOS ESPECIES DE PECES
TELEÓSTEOS: UNA OVÍPARA, *Brachydanio rerio*
(Cyprinidae), Y UNA VIVÍPARA, *Poecilia reticulata*
(Poeciliidae), DURANTE TRES ETAPAS DEL CICLO
REPRODUCTOR

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)**

P R E S E N T A

JUAN CARLOS CAMPUZANO CABALLERO

TUTORA DE TESIS: DRA. MARÍA DEL CARMEN URIBE ARANZÁBAL

MÉXICO, D.F.

JUNIO, 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/0259/10

ASUNTO: Oficio de Jurado

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 19 de abril del 2010, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)** del (la) alumno (a) **CAMPUZANO CABALLERO JUAN CARLOS** con número de cuenta **90216174** con la tesis titulada "**Estructura histológica comparada del gonoducto de dos especies de peces teleosteos: una ovípara, *Brachydanio rerio* (Cyprinidae), y una vivípara, *Poecilia reticulata* (Poeciliidae), durante tres etapas del ciclo reproductor.**", realizada bajo la dirección del (la) **DRA. MA. DEL CARMEN URIBE ARANZABAL:**

Presidente: DR. HORACIO MERCHANT LARIOS
Vocal: DR. ABRAHAM KOBELKOWSKY DÍAZ
Secretario: DRA. MA. DEL CARMEN URIBE ARANZABAL
Suplente: DR. LUIS FELIPE JIMENEZ GARCIA
Suplente: DRA. MARICELA VILLAGRAN SANTA CRUZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D. F., a 8 de junio de 2010.

Dr. Juan Núñez Farfán
Coordinador del Programa





AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, por brindarme la posibilidad de seguir con mi formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la beca otorgada para la realización de este trabajo (No. de registro 182641).

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, por el apoyo económico otorgado para asistir al IX Congreso Nacional de Ictiología.

A los miembros del Comité Tutorial:

Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal

Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz

Dr. Horacio Merchant Larios

Dr. Abraham Kobelkowsky Díaz

Dr. Luis Felipe Jiménez García



AGRADECIMIENTOS

Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal, por su apoyo incondicional para la realización de este trabajo. Por compartir sus conocimientos y experiencias para mi crecimiento profesional y personal.

Biól. Humberto Olvera Quezada, M. en C. María Estela Pérez Cruz y M. en C. Ignacio Andrés Morales Salas, por su asesoría para la reproducción y mantenimiento de los organismos utilizados en este trabajo, así como por brindarme su confianza y apoyo para utilizar las instalaciones del Acuario de la Facultad de Ciencias, UNAM.

Biól: Higinio Francisco Arias Velázquez, del Acuario Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, por la donación de 15 hembras vivas (*Poecilia reticulata*), utilizadas en este trabajo.

M. en C. Gabino De la Rosa Cruz, M. en C. Eva Mendoza Cruz, Biól. Adriana García Alarcón y Dra. Marcela Esperanza Aguilar Morales, por su asesoría en la técnica histológica.

Jesús Salvador Flores Jara, por su asesoría en el manejo del programa Photoshop.

Dr. Horacio Merchant Larios, por la invitación a su laboratorio para conocer el procesamiento de tejidos para microscopía electrónica.

Sr. José Guadalupe Baltazar García, por su asesoramiento en la técnica de microscopía electrónica.

Dr. José Luis Ponce de León, por su asesoría en el manejo del programa Statistica, así como para la interpretación de los datos.

M. en C. Carolina González Álvarez, por la revisión del resumen de la tesis en inglés.



DEDICATORIA

A mis padres

A Ely

Por ser un ejemplo a seguir

Hay hombres que luchan un día y son buenos.

Hay otros que luchan un año y son mejores.

Hay quienes luchan muchos años y son muy buenos.

Pero hay los que luchan toda la vida: esos son los imprescindibles.

Bertolt Brecht



ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA	iii
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE CUADROS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	9
1. Características generales de <i>Poecilia reticulata</i> y <i>Brachydanio rerio</i>	10
A. <i>Poecilia reticulata</i> Peters, 1859	10
a. Clasificación	10
b. Descripción anatómica	10
c. Distribución y hábitat	11
d. Reproducción	11
e. Importancia	11
B. <i>Brachydanio rerio</i> (Hamilton, 1822)	12
a. Clasificación	12
b. Descripción anatómica	12
c. Distribución y hábitat	13
d. Reproducción	13
e. Importancia	13
III. JUSTIFICACIÓN	14
IV. OBJETIVOS	15
1. Objetivo general	15
2. Objetivos particulares	15
V. MATERIAL Y MÉTODO	16
VI. RESULTADOS	19
1. Estructura de los gonoductos de <i>Poecilia reticulata</i> y <i>Brachydanio rerio</i>	
Características morfológicas similares de ambas especies	19



2. Características morfológicas del gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i>	20
A. Previtelogénesis	22
a. Región cefálica (Rce)	22
b. Región intermedia (Ri)	22
c. Región caudal (Rca)	22
B. Vitelogénesis	28
a. Región cefálica (Rce)	28
b. Región intermedia (Ri)	28
c. Región caudal (Rca)	28
C. Gestación	35
a. Región cefálica (Rce)	35
b. Región intermedia (Ri)	35
c. Región caudal (Rca)	35
3. Características morfológicas del gonoducto de <i>Brachydanio rerio</i>	42
A. Previtelogénesis	43
a. Región cefálica (Rce)	43
b. Región intermedia (Ri)	43
c. Región caudal (Rca)	43
B. Vitelogénesis	45
a. Región cefálica (Rce)	45
b. Región intermedia (Ri)	45
c. Región caudal (Rca)	45
C. Post-desove	50
a. Región cefálica (Rce)	50
b. Región intermedia (Ri)	50
c. Región caudal (Rca)	50
VII. DISCUSIÓN	54
1. Aspectos similares de la estructura del gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> y <i>Brachydanio rerio</i>	54



2. Aspectos que varían de la estructura del gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> y <i>Brachydanio rerio</i>	
A. Epitelio luminal	56
B. Glándulas	57
C. Tejido muscular	57
D. Células del sistema inmunológico	58
E. Centros melanomacrofágicos	59
F. Presencia de espermatozoides en el gonoducto	60
VIII. CONCLUSIONES	62
1. Aspectos similares de la estructura del gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> y <i>Brachydanio rerio</i>	62
2. Aspectos que varían de la estructura del gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> y <i>Brachydanio rerio</i>	63
IX. REFERENCIAS	64



LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ovario y gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> en previtelogénesis	24
Figura 2. Ovario y gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> en previtelogénesis	25
Figura 3. Ovario y gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> en previtelogénesis	26
Figura 4. Gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> en previtelogénesis	27
Figura 5. Ovario y gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> en vitelogénesis	30
Figura 6. Ovario y gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> en vitelogénesis	31
Figura 7. Ovario y gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> en vitelogénesis	32
Figura 8. Gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> en vitelogénesis	33
Figura 9. Ovario y gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> en vitelogénesis	34
Figura 10. Ovario y gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> en gestación	37
Figura 11. Ovario y gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> en gestación	38
Figura 12. Gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> en gestación	39
Figura 13. Ovario y gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> en gestación	40
Figura 14. Gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> en gestación	41
Figura 15. Ovario y gonoducto de <i>Brachydanio rerio</i> en previtelogénesis	44
Figura 16. Ovario y gonoducto de <i>Brachydanio rerio</i> en vitelogénesis	46
Figura 17. Ovario y gonoducto de <i>Brachydanio rerio</i> en vitelogénesis	47
Figura 18. Ovario y gonoducto de <i>Brachydanio rerio</i> en vitelogénesis	48
Figura 19. Ovario y gonoducto de <i>Brachydanio rerio</i> en vitelogénesis	49
Figura 20. Ovario y gonoducto de <i>Brachydanio rerio</i> en post-desove	51
Figura 21. Ovario y gonoducto de <i>Brachydanio rerio</i> en post-desove	52
Figura 22. Gonoducto de <i>Brachydanio rerio</i> en post-desove	53



LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Frecuencia de viviparidad en vertebrados no mamíferos	1
Cuadro 2. Procesamiento de tejidos para cortes en paraplast	17
Cuadro 3. Procesamiento de tejidos para microscopia electrónica.	18
Cuadro 4. Datos morfométricos del gonoducto de <i>Poecilia reticulata</i> en previtelogénesis, vitelogénesis y gestación	21
Cuadro 5. Datos morfométricos del gonoducto de <i>Brachydanio rerio</i> en previtelogénesis, vitelogénesis y post-desove	42



RESUMEN

Los peces son de gran importancia para la comprensión de la evolución de la viviparidad porque manifiestan una gran diversidad en las relaciones materno-embriónicas. La mayoría de las aproximadamente 28,000 especies de teleósteos es ovípara, en tanto que la viviparidad se ha descrito solamente en 510 especies, pertenecientes a 14 familias. Los peces teleósteos no desarrollan conductos de Müller y, por lo tanto, no poseen oviductos; debido a esta característica morfológica, el aparato reproductor femenino está formado exclusivamente por el ovario. El gonoducto es la región caudal del ovario que desemboca en el gonoporo. En las especies vivíparas el gonoducto se relaciona con el apareamiento, la circulación de los espermatozoides y el nacimiento de las crías; en tanto que en especies ovíparas se relaciona con la oviposición. La información sobre la estructura microscópica del gonoducto es muy escasa y no se cuenta con referencias de sus cambios relacionados al ciclo reproductor. Por lo cual, se plantea el análisis histológico comparado del gonoducto de una especie vivípara, *Poecilia reticulata*, y una especie ovípara, *Brachydanio rerio*, en tres etapas del ciclo reproductor. Los gonoductos se procesaron mediante la técnica histológica convencional. Con base en los resultados obtenidos podemos afirmar que el ovario se divide en dos zonas: la zona germinal y el gonoducto. El gonoducto comprende desde el límite de la zona germinal hasta su desembocadura en el gonoporo. La estructura del gonoducto está formada por tres regiones: cefálica, intermedia y caudal. La región cefálica presentó largos y delgados pliegues de la mucosa, similares a un cuello que se extienden en el lumen. La región intermedia contiene pliegues cortos y gruesos de la mucosa hacia el lumen distribuidos de manera irregular. La región caudal mostró mayor grosor en su pared debido a la presencia de músculo liso, además se localizaron invaginaciones glandulares. La estructura histológica de la pared del gonoducto está formada por: serosa, músculo liso, tejido conjuntivo vascularizado laxo, epitelio cúbico, columnar o estratificado con células ciliadas y no ciliadas y glándulas. El gonoducto está integrado exclusivamente por células somáticas, a diferencia de la región germinal, la cual contiene células germinales en diversos estadios de desarrollo, rodeadas de tejido somático. Los elementos del sistema inmunológico que se observaron en el gonoducto fueron: linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, macrófagos, centros melanomacrofágicos y células plasmáticas.



ABSTRACT

Fish are of great importance for understanding the evolution of viviparity, given that they display a great diversity in their maternal-embryonic relationships. Most of the approximately 28,000 species of teleost fishes are oviparous, and viviparity has only been described in 510 species belonging to 14 families. Teleosts do not develop Müllerian ducts and, therefore, have no oviducts. Because of this morphological characteristic, the female reproductive system consists exclusively of the ovary. The gonoduct is the caudal region of the ovary that leads to the gonopore. In viviparous species, the gonoduct is related to mating, sperm movement and birth of the offspring; whereas in oviparous species it is related to oviposition. Information on the microscopic structure of the gonoduct is very scarce and there are no references from its reproductive cycle-related changes. Therefore, we propose a comparative histological analysis of the gonoduct in a viviparous species, *Poecilia reticulata*, and an oviparous species, *Brachydanio rerio*, in three stages of the reproductive cycle. The gonoducts were processed by the conventional histological technique. Based on the results, we can conclude that the ovary is divided into two zones: germinal zone and gonoduct. The gonoduct extends from the boundary of the germinal zone to its opening at the gonopore. The gonoduct structure consists of three regions: cephalic, middle and caudal. The cephalic region appeared as long, thin folds of the mucosa, similar to a neck extending into the lumen. The middle region was observed as short, thick folds of the mucosa that reach into the lumen and are distributed unevenly. The wall of the caudal region was thicker because of the presence of smooth muscle and glandular invaginations. The histological structure of the gonoduct wall consists of: serosa, smooth muscle, vascularized loose connective tissue, cuboidal, columnar or stratified epithelium, with ciliated and non ciliated cells and glands. The gonoduct is composed only of somatic cells, in contrast to the germinal region, which contains germ cells at various stages of development, surrounded by somatic tissue. Elements of the immune system detected in the gonoduct were: lymphocytes, neutrophils, eosinophils, macrophages, melano-macrophage centres and plasma cells.



I. INTRODUCCIÓN

Puede decirse que la diferencia más sobresaliente entre los hombres de ciencia y los demás profesionales es que los primeros aceptan su ignorancia y parten de ella para realizar sus trabajos y observaciones, mientras que los segundos basan sus actividades en los conocimientos que ya poseen o creen poseer.
Ruy Pérez Tamayo

En el estudio de la evolución de la viviparidad en vertebrados (excepto en aves en las que no ocurre viviparidad), es esencial el análisis comparado de las adaptaciones que han ocurrido a lo largo de la filogenia (Cuadro 1). En este proceso, los peces son de gran importancia para la comprensión de la evolución de la viviparidad, no solo porque fueron los primeros vertebrados vivíparos, sino porque manifiestan una gran diversidad en las características de las relaciones materno-embrionarias (Wourms y Lombardi, 1992).

La gran mayoría de las aproximadamente 28,000 especies de teleósteos (Wourms, 2005) es ovípara, en tanto que la viviparidad en teleósteos se ha descrito solamente en 510 especies, pertenecientes a 14 familias (Callard y Ho, 1987) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Frecuencia de viviparidad en vertebrados no mamíferos (Callard y Ho, 1987).

Grupo de vertebrados	Número de familias con especies vivíparas (total de familias)	Número de géneros con especies vivíparas (total de géneros)	Número de especies vivíparas (total de especies)
Clase Chondrichthyes	40	90	420
Subclase Elasmobranchii	(98)	(145)	(600)
Clase Osteichthyes	14	123	510
Subclase Teleostei	(425)	(3,900)	(28,000)
Clase Amphibia	3	8	11
	(27)	(278)	(3,000)
Clase Reptilia	21	120	275
Orden Squamata	(27)	(887)	(6,005)

En los peces ocurren varios mecanismos de control de la diferenciación sexual. Muchas especies determinan su sexo al momento de la fecundación (determinación cromosómica), algunas se ven influidas por las interacciones de comportamiento entre sus congéneres, mientras que en otras influyen cambios en los factores ambientales como la temperatura o la estación del año (Devlin y Nagahama, 2002).

La diferenciación gonadal puede tomar muchas formas en teleósteos, que van desde los individuos que desarrollan directamente ovarios o testículos durante la maduración sexual, hasta las especies hermafroditas (sincrónicas y secuenciales) (Devlin y Nagahama, 2002), además de la



reversión sexual (Devlin y Nagahama, 2002; Matsuda y Sakaizumi, 2009).

Diversos teleósteos son gonocóricos (machos heterogaméticos o hembras heterogaméticas) (Devlin y Nagahama, 2002; Matsuda y Sakaizumi, 2009), es decir, los individuos se desarrollan sólo como hembras o machos y permanecen con el mismo sexo durante toda su vida. Es importante señalar que el estado final de madurez sexual alcanzado en los peces puede no reflejar su desarrollo gonadal inicial. Así como hay especies gonocóricas, existen otras que pueden desarrollarse inicialmente como hermafroditas y posteriormente formar ovarios o testículos funcionales (Devlin y Nagahama, 2002). Dentro de los hermafroditas secuenciales podemos distinguir dos grupos: las especies que maduran primero como machos pero después cambian a hembras (protándricos), y las especies que maduran primero como hembras y después cambian a machos (protóginos) (Francis, 1992).

En varios miembros de la familia Cyprinidae, como *Barbus tetrazona* y *Brachydanio rerio*, todos los individuos inician su desarrollo gonadal con ovarios, pero aproximadamente en la mitad de la población (antes de la maduración sexual), el tejido ovárico comienza a degenerar y la gónada es invadida por células somáticas adicionales (Takahashi, 1977; Takahashi y Shimizu, 1983; Francis, 1992). Durante la masculinización de la gónada se presenta un periodo de intersexualidad y al final, tales individuos resultan machos funcionales (Francis, 1992; Devlin y Nagahama, 2002). Al madurar sexualmente la proporción de sexos es 1:1 (Francis, 1992). En otras especies se ha reportado un período de intersexualidad juvenil, tal es el caso de *Salmo gairdneri* (Mrsic, 1930) y *Poecilia reticulata* (Dildine, 1936).

Varias familias de genes que intervienen en la determinación sexual de otras especies de vertebrados son similares en los peces, lo que sugiere una conservación en las vías de la determinación sexual (Von Hofsten y Olsson, 2005; Devlin y Nagahama, 2002). A continuación se describen los genes que hasta el momento han sido identificados en algunas especies de teleósteos.

WT1. El gen WT1 presenta dos isoformas en teleósteos, *wt1a* y *wt1b* (Perner *et al*, 2007; Klüver *et al*, 2009), se observa su expresión durante el desarrollo gonadal (Klüver *et al*, 2009). En medaka, *wt1a* se expresa en el mesodermo lateral durante la embriogénesis temprana y en las células somáticas del primordio gonadal. En adultos del pez cebra (*Danio rerio*), la mayor expresión de *wt1b* y *wt1a* se ha encontrado en las gónadas y en los riñones (Bollig *et al*, 2006).

Sf-1. El gen SF-1 y genes homólogos se expresan en las células esteroideogénicas y están



vinculados con la determinación sexual (Giuli *et al*, 1997). En el pez cebra, *Fflb* y *Ffld* son homólogos funcionales de SF-1. *Ffld* se encuentra en las células interrenales, en la hipófisis y en las gónadas de ambos sexos, sin embargo, muestran mayores niveles de expresión en las gónadas masculinas, expresándose en las células de Leydig y de Sertoli (Chai y Chan, 2000; Von Hofsten *et al*, 2005). SF-1 se ha propuesto como uno de los genes implicados en la determinación y diferenciación sexual en el pez cebra y, posiblemente, está involucrado en la regulación de la hormona anti-Mülleriana (Von Hofsten *et al*, 2005). En medaka (*Oryzias latipes*) (Watanabe *et al*, 1999), y en los salmones (*Oncorhynchus keta* y *Oncorhynchus nerka*) (Higa *et al*, 2000), también han sido identificados homólogos de SF-1.

Sox9. En teleósteos, Sox9 se ha relacionado con algunos eventos en la diferenciación sexual, y posiblemente desempeña un papel importante en el proceso. Ha sido identificado en la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) (Takamatsu *et al*, 1997; Vizziano *et al*, 2007), tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Ijiri *et al*, 2008), pez cebra (Chiang *et al*, 2001; Von Hofsten y Olsson, 2005), medaka (*Oryzias latipes*) (Yokoi *et al*, 2002), guppy (*Poecilia reticulata*) (Shen *et al*, 2007), *Cyprinus carpio* (Du *et al*, 2007) y en la anguila (*Monopterus albus*) (Zhou *et al*, 2003).

Dos isoformas del gen Sox9 han sido identificados en la trucha arcoíris: *Sox9a1* y *Sox9a2*. *Sox9a1* muestra un patrón de expresión de acuerdo con el dimorfismo sexual: mayores niveles de expresión se encuentran en los machos antes de la diferenciación sexual (Vizziano *et al*, 2007). En tilapia, Sox9 muestra una expresión diferencial entre las gónadas XX y XY, y después de la diferenciación sexual, es regulado positivamente en las gónadas XY (Nagahama, 1999; Ijiri *et al*, 2008). El patrón de expresión en la trucha arcoíris y en tilapia sugiere una participación significativa de Sox9 en la diferenciación testicular, similar a lo registrado en mamíferos y aves (Kent *et al*, 1996; Morais da Silva *et al*, 1996), conservando un papel importante para el desarrollo de los testículos en todos los grupos de vertebrados (Devlin y Nagahama, 2002).

En medaka, *Sox9a2* se expresa en las células somáticas de ambos sexos durante la diferenciación gonadal temprana; y es regulado positivamente en machos. El mantenimiento de la expresión de *Sox9a2* en machos corresponde a la fase de formación del lóbulo testicular, por lo cual, aunque *Sox9a2* no está involucrado en la determinación sexual, desempeña un papel importante en el desarrollo testicular (Nakamoto *et al*, 2005; Nakamura *et al*, 2008).

En el pez cebra también se han caracterizado dos isoformas de Sox9: *Sox9a* y *Sox9b*. Ambas



isoformas son consideradas ortólogas a Sox9 en tetrápodos. *Sox9a* se ha detectado en los testículos, cerebro, riñón y músculo, mientras que *Sox9b* sólo en el ovario (Chiang *et al*, 2001). Se ha registrado que mutaciones en *Sox9a* (mutaciones *jef*) en embriones homocigotos del pez cebra muestran malformaciones craneofaciales y falta de cartílago, un síndrome similar a la displasia campomélica en seres humanos, sin embargo, los mutantes son capaces de reproducirse, lo que indica que *Sox9a* no dirige la determinación y diferenciación sexual en esta especie (Yan *et al*, 2002; Von Hofsten y Olsson, 2005). Se ha propuesto que Sox9 se duplicó en algunos linajes de peces y su expresión se conserva en el tejido condrogénico (Yokoi *et al*, 2002; Zhou *et al*, 2003).

Dmrt1. En la trucha arcoíris, Dmrt1 se expresa específicamente en las gónadas masculinas y participa en la diferenciación de los testículos, su expresión comienza después de que Sox9 se expresa, pero antes de la diferenciación sexual morfológica (Marchand *et al*, 2000; Baron *et al*, 2005; Vizziano *et al*, 2007).

En tilapia, Dmrt1 muestra un patrón específico de expresión en las gónadas XY, lo que sugiere una importante función de este gen en la diferenciación testicular, mientras que en las gónadas XX no se expresa (Ijiri *et al*, 2008). En *Halichoeres tenuispinis*, se ha observado que la secuencia de Dmrt1 también es macho-específica (Jeong *et al*, 2009).

En el pez cebra, Dmrt1 se expresa desde la gónada indiferenciada, lo que sugiere que desempeña un papel durante el desarrollo de las gónadas, tanto en hembras como en machos (Guo *et al*, 2005).

En medaka, el gen Dmrt1 es autosómico y está involucrado en la diferenciación testicular (Kobayashi *et al*, 2004; Matsuda, 2005). Además, una copia funcional del gen DMY (DM-gen de dominio en el cromosoma Y) se encuentra en la región determinante del sexo en el cromosoma Y, y ha sido propuesto como el gen determinante del sexo en *Oryzias latipes* y *Oryzias curvinotus* (Matsuda *et al*, 2002; Nanda *et al*, 2002; Matsuda, 2005; Matsuda y Sakaizumi, 2009).

Amh (MIS). En una especie de anguila, una sustancia similar a MIS (*eSrs21*) fue identificada en las células de Sertoli de testículo inmaduro (Miura *et al*, 2002). Estos resultados indican que *eSrs21* y los genes relacionados con MIS pueden desempeñar un papel importante en la determinación y diferenciación sexual de esta especie. En el pez cebra, la expresión de MIS se encuentra principalmente en las células de Sertoli, donde se expresa junto con Sox9 y *ff1d* (homólogo a SF-1) (Rodríguez *et al*, 2005).



Cyp19 (aromatasa). El gen *Cyp19* codifica para el citocromo de la enzima aromatasa P450 (P450arom), una enzima clave en la conversión de andrógenos a estrógenos (Simpson *et al*, 1994). En los peces, dos genes codifican para las enzimas de la aromatasa: *Cyp19a1* y *Cyp19a2* (Kwon *et al*, 2001; Liu *et al*, 2007). El gen *Cyp19a1* está restringido a las gónadas, su función está relacionada con la diferenciación gonadal, mientras que *Cyp19a2* se expresa principalmente en el cerebro y esta indirectamente involucrado en la diferenciación sexual, probablemente a través del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Chang *et al*, 2005; Sawyer *et al*, 2006).

En la trucha arcoíris, la expresión de P450arom es mayor en los individuos XX antes de la diferenciación sexual, y más tarde, sólo durante la diferenciación del ovario (Guiguen *et al*, 1999; Vizziano *et al*, 2007). En tilapia, la expresión de P450arom es específica en hembras y comienza alrededor del día 5 después de la eclosión, antes de que la gónada se diferencie morfológicamente (Kwon *et al*, 2001).

Se ha reportado que en embriones del pez cebrá, en hembras la P450arom mantiene altos niveles de estrógeno, lo que conduce al desarrollo del ovario, mientras que en machos la enzima se inhibe, probablemente por la acción de los genes implicados en la diferenciación testicular (Von Hofsten y Olsson, 2005).

Foxl2. El patrón de expresión del gen *Foxl2* se relaciona con el dimorfismo sexual, con mayores niveles de expresión en el ovario, como en tilapia (Wang *et al*, 2004), trucha arcoíris (Baron *et al*, 2004; Vizziano *et al*, 2007), medaka (Nakamoto *et al*, 2006), y *Silurus meridionalis* (Liu *et al*, 2007), por lo que se cree que *Foxl2* juega un papel importante en la diferenciación del ovario (Liu *et al*, 2007).

En tilapia y medaka, la expresión de *Foxl2* se detecta inicialmente en las células somáticas que rodean a las células germinales de las gónadas que han comenzado la diferenciación hacia ovario, y su expresión se mantiene en las células de la granulosa, principalmente en los folículos previtelogénicos y vitelogénicos (Wang *et al*, 2004; Nakamoto *et al*, 2006).

En la trucha arcoíris los genes *Foxl2* (*Foxl2a* y *Foxl2b*), folistatina y *Cyp19a1* se han postulado como los genes que mantienen la diferenciación de las células de la granulosa y la producción de estrógenos (Baron *et al*, 2004; Vizziano *et al*, 2007). En tilapia, *Foxl2* posiblemente actúa regulando la expresión de la aromatasa, uniéndose directamente al promotor del gen *Cyp19a1* o interactuando con SF-1 para incrementar la transcripción y, por lo tanto, la producción de



estrógenos en la gónada femenina (Wang *et al*, 2007). En *S. meridionalis*, Foxl2 probablemente actúa sobre el eje hipotálamo-hipófisis-gónada y en las enzimas de la vía esteroidogénica (Liu *et al*, 2007).

Dax1. En la trucha arcoíris, la expresión de Dax1 tiene lugar en el desarrollo testicular, sugiriendo que está involucrado en su diferenciación (Baron *et al*, 2005). En cambio, en tilapia, los niveles de expresión de Dax1 son más altos en las gónadas XX que en las gónadas XY, por lo tanto, se cree que participa en la regulación de la diferenciación gonadal a través de la inhibición de la activación transcripcional de los genes que codifican para las enzimas esteroidogénicas, como ocurre en mamíferos (Wang *et al*, 2002; Ijiri *et al*, 2008).

En *D. labrax*, Dax1 parece ser importante en el desarrollo y la diferenciación gonadal, pero aparentemente no lo es para la determinación sexual (Martins *et al*, 2007). En medaka, la expresión de Dax1 sólo se ha detectado en el ovario de peces adultos, por medio de la represión de la enzima P450arom (Nakamoto *et al*, 2007).

El aparato reproductor femenino de peces teleósteos no desarrolla **conductos de Müller** y, por lo tanto, **no poseen oviductos** (Mendoza, 1943; Turner, 1947; Wourms, 1981; Wake, 1985; Mossman, 1987; Wourms *et al*, 1988; Schindler y Hamlett, 1993). Debido a esta característica morfológica, a diferencia de lo que ocurre en el resto de los vertebrados, el aparato reproductor femenino de teleósteos está formado exclusivamente por el ovario.

Una característica de la mayoría de las especies de teleósteos vivíparos es la fusión de los dos ovarios durante la embriogénesis, constituyendo una estructura única en la vida adulta, a diferencia de lo que ocurre en las especies ovíparas, en las cuales los ovarios son pareados (Turner, 1947; Wourms, 1981; Constanz, 1989; Schindler y Hamlett, 1993).

Los ovarios están localizados dorsalmente al tubo digestivo y sujetos a la pared del cuerpo por los mesovarios. De acuerdo con su estructura, en la mayoría de los teleósteos, los ovarios son de tipo **sacular** (cistovárico) debido a que presentan una cavidad interior o lumen (ovocele) llena de linfa (Turner, 1933; Hoar, 1969; Takashima e Hibiya, 1995).

Con relación a su estructura microscópica, la pared del ovario contiene elementos tisulares somáticos y germinales, los cuales se sitúan en cuatro capas que, de la periferia al lumen son: 1) serosa, 2) músculo liso, 3) estroma y 4) epitelio germinal. El epitelio germinal limita al lumen ovárico y contiene, además de células somáticas, a las ovogonias, las cuales proliferan a partir de



divisiones mitóticas. Posteriormente, de manera similar a lo observado en otros vertebrados, las ovogonias inician el proceso de meiosis, transformándose en ovocitos primarios, los cuales avanzan hasta la etapa de diplóteno de la profase I en donde ocurre el arresto meiótico. Los ovocitos primarios se rodean de células epiteliales foliculares constituyendo los folículos primarios, los cuales, a su vez, se rodearán por la membrana basal y las tecas durante el proceso de ovogénesis (Mendoza, 1943; Callard y Ho, 1987; Wourms *et al*, 1988; Selman *et al*, 1993; Lahnsteiner *et al*, 1997; Grier, 2000; Uribe, 2002).

La carencia de oviductos en teleósteos determina que, en las especies vivíparas, la gestación se lleve a cabo al interior del ovario (Wourms, 1981; Wourms *et al*, 1988; Wourms, 1999), es decir, la gestación es **intraovárica**.

Wourms y Lombardi (1992), y Wourms (1999), integran las características que la evolución de la viviparidad ha involucrado en los teleósteos, mencionando:

1. Cambio de la fertilización externa a la interna.
2. Retención de los embriones dentro del aparato reproductor de las hembras.
3. Utilización del ovario como sitio de gestación.
4. Modificaciones estructurales y funcionales del aparato reproductor de las hembras para la gestación intraovárica como: hipertrofia del epitelio ovárico interno, secreción de histótrofo; así como desarrollo de estructuras que permiten el intercambio metabólico entre los tejidos maternos y embrionarios durante la gestación (placenta trofotencial, placenta folicular).
5. Modificaciones de los mecanismos de control endocrinos de la reproducción.

En consecuencia, el ovario de los teleósteos vivíparos está especializado para llevar a cabo las funciones de **ovogénesis**, que es común a todas las especies, pero además, también ocurren la **recepción de espermatozoides**, la **fecundación**, la **gestación** y el **nacimiento** de las crías (Turner, 1947; Hoar, 1969; Wourms, 1981; Wourms *et al*, 1988).

La gestación intraovárica puede ocurrir al interior del folículo, como en la **gestación intrafolicular**, reportada para las familias Poeciliidae, Clinidae, Labrisomidae y Anablepidae (Bailey, 1933; Turner, 1947; Thibault y Schultz, 1978; Knight *et al*, 1985; Flores y Burns, 1993; Uribe *et al*, 2004), o bien puede ocurrir en la luz del ovario, como en la **gestación intraluminal**, reportada para las familias Goodeidae, Zoarcidae, Embiotocidae y Jenynsiidae (Mendoza, 1940; Turner, 1947; Schindler *et al*, 1988; Hollenberg y Wourms, 1994; Uribe *et al*, 2004, 2005, 2009).



La zona caudal de la región germinal del ovario forma el **gonoducto**, a través del cual ocurre la salida de las crías en las especies vivíparas, o los huevos en las especies ovíparas. El gonoducto se comunica al exterior a través del gonoporo. Por lo tanto, el **gonoducto** de teleósteos es un conducto formado por la zona caudal de la región germinal del ovario y no derivado de los conductos de Müller, como ocurre con los oviductos en los demás vertebrados (Mendoza, 1943; Turner, 1947; Hoar, 1969; Wake, 1985; Wourms *et al*, 1988; Wourms, 1999; Koob, 1999).

En consecuencia, entre los vertebrados, el gonoducto es una estructura exclusiva de teleósteos, la cual, tiene especial importancia al relacionar y separar la zona germinal del ovario del exterior del cuerpo.



II. ANTECEDENTES

La ciencia tiene una característica maravillosa, y es que aprende de sus errores, que utiliza sus equivocaciones para reexaminar los problemas y volver a intentar resolverlos, cada vez por nuevos caminos.
Ruy Pérez Tamayo

Diversos autores se han referido al gonoducto de teleósteos, aunque muy brevemente, tanto a su presencia como a algunas características morfológicas, mencionando que el gonoducto:

- **No es homólogo a los oviductos de los demás vertebrados que son derivados del conducto de Müller** (Mendoza, 1943; Turner, 1947; Hoar, 1969; Wake, 1985; Wourms et al, 1988; Wourms, 1999; Koob, 1999).
- **Es la porción caudal del ovario en continuidad con el peritoneo que desemboca en el gonoporo** (Philippi, 1908; Mendoza, 1943; Turner, 1947; Hoar, 1969; Nagahama, 1983; Wake, 1985; Álvarez del Villar, 1988; Wourms et al, 1988; Constantz, 1989; Lahnsteiner et al, 1997; Wourms, 1999; Koob, 1999; Potter y Kramer, 2000; Uribe et al, 2009).
- **Recibe y mantiene a los espermatozoides en especies con fecundación interna** (Turner, 1947; Wake, 1985; Potter y Kramer, 2000; Kobayashi e Iwamatsu, 2002).
- **Puede presentar sitios de almacenamiento de espermatozoides** (Hoar, 1969; Potter y Kramer, 2000; Kobayashi e Iwamatsu, 2002; Evans et al, 2003; Uribe et al, 2009).
- **Con relación a su estructura histológica contiene:**
 - ➔ **Serosa** (Lahnsteiner et al, 1997).
 - ➔ **Músculo liso con disposición circular en una delgada capa** (Turner, 1947; Heller, 1972; Lahnsteiner et al, 1997; Uribe et al, 2005, 2009).
 - ➔ **Tejido conjuntivo con fibras elásticas** (Lahnsteiner et al, 1997).
 - ➔ **Epitelio columnar simple con células ciliadas y no ciliadas** (Lahnsteiner et al, 1997; Uribe et al, 2005, 2009).

Adicionalmente, en teleósteos vivíparos al ser la gestación intraovárica, el gonoducto separa el sitio de gestación del exterior. Sin embargo, siendo tan escasas las referencias relacionadas al gonoducto, es una estructura que requiere analizarse e integrarse en el conjunto del estudio de la morfología y la fisiología del ovario de teleósteos.

Para el análisis de la estructura del gonoducto, realizada en este trabajo, se seleccionaron dos especies de peces teleósteos, una vivípara *Poecilia reticulata*, y otra ovípara *Brachydanio rerio*.



Para la selección de las especies se tomó en cuenta que los ejemplares de ambas especies estuvieran adaptados al cautiverio.

1. Características generales de *Poecilia reticulata* y *Brachydanio rerio*

La descripción de *P. reticulata* y de *B. rerio* se presenta de acuerdo con las características mencionadas por Mills y Vevers (1986).

A. *Poecilia reticulata* Peters, 1859

a. Clasificación

Clase: Actinopterygii

Orden: Cyprinodontiformes

Familia: Poeciliidae

Género y especie: *Poecilia reticulata* Peters, 1859

Nombre común: Guppy.

Sinonimias de *Poecilia reticulata*:

<i>Poecilia reticulata</i>	Peters, 1859
<i>Poecilioides reticulatus</i>	(Peters, 1859)
<i>Lebistes reticulatus</i>	(Peters, 1859)
<i>Haridichthys reticulatus</i>	(Peters, 1859)
<i>Girardinus reticulatus</i>	(Peters, 1859)
<i>Acanthophaelus reticulatus</i>	(Peters, 1859)
<i>Poecilia reticulatus</i>	Peters, 1859
<i>Lebistes poeciloides</i>	De Filippi, 1861
<i>Lebistes poeciloides</i>	De Filippi, 1861
<i>Girardinus guppil</i>	Günther, 1866
<i>Acanthophaelus guppil</i>	(Günther, 1866)
<i>Heterandria guppyi</i>	(Günther, 1866)

b. Descripción anatómica

P. reticulata carece de espinas dorsales y anales, los radios dorsales (7-8) y anales (8-9) son suaves. La longitud total del macho es de 3 cm y de la hembra es de 6 cm.



Los machos de esta especie tienen diversos colores tanto en el cuerpo como en las aletas dorsal y caudal, ésta última presenta una gran variedad de formas: redonda, en forma de pala, de lanza o de abanico.

c. Distribución y hábitat

Esta especie es nativa de América con amplia distribución en el Caribe, Venezuela y Brasil. Ha sido introducida en todos los continentes.

P. reticulata es bentopelágica, habita en aguas dulceacuícolas y salobres, tiene un intervalo de salinidad amplio (dH) 9-19, el pH del agua es entre 7-8. Requiere un clima tropical con temperaturas entre los 18-28°C, y abundante vegetación en el agua para su supervivencia. Se puede encontrar en gran diversidad de sitios como estanques de agua muy turbia, canales y hasta elevaciones altas. Se alimenta de zooplancton, insectos pequeños, detritus, gusanos, crustáceos, materia vegetal y comida desecada.

d. Reproducción

Los machos maduran sexualmente a los 2 meses y las hembras a los 3 meses de edad. Presentan fecundación interna. El período de gestación tiene una duración de 4 a 6 semanas. La hembra pare entre 20 y 100 alevines.

e. Importancia

P. reticulata es probablemente el más conocido de todos los peces tropicales de acuario y es uno de los peces más populares. Hacia 1860, Robert John Lechmere Guppy envió algunas parejas vivas al Museo Británico de Londres, lo que dio origen a su nombre común.

En la actualidad es utilizado como pez de ornato y como modelo biológico. Desde su introducción al mundo de la acuariofilia ha sido objeto de admiración por la gran diversidad de formas y colores que presenta.



B. *Brachydanio rerio* (Hamilton, 1822)

a. Clasificación

Clase: Actinopterygii

Orden: Cypriniformes

Familia: Cyprinidae

Género y especie: *Brachydanio rerio* (Hamilton, 1822)

Nombre común: Pez cebra, danio cebra.

Sinonimias de *Brachydanio rerio*:

<i>Cyprinus chapalio</i>	Hamilton, 1822
<i>Cyprinus rerio</i>	Hamilton, 1822
<i>Danio rerio</i>	(Hamilton, 1822)
<i>Brachydanio rerio</i>	(Hamilton, 1822)
<i>Perilampus striatus</i>	McClelland, 1839
<i>Danio lineatus</i>	Day, 1868
<i>Danio frankei</i>	(Meinken, 1963)
<i>Brachydanio frankei</i>	Meinken, 1963

b. Descripción anatómica

B. rerio presenta 31-32 vértebras, de 10-12 radios en su aleta anal, posee dos pares de barbillones maxilares que terminan sobre la mitad del opérculo, línea lateral ausente. Su cuerpo es aplanado, la hembra, cuyo vientre es más redondeado, es más grande que el macho, el tamaño máximo es de 5-6 centímetros de longitud total.

En la hembra el color del dorso tiene un tono verde aceitunado y el vientre es blanquecino, en machos, su color base es dorado. Se caracterizan por exhibir cuatro líneas horizontales en los costados del cuerpo de un vivo tono azul que se extienden desde el opérculo hasta los radios de la aleta caudal, tanto las líneas como el color se repiten exactamente igual en la aleta anal. La aleta dorsal también es de color verde aceituna y está rematada por un ribete blanco azulado, las aletas pectorales y abdominales son incoloras. El opérculo presenta unas manchas azules apenas reconocibles.



c. Distribución y hábitat

B. rerio es una especie nativa de Asia: Bangladesh, Bután, India, Myanmar y Nepal. Ha sido introducida en Colombia, Martinica, Estados Unidos de América, Filipinas, Japón y Sri Lanka.

Se desarrolla en clima tropical con un intervalo de temperatura de 18-25°C. Es una especie bentopelágica y dulceacuícola, encontrándose en arroyos, canales, riachuelos y estanques, se desplaza lentamente al pie de los cuerpos de agua estancados, particularmente los arrozales. Tolerancia un pH de 6-8 y una dureza del agua (dH) de 5-19. Se alimenta de gusanos, pequeños crustáceos, comida desecada y larvas de insectos.

d. Reproducción

Se estiman entre 21 y 60 huevos liberados por puesta. Los alevines viven de 48 a 72 horas con las provisiones del saco vitelino. El desarrollo desde la fecundación de los huevos hasta alcanzar la madurez sexual comprende entre 3-4 meses (Maack y Segner, 2003).

e. Importancia

Es una especie muy apreciada en acuariofilia, por lo cual tiene importancia comercial. También se usa para el control de mosquitos y como modelo biológico en investigación científica.



III. JUSTIFICACIÓN

El esqueleto de la ciencia son los hechos, pero los músculos y los nervios son el significado que se les confiere, y el alma de la ciencia son las ideas.
Ruy Pérez Tamayo

El gonoducto es una estructura de especial importancia en la reproducción de los peces teleósteos que relaciona a la zona germinal del ovario con el exterior. En las especies vivíparas el gonoducto se relaciona con el apareamiento, la circulación y almacenamiento de los espermatozoides y en especial, el aislamiento de las crías en desarrollo al interior del ovario del exterior del cuerpo y su nacimiento; en tanto que en especies ovíparas se relaciona con la oviposición.

Con base en las diferencias fisiológicas que se establecen en el ovario de acuerdo a la condición de viviparidad y oviparidad, el gonoducto debe presentar características especiales relacionadas con ambos tipos de reproducción.

Sin embargo, la información sobre el gonoducto es muy escasa, en particular, desde el punto de vista de su estructura microscópica y no se cuenta con referencias de sus cambios relacionados al ciclo reproductor.

Por lo cual, en el presente trabajo, se planteó el análisis histológico comparado del gonoducto de dos especies de teleósteos con distintos tipos de reproducción, una especie vivípara, *Poecilia reticulata*, y una especie ovípara, *Brachydanio rerio*. Asimismo, se propone contribuir al análisis de sus cambios morfológicos relacionados con las diferentes etapas del ciclo reproductor.



IV. OBJETIVOS

*El experimentador que no sabe lo que está buscando
no comprenderá lo que encuentra.
Claude Bernard*

1. Objetivo General

Definir y comparar las características estructurales del gonoducto en dos especies de teleósteos, una vivípara, *Poecilia reticulata*, y otra ovípara, *Brachydanio rerio*, durante tres etapas del ciclo reproductor.

2. Objetivos Particulares

- Describir la estructura histológica del gonoducto de ambas especies.
- Identificar las diferencias estructurales del gonoducto de *P. reticulata* en los estadios de previtelogénesis, vitelogénesis y gestación.
- Identificar las diferencias estructurales del gonoducto de *B. rerio* en los estadios de previtelogénesis, vitelogénesis y post-desove.
- Comparar las características histológicas del gonoducto de ambas especies con relación a su condición de viviparidad y oviparidad.



V. MATERIAL Y MÉTODO

¿Por qué esta magnífica tecnología científica, que ahorra trabajo y nos hace la vida más fácil, nos aporta tan poca felicidad? La respuesta es está, simplemente: porque aún no hemos aprendido a usarla con tino.
Albert Einstein

Se obtuvo un total de 30 hembras juveniles y adultas de ambas especies, distribuidas de la siguiente manera: 15 de *Brachydanio rerio*: 5 en previtelogénesis, 5 en vitelogénesis y 5 en post-desove, y 15 de *Poecilia reticulata*: 5 en previtelogénesis, 5 en vitelogénesis y 5 en gestación.

Los ejemplares utilizados se obtuvieron por donación del Acuario de la Facultad de Ciencias, UNAM, así como del Acuario Experimental de la Universidad Autónoma de Chapingo.

Los organismos se mantuvieron durante todo el estudio en el Acuario de la Facultad de Ciencias, UNAM, utilizando dos peceras comunitarias, una para cada especie, con abundante vegetación (*Elodea* sp.), con aireación las 24 horas del día, a una temperatura de 26°C y un fotoperíodo de 12/12 horas. El sexado se realizó con base en el dimorfismo sexual que presentan ambas especies. Durante una semana se les administró alimento medicado (Tetra Medica[®]), como medida preventiva de posibles enfermedades o parásitos. Posteriormente se utilizó alimento balanceado (TetraMin[®] “The Rich Mix”), así como alimento vivo, el cual consistió en gusanos de fango (*Tubifex* sp.) y artemia (*Artemia* sp.).

Se establecieron seis lotes, tres para cada especie, con una pareja de organismos (hembra-macho) en cada uno, con la finalidad de conocer el tiempo de liberación de huevos o nacimiento de crías para seleccionar hembras en las etapas fisiológicas en previtelogénesis, vitelogénesis, post-desove y gestantes.

La obtención de organismos previtelogénicos de *B. rerio* fue a partir de alevines, los cuales se mantuvieron en una pecera con capacidad de 10 litros, con aireación continua. Los organismos se alimentaron mediante infusorios durante ocho semanas, los cuales consistieron en paja y hojas de alfalfa macerados que se dejaron reposar durante quince días para la proliferación de organismos ciliados, posteriormente se les administró a las crías alimento balanceado. Las etapas de vitelogénesis y post-desove se obtuvieron a partir de organismos adultos. Asimismo, en el caso de *P. reticulata*, se utilizaron organismos juveniles para la etapa de previtelogénesis, y adultos para las etapas de vitelogénesis y gestación.

Los gonoductos analizados de ambas especies se seleccionaron de acuerdo con las tres etapas



del ciclo reproductor. Previamente a la disección de los ejemplares, se agregó al agua unas gotas de tranquilizante para peces (Sedate, Tropical Fish[®], Tranquilizer/Calmer). Los peces se sacrificaron con una punción en la médula espinal y se realizó un corte longitudinal-ventral para disecar los ovarios incluyendo los gonoductos.

Los órganos obtenidos se procesaron mediante la técnica histológica (Cuadro 2).

Cuadro 2. Procesamiento de tejidos para cortes en paraplast.

T° Ambiente	Fijación:	
	1. Fijación del tejido con solución de Bouin durante	4 hrs.
	2. Lavado con agua corriente.	
	Deshidratación con alcoholes graduales:	
	3. Alcohol 50%	1 hr.
	4. Alcohol 70%	3 hrs.
	5. Alcohol 80%	1 hr.
	6. Alcohol 96%	1.30 hrs.
	7. Alcohol 100%	1.30 hrs.
T° 56-58° C	Aclaración:	
	8. Alcohol 100%-Xilol	1 hr.
	9. Xilol	12 hrs.
	Inclusión en paraplast:	
	10. Paraplast-Xilol	45 min.
	11. Paraplast I	45 min.
	12. Paraplast II	45 min.

Se realizaron cortes seriados longitudinales y transversales de 7µm de grosor con un microtomo de rotación (American Optical). Se aplicaron cuatro técnicas de tinción (Aguilar *et al*, 1996):

- **Hematoxilina-eosina.** Revela un panorama general del tejido, límites nucleares y celulares, afinidades basófilas y acidófilas y muestra un contraste entre los tejidos conjuntivo y epitelial.
- **Tricrómica de Masson.** Contrasta núcleos celulares, diferencia fibras musculares de fibras colágenas del tejido conjuntivo y células sanguíneas.
- **Ácido peryódico-reactivo de Schiff (PAS).** Determina la presencia de macromoléculas ricas en hidratos de carbono como el glucógeno, glucoproteínas presentes en secreciones de glándulas exocrinas y define membranas basales.
- **Azul alciano.** Pone en evidencia los vasos sanguíneos y las fibras colágenas, el cartílago y secreciones glucoproteicas en glándulas exocrinas.



Las preparaciones histológicas obtenidas se observaron en un microscopio óptico Olympus CX31. Se tomaron fotomicrografías de las estructuras seleccionadas utilizando un fotomicroscopio Zeiss III, con película de color Fujicolor o Kodak ASA 100, así como con una cámara digital Olympus C-5050ZOOM adaptada a dos microscopios: uno óptico, Olympus CX31, y uno estereoscópico, Olympus SZ61.

Además, se procesaron dos gonoductos de *P. reticulata* en previtelogénesis para la obtención de cortes semifinos y finos, utilizando la técnica para EPON (Cuadro 3).

Cuadro 3. Procesamiento de tejidos para microscopía electrónica. Técnica para EPON.

T°4°C	Fijación: 1. Fijación del tejido: con el fijador de elección (Karnovsky) 1 hr. 2. Lavado con buffer de cacodilato de sodio 0.1M durante 1 hr. 3. Postfijación con tetraóxido de Osmio 1% en buffer de Zelergust (peligroso) 1 hr. 4. Lavado con agua destilada.
T°Ambiente	Deshidratación en alcoholes graduales: 5. Alcohol 70% 10 min. 6. Alcohol 80% 10 min. 7. Alcohol 90% 10 min. 8. Alcohol 95% 10 min. 9. Alcohol 100%, dos cambios 20 min. c/u. 10. Acetonitrilo, dos cambios 20 min. c/u. Impregnación: 11. EPON-acetonitrilo 1:1 1 hr. 12. EPON-acetonitrilo 2:1 1 hr. 13. EPON puro 24 hrs.
T°60°C	Inclusión: 14. Con EPON puro, en moldes adecuados, dejar en una estufa durante 24 hrs.

Para conocer los cambios morfológicos entre las etapas fisiológicas analizadas, se tomaron 3 medidas morfométricas del gonoducto, en tres ejemplares distintos por cada especie.

Los datos morfométricos que se registraron para ambas especies fueron: longitud total del gonoducto, longitud de la región cefálica, intermedia y caudal, pliegues de la mucosa (largo X ancho), y altura del epitelio. Adicionalmente, sólo en *P. reticulata* se tomó el registro de los centros melanomacrofágicos (largo X ancho); asimismo, en *B. rerio*, se registró la longitud de los cilios.

La estadística descriptiva de las variables analizadas del gonoducto se realizó con el programa Statistica 6.



VI. RESULTADOS

*Si la estructura no nos dice algo sobre la función,
no la hemos observado correctamente.
Szent-Györgyi*

1. Estructura de los gonoductos de *Poecilia reticulata* y *Brachydanio rerio*

Características morfológicas similares de ambas especies

El gonoducto de *Poecilia reticulata* y *Brachydanio rerio* es la zona caudal de la región germinal del ovario, la cual, a través del gonoporo, desemboca al exterior del cuerpo (*P. reticulata*: Figs. 1b; 5a; 6a; *B. rerio*: Figs. 16a; 20a). En consecuencia, el gonoducto comprende desde el límite de la región germinal del ovario hasta el gonoporo, por lo tanto, limita y aísla a la región germinal del ovario del exterior (*P. reticulata*: Figs. 1b; 5a; 6a; *B. rerio*: Figs. 16a; 20a).

Tanto el ovario como el gonoducto están situados dorsalmente al tubo digestivo (*P. reticulata*: Figs. 1a-b; 6a; 10b; *B. rerio*: Figs. 15a-b; 16a; 20a; 21a) y sostenidos por el mesovario, asimismo, se encuentran en posición ventral al conducto mesonéfrico (*P. reticulata*: Figs. 5a; 6b; 7d; 8a; *B. rerio*: Figs. 15a,c; 16a; 17c-d; 19c; 20a; 21a-f; 22a), éste último desemboca paralelo al gonoducto en la región cercana al gonoporo, por lo cual, ambos conductos forman una sola comunicación al exterior (*P. reticulata*: Fig. 6b; *B. rerio*: Figs. 19a-c).

La estructura del ovario es de tipo sacular debido a la presencia de una cavidad interior o lumen a todo su largo, la cual se continúa hasta el gonoducto. La pared del ovario, tanto en la zona germinal como en el gonoducto, está integrada histológicamente por cuatro capas tisulares, las cuales, de la periferia hacia el interior son: serosa, músculo liso, tejido conjuntivo vascularizado laxo y epitelio cúbico, columnar o estratificado que limita el lumen interior (*P. reticulata*: Fig. 13e; *B. rerio*: Fig. 21e-f). El gonoducto está integrado exclusivamente por células somáticas, en tanto, la región germinal del ovario contiene células germinales en diversos estadios de desarrollo, rodeadas de tejido somático. Durante la vitelogénesis, la región germinal del ovario aumenta de tamaño debido al enorme crecimiento de los ovocitos por el depósito de vitelo.

En la estructura del gonoducto de *P. reticulata* y *B. rerio* se caracterizaron tres regiones, las cuales se nombraron como: **región cefálica**, **región intermedia** y **región caudal**. Cada una de estas regiones se diferenció por sus características estructurales:

1. Región cefálica (Rce), está localizada en el extremo caudal de la zona germinal del ovario, en donde se inicia el gonoducto (*P. reticulata*: Figs. 1a; 2a; 5a; 6a; 10a; *B. rerio*: Figs. 15a,c; 16a;



20a; 21a-b). Es una región que contiene pliegues largos y delgados de la mucosa hacia el lumen, formando una estructura similar a un cuello (*P. reticulata*: Figs. 1a; 5a; 6a; 7a; 10a; *B. rerio*: Figs. 15c; 16a,c; 17a-b). El lumen de esta región del gonoducto es el más estrecho.

2. Región intermedia (Ri), contiene pliegues cortos y gruesos de la mucosa hacia el lumen distribuidos de manera irregular (*P. reticulata*: Figs. 2a-b; 5a-c; 8a; 10a-b; 13a-b,d; *B. rerio*: Figs. 15b,d; 17a,c-d; 18a-b). El lumen es más amplio, comparado con el observado en la región cefálica (*P. reticulata*: Figs. 2a-b; 6a; 10a; *B. rerio*: Figs. 16a; 17a-b; 21a-b). Contiene linfocitos, neutrófilos, eosinófilos y macrófagos ampliamente distribuidos, localizados tanto en la matriz extracelular del tejido conjuntivo como entre las células epiteliales y en el lumen (*P. reticulata*: Fig. 2d; *B. rerio*: Figs. 18b,d-e; 19c-d).

3. Región caudal (Rca), es la que tiene comunicación con el exterior (*P. reticulata*: Figs. 1b; 2a; 5a; 6a; 7a; 10b; *B. rerio*: Figs. 15b,f; 16a; 19a-d; 20a). De manera similar a lo mencionado en la región anterior, muestra células plasmáticas, linfocitos, neutrófilos, eosinófilos y macrófagos en la matriz extracelular del tejido conjuntivo, entre las células epiteliales y en el lumen. Estos tipos celulares son más abundantes en el gonoporo, estructura donde el gonoducto desemboca al exterior (*P. reticulata*: Fig. 6e). Alrededor del gonoporo el epitelio que limita al gonoducto es estratificado (*P. reticulata*: Figs. 6e; 7f; 8b; *B. rerio*: Figs. 16e; 21f), formado por 3 a 5 capas de células de forma irregular.

2. Características morfológicas del gonoducto de *Poecilia reticulata*

La regionalización del gonoducto de *P. reticulata* se delimitó de acuerdo con las características morfológicas distintivas que presenta, las cuales son:

- a) Región cefálica (Rce): presenta pliegues de la mucosa en forma de cuello que se extienden en el lumen, los cuales indican los límites de esta región, tanto para separarla de la zona germinal del ovario como de la región intermedia del gonoducto (Figs. 1a-c; 2a-b; 3a; 5a; 6a; 7a,c; 10a).
- b) Región intermedia (Ri): comprende desde el límite de los pliegues de la mucosa de la región cefálica, hasta el inicio de los pliegues de la mucosa de la región caudal, esta última coincide con una evaginación ventral formada por tejido conjuntivo y músculo liso (Figs. 2a; 3a; 5a; 6a; 7a; 10a). Es decir, esta región se encuentra delimitada por pliegues de la mucosa que forman dos cuellos, el primero en la región cefálica y el segundo en la región caudal.



c) Región caudal (Rca): su límite anterior es el inicio de los pliegues de la mucosa (segundo cuello) y una evaginación ventral, y su límite posterior desemboca en el gonoporo (2a; 5a; 6a-b; 7a-b; 8a; 10b).

Se presentan de manera comparativa los datos morfométricos del gonoducto de *P. reticulata* en las tres etapas fisiológicas analizadas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Datos morfométricos del gonoducto de *P. reticulata* en previtelogénesis, vitelogénesis y gestación. Los valores promedio están expresados en micras (μm).

	Previtelogénesis (Media\pmDE)	Vitelogénesis (Media\pmDE)	Gestación (Media\pmDE)
Longitud del gonoducto	1849.53 \pm 59.95	1773.32 \pm 81.77	1796.83 \pm 107.66
Región cefálica			
Longitud	667.89 \pm 59.95	505.62 \pm 64.60	485.26 \pm 43.28
Pliegues de la mucosa (cuello)	245.58 \pm 49.06 largo 67.08 \pm 29.48 ancho	325.09 \pm 26.24 largo 17.78 \pm 6.02 ancho	338.43 \pm 48.33 largo 39.41 \pm 8.41 ancho
Altura del epitelio	3.50 \pm 0.72	3.65 \pm 0.48	6.94 \pm 1.15
Región intermedia			
Longitud	630.99 \pm 78.11	599.14 \pm 23.47	699.35 \pm 107.66
Pliegues de la mucosa	62.11 \pm 13.72 largo 45.35 \pm 5.79 ancho	48.36 \pm 1.59 largo 20.17 \pm 4.43 ancho	61.71 \pm 4.88 largo 35.37 \pm 11.35 ancho
Altura del epitelio	5.60 \pm 1.98	9.75 \pm 1.42	8.77 \pm 1.38
Centros melanomacrofágicos	37.72 \pm 4.96 largo 19.76 \pm 6.00 ancho	No se observaron	131.79 \pm 19.47 largo 88.43 \pm 8.18 ancho
Región caudal			
Longitud	550.65 \pm 190.59	668.56 \pm 136.28	612.22 \pm 107.66
Pliegues de la mucosa (cuello)	49.47 \pm 8.84 largo 6.17 \pm 2.24 ancho	62.81 \pm 13.89 largo 8.14 \pm 4.56 ancho	149.84 \pm 11.94 largo 21.44 \pm 3.64 ancho
Altura del epitelio	2.92 \pm 0.43	5.05 \pm 0.73	5.57 \pm 1.05
Altura del epitelio (zona glandular)	4.78 \pm 0.70	21.84 \pm 2.79	13.56 \pm 1.63
Centros melanomacrofágicos	No se observaron	No se observaron	154.50 \pm 27.68 largo 54.13 \pm 27.89 ancho

Las características morfológicas del gonoducto de *Poecilia reticulata* se describen a continuación.



A. Previtelogénesis

La longitud total promedio del gonoducto durante esta etapa fisiológica fue de $1849.53 \pm 59.95 \mu\text{m}$ (Cuadro 4).

a. Región cefálica (Rce)

La longitud promedio fue de $667.89 \pm 59.95 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). Se observaron pliegues largos y delgados de la mucosa hacia el lumen en forma de cuello, limitando la zona germinal del ovario (Figs. 1a,c-d). Estos pliegues mostraron un promedio de $245.58 \pm 49.06 \mu\text{m}$ de largo X $67.08 \pm 29.48 \mu\text{m}$ de ancho (Cuadro 4). Los pliegues están rodeados por epitelio cúbico con características similares al observado en su base. La altura promedio del epitelio fue de $3.50 \pm 0.72 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). El tejido conjuntivo subyacente es laxo (Figs. 1c-d). No se observaron elementos del sistema inmunológico en esta región.

b. Región intermedia (Ri)

La longitud promedio fue de $630.99 \pm 78.11 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). Mostró pliegues cortos y gruesos de la mucosa (Figs. 2a-b), distintos a los pliegues que forman el cuello en las regiones cefálica y caudal, cuyos valores promedio fueron $62.11 \pm 13.72 \mu\text{m}$ de largo X $45.35 \pm 5.79 \mu\text{m}$ de ancho (Cuadro 4). Presentó epitelio cúbico, con una altura promedio de $5.60 \pm 1.98 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). No presentó formación de glándulas.

Se observaron elementos del sistema inmunológico como células plasmáticas, linfocitos y macrófagos en la luz del gonoducto (Figs. 2b,d). Además, inmersos en el tejido conjuntivo se localizaron centros melanomacrofágicos, los cuales son agrupaciones celulares de linfocitos, macrófagos y melanocitos (Figs. 1a,d-f). Los centros melanomacrofágicos mostraron un valor promedio de $37.72 \pm 4.96 \mu\text{m}$ de largo X $19.76 \pm 6.00 \mu\text{m}$ y de ancho (Cuadro 4).

c. Región caudal (Rca)

La longitud promedio fue de $550.65 \pm 190.59 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). Al inicio de esta región, en la zona ventral, el tejido conjuntivo y, especialmente el músculo liso, mostró un mayor desarrollo formando una evaginación gruesa y alta que reduce el lumen del gonoducto en el extremo apical de esta región (Figs. 1b; 2a; 3a). Además, se observó que este estrechamiento de la luz del gonoducto también es debido a los pliegues de la mucosa que formaron una estructura similar a un cuello, parecido al observado en la región cefálica, pero los pliegues son más cortos y delgados (Figs. 2a),



cuyos valores promedio fueron $49.47 \pm 8.84 \mu\text{m}$ de largo X $6.17 \pm 2.24 \mu\text{m}$ de ancho (Cuadro 4).

Presentó epitelio cúbico que se estratifica hacia el límite con el exterior, en el cual se pudieron observar microvellosidades en su extremo apical (Figs. 4a-c). La altura promedio del epitelio fue de $2.92 \pm 0.43 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). El lumen es más estrecho conforme se acerca a su desembocadura en el gonoporo.

Asimismo, se observó una zona glandular formada por invaginaciones de la mucosa (Figs. 2a,c; 3a,c-d). Estas invaginaciones están limitadas por un epitelio columnar con una altura promedio de $4.78 \pm 0.70 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). Las células epiteliales mostraron su núcleo situado basalmente y el citoplasma apical ligeramente acidófilo, así como secreciones en el lumen (Fig. 3d).

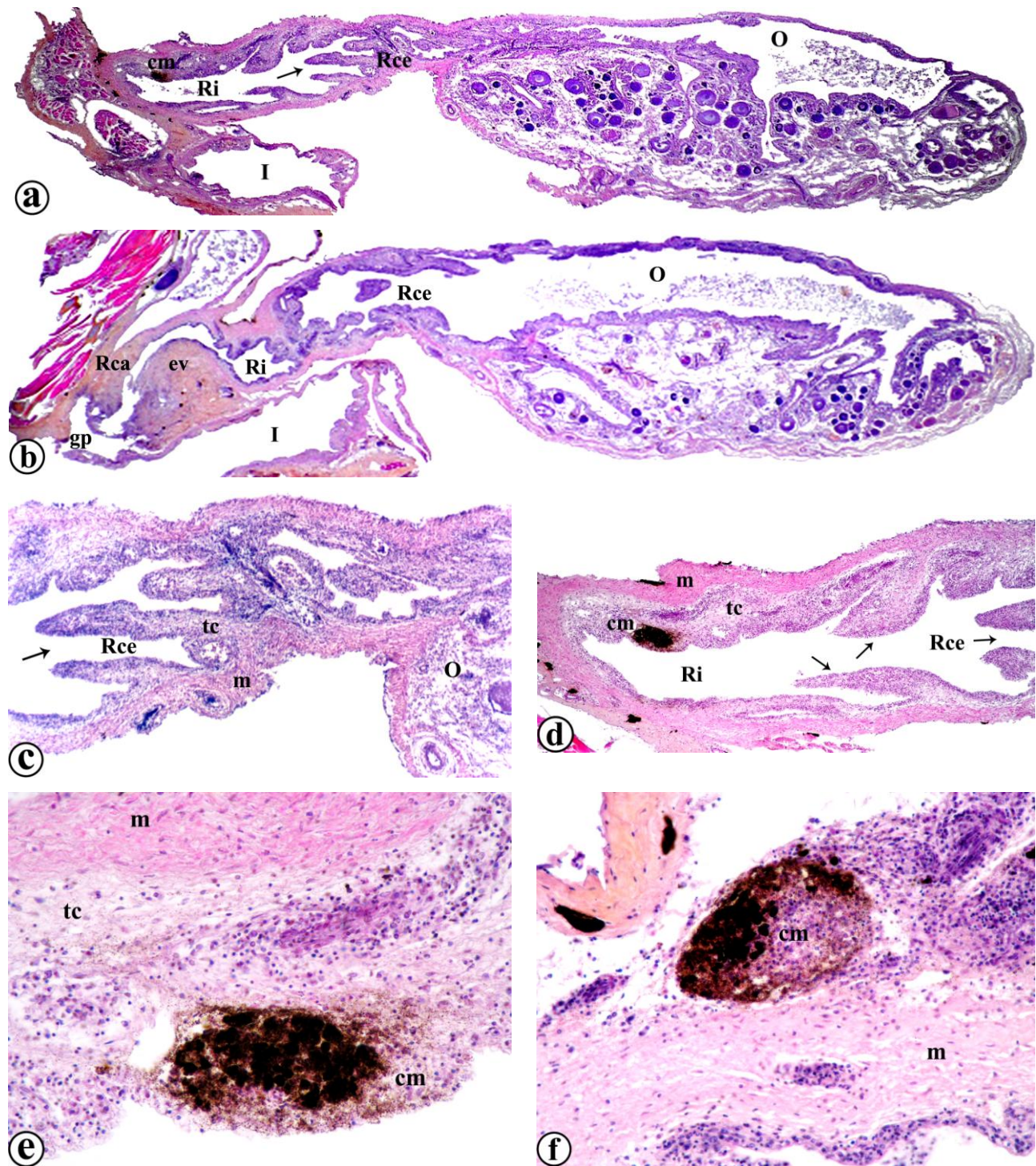


Figura 1. Ovario y gonoducto de *Poecilia reticulata* en previtelogénesis. a) Pliegues (→) de la región cefálica (Rce) del gonoducto. Centro melanomacrofágico (cm) en la región intermedia (Ri) del gonoducto. Ovario (O). Intestino (I). H-E 3X. **b)** Región cefálica (Rce), intermedia (Ri) y caudal (Rca) del gonoducto, comunicándose con el gonoporo (gp). Evaginación ventral (ev) del tejido conjuntivo y músculo liso. Ovario (O). Intestino (I). H-E 3.5X. **c)** Detalle de la figura (a). Pliegues (→) de la región cefálica (Rce) del gonoducto. Tejido conjuntivo (tc). Músculo liso (m). Ovario (O). H-E 16X. **d)** Pliegues (→) de la región cefálica (Rce) del gonoducto. Centro melanomacrofágico (cm) en la región intermedia del gonoducto. Tejido conjuntivo (tc). Músculo liso (m). H-E 10X. **e)** Detalle de la figura (d). Centro melanomacrofágico (cm). Tejido conjuntivo (tc). Músculo liso (m). H-E 40X. **f)** Centro melanomacrofágico (cm) en la región intermedia (Ri) del gonoducto. Músculo liso (m). H-E 40X.

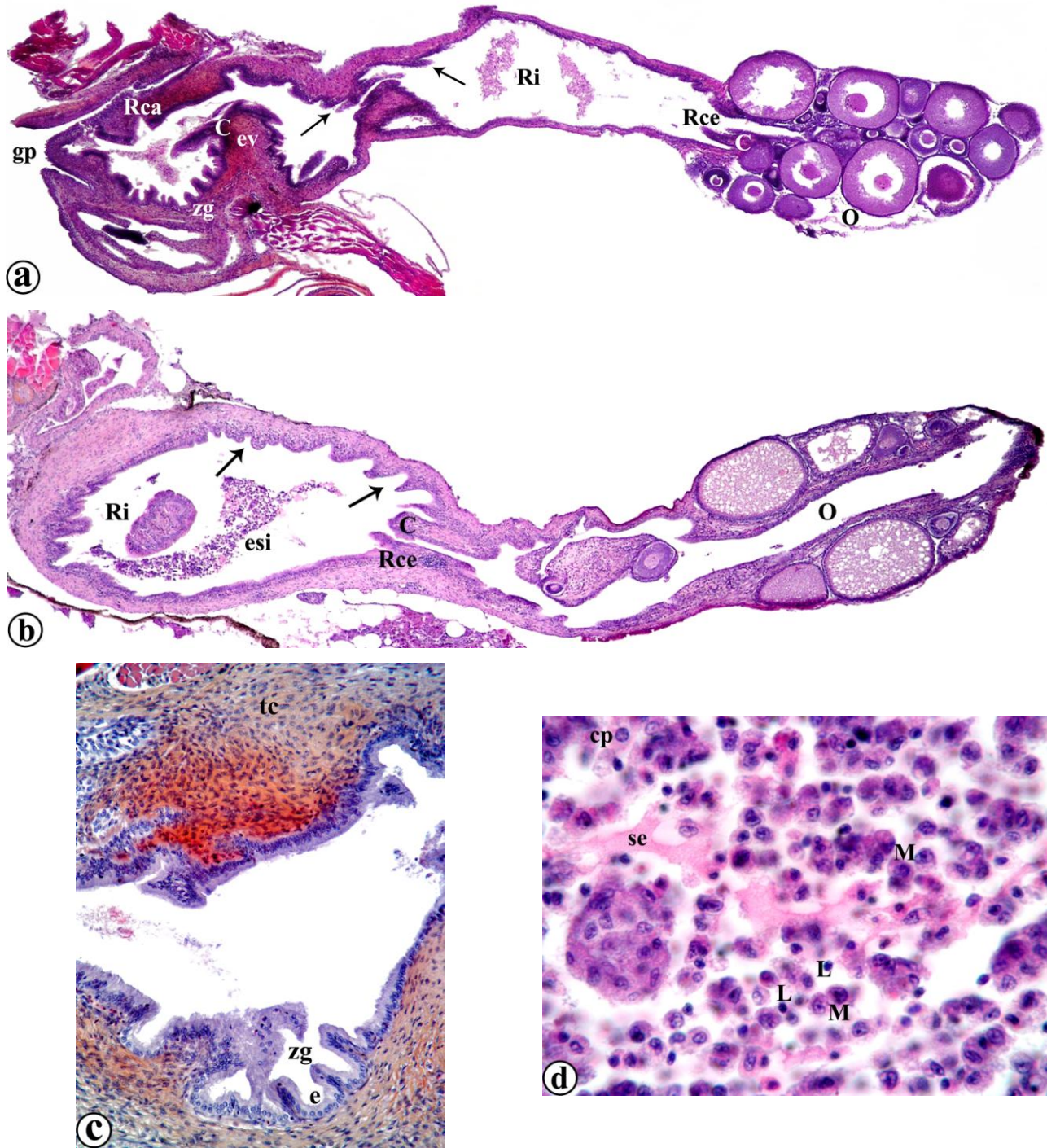


Figura 2. Ovario y gonoducto de *Poecilia reticulata* en previtelogénesis. a) Región cefálica (Rce), intermedia (Ri) y caudal (Rca) del gonoducto, adyacente al gonoporo (gp). Pliegues de la región cefálica (Rce) y caudal (Rca) del gonoducto formando un cuello (C). Pliegues (→) de la región intermedia (Ri) del gonoducto. Evaginación ventral (ev) del tejido conjuntivo y músculo liso adyacente a la zona glandular (zg) de la región caudal (Rca) del gonoducto. H-E 4X. **b)** Cuello (C) de la región cefálica (Rce) del gonoducto. Pliegues (→) y elementos del sistema inmunológico (esi) en la luz de la región intermedia (Ri) del gonoducto. Ovario (O). H-E 4X. **c)** Epitelio columnar (e) en la zona glandular (zg) de la región caudal (Rca) del gonoducto. H-E 40X. **d)** Detalle de la figura (b). Macrófagos (M). Linfocitos (L). Célula plasmática (cp). Secreciones (se). H-E 100X.

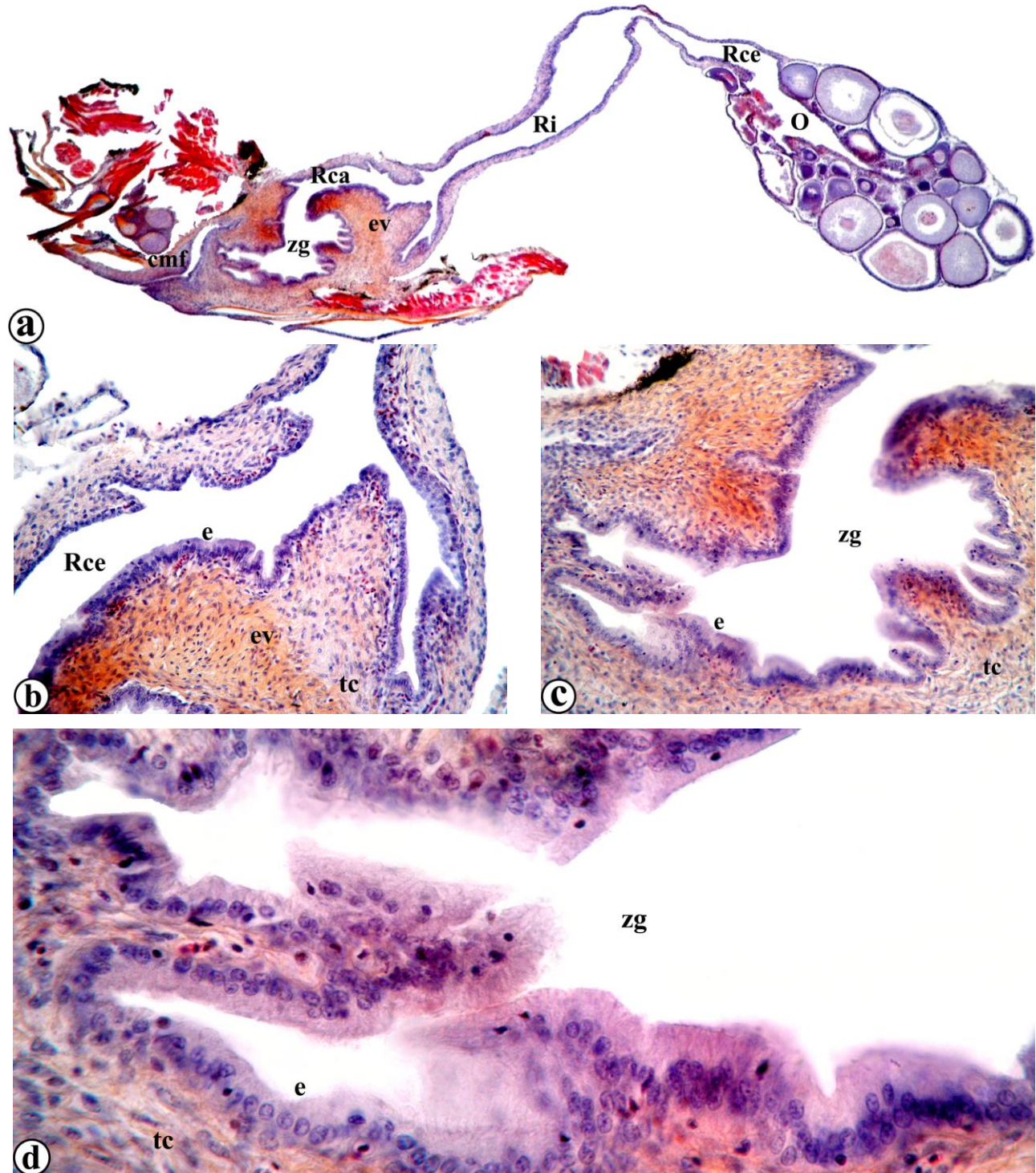


Figura 3. Ovario y gonoducto de *Poecilia reticulata* en previtelogénesis. a) Región cefálica (Rce), intermedia (Ri) y caudal (Rca) del gonoducto. Evaginación ventral (ev) del tejido conjuntivo y músculo liso, adyacente a la zona glandular (zg) de la región caudal (Rca) del gonoducto. Ovario (O). Conducto mesonéfrico (cmf). H-E 4X. **b)** Detalle de la figura (a). Evaginación ventral (ev) del tejido conjuntivo (tc) y músculo liso de la región caudal (Rca) del gonoducto. Epitelio columnar (e). H-E 40X. **c-d)** Detalles de la figura (a). Epitelio columnar (e) en la zona glandular (zg) de la región caudal del gonoducto. Tejido conjuntivo (tc). c) H-E 40X. d) H-E 100X.

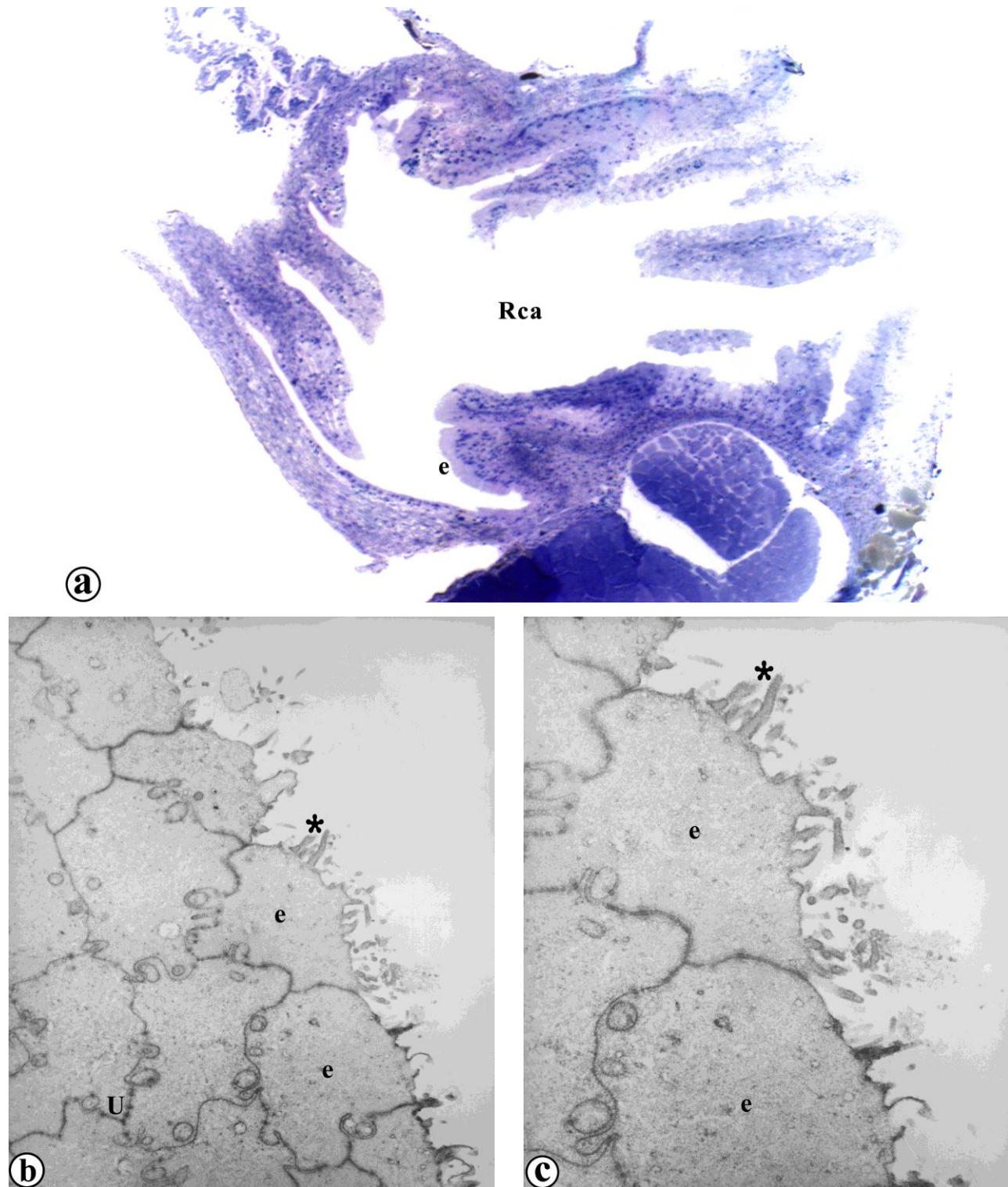


Figura 4. Gonoducto de *Poecilia reticulata* en previtelogénesis. a) Epitelio estratificado (e) de la región caudal (Rca) del gonoducto. Azul de Toluidina corte semi-fino 2 μ m. **b-c)** Detalle del epitelio estratificado (e) de la región caudal (Rca) del gonoducto, donde se observan uniones estrechas (U) entre las células epiteliales, así como microvellosidades (*) en su extremo apical. b) ME 1 μ m. c) ME 500nm.



B. Vitelogénesis

La longitud total promedio del gonoducto durante esta etapa fisiológica fue de $1773.32 \pm 81.77 \mu\text{m}$ (Cuadro 4).

Se observaron espermatozoides dispersos en el lumen en las tres regiones del gonoducto (Figs. 8a-c; 9a-c) y almacenamiento de espermatozoides en invaginaciones del epitelio en la región germinal del ovario (Figs. 9d-e). Al llegar a los sitios de almacenamiento, los espermatozoides formaron pequeños grupos asociados a las células epiteliales de la región germinal del ovario, dispuestos con las cabezas dirigidas hacia el ápice de las células epiteliales y los flagelos dirigidos hacia el lumen.

a. Región cefálica (Rce)

La longitud promedio fue de $505.62 \pm 64.60 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). Se observaron pliegues largos y delgados de la mucosa hacia el lumen en forma de cuello, limitando la zona germinal del ovario (Figs. 5a; 6a; 7a,c), con características similares a las observadas en el estadio de previtelogénesis. Estos pliegues mostraron un promedio de $325.09 \pm 26.24 \mu\text{m}$ de largo X $17.78 \pm 6.02 \mu\text{m}$ de ancho (Cuadro 4). Se observaron espermatozoides, estando la mayor parte de ellos dispersos en la luz del gonoducto y, en menor proporción, con sus cabezas situadas hacia la región apical de las células epiteliales. La altura promedio del epitelio fue de $3.65 \pm 0.48 \mu\text{m}$ (Cuadro 4).

b. Región intermedia (Ri)

La longitud promedio fue de $599.14 \pm 23.47 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). A lo largo de esta región se presentaron pliegues cortos y gruesos de la mucosa (Figs. 5a,c; 6a-b; 7a,b; 8a), cuyos valores fueron $48.36 \pm 1.59 \mu\text{m}$ de largo X $20.17 \pm 4.43 \mu\text{m}$ de ancho (Cuadro 4). El epitelio cúbico de esta región tuvo una altura promedio de $9.75 \pm 1.42 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). También se observaron espermatozoides con características similares descritas en la región cefálica. No se observó formación de glándulas ni de elementos del sistema inmunológico.

c. Región caudal (Rca)

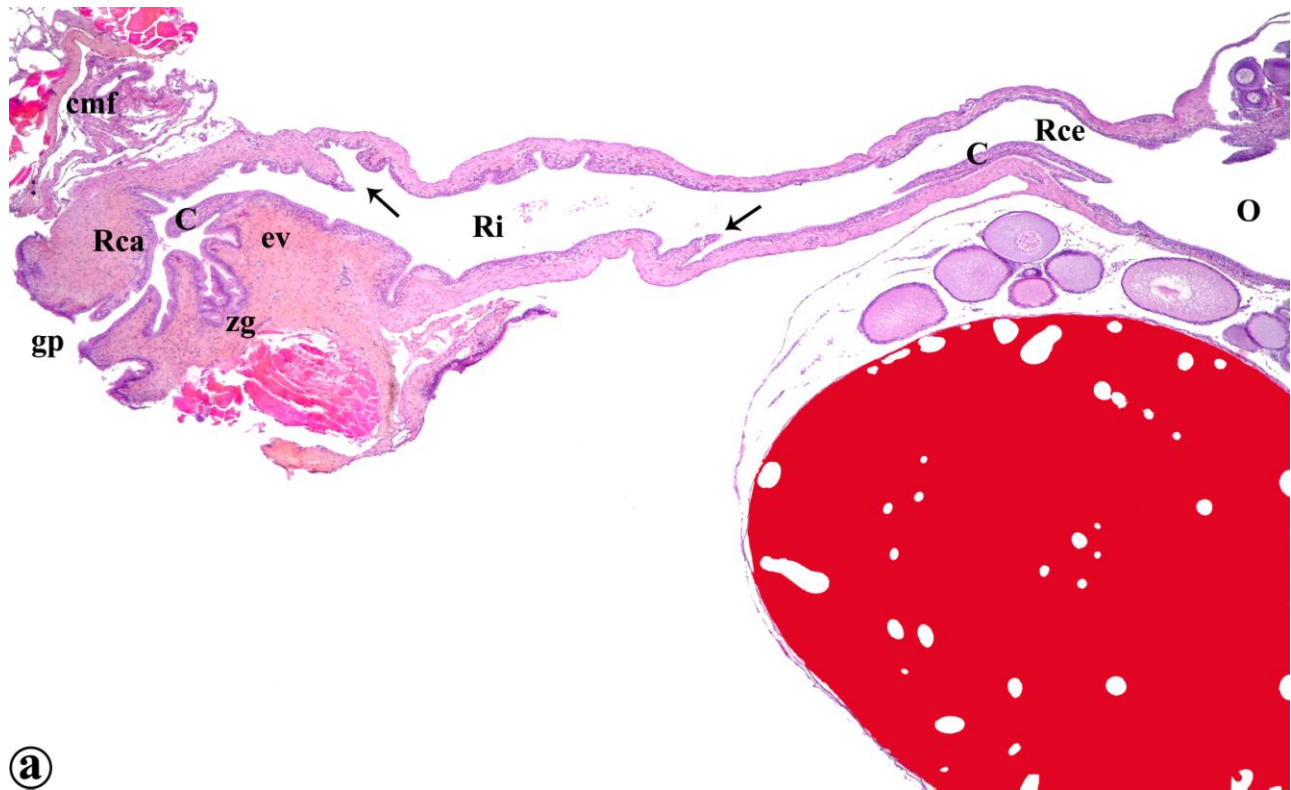
La longitud promedio fue de $668.56 \pm 136.28 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). Mostró pliegues de la mucosa formando una estructura similar a un cuello (Figs. 5a-c; 6a-b; 7a-b) con valores promedio de $62.81 \pm 13.89 \mu\text{m}$ de largo X $8.14 \pm 4.56 \mu\text{m}$ de ancho (Cuadro 4), limitados por un epitelio columnar, con una altura promedio de $5.05 \pm 0.73 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). Similar a lo observado en la previtelogénesis,



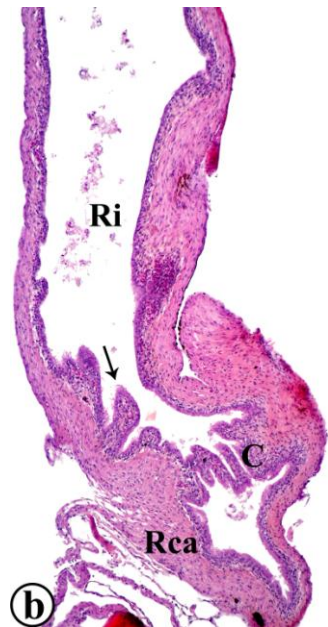
ventralmente a esta zona, el tejido conjuntivo y el músculo liso formaron una evaginación ventral hacia la luz del gonoducto (Figs. 5a-c; 6a-b; 7a-b; 8a). Esta evaginación es adyacente a una zona glandular, la cual forma varias invaginaciones (5-8) en posición ventral (Figs. 6a-c; 7a-b), y se sitúa caudalmente a esta evaginación muscular (Figs. 5a,c; 6a-d; 7a-b). Además, en la zona glandular, se observaron secreciones hacia el lumen del gonoducto (Fig. 6d). Las células glandulares son columnares, similares entre sí, tanto en su altura como en su forma (Fig. 6d), con una altura promedio de $21.84 \pm 2.79 \mu\text{m}$ (Cuadro 4), con núcleo claramente basal y citoplasma ligeramente acidófilo (Figs. 6c-d).

Se observaron abundantes espermatozoides asociados a la región apical de las células epiteliales del gonoducto así como otros dispersos en su luz (Figs. 8a-c; 9a-c).

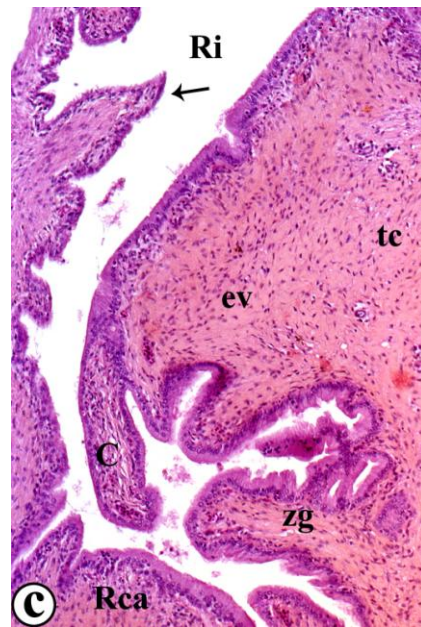
Tanto en la luz de la zona más caudal de esta región como en el gonoporo se observaron abundantes células del sistema inmunológico como linfocitos, macrófagos, células plasmáticas, neutrófilos y eosinófilos (Fig. 6e).



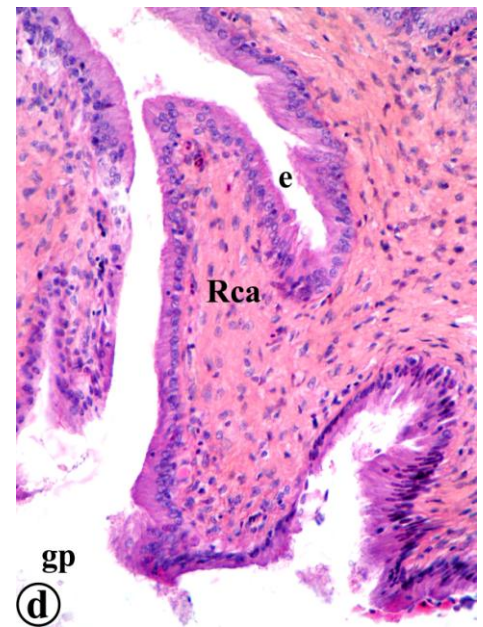
a



b



c



d

Figura 5. Ovario y gonoducto de *Poecilia reticulata* en vitelogenénesis. a) Región cefálica (Rce), intermedia (Ri), y caudal (Rca) del gonoducto, en comunicación con el gonoporo (gp). Pliegues de la mucosa en forma de cuello (C) de la región cefálica y caudal del gonoducto. Pliegues de la mucosa (→) de la región intermedia del gonoducto. Evaginación ventral (ev) del tejido conjuntivo y músculo liso adyacente a la zona glandular (zg) de la región caudal del gonoducto. Ovario (O). Conducto mesonéfrico (cmf). H-E 4X. **b-c)** Pliegues de la mucosa (→) de la región intermedia del gonoducto. Cuello (C) y zona glandular de la región caudal (Rca) del gonoducto. Evaginación ventral (ev) del tejido conjuntivo (tc) y músculo liso. **b)** H-E 10X. **c)** Detalle de la figura (a). H-E 16X. **d)** Detalle de la figura (a). Epitelio (e) columnar de la región caudal (Rca) del gonoducto, en comunicación con el gonoporo (gp). H-E 40X.

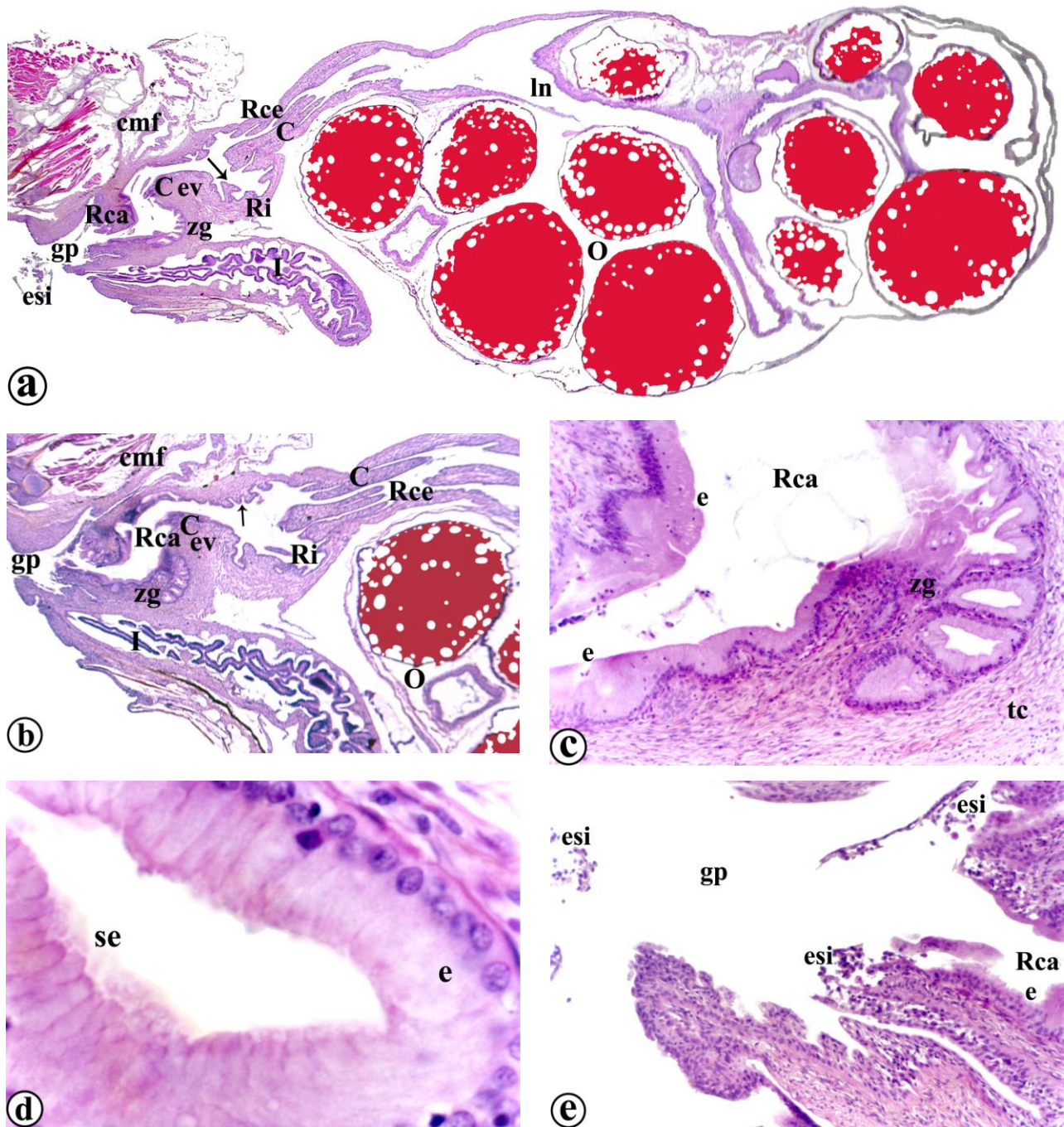


Figura 6. Ovario y gonoducto de *Poecilia reticulata* en vitelogenesis. a-b) Comunicación del lumen (In) del ovario (O) con el lumen de la región cefálica (Rce), intermedia (Ri) y caudal (Rca) del gonoducto al exterior a través del gonoporo (gp). Cuello (C) de la región cefálica y caudal del gonoducto. Pliegues de la mucosa (→) de la región intermedia (Ri) del gonoducto. Evaginación ventral (ev) del tejido conjuntivo y músculo liso adyacente a la zona glandular (zg) de la región caudal del gonoducto. Elementos del sistema inmunológico (esi). Conducto mesonéfrico (cmf). Intestino (I). a) H-E 2.5X. b) H-E 6.3X. c) Detalle de la figura (b). Zona glandular (zg) de la región caudal (Rca) del gonoducto. Epitelio columnar alto (e). Tejido conjuntivo (tc). H-E 40X. d) Detalle de la figura (b). Epitelio columnar alto (e) con secreciones (se) en la zona glandular de la región caudal del gonoducto. H-E 200X. e) Detalle de la figura (a). Elementos del sistema inmunológico (esi) localizados entre el epitelio (e) columnar y la luz de la región caudal del gonoducto (Rca). Comunicación al exterior a través del gonoporo (gp). H-E 40X.

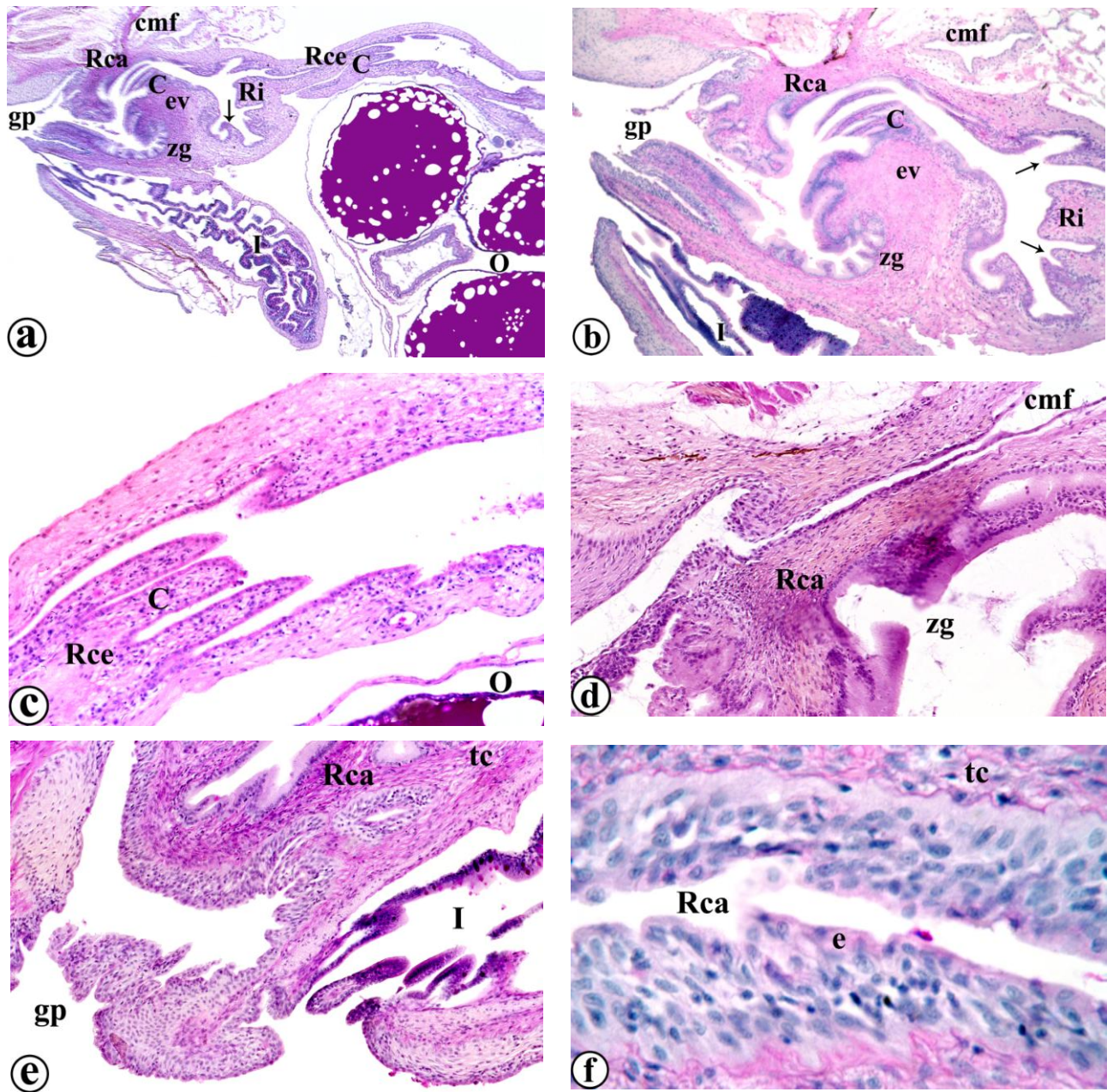


Figura 7. Ovario y gonoducto de *Poecilia reticulata* en vitelogénesis. a-b) Región cefálica (Rce), intermedia (Ri) y caudal (Rca) del gonoducto en comunicación con el gonoporo (gp). Pliegues de la mucosa en forma de cuello (C) de la región cefálica (Rce) y caudal (Rca) del gonoducto. Pliegues de la mucosa (→) de la región intermedia (Ri) del gonoducto. Evaginación ventral (ev) del tejido conjuntivo y músculo liso adyacente a la zona glandular (zg) de la región caudal (Rca) del gonoducto. Ovario (O). Conducto mesonéfrico (cmf). Intestino (I). a) PAS 6.3X. b) PAS 10X. c) Pliegues de la mucosa en forma de cuello (C) de la región cefálica (Rce) del gonoducto. H-E 16X. d) Zona glandular (zg) de la región caudal (Rca) del gonoducto, en posición ventral al conducto mesonéfrico (cmf). H-E 32X. e) Región caudal (Rca) del gonoducto adyacente al gonoporo (gp). Tejido conjuntivo (tc). Intestino (I). H-E 32X. f) Epitelio estratificado (e) de la región caudal (Rca) del gonoducto. Tejido conjuntivo (tc). H-E 100X.

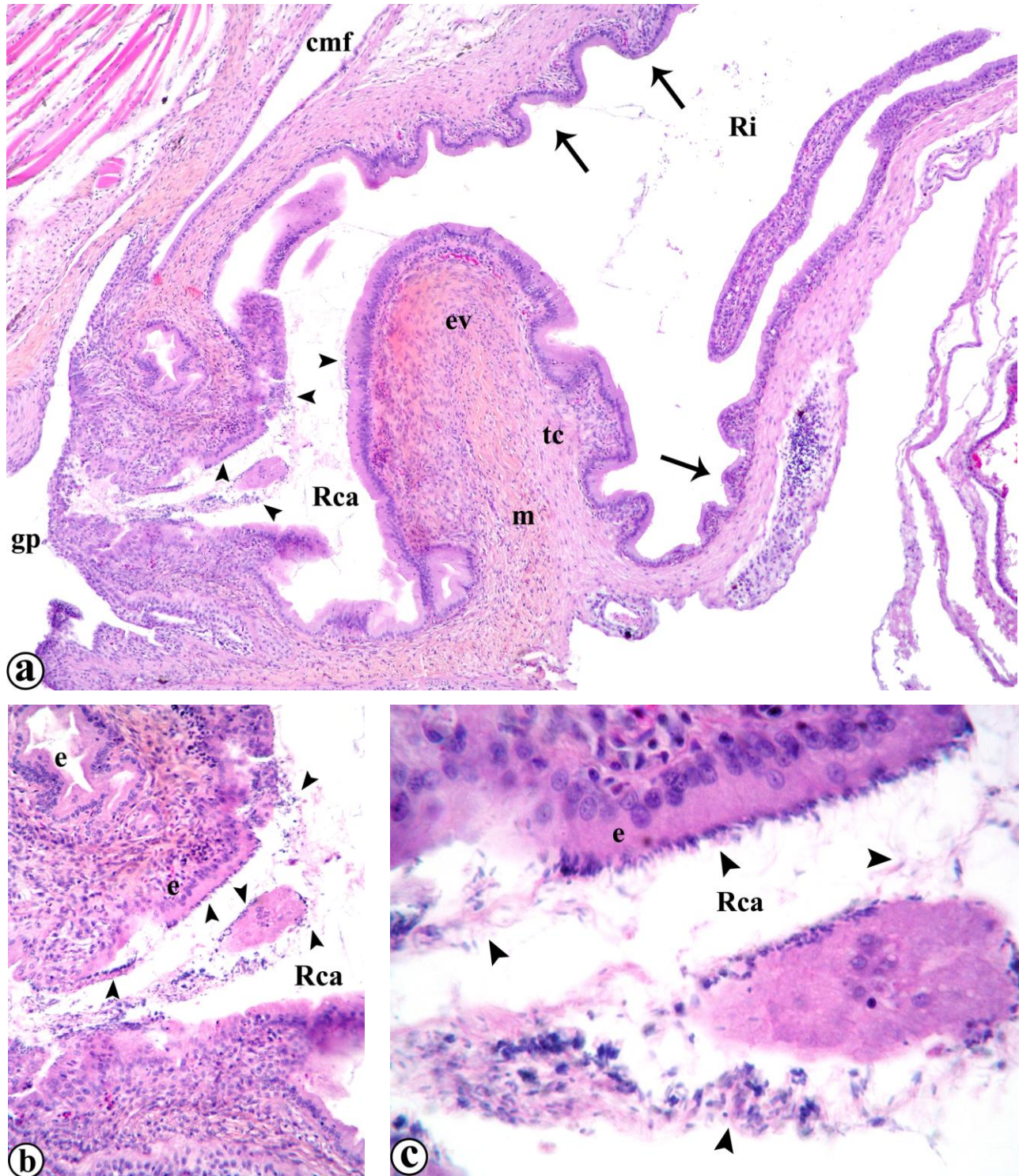


Figura 8. Gonoducto de *Poecilia reticulata* en vitelogénesis. a) Región caudal (Rca) e intermedia (Ri) del gonoducto. Entrada de los espermatozoides (▶) al gonoducto, asociados al epitelio (e) columnar. Evaginación ventral (ev) del tejido conjuntivo (tc) y músculo liso (m) de la región caudal del gonoducto. Pliegues de la mucosa (→) de la región intermedia (Ri) del gonoducto. Gonoporo (gp). Conducto mesonéfrico (cmf). H-E 10X. **b-c)** Detalle de los espermatozoides (▶) asociados al epitelio (e) columnar y dispersos en el lumen de la región caudal (Rca) del gonoducto. b) H-E 40X. c) H-E 100X.

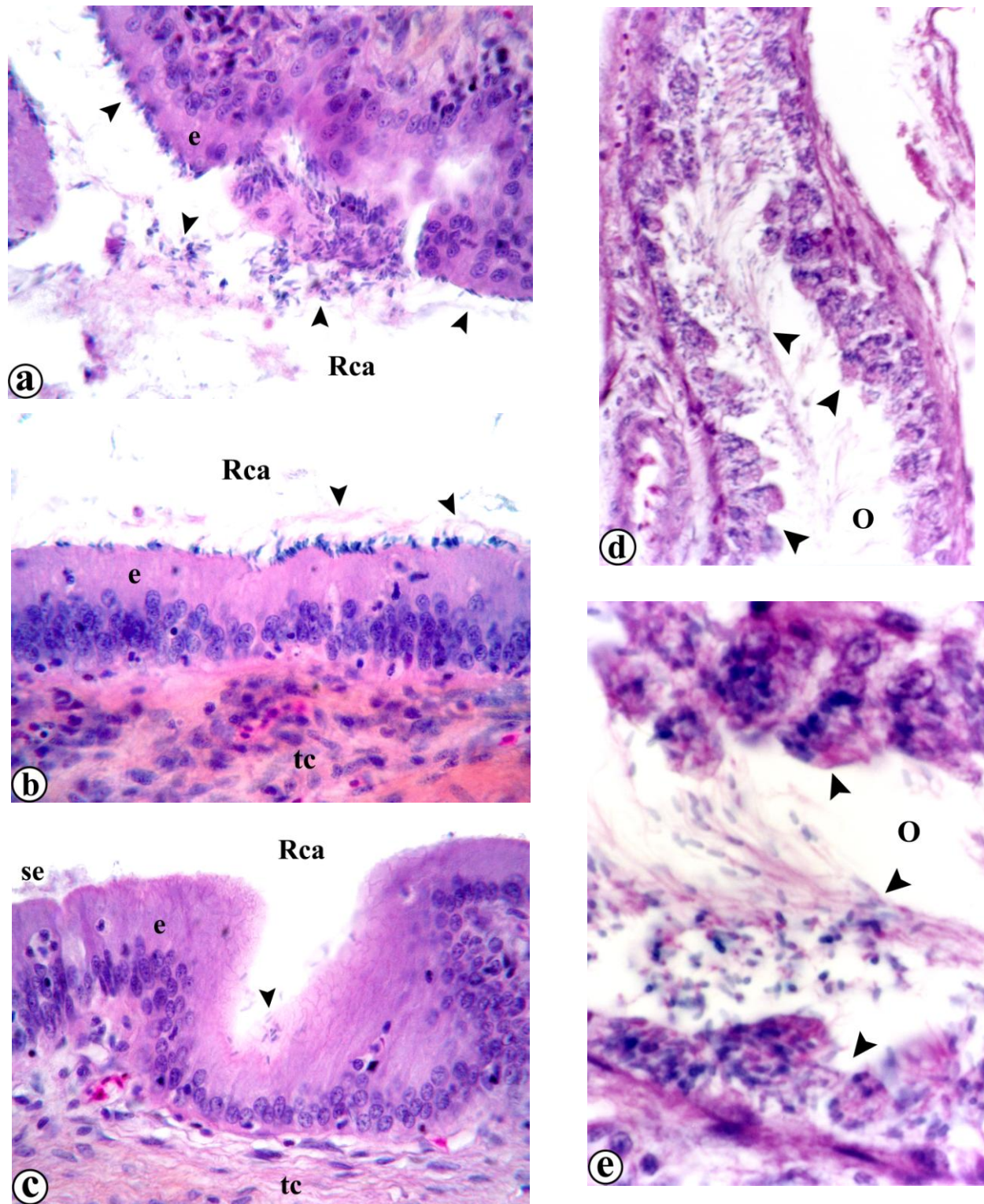


Figura 9. Ovario y gonoducto de *Poecilia reticulata* en vitelogénesis. a-c Detalles de la figura (8a). Espermatozoides (►) asociados a la región apical de las células epiteliales (e) y en el lumen de la región caudal (Rca) del gonoducto. Secreciones (se). Tejido conjuntivo (tc). a) H-E 100X. b) H-E 100X. c) H-E 100X. **d-e** Espermatozoides (►) libres y agrupados entre pliegues de la mucosa del ovario (O), formando sitios de almacenamiento. d) H-E 100X. e) H-E 200X.



C. Gestación

La longitud total promedio del gonoducto durante esta etapa fisiológica fue de $1796.83 \pm 107.66 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). Se analizaron organismos en gestación temprana, reconocidos por la etapa de discoblástula (Figs. 10c-d), y en gestación media y avanzada, siendo evidente por la presencia de embriones con distinto grado de desarrollo (Figs. 11a,c; 13a,b). Durante la gestación no se observaron espermatozoides en ninguna región del gonoducto.

a. Región cefálica (Rce)

La longitud promedio fue de $485.26 \pm 43.28 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). Mostró largos y delgados pliegues de la mucosa hacia el lumen en forma de cuello, limitando la zona germinal del ovario (Figs. 10a; 13c). Estos pliegues mostraron un promedio de $338.43 \pm 48.33 \mu\text{m}$ de largo X $39.41 \pm 8.41 \mu\text{m}$ de ancho (Cuadro 4). Los pliegues están rodeados por epitelio cúbico, cuya altura promedio fue de $6.94 \pm 1.15 \mu\text{m}$ (Cuadro 4).

b. Región intermedia (Ri)

La longitud promedio fue de $699.35 \pm 107.66 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). Mostró cortos y gruesos pliegues de la mucosa, con valores promedio de $61.71 \pm 4.88 \mu\text{m}$ de largo X $35.37 \pm 11.35 \mu\text{m}$ de ancho (Cuadro 4), limitados por un epitelio columnar (Figs. 10a-b; 11c; 13a-d; 14a), el cual puede contener células ciliadas y no ciliadas. La altura promedio del epitelio fue de $8.77 \pm 1.38 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). Inmersos en el tejido conjuntivo y en el músculo liso se observaron centros melanomacrofágicos, los cuales presentaron mayor tamaño ($131.79 \pm 19.47 \mu\text{m}$ de largo X $88.43 \pm 8.18 \mu\text{m}$ de ancho) (Cuadro 4) y fueron más numerosos que los observados en el estadio de previtelogénesis (Figs. 11c-d; 14a-b).

c. Región caudal (Rca)

La longitud promedio fue de $612.22 \pm 107.66 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). Se observaron largos y delgados pliegues de la mucosa similares a un cuello, limitados por epitelio columnar. Estos pliegues son más pequeños que los observados en la región cefálica, los cuales mostraron un tamaño promedio de $149.84 \pm 11.94 \mu\text{m}$ de largo X $21.44 \pm 3.64 \mu\text{m}$ de ancho (Cuadro 4) (Fig. 10a-b). El epitelio de esta región es columnar ($5.57 \pm 1.05 \mu\text{m}$) (Cuadro 4), el cual se estratifica conforme se acerca al gonoporo.

Similar a lo observado en la previtelogénesis y vitelogénesis, el tejido conjuntivo y el músculo liso formaron una evaginación ventral hacia la luz del gonoducto (Figs. 10a-b; 14a). Adyacente a la evaginación ventral se observó una zona glandular (Figs. 10a; 11a-c,e; 12a; 14a,d),



con una altura epitelial de $13.56 \pm 1.63 \mu\text{m}$ (Cuadro 4). Durante esta etapa, las glándulas mostraron signos de regresión (Figs. 12a-e), siendo evidente la irregularidad en la forma y tamaño de las células así como la descamación de algunas otras de sus células, siendo una característica morfológica única de esta etapa.

Inmersos en el tejido conjuntivo laxo y el músculo liso, se observaron centros melanomacrofágicos, los cuales presentaron los valores más altos de todos los registros ($154.50 \pm 27.68 \mu\text{m}$ de largo X $54.13 \pm 27.89 \mu\text{m}$ de ancho) (Cuadro 4). En el lumen del gonoducto se observaron abundantes linfocitos adyacentes al gonoporo. No se observaron espermatozoides.

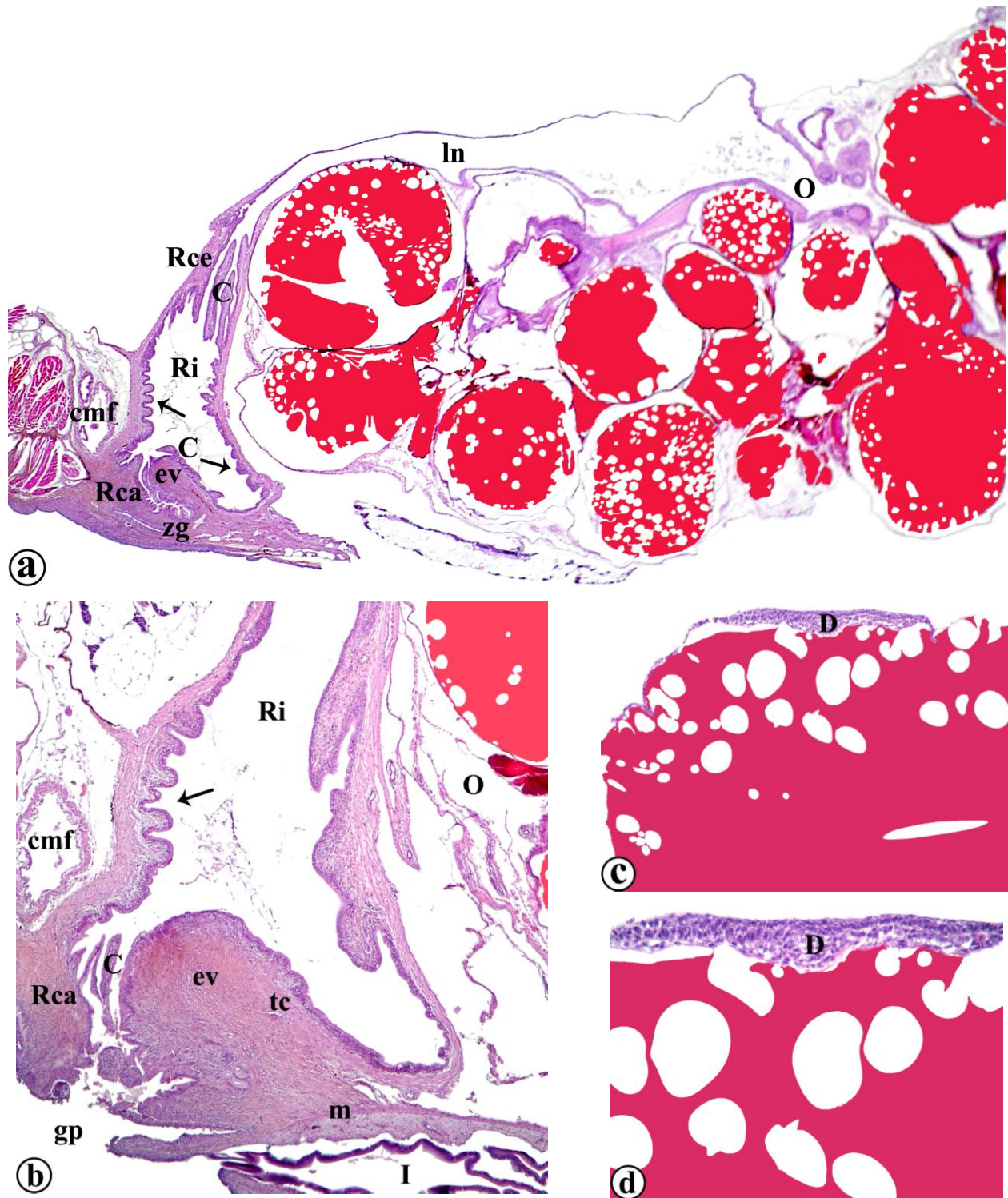


Figura 10. Ovario y gonoducto de *Poecilia reticulata* en gestación. a-b) Comunicación del lumen (ln) del ovario (O) con el lumen de la región cefálica (Rce), intermedia (Ri) y caudal (Rca) del gonoducto, desembocando al exterior en el gonoporo (gp). Pliegues de la mucosa en forma de cuello (C) de la región cefálica (Rce) y caudal (Rca) del gonoducto. Pliegues de la mucosa (→) de la región intermedia (Ri) del gonoducto. Evaginación ventral del tejido conjuntivo (tc) y músculo liso (m), adyacente a la zona glandular (zg) de la región caudal (Rca) del gonoducto. Conducto mesonéfrico (cmf). Intestino (I). a) H-E 2.5X. b) H-E 4X. c-d) Discoblastula (D). c) H-E 10X. d) H-E 40X.

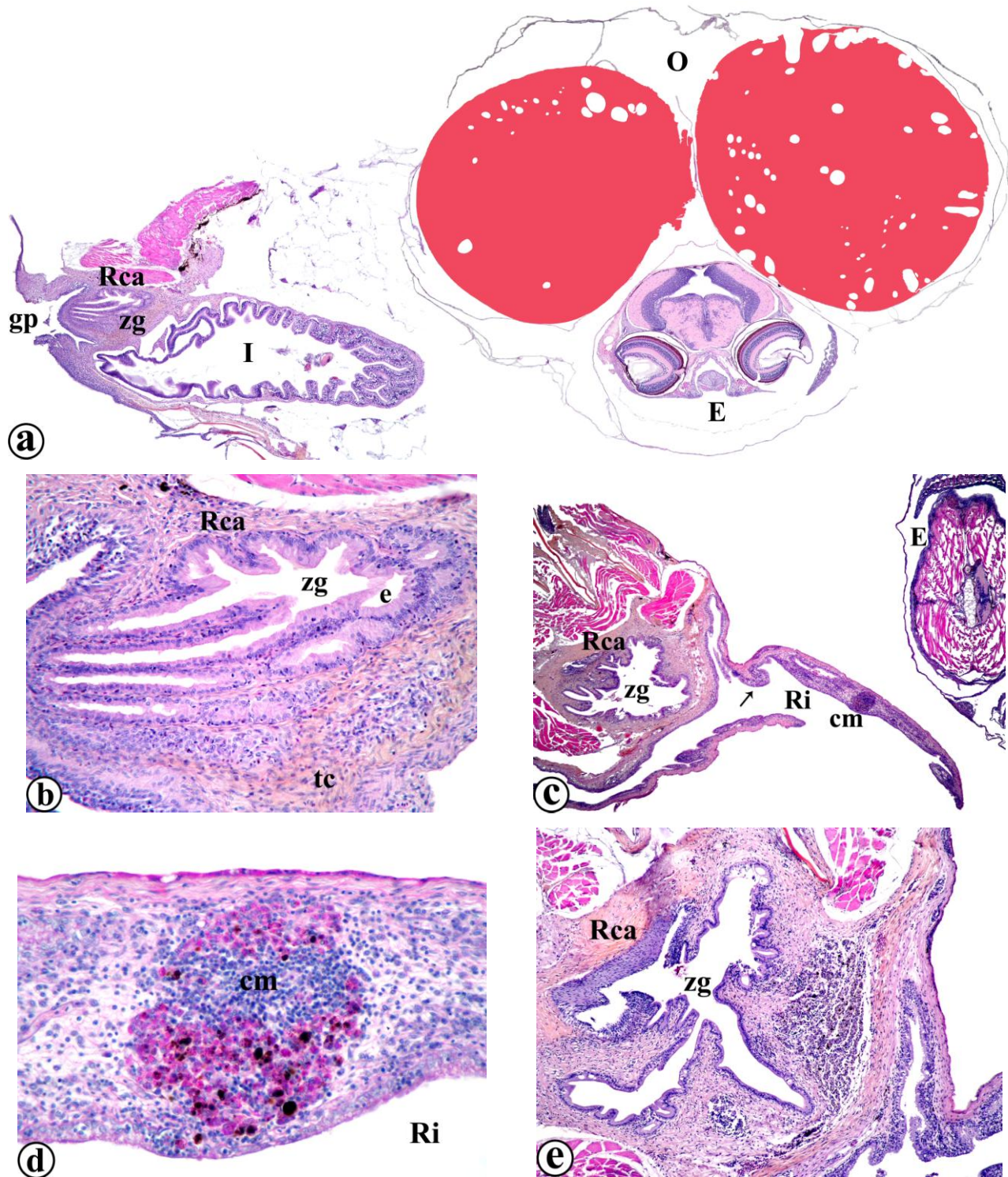


Figura 11. Ovario y gonoducto de *Poecilia reticulata* en gestación. a-b) Zona glandular (zg) de la región caudal (Rca) del gonoducto. Ovario (O). Embrión (E). Gonoporo (gp). Intestino (I). a) H-E 4X. b) H-E 40X. **c)** Centro melanomacrofágico (cm) y pliegues de la mucosa (→) de la región intermedia (Ri) del gonoducto. Zona glandular (zg) de la región caudal (Rca) del gonoducto. Embrión (E). H-E 4X. **d-e)** Detalles de la figura (c). Centro melanomacrofágico (cm) de la región intermedia (Ri) del gonoducto y zona glandular (zg) de la región caudal (Rca) del gonoducto. d) PAS 40X. e) H-E 10X.

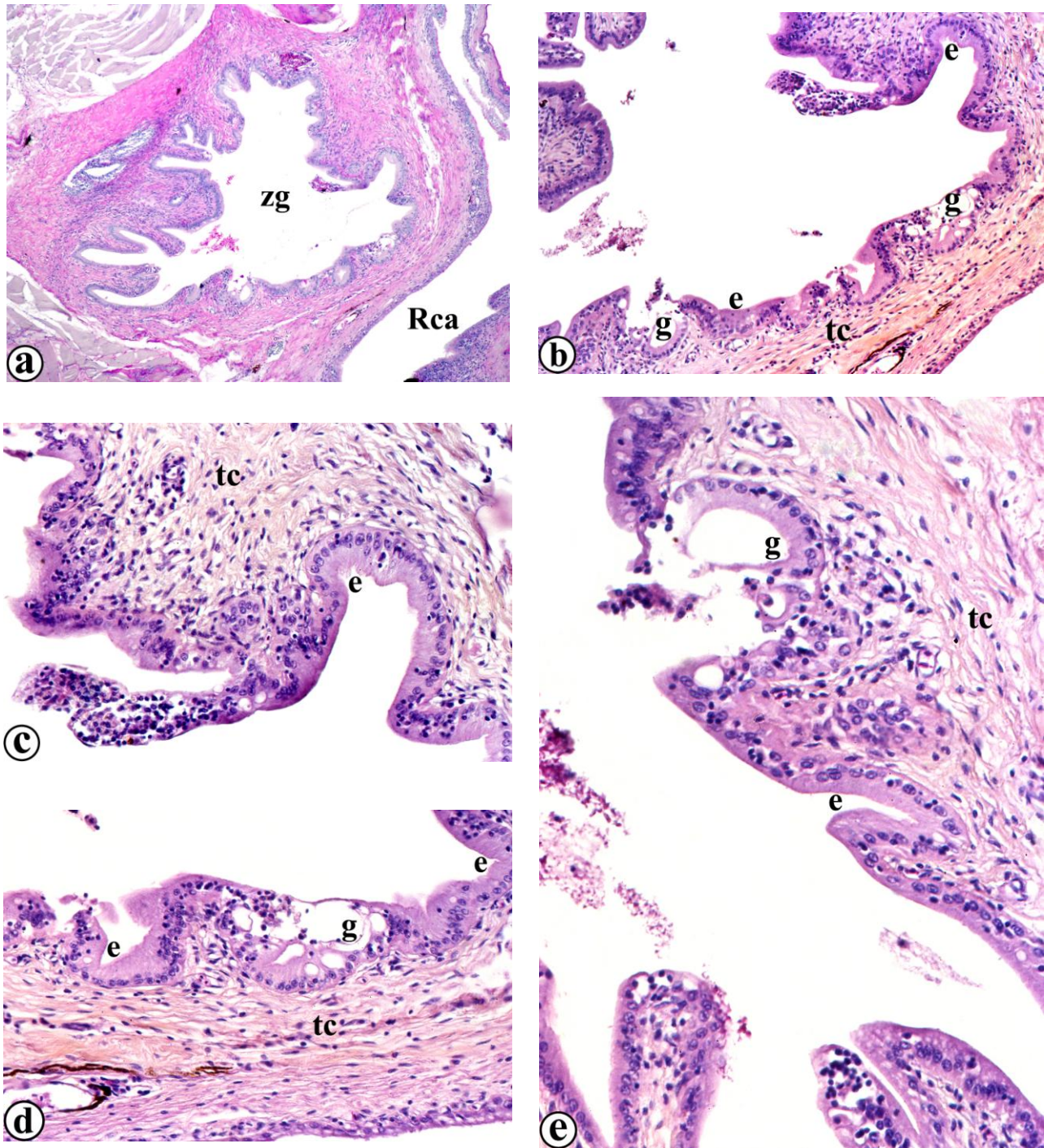


Figura 12. Gonoducto de *Poecilia reticulata* en gestación. a) Zona glandular (zg) de la región caudal (Rca) del gonoducto. PAS 10X. b-e) Detalles de la figura (a). Se observa regresión de las glándulas (g), característica única de esta etapa. El epitelio es columnar (e). Tejido conjuntivo (tc). b) H-E 32X. c) H-E 40X. d) H-E 40X. e) H-E 40X.

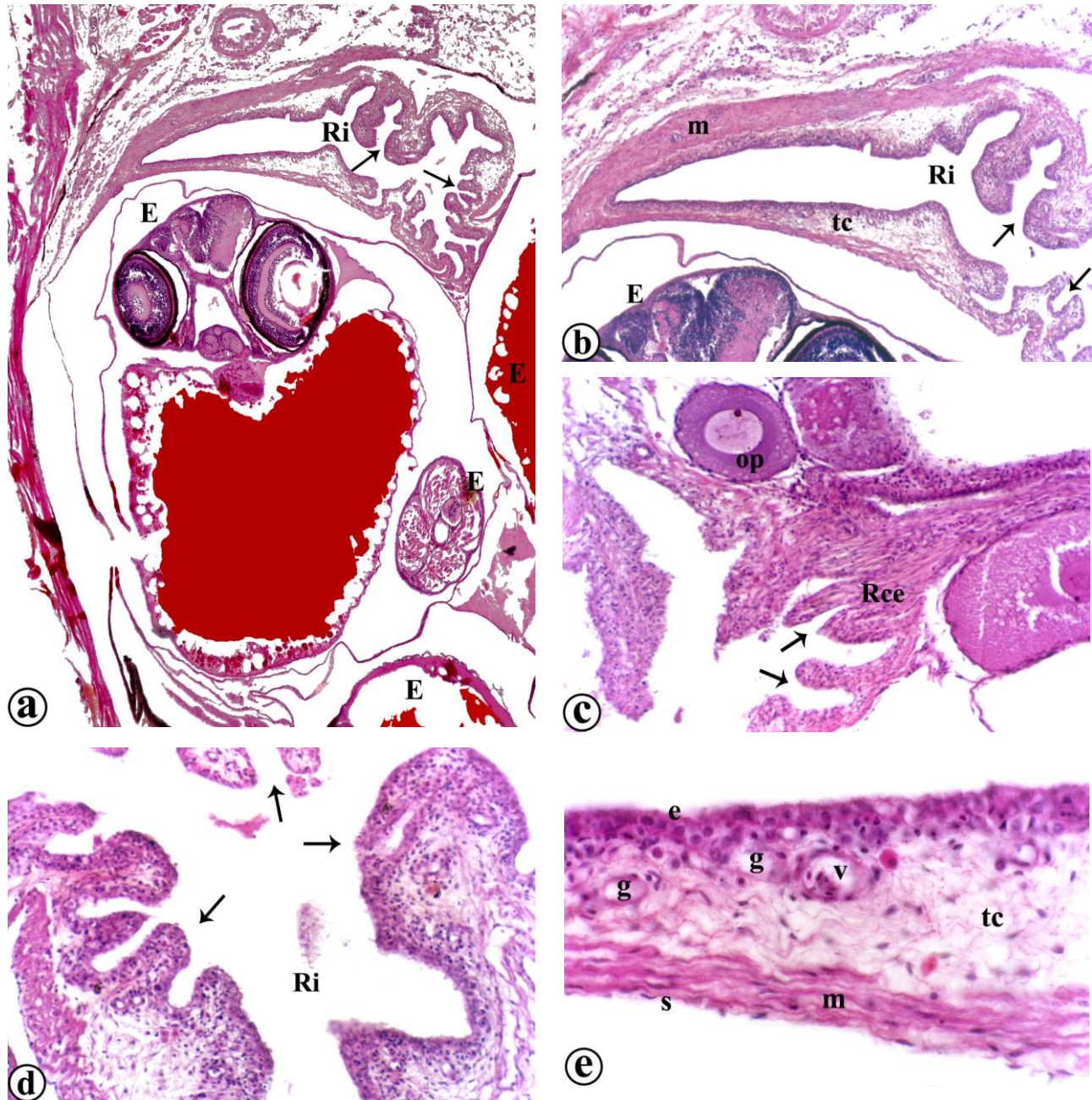


Figura 13. Ovario y gonoducto de *Poecilia reticulata* en gestación. a) Pliegues de la mucosa (→) de la región intermedia (Ri) del gonoducto. Embriones (E). H-E 4X. b-e) Detalles de la figura (a). b) Pliegues de la mucosa (→) de la región intermedia (Ri) del gonoducto. Embrión (E). Tejido conjuntivo (tc). Músculo liso (m). H-E 16X. c) Pliegues de la mucosa (→) en forma de cuello (C) de la región cefálica (Rce) del gonoducto. Ovocito previtelogénico (op). H-E 40X. d) Pliegues de la mucosa (→) de la región intermedia (Ri) del gonoducto. H-E 40X. e) Pared de la región intermedia del gonoducto. Serosa (s) en la periferia. Músculo liso (m). Tejido conjuntivo vascularizado laxo (tc). Epitelio (e) cúbico o columnar. Glándulas (g). Vaso sanguíneo (v). H-E 100X.

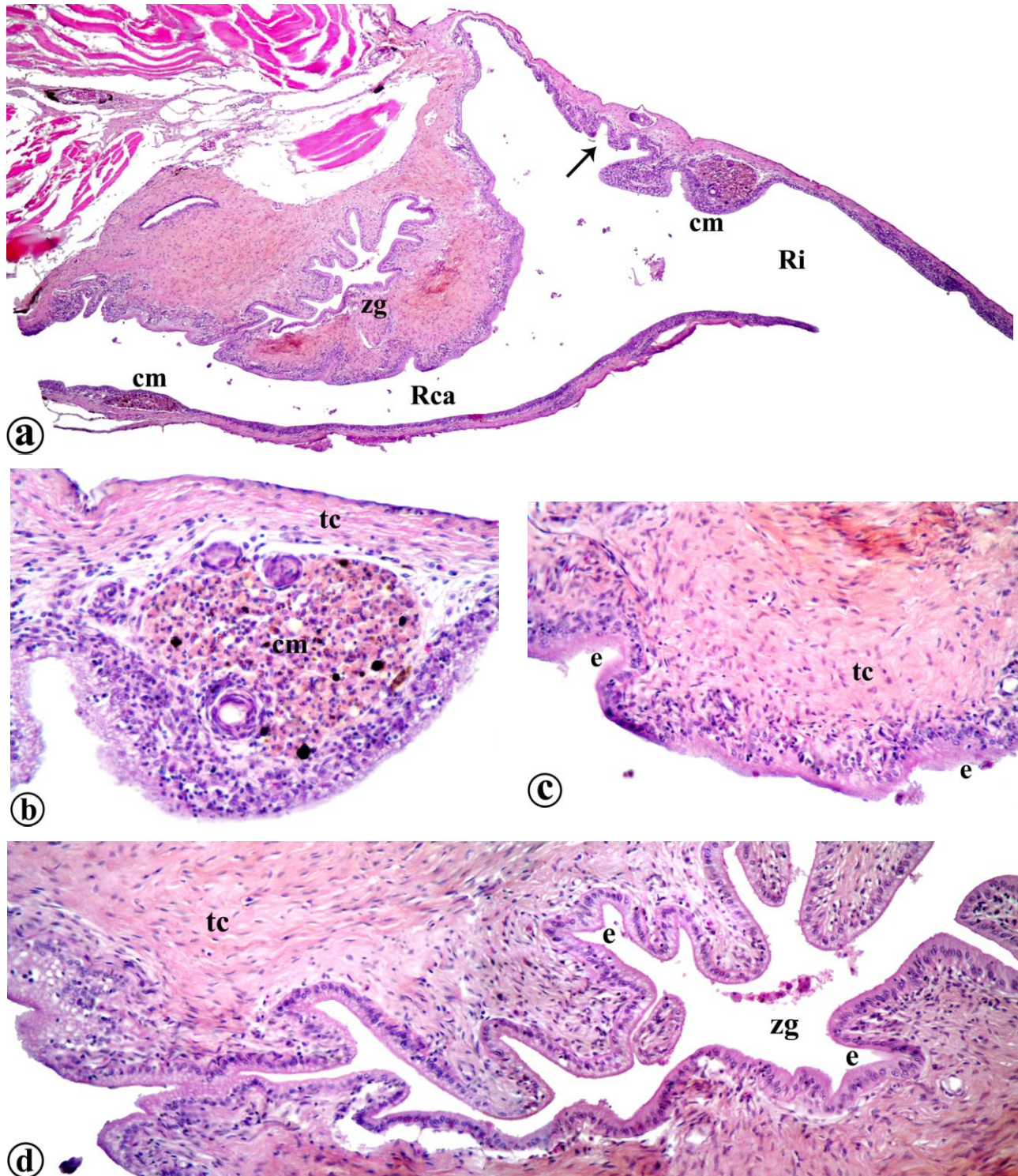


Figura 14. Gonoducto de *Poecilia reticulata* en gestación. a) Pliegues de la mucosa (→) y centro melanomacrofágico (cm) de la región intermedia (Ri) del gonoducto. Zona glandular (zg) y centro melanomacrofágico (cm) de la región caudal (Rca) del gonoducto. H-E 4X. **b-d)** Detalles de la figura (a). **b)** Centro melanomacrofágico (cm). Tejido conjuntivo (tc). H-E 40X. **c)** Epitelio columnar (e) de la región caudal del gonoducto. Tejido conjuntivo (tc). H-E 40X. **d)** Epitelio columnar (e) de la zona glandular (zg) de la región caudal del gonoducto. Tejido conjuntivo (tc). H-E. 40X.



3. Características morfológicas del gonoducto de *Brachydanio rerio*

La regionalización del gonoducto de *Brachydanio rerio* se puede delimitar de la misma manera que en *Poecilia reticulata*.

B. rerio muestra dos ovarios, los cuales se unen caudalmente desembocando en un sólo gonoducto. Los ovarios aumentan de tamaño durante la vitelogénesis por el depósito de vitelo en los ovocitos, al igual que en *P. reticulata*.

Se presentan de manera comparativa los datos morfométricos del gonoducto de *B. rerio* en las tres etapas fisiológicas analizadas (Cuadro 5).

Cuadro 5. Datos morfométricos del gonoducto de *B. rerio* en previtelogénesis, vitelogénesis y post-desove. Los valores promedio están expresados en micras (μm).

	Previtelogénesis (Media\pmDE)	Vitelogénesis (Media\pmDE)	Post-desove (Media\pmDE)
Longitud del gonoducto	487.79 \pm 92.00	1071.86 \pm 363.54	662.15 \pm 81.44
Región cefálica			
Longitud	81.85 \pm 92.00	160.52 \pm 0.18	169.27 \pm 23.30
Pliegues de la mucosa (cuello)	30.08 \pm 2.47 largo 8.70 \pm 0.91 ancho	86.39 \pm 9.19 largo 16.42 \pm 8.10 ancho	67.52 \pm 24.51 largo 13.31 \pm 5.15 ancho
Altura del epitelio	3.27 \pm 1.16	4.63 \pm 1.36	5.29 \pm 0.95
Longitud de los cilios	2.57 \pm 0.30	-----	3.60 \pm 0.65
Región intermedia			
Longitud	262.76 \pm 67.31	776.80 \pm 373.99	314.61 \pm 81.44
Pliegues de la mucosa	35.02 \pm 6.71 largo 9.91 \pm 1.01 ancho	43.33 \pm 6.59 largo 25.69 \pm 8.85 ancho	48.06 \pm 7.01 largo 9.75 \pm 2.90 ancho
Altura del epitelio	7.57 \pm 0.74	6.68 \pm 1.55	7.07 \pm 0.85
Longitud de los cilios	2.94 \pm 0.53	3.39 \pm 0.20	-----
Región caudal			
Longitud	143.18 \pm 8.35	134.54 \pm 25.93	178.27 \pm 8.83
Altura del epitelio	5.25 \pm 0.83	4.12 \pm 0.93	6.71 \pm 1.19

Las características morfológicas del gonoducto de *Brachydanio rerio* se describen a continuación.



A. Previtelogénesis

La longitud total promedio del gonoducto durante esta etapa fisiológica fue de $487.79 \pm 92.00 \mu\text{m}$ (Cuadro 5).

a. Región cefálica (Rce)

La longitud promedio fue de $81.85 \pm 92.00 \mu\text{m}$ (Cuadro 5). Se observaron pliegues largos y delgados de la mucosa hacia el lumen en forma similar a un cuello (Figs. 15a,c), con valores promedio de $30.08 \pm 2.47 \mu\text{m}$ de largo X $8.70 \pm 0.91 \mu\text{m}$ de ancho (Cuadro 5), limitando la zona germinal del ovario. El epitelio que limita estas prolongaciones es cúbico, con una altura promedio de $3.27 \pm 1.16 \mu\text{m}$ (Cuadro 5) (Fig. 15c), con núcleos basales y esféricos, además, se observaron células ciliadas y no ciliadas. La longitud promedio de los cilios fue de $2.57 \pm 0.30 \mu\text{m}$ (Cuadro 5). El tejido conjuntivo es laxo. No se observaron elementos del sistema inmunológico en esta región.

b. Región intermedia (Ri)

La longitud promedio fue de $262.76 \pm 67.31 \mu\text{m}$ (Cuadro 5). Su superficie luminal mostró pliegues cortos y gruesos de la mucosa (Figs. 15b,d-e), con valores promedio de $35.02 \pm 6.71 \mu\text{m}$ de largo X $9.91 \pm 1.01 \mu\text{m}$ de ancho (Cuadro 5). A todo lo largo de esta región el epitelio es cúbico (Figs. 15d-e), con una altura promedio de $7.57 \pm 0.74 \mu\text{m}$ (Cuadro 5). Se observaron células ciliadas y no ciliadas. La longitud promedio de los cilios fue de $2.94 \pm 0.53 \mu\text{m}$ (Cuadro 5).

c. Región caudal (Rca)

La longitud promedio fue de $143.18 \pm 8.35 \mu\text{m}$ (Cuadro 5). Su pared también está limitada por epitelio cúbico ($5.25 \pm 0.83 \mu\text{m}$) (Cuadro 5) (Fig. 15f), similar al observado en la región intermedia, sin embargo, conforme se aproxima al gonoporo el epitelio se torna estratificado. El lumen es más estrecho que el de la región intermedia. No se observó la presencia de la evaginación ventral ni de pliegues de la mucosa en forma de cuello, como en *P. reticulata*. Sin embargo, si se observaron invaginaciones de la mucosa, formando una zona glandular, similar a *P. reticulata*.

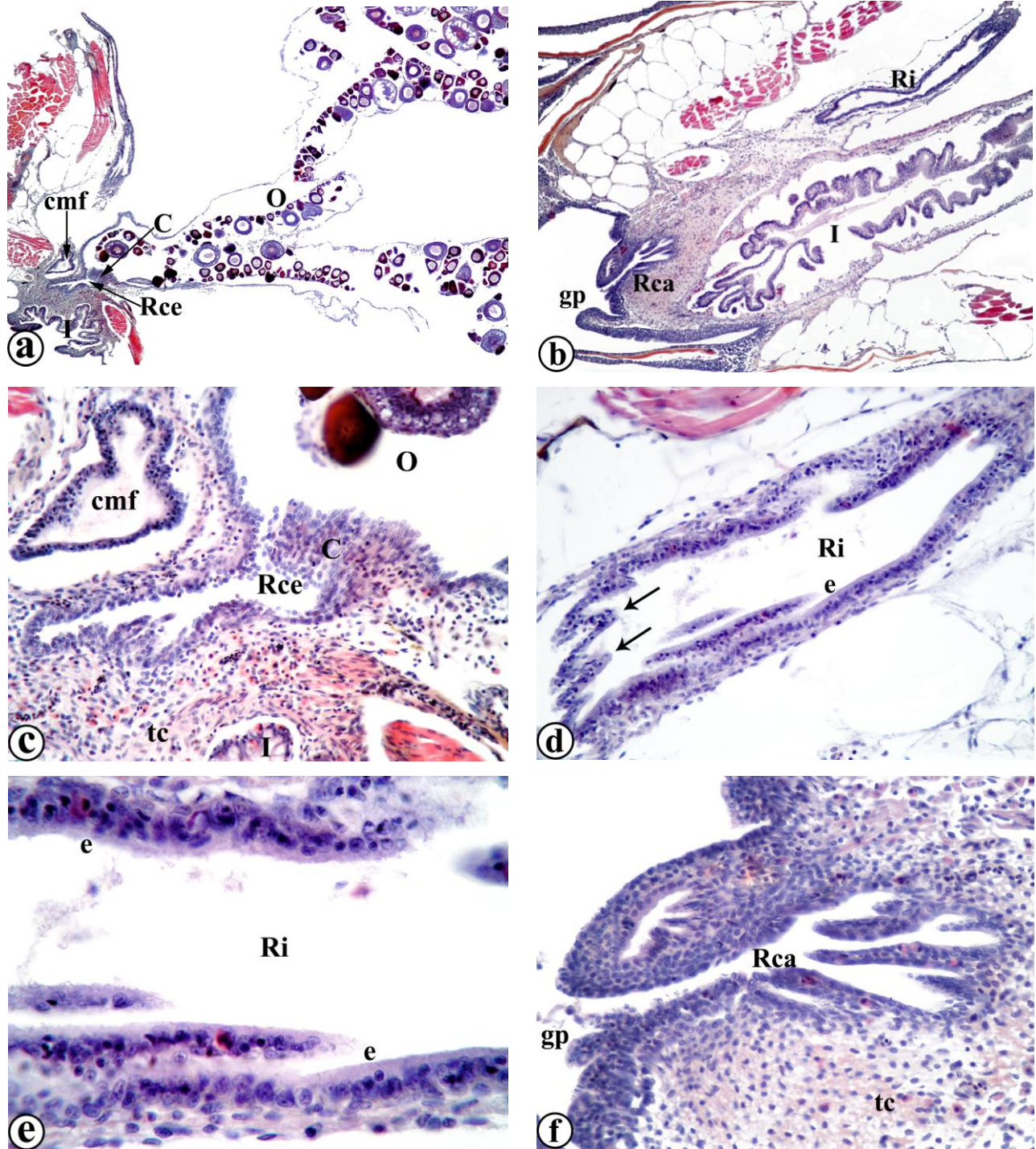


Figura 15. Ovario y gonoducto de *Brachydanio rerio* en previtelogénesis. a) Pliegues de la mucosa en forma de cuello (C) de la región cefálica (Rce) del gonoducto. Ovario (O). Conducto mesonéfrico (cm). Intestino (I). H-E 4X. b) Región intermedia (Ri) y caudal (Rca) del gonoducto, desembocando en el gonoporo (gp). Intestino (I). H-E 10X. c) Detalle de la figura (a). Pliegues de la mucosa en forma de cuello (C) de la región cefálica (Rce) del gonoducto. Conducto mesonéfrico (cm). Tejido conjuntivo (tc). Ovario (O). Intestino (I). H-E 40X. d-e) Pliegues de la mucosa (→) de la región intermedia (Ri) del gonoducto. Epitelio (e) cúbico. d) H-E 40X. e) H-E 100X. f) Detalle de la figura (b). Región caudal (Rca) del gonoducto en comunicación con el gonoporo (gp). Tejido conjuntivo (tc). H-E 40X.



B. Vitelogénesis

La longitud total promedio del gonoducto durante esta etapa fisiológica fue de $1071.86 \pm 363.54 \mu\text{m}$ (Cuadro 5).

a. Región cefálica (Rce)

La longitud promedio fue de $160.52 \pm 0.18 \mu\text{m}$ (Cuadro 5). Mostró pliegues de la mucosa en forma de cuello claramente más largos ($86.39 \pm 9.19 \mu\text{m}$ de largo X $16.42 \pm 8.10 \mu\text{m}$ de ancho) (Cuadro 5), que los observados en esta región durante la previtelogénesis (Figs. 16a,c; 17a-b). Estos pliegues están limitados por un epitelio cúbico ($4.63 \pm 1.36 \mu\text{m}$) (Cuadro 5), que contiene secreciones (Fig. 16c). Las células epiteliales pueden ser ciliadas y no ciliadas, similar al epitelio de la región germinal del ovario (Fig. 16b). Se observaron linfocitos entre las células epiteliales y células plasmáticas en el lumen, el cual es estrecho (Figs. 16c-d).

b. Región intermedia (Ri)

La longitud promedio fue de $776.80 \pm 373.99 \mu\text{m}$ (Cuadro 5). Los pliegues de la mucosa tuvieron valores promedio de $43.33 \pm 6.59 \mu\text{m}$ de largo X $25.69 \pm 8.85 \mu\text{m}$ de ancho (Cuadro 5). A lo largo de esta región el epitelio puede ser cúbico o columnar ($6.68 \pm 1.55 \mu\text{m}$) (Cuadro 5), con células ciliadas y no ciliadas. Los cilios presentaron una longitud promedio de $3.39 \pm 0.20 \mu\text{m}$ (Cuadro 5). El epitelio muestra mayor número de células ciliadas en la zona donde se presentan invaginaciones de la mucosa (Figs. 17e-f). Estas invaginaciones se encuentran adyacentes a la región caudal. Las células son similares entre sí en altura y forma (Figs. 18a-e), con núcleo basal y citoplasma ligeramente acidófilo.

Las células del sistema inmunológico observadas fueron linfocitos, localizados entre las células epiteliales del gonoducto (Fig. 18b), e inmersos en el tejido conjuntivo (Figs. 18b,d-e).

c. Región caudal (Rca)

Presentó una longitud promedio de $134.54 \pm 25.93 \mu\text{m}$ (Cuadro 5). Su pared mostró epitelio columnar ($4.12 \pm 0.93 \mu\text{m}$) (Cuadro 5). A medida que se acerca al gonoporo, el epitelio de esta región llega a ser estratificado (Figs. 16e; 19c).

Se observaron invaginaciones de la mucosa, con epitelio columnar, que formaron una zona glandular (Figs. 19a-d). Las células del sistema inmunológico observadas fueron linfocitos y eosinófilos (Figs. 19c-d) distribuidos en el tejido conjuntivo.

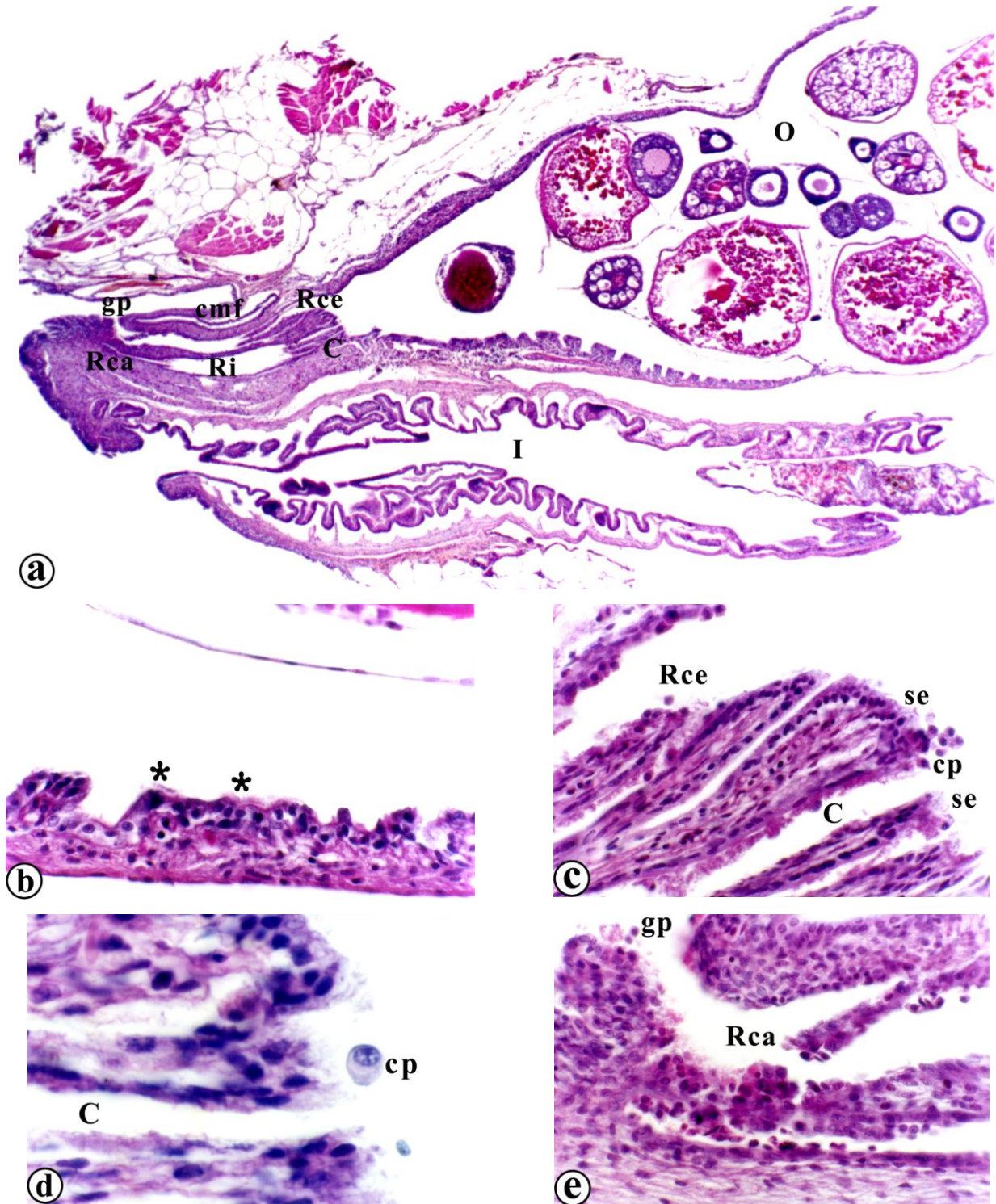


Figura 16. Ovario y gonoducto de *Brachydanio rerio* en vitelogénesis. a) Región cefálica (Rce), intermedia (Ri) y caudal (Rca) del gonoducto. Ovario (O). Conducto mesonéfrico (cmf). Intestino (I). Gonoporo (gp). H-E 32X. **b-e)** Detalles de la figura (a). **b)** Epitelio ovárico ciliado (*). H-E 40X. **c)** Pliegues de la mucosa en forma de cuello (C) de la región cefálica (Rce) del gonoducto. Células plasmáticas (cp). Secreciones (se). H-E 40X. **d)** Célula plasmática (cp), en el lumen del cuello (C) de la región cefálica del gonoducto. H-E 100X. **e)** Epitelio (e) estratificado de la región caudal (Rca) del gonoducto en comunicación con el gonoporo (gp). H-E 40X.

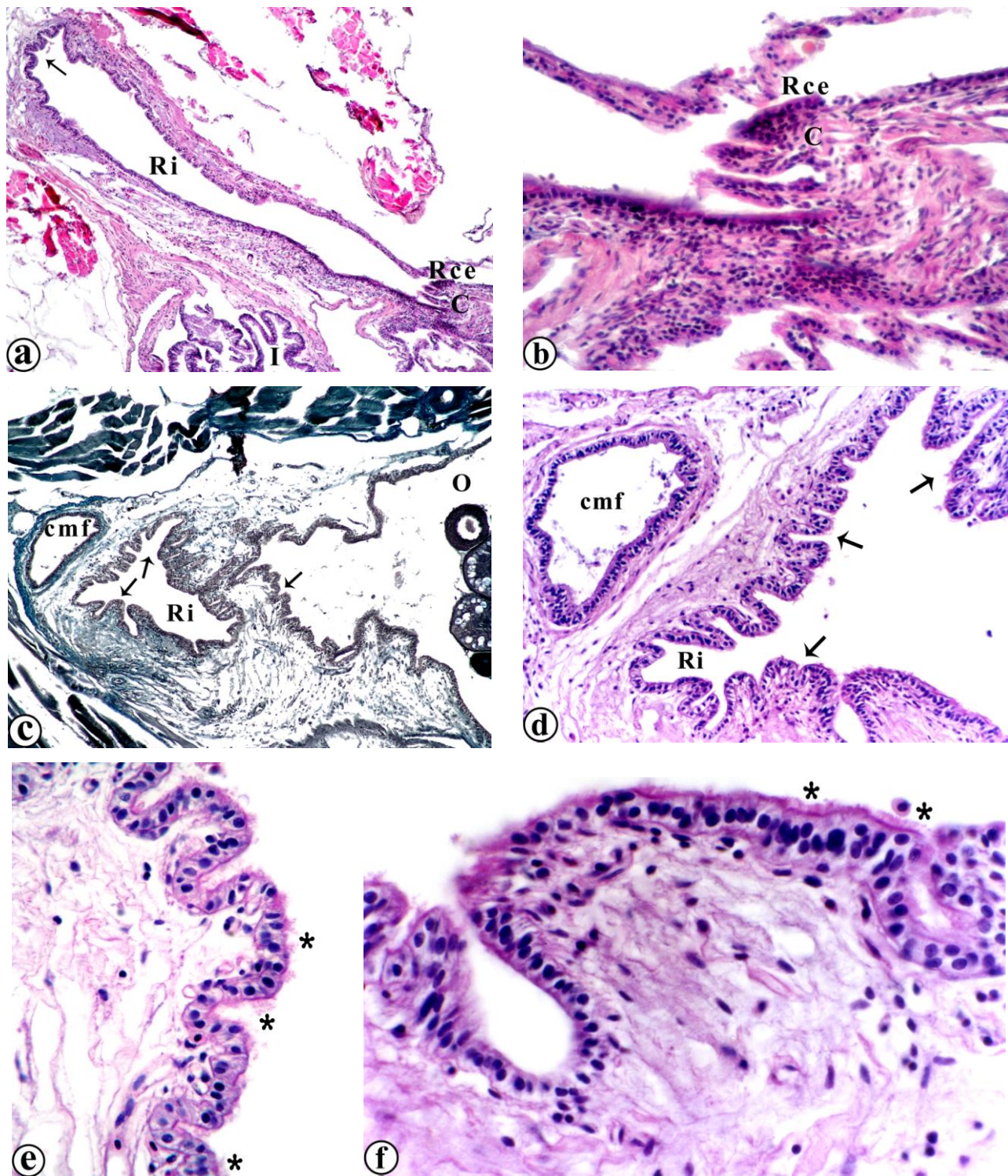


Figura 17. Ovario y gonoducto de *Brachydanio rerio* en vitelogénesis. a) Pliegues de la mucosa en forma de cuello (C) de la región cefálica (Rce), así como pliegues de la mucosa de la región intermedia (Ri) (→) del gonoducto. Intestino (I). H-E 10X. b) Detalle de la figura (a). Cuello (C) de la región cefálica (Rce) del gonoducto. H-E 40X. c-d) Pliegues de la mucosa (→) de la región intermedia (Ri) del gonoducto. Ovario (O). Conducto mesonéfrico (cmf). c) Masson 10X. d) H-E 40X. e-f) Detalles de la figura (d). Epitelio cúbico ciliado (*) de la región intermedia del gonoducto. e) H-E 100X. f) H-E 200X.

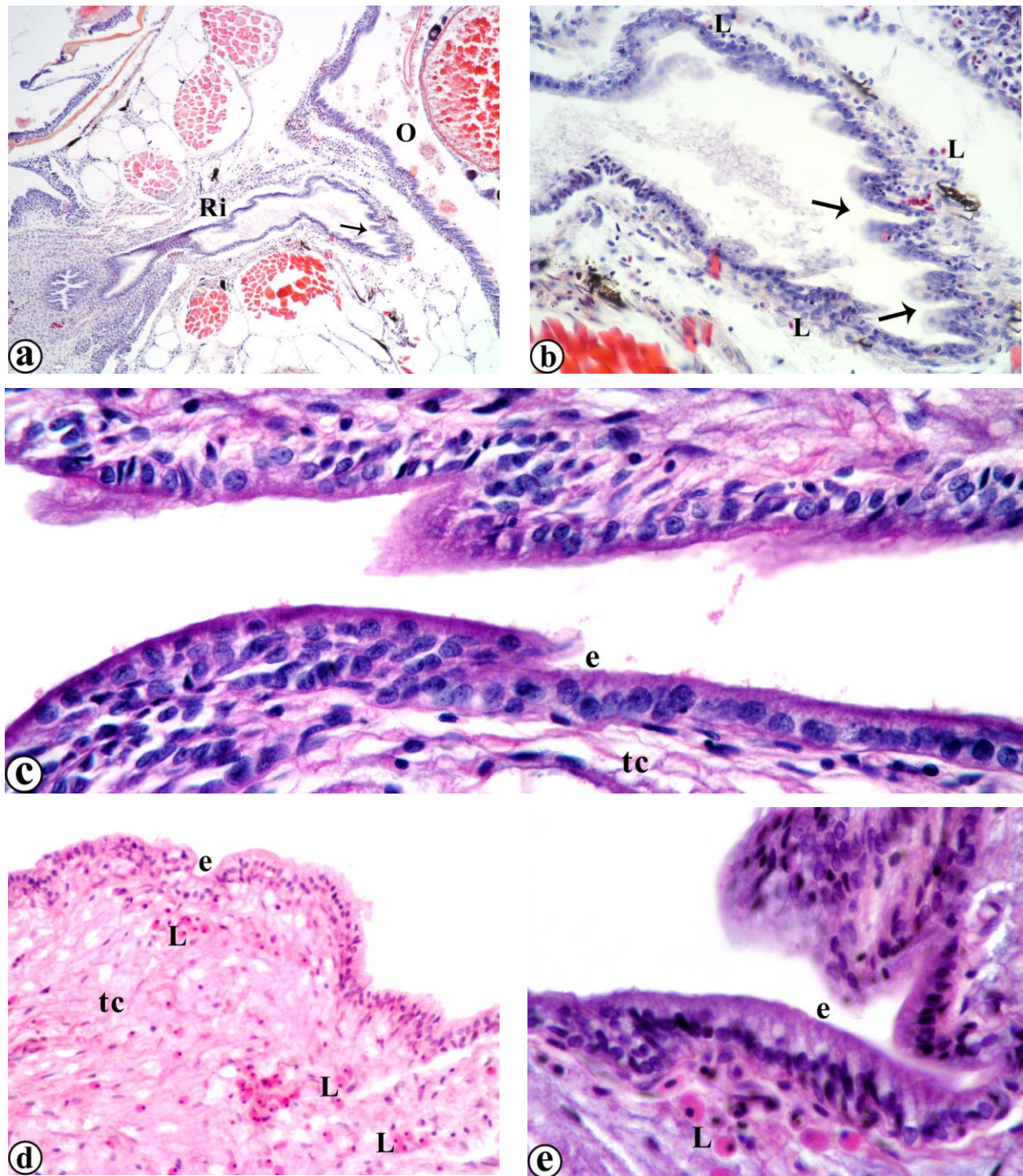


Figura 18. Ovario y gonoducto de *Brachydanio rerio* en vitelogénesis. a-b) Pliegues de la mucosa (→) de la región intermedia (Ri) del gonoducto. Linfocitos (L) entre las células epiteliales del gonoducto y en el tejido conjuntivo. Ovario (O). a) H-E 10X. b) H-E 40X. **c-e)** Epitelio (e) cúbico y columnar de la región intermedia (Ri) del gonoducto. Linfocitos (L) distribuidos en el tejido conjuntivo (tc). c) H-E 100X. d) H-E 40X. e) H-E 100X.

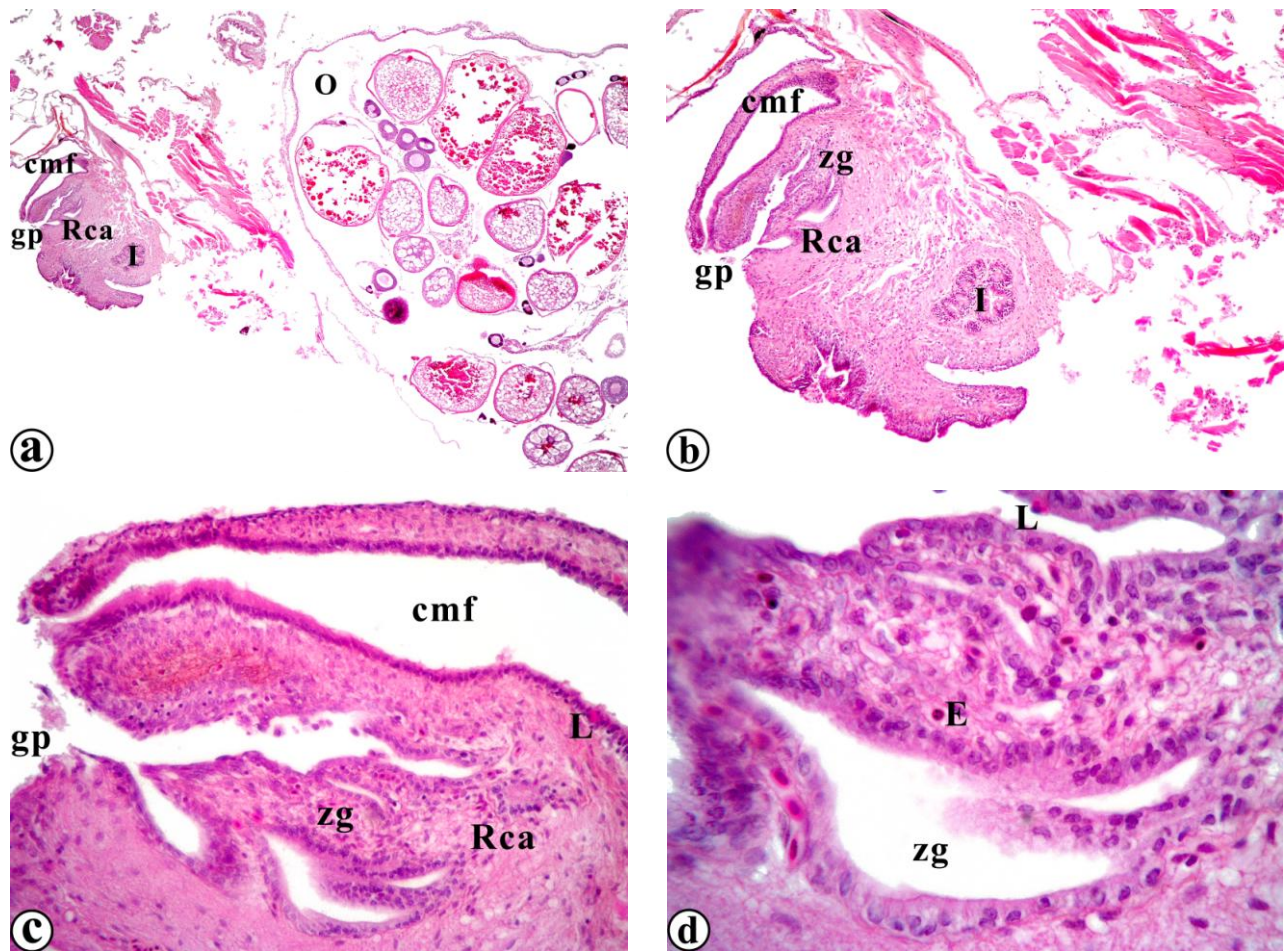


Figura 19. Ovario y gonoducto de *Brachydanio rerio* en vitelogénesis. a-d) Zona glandular (zg) de la región caudal (Rca) del gonoducto, en comunicación con el gonoporo (gp). Se pueden observar células del sistema inmunológico como linfocitos (L) y un eosinófilo (E). Ovario (O). Conducto mesonéfrico (cmf). Intestino (I). a) H-E 4X. b) H-E 10X. c) H-E 40X. d) H-E 100X.



C. Post-desove

La longitud total promedio del gonoducto durante esta etapa fisiológica fue de $662.15 \pm 81.44 \mu\text{m}$ (Cuadro 5). Un día después de la oviposición, en la región germinal del ovario se observaron folículos post-ovulatorios que indican que ha ocurrido la ovulación, además, son evidentes ovocitos previtelogénicos, ovocitos en vitelogénesis intermedia y otros con abundante vitelo (Figs. 20a-b).

a. Región cefálica (Rce)

La longitud promedio fue de $169.27 \pm 23.30 \mu\text{m}$ (Cuadro 5). De manera similar a lo observado en los gonoductos de las dos etapas fisiológicas anteriores, se observaron pliegues de la mucosa formando un cuello. Estos pliegues tuvieron una longitud promedio de $67.52 \pm 24.51 \mu\text{m}$ de largo X $13.31 \pm 5.15 \mu\text{m}$ de ancho (Cuadro 5) (Figs. 21a-b). El gonoducto presentó epitelio cúbico ($5.29 \pm 0.95 \mu\text{m}$), con células ciliadas y no ciliadas (Figs. 20d-e). La longitud promedio de los cilios fue de $3.60 \pm 0.65 \mu\text{m}$ (Cuadro 5), similar al epitelio ciliado que limita la pared de la región germinal del ovario (Fig. 20c). No se observaron células del sistema inmunológico en esta región.

b. Región intermedia (Ri)

La longitud promedio fue de $314.61 \pm 81.44 \mu\text{m}$ (Cuadro 5). Se observaron pliegues de la mucosa (Figs. 21a-b), con valores promedio de $48.06 \pm 7.01 \mu\text{m}$ de largo X $9.75 \pm 2.90 \mu\text{m}$ de ancho (Cuadro 5). Presentó epitelio columnar ($7.07 \pm 0.85 \mu\text{m}$) (Cuadro 5), en el que no fue evidente la presencia de cilios. No se observaron células del sistema inmunológico en esta región.

c. Región caudal (Rca)

La longitud promedio fue de $178.27 \pm 8.83 \mu\text{m}$ (Cuadro 5). Presentó epitelio columnar (Figs. 22a-b) y conforme se aproxima al gonoporo el epitelio es estratificado (Figs. 21e-f).

Se identificó una zona glandular, con un epitelio columnar con núcleo basal y citoplasma apical ligeramente acidófilo, cuya altura promedio fue de $6.71 \pm 1.19 \mu\text{m}$ (Cuadro 5) (Figs. 21c-f; 22a-b). No se observaron células del sistema inmunológico en esta región.

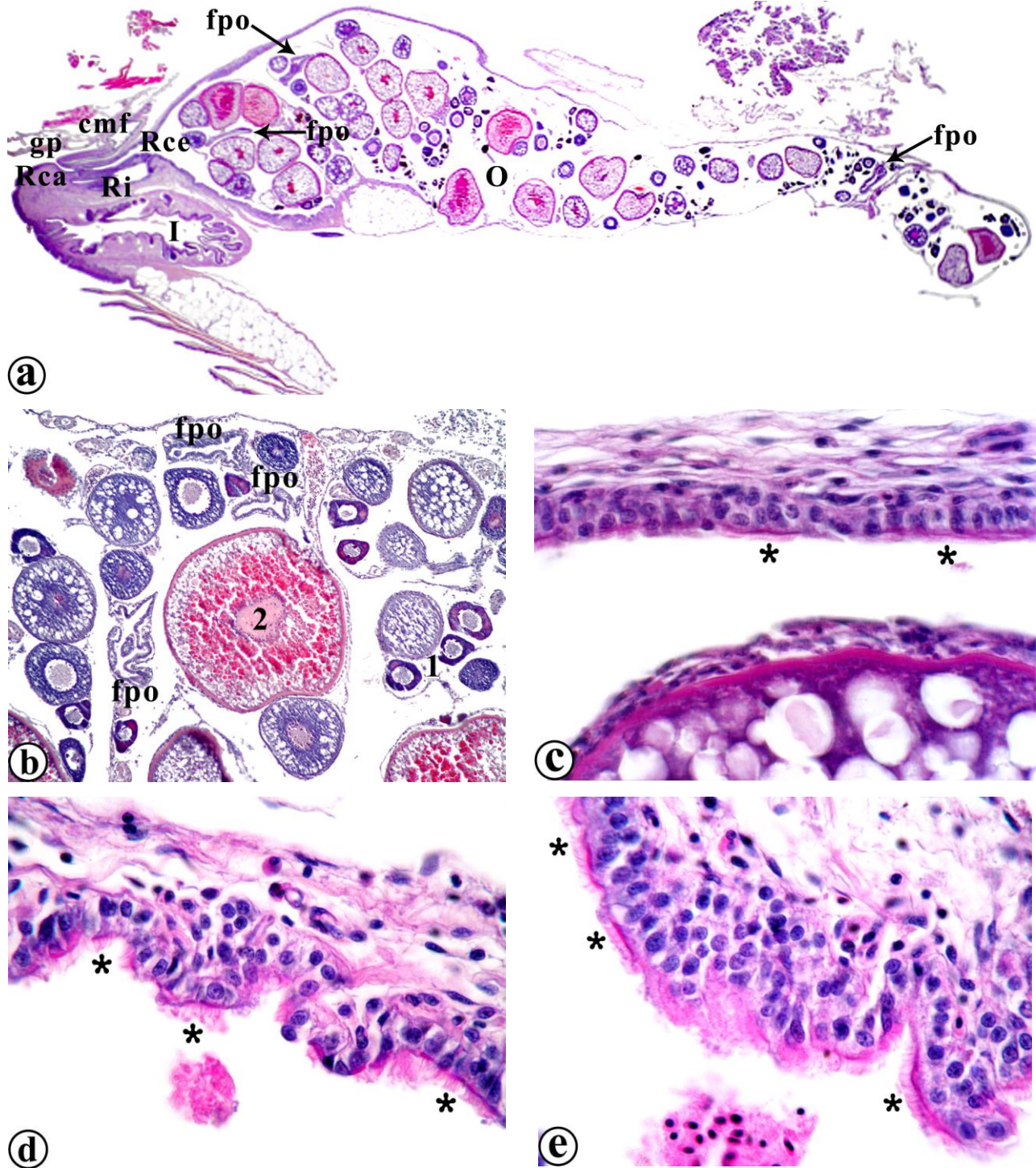


Figura 20. Ovario y gonoducto de *Brachydanio rerio* en post-desove. a) Región cefálica (Rce), intermedia (Ri) y caudal (Rca) del gonoducto, comunicándose al exterior a través del gonoporo (gp). Folículos post-ovulatorios (fpo) en el ovario (O). Conducto mesonéfrico (cmf). Intestino (I). H-E 3X. **b)** Detalle de la figura (a). Folículos post-ovulatorios (fpo) en el ovario. Ovocitos previtelogénicos (1) y vitelogénicos (2). H-E 10X. **c)** Epitelio ovárico ciliado (*). H-E 40X. **d-e)** Epitelio ciliado (*) de la región cefálica (Rce) del gonoducto. H-E 100X. **d)** H-E 100X. **e)** H-E 100X.

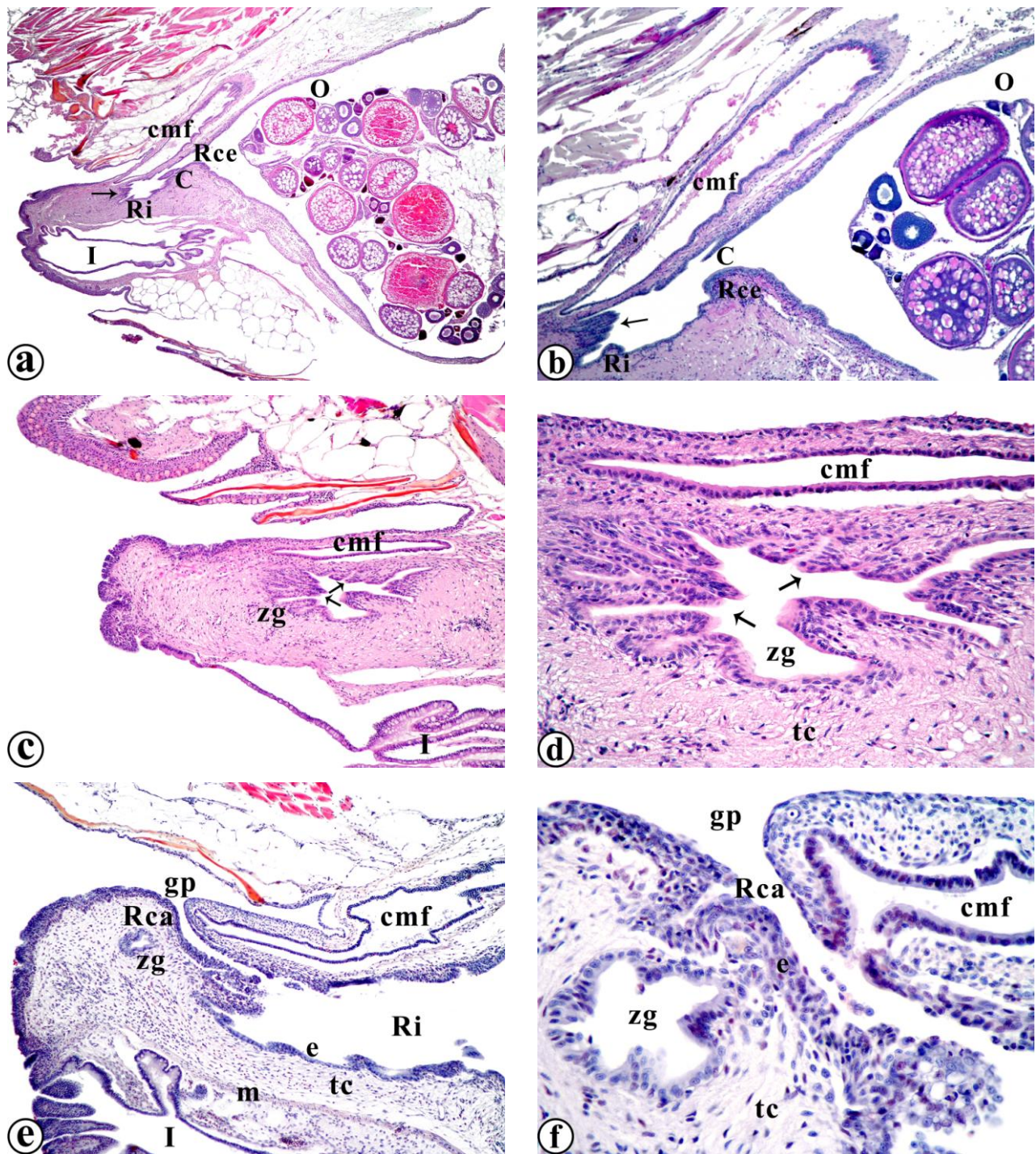


Figura 21. Ovario y gonoducto de *Brachydanio rerio* en post-desove. a-b) Pliegues de la mucosa en forma de cuello (C) de la región cefálica (Rce) y pliegues de la mucosa (→) de la región intermedia (Ri) del gonoducto. Ovario (O). Conducto mesonéfrico (cmf). Intestino (I). a) H-E 4X. b) PAS 10X. **c-d)** Zona glandular (zg) de la región caudal (Rca) del gonoducto. Conducto mesonéfrico (cmf). Tejido conjuntivo (tc). Intestino (I). c) H-E 10X. d) H-E 40X. **e)** Se observaron los elementos histológicos que forman al gonoducto: epitelio (e), tejido conjuntivo laxo (tc) y músculo liso (m). Conducto mesonéfrico (cmf). Intestino (I). H-E 10X. **f)** Detalle de la figura (e). Región caudal (Rca) del gonoducto en comunicación con el gonoporo (gp), adyacente a la zona glandular (zg). Epitelio estratificado (e). Tejido conjuntivo (tc). Conducto mesonéfrico (cmf). H-E 40X.

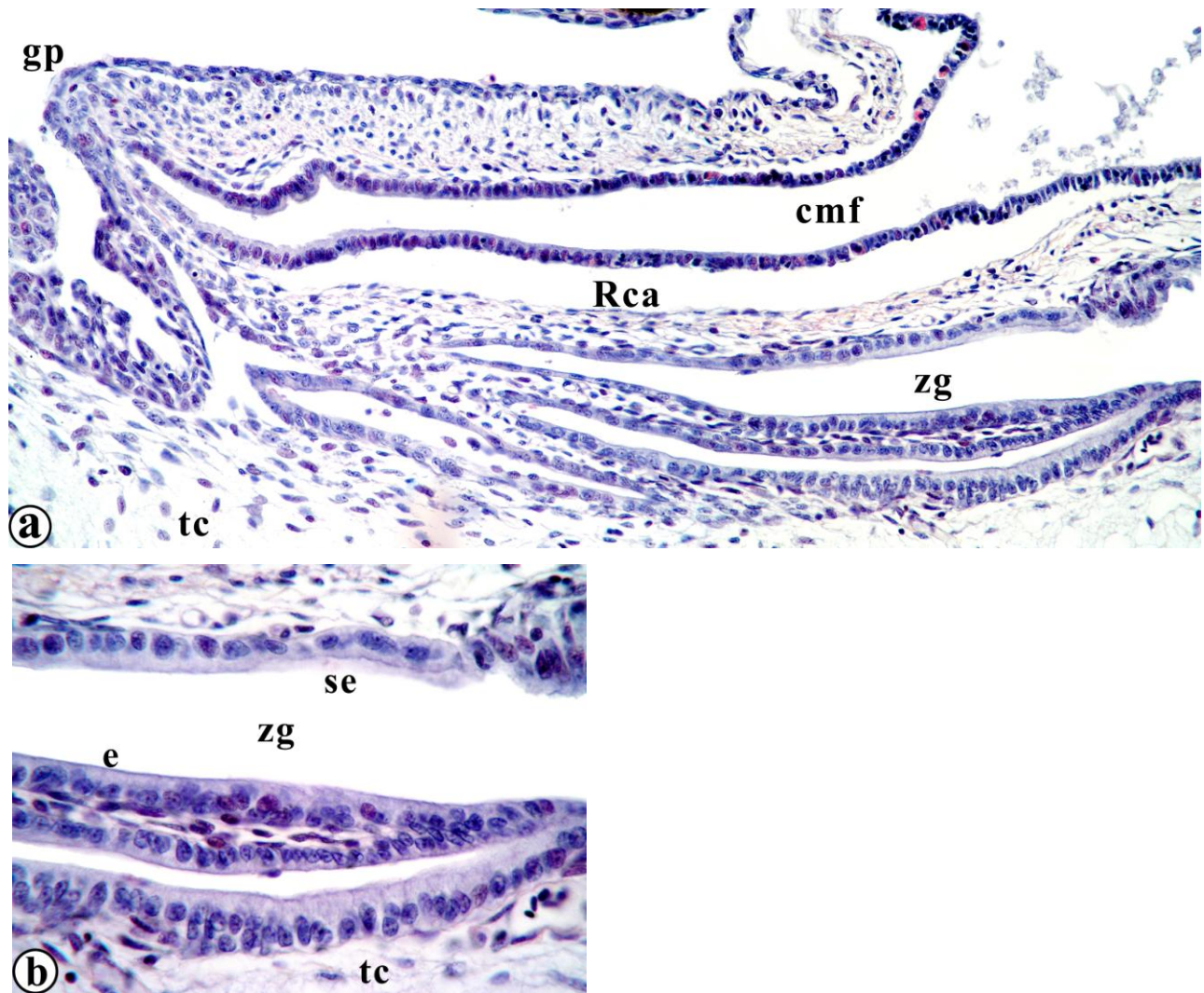


Figura 22. Gonoducto de *Brachydanio rerio* en post-desove. a) Zona glandular (zg) de la región caudal (Rca) del gonoducto, desembocando en el gonoporo (gp). Tejido conjuntivo (tc). Conducto mesonéfrico (cmf). H-E 40X. **b)** Detalle de la figura (a). Epitelio cúbico (e) con secreciones (se) de la zona glandular (zg) de la región caudal del gonoducto. Tejido conjuntivo (tc). H-E 100X.



VII. DISCUSIÓN

*No pregunten si estas ideas son buenas o malas,
más bien pregunten si coinciden con la realidad.
Malpighi*

En las dos especies de teleósteos seleccionadas para este estudio, la vivípara, *Poecilia reticulata* (Poeciliidae), y la ovípara, *Brachydanio rerio* (Cyprinidae), se identificaron dos zonas del ovario: la zona germinal y el gonoducto. El gonoducto en ambas especies mostró características morfológicas claramente distintas a las que se observan en la zona germinal del ovario. Las características morfológicas del gonoducto descritas en este trabajo son definidas e histológicamente descritas e ilustradas por primera vez. El análisis de la estructura del gonoducto de ambas especies mostró aspectos morfológicos similares que indican características fisiológicas propias de este nivel del ovario; asimismo, se identificaron aspectos diferentes comparando ambas especies, relacionados con las condiciones de viviparidad y oviparidad.

A continuación se discuten las características morfológicas del gonoducto de ambas especies, tanto las similares como las que varían.

1. Aspectos similares de la estructura del gonoducto de *Poecilia reticulata* y *Brachydanio rerio*

El gonoducto ha sido brevemente mencionado en varias especies de teleósteos por diversos autores. Observaciones del gonoducto realizadas en ambas especies en este trabajo coinciden con las características mencionadas en la literatura, lo cual nos indica que el gonoducto es una estructura morfológica y funcional común en estudios tanto en especies vivíparas como ovíparas. Dichas observaciones coincidentes señalan que el gonoducto:

- ➔ Es la porción caudal del ovario que desemboca en el gonoporo (Philippi, 1908; Mendoza, 1943; Turner, 1947; Hoar, 1969; Nagahama, 1983; Wake, 1985; Álvarez del Villar, 1988; Wourms *et al*, 1988; Constantz, 1989; Lahnsteiner *et al*, 1997; Wourms, 1999; Koob, 1999; Potter y Kramer, 2000; Uribe *et al*, 2005, 2009).
- ➔ Está formado por serosa, músculo liso, tejido conjuntivo y epitelio columnar con células ciliadas y no ciliadas (Turner, 1947; Wourms *et al*, 1988; Constantz, 1989; Lahnsteiner *et al*, 1997; Potter y Kramer, 2000; Uribe *et al*, 2009).



← Recibe y mantiene a los espermatozoides en especies con fecundación interna (Turner, 1947; Wake, 1985; Potter y Kramer, 2000; Kobayashi e Iwamatsu, 2002).

El gonoducto, siendo una parte del ovario, se caracteriza por carecer de células germinales, lo que lo diferencia morfológica y fisiológicamente de la zona germinal del ovario.

El análisis de la morfología del gonoducto, tanto de *P. reticulata* como de *B. rerio*, reveló características distintivas que permitieron dividirlo en regiones histológicas diferentes. Esto es, las características estructurales del gonoducto de ambas especies se clasificaron para su descripción en tres regiones: cefálica, intermedia y caudal. El gonoducto limita con la zona germinal del ovario en su región cefálica, así como con el gonoporo, a través del cual se comunica con el exterior, en su región caudal.

La estructura histológica de las tres regiones del gonoducto está formada por los mismos elementos en ambas especies, los cuales del exterior al interior comprenden: serosa, músculo liso, tejido conjuntivo vascularizado laxo y epitelio cúbico, columnar o estratificado. La presencia y disposición de los elementos histológicos observados en el gonoducto corresponde a la estructura básica de órganos tubulares en vertebrados (Geneser, 2000; Uribe, 2002; Uribe *et al*, 2009).

La región cefálica del gonoducto se distinguió por la presencia de una estructura similar a un cuello o cérvix, caracterizado por la reducción de su lumen y la presencia de largos pliegues de la mucosa que se extienden hacia el lumen. Se sugiere que esta región funciona a manera de un esfínter protegiendo la zona germinal del ovario en donde se encuentran los ovocitos y los embriones en la especie vivípara, o los huevos en la especie ovípara. En consecuencia, este cuello limita y aísla a la región germinal del ovario con relación al resto del gonoducto y el exterior.

La región intermedia del gonoducto se caracteriza por presentar pliegues cortos y gruesos de la mucosa así como mayor amplitud en su lumen y abundante músculo liso. Es la región que impulsa el tránsito de crías y huevos hacia el exterior. Asimismo, en la especie vivípara permite la circulación de espermatozoides hacia la zona germinal del ovario.

La región caudal del gonoducto se comunica con el gonoporo para la expulsión de los embriones, en la especie vivípara, o huevos, en la especie ovípara, por lo cual es la región que al relacionarse con el exterior, muestra mayor presencia de células del sistema inmunológico, desarrollo de epitelio estratificado y mayor grosor muscular.



2. Aspectos que varían de la estructura del gonoducto de *Poecilia reticulata* y *Brachydanio rerio*

A. Epitelio luminal

El gonoducto de ambas especies está limitado internamente por epitelio simple (cúbico y columnar) y estratificado. Algunas células epiteliales presentan cilios en su polo apical, siendo más evidentes en la especie ovípara. Esta característica coincide con Lahnsteiner *et al.* (1997), quienes describieron la presencia de cilios en el gonoducto del pez ovíparo *Alburnus alburnus*.

Los cambios estructurales del epitelio más evidentes se observaron en *P. reticulata* durante la vitelogénesis, estadio en el cual, a todo lo largo del gonoducto, las células epiteliales fueron más altas. Se sugiere que esta característica está relacionada con la actividad secretora de dichas células. Adicionalmente, la mayor altura de las células epiteliales correspondió a tales células secretoras, situadas en la región caudal, en donde se identificó la formación de una zona glandular en posición ventral.

En *B. rerio* se observaron células ciliadas dispersas en el epitelio del gonoducto en las tres etapas fisiológicas analizadas, en la región cefálica e intermedia del gonoducto. En la región cefálica las células ciliadas fueron más abundantes y los cilios de mayor longitud, lo cual sugiere que los cilios tendrían una función esencial para dirigir los huevos hacia las regiones intermedia y caudal del gonoducto y para su expulsión final a través del gonoporo. Esta característica coincide con lo descrito por Nagahama (1983) en *Oryzias latipes* y Lahnsteiner *et al.* (1997) en *A. alburnus*, quienes sugieren que en teleósteos ovíparos ocurre una participación activa de las células epiteliales del ovario en el transporte de los huevos ovulados durante el desove. En estas descripciones, dichos autores se refieren al epitelio de la zona germinal del ovario pero no mencionan al gonoducto.

En cambio, en *P. reticulata*, el epitelio mostró algunas células ciliadas limitando con la región cefálica del gonoducto, siendo una continuación del epitelio ciliado de la región germinal del ovario, mientras que en el gonoducto sólo fueron evidentes en la región intermedia durante la gestación. Esta característica sugiere que los cilios tienen menor participación en el transporte de los embriones al momento del nacimiento con relación al desplazamiento de ovocitos durante la oviposición.



B. Glándulas

En las tres regiones del gonoducto de *P. reticulata* y *B. rerio*, se observaron células secretoras, tanto intercaladas entre las células del epitelio como en glándulas. Adicionalmente, la región intermedia en *P. reticulata* contiene pliegues de la mucosa profundos localizados ventralmente, que indican características morfológicas de glándulas. Las células glandulares mostraron un incremento en su actividad secretora durante la vitelogénesis, tanto en las células localizadas en la región intermedia como en el conjunto glandular de la región caudal, siendo evidente la presencia de secreciones en el lumen. Este incremento en la actividad secretora durante la vitelogénesis sugiere una preparación del gonoducto para recibir y facilitar el apareamiento y la entrada de espermatozoides. El conjunto glandular de la región caudal mostró regresión de las glándulas durante la gestación avanzada, lo cual sugiere que su fase de actividad secretora se mantiene al inicio de la gestación pero se reduce hacia el final de esta etapa fisiológica.

Aunque en *B. rerio* también se forma una zona glandular en la región caudal del gonoducto, ésta presenta un epitelio de menor altura que el observado en *P. reticulata*. Las secreciones de esta región podrían favorecer el desplazamiento de los huevos ovulados a través del gonoducto, como ha sido mencionado por Nagahama (1983) en *O. latipes* y Lahnsteiner *et al.* (1997) en *A. alburnus*.

C. Tejido muscular

El tejido muscular de las tres regiones del gonoducto en ambas especies está formado por músculo liso asociado al tejido conjuntivo. Turner (1947), Wourms *et al.* (1988) y Wourms (1999), mencionan la presencia de músculo indicando que el gonoducto está formado por el crecimiento posterior de la túnica ovárica, asociada con el tejido conjuntivo laxo. Lahnsteiner *et al.* (1997) y Potter y Kramer (2000), mencionan que en el gonoducto se encuentran células musculares lisas orientadas circularmente, lo que coincide con las observaciones realizadas en ambas especies en la presente investigación.

En la zona ventral de la región caudal de *P. reticulata* se localiza abundante músculo liso, lo que sugiere sea una zona que permite intensa contracción muscular, actuando a manera de esfínter durante el apareamiento y la expulsión de las crías al momento del nacimiento. La actividad muscular ha sido descrita en el ovario de especies vivíparas por Constantz (1989), quien considera que las contracciones de los músculos de la pared del ovario son esenciales en el proceso de nacimiento de las crías. Sin embargo, este autor sólo se refiere al músculo de la región germinal del



ovario pero no menciona al gonoducto. Asimismo, Heller (1972), y Uribe *et al.* (2009), describieron e ilustraron la distribución de las capas musculares que rodean a la región germinal del ovario de los pecílidos, las cuales se continúan en el gonoducto. Además, mediante datos experimentales en especies ovíparas pertenecientes a los órdenes Perciformes y Cypriniformes, y en especies vivíparas (*Poecilia reticulata*, *Mollinensia sphenops* y *Xiphophorus maculatus*), Heller (1972), observó que la zona germinal del ovario y el gonoducto presentaron contractilidad al ser aislados y expuestos *in vitro* a bajas concentraciones de hormonas (arginina vasotocina, ictiotocina o isotocina y oxitocina), presentando mayor sensibilidad la región germinal del ovario y gonoducto de las especies vivíparas, particularmente *M. sphenops*.

D. Células del sistema inmunológico

En *P. reticulata* las células del sistema inmunológico fueron más abundantes que en *B. rerio*, sobre todo durante la vitelogénesis y la gestación. En el estroma de la región caudal se observaron, entre las células epiteliales y en la luz del gonoducto, diversos tipos de células como linfocitos, macrófagos, células plasmáticas, neutrófilos y eosinófilos. La presencia de abundantes elementos del sistema inmunológico en el gonoducto indica que es un sitio de reacción y protección hacia la región germinal del ovario, actividad de gran importancia, ya que el gonoducto es adyacente al medio exterior. Esta protección es esencial durante el apareamiento y la gestación.

Greven (2005), menciona que al penetrar el gonopodio de los machos en el gonoducto de la hembra, puede producir una laceración de su pared en el sitio de entrada, lo que estimula una respuesta inmunológica en la hembra. En esta respuesta, este autor observó la participación activa de linfocitos y macrófagos. Se sugiere que esta respuesta es necesaria no solo por la entrada del gonopodio del macho sino también debido a la cercanía de los tejidos lesionados del gonoducto con el medio externo, respondiendo a la presencia de agentes patógenos y evitando una posible infección.

Por otra parte, el sistema inmunológico parece favorecer la eliminación de algunos espermatozoides durante la vitelogénesis, como ha sido propuesto por Constantz (1989), quien mencionó que hay una reacción inmunológica en el gonoducto por la presencia de espermatozoides, además algunos de ellos serían eliminados por el sistema inmune de la hembra. Asimismo, los elementos del sistema inmunológico durante la gestación brindarían protección para el desarrollo de las crías, manteniendo un ambiente libre de patógenos en el gonoducto.



E. Centros melanomacrofágicos

Adicionalmente, en *P. reticulata* se observaron estructuras compactas que incluyen células del sistema inmunológico, identificadas como centros melanomacrofágicos, de acuerdo con Roberts (1975). Estas estructuras no se observaron en *B. rerio*.

De acuerdo con Herraez y Zapata (1986), y Agius y Roberts (2003), los centros melanomacrofágicos, también conocidos como agregados macrofágicos, han sido observados en peces como agrupaciones localizadas en el estroma de tejidos hematopoyéticos como bazo, riñón e hígado. Los centros melanomacrofágicos son normalmente nodulares con una delicada cápsula de tejido conjuntivo y generalmente se encuentran asociados a vasos sanguíneos (Agius, 1979a). En algunos teleósteos los centros melanomacrofágicos contienen linfocitos y macrófagos, de forma similar a lo descrito para centros germinales de los nódulos linfáticos de aves y mamíferos (Ferguson, 1976a,b; Ellis, 1980; Herraez y Zapata, 1986).

En *P. reticulata* los centros melanomacrofágicos se observaron dispersos en el tejido conjuntivo adyacente al epitelio. En el estadio de previtelogénesis se localizaron en la región intermedia del gonoducto, en la vitelogénesis no se observaron, mientras que en la gestación estuvieron presentes en la región intermedia y caudal del gonoducto. Estas observaciones sugieren que el desarrollo y la mayor actividad de estos centros se presentan durante la gestación, entrando en regresión en la previtelogénesis, y no se observan durante la vitelogénesis.

La morfología de los centros melanomacrofágicos varía de acuerdo con las diferentes especies (Roberts, 1975; Agius, 1980, 1985), órganos (Agius, 1979b; Kranz y Peters, 1984), e incluso también con las distintas condiciones fisiológicas dentro de la misma especie, tal como la edad (Agius, 1979a; Agius y Roberts, 1981; Wolke *et al.*, 1985; Kranz y Gercken, 1987), hambre (Agius y Roberts, 1981; Agius, 1983; Agius y Agbede, 1984), daño tisular (Agius, 1979a, 1981, 1983; Agius y Roberts, 1981; Kranz, 1989), metabolismo del hierro y hemoglobina (Fulop y McMillan, 1984), condiciones patológicas e inflamatorias crónicas (Roberts, 1975; Ellis, 1980; Vogelbein *et al.*, 1987), y procesos inmunológicos, incluyendo la captura de antígenos (Ellis, 1980; Agius, 1981, 1985; Fulop y McMillan, 1984), así como se desarrollan durante la atresia folicular (Agius y Roberts, 2003). De acuerdo con lo anterior, se sugiere que el desarrollo de estos centros en *P. reticulata* está relacionado con la presencia de espermatozoides en el gonoducto durante la vitelogénesis, provocando una reacción inmunológica, debido a los espermatozoides que no



alcancen a llegar a la zona germinal del ovario, permaneciendo hasta la gestación para favorecer además un ambiente libre de patógenos al momento del nacimiento de las crías.

F. Presencia de espermatozoides en el gonoducto

La fecundación interna en teleósteos vivíparos permite que el gonoducto involucre diferentes funciones por la presencia de espermatozoides, a diferencia de las especies ovíparas, las cuales al presentar fecundación externa, los espermatozoides no tienen contacto con el gonoducto.

Como ha sido descrito por Turner (1947), Hoar (1969), Breder y Rosen (1966), Wake (1985), Potter y Kramer (2000), Kobayashi e Iwamatsu (2002) y Evans *et al.* (2003), el gonoducto recibe a los espermatozoides durante el apareamiento.

En *P. reticulata* se observó la presencia de espermatozoides en las tres regiones del gonoducto solamente durante la etapa de vitelogénesis, algunos de los cuales se localizaron en la luz mientras que otros estaban en contacto con células epiteliales.

En diversas especies de pecílidos se ha descrito el almacenamiento de espermatozoides. Respecto a este tema se ha mencionado que en la región germinal del ovario de *P. reticulata* (Hoar, 1969; Wake, 1985; Kobayashi e Iwamatsu, 2002; Evans *et al.*, 2003) y en la región germinal del ovario y gonoducto de *X. maculatus* (Vaupel, 1929; Vallowe, 1953; Kallman, 1975; Potter y Kramer, 2000), los pliegues de la mucosa forman receptáculos seminales para el almacenamiento de espermatozoides.

De acuerdo con los resultados de este trabajo, no se observaron sitios específicos de almacenamiento de espermatozoides en el gonoducto de *P. reticulata*, a diferencia de lo que se ha registrado en *X. maculatus*. Sin embargo, al igual que en los registros previos en la literatura, si se observó almacenamiento de espermatozoides en la región germinal del ovario de *P. reticulata*, en donde los espermatozoides se localizaron en invaginaciones profundas y ramificadas de la pared de la región germinal del ovario, formando pequeños grupos, lo cual sugiere que son sitios específicos de almacenamiento.

Asimismo, de acuerdo con lo descrito en *Heterandria formosa* (Wourms, 1981), los espermatozoides pueden almacenarse hasta por diez meses, permitiendo el desarrollo de hasta ocho camadas a partir de un apareamiento (Constantz, 1989).

Por otra parte, Turner (1937), Hoar (1969), Fishelson (1977), Gardiner (1978), y Koya *et al.* (1995), mencionan que una de las funciones de las células epiteliales de la zona germinal del ovario



y gonoducto es el mantenimiento de los espermatozoides, al proporcionarles soporte, secreciones y nutrientes. De acuerdo con Hogarth (1973), y Koya *et al.* (1997), las células epiteliales contribuyen a formar una barrera inmunológica al aislar a los espermatozoides del sistema inmune de la hembra.



VIII. CONCLUSIONES

*En la ciencia todo el crédito va al hombre que convence
al mundo de una idea, no al que la concibió primero.
William Osler*

1. Aspectos similares de la estructura del gonoducto de *Poecilia reticulata* y *Brachydanio rerio*

- El ovario se divide en dos zonas: la zona germinal y el gonoducto.
- El gonoducto comprende desde el límite de la zona germinal hasta su desembocadura en el gonoporo, por lo tanto, limita y aísla a la zona germinal del exterior.
- El ovario y el gonoducto están situados dorsalmente al tubo digestivo, sostenidos por el mesovario. Se encuentran en posición ventral al conducto mesonéfrico, éste último desemboca paralelo al gonoducto en la región cercana al gonoporo, por lo cual, ambos conductos forman una sola comunicación al exterior.
- La estructura del gonoducto está formada por tres regiones: cefálica, intermedia y caudal.
- La estructura histológica de la pared del gonoducto está formada por: serosa, músculo liso, tejido conjuntivo vascularizado laxo y epitelio cúbico o columnar, con células ciliadas y no ciliadas y glándulas. Alrededor del gonoporo el epitelio que limita al gonoducto es estratificado, formado por 3 a 5 capas de células de forma irregular.
- El gonoducto está integrado exclusivamente por células somáticas, a diferencia de la región germinal, la cual contiene células germinales en diversos estadios de desarrollo, rodeadas de tejido somático.
- La región cefálica presentó largos y delgados pliegues de la mucosa, similares a un cuello que se extienden en el lumen, los cuales indican los límites de esta región, tanto para separarla de la zona germinal como de la región intermedia del gonoducto.
- La región intermedia contiene pliegues cortos y gruesos de la mucosa hacia el lumen distribuidos de manera irregular.
- En la región caudal se localizaron invaginaciones glandulares.
- En el gonoducto se observaron células del sistema inmunológico en vasos sanguíneos, en el estroma, entre las células epiteliales y en la luz.
- Los elementos del sistema inmunológico que se observaron fueron: linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, macrófagos y células plasmáticas.



2. Aspectos que varían de la estructura del gonoducto de *Poecilia reticulata* y *Brachydanio rerio*

- Los pliegues de la mucosa de la región cefálica fueron de mayor longitud en *Poecilia reticulata* que en *Brachydanio rerio*.
- La región intermedia en *P. reticulata* fue más larga y su luz fue más irregular que en *B. rerio* por la presencia de pliegues más profundos.
- En la zona ventral de la región caudal de *P. reticulata*, el tejido conjuntivo y, especialmente el músculo liso, mostraron un mayor desarrollo formando una evaginación gruesa y alta que reduce el lumen del gonoducto en el extremo apical de esta región. Asimismo, este estrechamiento de la luz del gonoducto también es debido a los pliegues de la mucosa que formaron una estructura similar a un cuello, parecido al observado en la región cefálica, pero los pliegues son más cortos y delgados.
- Las invaginaciones glandulares de la región caudal en *P. reticulata* mostraron células columnares muy altas.
- En *P. reticulata* se observó una mayor cantidad de elementos del sistema inmunológico y la presencia de centros melanomacrofágicos, los cuales no se observaron en *B. rerio*.
- En *P. reticulata* se observó la presencia de espermatozoides en las tres regiones del gonoducto solamente durante la etapa de vitelogénesis, algunos de los cuales se localizaron en la luz, mientras que otros estaban en contacto con la región apical de las células epiteliales.
- En *P. reticulata* no se observaron sitios específicos de almacenamiento de espermatozoides en el gonoducto.
- En *P. reticulata* durante la etapa de gestación, las glándulas de la región caudal del gonoducto mostraron signos de regresión, identificadas por la irregularidad en la forma y tamaño de las células así como la descamación de algunas otras de ellas.



IX. REFERENCIAS

Ciencia es el arte de crear ilusiones convenientes, que el necio acepta o disputa, pero de cuyo ingenio goza el estudioso, sin cegarse ante el hecho de que tales ilusiones son otros tantos velos para ocultar las profundas tinieblas de lo insondable.
Karl Gustav Jung

- Agius, C. 1979a.** *Aspects of the melano-macrophage centres in fish.* PhD Thesis, University of Stirling.
- Agius, C. 1979b.** *The role of melano-macrophage centres in iron storage in normal and diseased fish.* *Journal of Fish Diseases.* 2: 337-343.
- Agius, C. 1980.** *Phylogenetic development of melano-macrophage centres in fish.* *Journal of Zoology.* London. 191: 11-31.
- Agius, C. 1981.** *The effects of splenectomy and subsequent starvation on the storage of haemosiderin by the melano-macrophages of rainbow trout Salmo gairdneri Richardson.* *Journal of Fish Biology.* 18: 41-44.
- Agius, C. 1983.** *On the failure to detect haemosiderin in the melano-macrophages of the dogfish Scylorhinus canicula (Linnaeus) after prolonged starvation.* *Experientia.* 39: 64-67.
- Agius, C. 1985.** *The melano-macrophage centres in fish: a review.* En: *Fish Immunology* (M. J. Manning y M. F. Tatner, editores). 85-105. Academic Press, London.
- Agius, C. y Agbede, S. A. 1984.** *Electron microscopical studies on the genesis of lipofuscin, melanin and haemosiderin in the haemopoietic tissues of fish.* *Journal of Fish Biology.* 24: 471-488.
- Agius, C. y Roberts, R. J. 1981.** *Effects of starvation on the melano-macrophage centres of fish.* *Journal of Fish Biology.* 19: 161-169.
- Agius, C. y Roberts, R. J. 2003.** *Melano-macrophage centres and their role in fish pathology.* *Journal of Fish Diseases.* 26: 499-509.
- Aguilar Morales, M; Coutiño Bello, B. y Salinas Rosales, P. 1996.** *Manual general de técnicas histológicas y citoquímicas.* Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Álvarez del Villar, J. 1988.** *Anatomía comparada básica.* Editorial Trillas. Segunda edición. México.
- Bailey, R. J. 1933.** *The Ovarian Cycle in the Viviparous Teleost Xiphophorus helleri.* *Biol Bull.* 64. 206-225.



-
-
- Baron, D.; Cocquet, J.; Xia, X.; Fellous, M.; Guiguen, Y. y Veitia, R.A. 2004.** *An evolutionary and functional analysis of Foxl2 in rainbow trout gonad differentiation. J. Mol. Endocrinol.* 33(3): 705-715.
- Baron, D.; Houlgatte, R.; Fostier, A. y Guiguen, Y. 2005.** *Largescale temporal gene expression profiling during gonadal differentiation and early gametogenesis in rainbow trout. Biol. Reprod.* 73: 959-966.
- Bollig, F.; Mehringer, R.; Perner, B.; Hartung, C.; Schäfer, M.; Scharl, M.; Volff, J. N.; Winkler, C. y Englert, C. 2006.** *Identification and comparative expression analysis of a second wt1 gene in zebrafish. Dev. Dyn.* 235(2): 554-561.
- Breder, C. M. y Rosen, D. E. 1966.** *Modes of reproduction in fishes.* Natural History Press. Nueva York. EUA.
- Callard, I. P. y Ho, S-m. 1987.** *Vitellogenesis and Viviparity. En: Fundamentals of Comparative Vertebrate Endocrinology.* (Chester-Jones I.; P. M. Ingleton y J. G. Phillips, editores). Plenum Press. Nueva York. EUA.
- Chai, C. y Chan, W. K. 2000.** *Developmental expression of a novel Ftz-F1 homologue, ff1b (NR5A4), in the zebrafish Danio rerio. Mech. Dev.* 91: 421-426.
- Chang, X.; Kobayashi, T.; Senthilkumaran, B.; Kobayashi-Kajura, H.; Sudhakumari, C. C. y Nagahama, Y. 2005.** *Two types of aromatase with different encoding genes, tissue distribution and developmental expression in Nile tilapia (Oreochromis niloticus). Gen. Comp. Endocrinol.* 141(2): 101-115.
- Chiang, E. F.; Pai, C. I.; Wyatt, M.; Yan, Y. L.; Postlethwait, J. y Chung, B. 2001.** *Two Sox9 genes on duplicated zebrafish chromosomes: expression of similar transcription activators in distinct sites. Dev. Biol.* 231: 149-163.
- Constantz, G. D. 1989.** *Reproductive Biology of Poeciliid Fishes. En: Ecology and Evolution of Livebearing Fishes.* (G. K. Meffe y F. F. Snelson Jr., editores). Englewood Cliffs. Nueva Jersey. Prentice Hall.
- Devlin, R. H. y Nagahama, Y. 2002.** *Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. Aquaculture.* 208: 191-364.
- Dildine, G. C. 1936.** *Studies in teleostean reproduction. I. Embryonic hermaphroditism in Lebistes reticulatus. J. Morphol.* 60: 261-277.
- Du, Q. Y.; Wang, F. Y.; Hua, H. Y. y Chang, Z. J. 2007.** *Cloning and study of adult-tissue-*



specific expression of Sox9 in Cyprinus carpio. J. Genet. 86(2): 85-91.

- Ellis, A. E. 1980.** *Antigen-trapping in the spleen and kidney of the plaice, Pleuronectes platessa (L.). Journal of Fish Diseases. 3: 413-426.*
- Evans, J. P., Pilastro, A. y Ramnarine, I. W. 2003.** *Sperm Transfer through Forced Matings and its Evolutionary Implications in Natural Guppy (Poecilia reticulata) Populations. Biological Journal of the Linnean Society. 78: 605-612.*
- Ferguson, H. W. 1976a.** *The reticulo-endothelial system of teleost fish with special reference to the plaice (Pleuronectes platessa L.). PhD Thesis. University of Stirling.*
- Ferguson, H. W. 1976b.** *The relationship between ellipsoids and melano-macrophage centres in the spleen of turbot (Scophthalmus maximus). Journal of Comparative Pathology. 86: 377-380.*
- Fishelson, L. 1977.** *Ultrastructure of the epithelium from the ovary wall of Dendrochirus brachypterus (Pteroidae, Teleostei). Cell Tissue Res. 177: 375-381.*
- Flores, J. A. y Burns, J. R. 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.*
- Francis, C. R. 1992.** *Sexual Lability in Teleosts: Developmental Factors. The Quarterly Review of Biology, Vol. 67, No. 1. Marzo. 1-18. The University of Chicago Press. Chicago. EUA.*
- Fulop, G. M. I. y McMillan, D. 1984.** *Phagocytosis in the spleen of the sunfish Lepomis spp. Journal of Morphology. 179: 175-195.*
- Gardiner, D. M. 1978.** *Cycling changes in fine structure of the epithelium lining the ovary of the viviparous teleost, Cymatogaster aggregata (Perciformes: Embiotocidae). J. Morphol. 156: 367-379.*
- Geneser, Finn. 2000.** *Histología. Tercera edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.*
- Giuli, G.; Shen, W. H. e Ingraham, H. A. 1997.** *The nuclear receptor SF-1 mediates sexually dimorphic expression of Müllerian inhibiting substance, in vivo. Development. 124:1799-1807.*
- Greven, H. 2005.** *Structural and Behavioural Traits Associated with Sperm Transfer in Poeciliinae. En: Viviparous Fishes. (M. C. Uribe y H. J. Grier, editores). New Life Publications. México.*
- Grier, H. 2000.** *Ovarian Germinal Epithelium and Folliculogenesis in the Common Snook,*



-
-
- Centropomus undecimalis* (Teleostei: Centropomidae). *Journal of Morphology*. 243: 265-281.
- Guiguen, Y.; Baroiller, J. F.; Ricordel, M. J.; Iseki, K.; Mcmeel, O. M.; Martin, S. A. y Fostier, A. 1999.** *Involvement of estrogens in the process of sex differentiation in two fish species: the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and a tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Mol. Reprod. Dev.* 54(2): 154-162.*
- Guo, Y.; Cheng, H.; Huang, X.; Gao, S.; Yu, H. y Zhou, R. 2005.** *Gene structure, multiple alternative splicing, and expression in gonads of zebrafish *Dmrt1*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 330: 950-957.*
- Heller, H. 1972.** *The Effect of Neurohypophyseal Hormones on the Female Reproductive Tract of Lower Vertebrates. General and Comparative Endocrinology Supplement. 3: 703-714.*
- Herraez, M. P. y Zapata, A. G. 1986.** *Structure and function of the melano-macrophage centres of the goldfish *Carassius auratus*. *Veterinary Immunology and Immunopathology.* 12: 117-126.*
- Higa, M.; Kanda, H.; Kitahashi, T.; Ito, M.; Shiba, T. y Ando, H. 2000.** *Quantitative analysis of *fushi tarazu factor 1* homolog messenger ribonucleic acids in the pituitary of salmon at different prespawning stages. *Biol. Reprod.* 63: 1756-1763.*
- Hoar, W. S. 1969.** *Reproduction. En: Fish Physiology. (W. S. Hoar, D. J. Randall y E. M. Donaldson, editores). Vol. 3. Parte A. Academic Press. Nueva York. EUA.*
- Hogarth, P. J. 1973.** *Immune relations between mother and foetus in the viviparous poeciliid fish *Xiphophorus helleri* Haeckel. III. Survival of embryos after ectopic transplantation. *J. Fish Biol.* 5: 109-113.*
- Hollenberg, F. y Wourms, J. P. 1994.** *Ultrastructure and Protein Uptake of the Embryonic Trophotaeniae of Four Species of Goodeid fishes (Teleostei: Atheriniformes). *J. Morphology.* 219: 105-119.*
- Ijiri, S.; Kaneko, H.; Kobayashi, T.; Wang, D. S.; Sakai, F.; Paul-Prasanth, B.; Nakamura, M. y Nagahama, Y. 2008.** *Sexual dimorphic expression of genes in gonads during early differentiation of a teleost fish, the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Biol. Reprod.* 78(2): 333-341.*
- Jeong, H. B.; Park, J. G.; Park, Y. J.; Takemura, A.; Hur, S. P.; Lee, Y. D. y Kim, S. J. 2009.** *Isolation and characterization of *DMRT1* and its putative regulatory region in the protogynous wrasse, *Halichoeres tenuispinis*. *Gene.* 438(1-2): 8-16.*
- Kallman, K. D. 1975.** *The platyfish, *Xiphophorus maculatus*. En: King R. C., editor. Handbook of*



Genetics. Vol. 4. Plenum Press. Nueva York.

- Kent, J.; Wheatley, S. C.; Andrews, J. E.; Sinclair, A. H. y Koopman, P. 1996.** *A male-specific role for SOX9 in vertebrate sex determination. Development.* 122: 2813-2822.
- Klüver, N.; Herpin, A.; Braasch, I.; Driessle, J. y Schartl, M. 2009.** *Regulatory back-up circuit of medaka Wt1 co-orthologs ensures PGC maintenance. Dev. Biol.* 325(1): 179-188.
- Knight, F. M.; Lombardi, J.; Wourms, J. P. y Burns, J. R. 1985.** *Follicular Placenta and Embryonic Growth of the Viviparous Four-Eyed Fish (Anableps). J. Morphology.* 185: 131-142.
- Kobayashi, H. e Iwamatsu, T. 2002.** *Fine Structure of the Storage Micropocket of Spermatozoa in the Ovary of the Guppy Poecilia reticulata. Zoological Science.* 19: 545-555.
- Kobayashi, T.; Matsuda, M.; Kajiura-Kobayashi, H.; Suzuki, A.; Saito, N.; Nakamoto, M.; Shibata, N. y Nagahama, Y. 2004.** *Two DM domain genes, DMY and DMRT1, involved in testicular differentiation and development in the medaka, Oryzias latipes. Dev. Dyn.* 231(3): 518-526.
- Koob, T. J. 1999.** Relaxin, Nonmammalian. *En: Encyclopedia of Reproduction.* (Ernst Knobil y Jimmy D. Neill, editores). Volumen 4. Academic Press. EUA.
- Koya, Y; Takano, K. y Takahashi, H. 1995.** *Annual changes in fine structure of inner epithelial living of the ovary of a marine sculpin, Alcichthys alcicornis (Teleostei: Scorpaeniformes), with internal gametic association. J. Morphol.* 223: 85-97.
- Koya, Y; Munehara, H y Takano, K. 1997.** *Sperm storage and degradation in the ovary of a marine copulating sculpin, Alcichthys alcicornis (Teleostei: Scorpaeniformes): role of intercellular junctions between inner ovarian epithelial cells. J Morphol.* 233: 153-163.
- Kranz, H. 1989.** *Changes in splenic melano-macrophage centres of dab, Limanda limanda during and after infection with ulcer disease. Diseases of Aquatic Organisms.* 6: 167-173.
- Kranz, H. y Gercken, J. 1987.** *Effects of sublethal concentration of potassium dichromate on the occurrence of splenic melano-macrophage centres in juvenile plaice, Pleuronectes platessa L. Journal of Fish Biology.* 31 (Suppl. A), 75-80.
- Kranz, H. y Peters, N. 1984.** *Melano-macrophage centres in liver and soleen of ruffe (Gymnocephalus cernuus) from the Elbe Estuary. Helgolander Meeresuntersuchungen.* 3: 415-424.
- Kwon, J. Y.; McAndrew, B. J. y Penman, D. J. 2001.** *Cloning of brain aromatase gene and*



expression of brain and ovarian aromatase genes during sexual differentiation in genetic male and female Nile tilapia Oreochromis niloticus. Mol. Reprod. Dev. 59(4): 359-370.

Lahnsteiner, F.; Weismann, T. y Patzner, R. A. 1997. *Structure and Function of the Ovarian Cavity and Oviduct and Composition of the Ovarian Fluid in the bleak, Alburnus alburnus (Teleostei, Cyprinidae). Tissue and Cell. 29 (3): 305-314.*

Liu, Z.; Wu, F.; Jiao, B.; Zhang, X.; Hu, C.; Huang, B.; Zhou, L.; Huang, X.; Wang, Z.; Zhang, Y.; Nagahama, Y.; Cheng, C. H. y Wang, D. 2007. *Molecular cloning of doublesex and mab-3-related transcription factor 1, forkhead transcription factor gene 2, and two types of cytochrome P450 aromatase in Southern catfish and their possible roles in sex differentiation. J. Endocrinol. 194(1): 223-241.*

Maack, G. y Segner, H. 2003. *Morphological Development of the Gonads in Zebrafish. Journal of Fish Biology. 62: 895-906.*

Marchand, O.; Govoroun, M.; D’Cotta, H.; McMeel, O.; Lareyre, J.; Bernot, A.; Laudet, V. y Guiguen, Y. 2000. *DMRT1 expression during gonadal differentiation and spermatogenesis in the rainbow trout, Oncorhynchus mykiss. Biochem. Biophys. Acta. 1493: 180-187.*

Martins, R. S.; Deloffre, L. A.; Mylonas, C. C.; Power, D. M. y Canário, A. V. 2007. *Developmental expression of DAX1 in the European sea bass, Dicentrarchus labrax: lack of evidence for sexual dimorphism during sex differentiation. Reprod. Biol. Endocrinol. 5: 19.*

Matsuda, M. 2005. *Sex determination in the teleost medaka, Oryzias latipes. Annu. Rev. Genet. 39: 293-307.*

Matsuda, M.; Nagahama, Y.; Shinomiya, A.; Sato, T.; Matsuda, C.; Kobayashi, T.; Morrey, C. E.; Shibata, N.; Asakawa, S.; Shimizu, N.; Hori, H.; Hamaguchi, S. y Sakaizumi, M. 2002. *DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. Nature. 417: 559-563.*

Matsuda, M. y Sakaizumi, M. 2009. *Sex Determination. En: Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes (Agnathans and Bony Fishes). Barrie G. M. Jamieson (editor). Volumen 8B. Science Publishers. Enfield, N. H. EUA.*

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): 394-365.*

Mendoza, G. 1943. *The Reproductive Cycle of the Viviparous Teleost, Neotoca bilineata, a Member*



of the Family Goodeidae. Biol. Bull. 84: 87-97. IV. The Germinal Tissue.

- Mills, D. y Vevers, G. 1986.** *Guía práctica ilustrada de los peces de acuario.* (Roser Molero Vives, traductor). Blume, S. A. Barcelona, España.
- Miura, T.; Miura, C.; Konda, Y. y Yamauchi, K. 2002.** *Spermatogenesis-preventing substance in Japanese eel. Development.* 129: 2689-2697.
- Morais da Silva, S.; Hacker, A.; Harley, V.; Goodfellow, P.; Swain, A. y Lovell-Badge, R. 1996.** *Sox9 expression during gonadal development implies a conserved role for the gene in testis differentiation in mammals and birds. Nat Genet.* 14: 62-68.
- Mossman, H. N. 1987.** *Comparative Morphogenesis of the Fetal Membranes and Accessory Uterine Structures.* Contrib. Embryol. Carnegie. Inst. 26: 129-246.
- Mrsic, W. 1930.** *Über das auftreten intermediärer Stadien bei der Geschlechtsdifferenzierung der Forelle.* Arch. Entwicklungsmech. Org. (Wilhelm Roux). 123: 301-332.
- Nagahama, Y. 1983.** *The Functional Morphology of Teleost Gonads. En: Fish Physiology.* (W. S. Hoar, D. J. Randall y E. M. Donaldson, editores). Vol. IX. Parte A. Academic Press. Nueva York. EUA.
- Nagahama, Y. 1999.** *Gonadal steroid hormones: major regulators of gonadal sex differentiation and gametogenesis in fish.* Sixth Int. Symp. on the Reproductive Physiology of Fish. Bergen, Noruega.
- Nakamoto, M.; Matsuda, M.; Wang, D. S.; Nagahama, Y. y Shibata, N. 2006.** *Molecular cloning and analysis of gonadal expression of Foxl2 in the medaka, Oryzias latipes. Biochem. Biophys. Res. Commun.* 344(1): 353-361.
- Nakamoto, M.; Suzuki, A.; Matsuda, M.; Nagahama, Y. y Shibata, N. 2005.** *Testicular type Sox9 is not involved in sex determination but might be in the development of testicular structures in the medaka, Oryzias latipes. Biochem. Biophys. Res. Commun.* 333(3): 729-736.
- Nakamoto, M.; Wang, D. S.; Suzuki, A.; Matsuda, M.; Nagahama, Y. y Shibata, N. 2007.** *Dax1 suppresses P450arom expression in medaka ovarian follicles. Mol. Reprod. Dev.* 74(10): 1239-1246.
- Nakamura, S.; Aoki, Y.; Saito, D.; Kuroki, Y.; Fujiyama, A.; Naruse, K. y Tanaka, M. 2008.** *Sox9b/sox9a2-EGFP transgenic medaka reveals the morphological reorganization of the gonads and a common precursor of both the female and male supporting cells. Mol. Reprod. Dev.* 75(3): 472-476.



-
-
- Nanda, I.; Kondo, M.; Hornung, U.; Asakawa, S. y Winkler, C. 2002.** *A duplicated copy of DMRT1 in the sex-determining region of the Y chromosome of the medaka, *Oryzias latipes*. PNAS. 99: 11778-11783.*
- Perner, B.; Englert, C. y Bollig, F. 2007.** *The Wilms tumor genes *wt1a* and *wt1b* control different steps during formation of the zebrafish pronephros. Dev. Biol. 309 (1): 87-96.*
- Philippi, E. 1908.** *Fortpflanzungsgeschichte der Viviparen Teleosteer *Glaridichthys januarius* und *G. decem-maculatus* in ihrem Einfluß auf Lebensweise, Makroskopische und Mikroskopische Anatomie. Zool. Jahrb. Abt. F. Anat. 27: 1-94.*
- Potter, H. y Kramer, C. R. 2000.** *Ultrastructural Observations on Sperm Storage in the Ovary of the Platyfish, *Xiphophorus maculatus* (Teleostei: Poeciliidae): The Role of the Duct Epithelium. Journal of Morphology. 245: 110-129.*
- Roberts, R. J. 1975.** *Melanin-containing cells of the teleost fish and their relation to disease. In: The Pathology of Fishes (W. E. Ribelin y G. Migaki, editores). University of Wisconsin Press, Madison, WI. 399-428.*
- Rodríguez, M. A.; Yan, Y. L.; Bremiller, R. A.; Wilson, C.; Canestro, C. y Postlethwait, J. H. 2005.** *Characterization and expression pattern of zebrafish Anti-Mullerian hormone (*Amh*) relative to *sox9a*, *sox9b*, and *cyp19a1a*, during gonad development. Gene Expr. Patterns. 5: 655-667.*
- Sawyer, S. J.; Gerstner, K. A. y Callard, G. V. 2006.** *Real-time PCR analysis of cytochrome P450 aromatase expression in zebrafish: gene specific tissue distribution, sex differences, developmental programming, and estrogen regulation. Gen. Comp. Endocrinol. 147(2): 108-117.*
- Schindler, J. F. y Hamlett, W. C. 1993.** *Maternal-Embryonic Relations in Viviparous Teleosts. The Journal of Experimental Zoology. 266: 378-393.*
- Schindler, J. F.; Kujat, R. y De Vries, U. 1988.** *Maternal-Embryonic Relationships in the Goodeid Teleost, *Xenophorus captivus*. The Internal Ovarian Epithelium and the Embryotrophic liquid. Cell Tissue Res. 254: 177-182.*
- Selman, K.; Wallace, R. A.; Sarka, A. y Qi, X. 1993.** *Stages of Oocyte Development in the Zebrafish, *Brachydanio rerio*. J. Morphology. 218: 203-224.*
- Shen, X. Y.; Cui, J. Z.; Gong, Q. L. y Nagahama, Y. 2007.** *Cloning of the full-length coding sequence and expression analysis of *Sox9b* in guppy (*Poecilia reticulata*). Fish. Physiol.*



Biochem. 33(3): 195-202.

- Simpson, E. R.; Mahendroo, M. S. y Means, G. D. 1994.** *Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen synthesis.* *Endocr. Rev.* 15: 342-355.
- Takahashi, H. 1977.** *Juvenile hermaphroditism in the zebrafish, Brachydanio rerio.* *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 28: 57-65.
- Takahashi, H. y Shimizu M. 1983.** *Juvenile intersexuality in a cyprinid fish, the Sumatra barb, Barbus tetrazona tetrazona.* *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 34: 69-78.
- Takamatsu, N.; Kanda, H.; Ito, M.; Yamashita, A.; Yamashita, S. y Shiba, T. 1997.** *Rainbow trout SOX9: cDNA cloning, gene structure and expression.* *Gene.* 202: 167-170.
- Takashima, F. e Hibiya, T. 1995.** *An Atlas of Fish Histology. Normal and Pathological Features.* Segunda Edición. Kodansha Ltd. Gustav Fischer Verlag. Japón.
- Thibault, R. E. y Schultz, R. J. 1978.** *Reproductive Adaptations Among Viviparous Fishes (Cyprinodontiformes: Poeciliidae).* *Evolution.* 32: 320-333.
- Turner, C. L. 1933.** *Viviparity superimposed upon ovo-viviparity in the Goodeidae, a family of Cyprinodont teleosts fishes of the Mexican plateau.* *J. Morphology* 55 (2): 207-251.
- Turner, C. L. 1937.** *Reproductive cycles and superfetation in poeciliid fishes.* *Biol Bull.* 72: 145-164.
- Turner, C. L. 1947.** *Viviparity in Teleost Fishes.* *The Scientific Monthly.* 6 (65): 508-518.
- Uribe Aranzábal, M. C. 2002.** *Aparato reproductor femenino.* En: *Atlas de histología de vertebrados.* (Elvira Estrada Flores y María del Carmen Uribe Aranzábal, compiladoras). Coordinación de Servicios Editoriales, Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Uribe Aranzábal, M. C; De la Rosa Cruz, G; Guerrero Estévez, S. M; García Alarcón, A. y Aguilar Morales, M. E. 2004.** *Estructura del ovario de teleósteos vivíparos. Gestación intraovárica: intraluminal en Ilyodon whitei (Goodeidae), e intrafolicular en Poeciliopsis gracilis (Poeciliidae).* En: *Homenaje al Doctor Andrés Reséndez Medina.* Lozano Vilano M. L., Contreras Balderas, A. J. (editores). UANL. México.
- Uribe Aranzábal, M. C; De la Rosa Cruz, G. y García Alarcón, A. 2005.** En: *The Ovary of Viviparous Teleosts. Morphological Differences between the Ovaries of Goodea atripinnis and Ilyodon whitei (Goodeidae).* (Mari Carmen Uribe Aranzábal y Harry J. Grier, editores). New Life Publications. México.
- Uribe Aranzábal, M. C; Grier, H. J.; De la Rosa Cruz, G. y García Alarcón, A. 2009.** En:



Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes (Agnathans and Bony Fishes). Barrie G. M. Jamieson (editor). Volumen 8A. Science Publishers.

- Vallowe, H. H. 1953.** *Some physiological aspects of reproduction in Xiphophorus maculatus*. *Biol. Bull.* 104: 240-249.
- Vaupel, J. 1929.** *The spermatogenesis of Lebistes reticulatus*. *J. Morphol.* 47: 555-587.
- Vizziano, D.; Randuineau, G.; Baron, D.; Cauty, C. y Guiguen, Y. 2007.** *Characterization of early molecular sex differentiation in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss*. *Dev. Dyn.* 236: 2198-2206.
- Vogelbein, W. K; Fournie, J. W. y Overstreet, R. M. 1987.** *Sequential development and morphology of experimentally induced hepatic melano-macrophage centres in Rivulus marmoratus*. *Journal of Fish Biology.* 31: 145-153.
- Von Hofsten, J. y Olsson, P. E. 2005.** *Zebrafish sex determination and differentiation: involvement of FTZ-F1 genes*. *Rep. Biol. Endocrinol.* 3: 63.
- Von Hofsten, J.; Larsson, A. y Olsson, P. E. 2005.** *Novel steroidogenic factor-1 homolog (ff1d) is coexpressed with anti-Müllerian hormone (AMH) in zebrafish*. *Dev. Dyn.* 233: 595-604.
- Wake, W. H. 1985.** *Oviduct Structure and Function in Non-Mammalian Vertebrates*. *Fortschr. Zool.* 30: 427-435.
- Wang, D. S.; Kobayashi, T.; Senthilkumaran, B.; Sakai, F.; Sudhakumari, C. C.; Suzuki, T.; Yoshikuni, M.; Matsuda, M.; Morohashi, K. y Nagahama, Y. 2002.** *Molecular cloning of DAX1 and SHP cDNAs and their expression patterns in the Nile tilapia, Oreochromis niloticus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 297(3): 632-640.
- Wang, D.; Kobayashi, T.; Zhou, L. y Nagahama, Y. 2004.** *Molecular cloning and gene expression of Foxl2 in the Nile tilapia, Oreochromis niloticus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 320(1): 83-89.
- Wang, D. S.; Kobayashi, T.; Zhou, L. Y.; Paul-Prasanth, B.; Ijiri, S.; Sakai, F.; Okubo, K.; Morohashi, K. y Nagahama, Y. 2007.** *Foxl2 up-regulates aromatase gene transcription in a female-specific manner by binding to the promoter as well as interacting with ad4 binding protein/steroidogenic factor 1*. *Mol. Endocrinol.* 21(3): 712-725.
- Watanabe, M.; Tanaka, M.; Kobayashi, D.; Yoshiura, Y.; Oba, Y. y Nagahama, Y. 1999.** *Medaka (Oryzias latipes) FTZ-F1 potentially regulates the transcription of P-450 aromatase in ovarian follicles: cDNA cloning and functional characterization*. *Mol. Cell. Endocrinol.*



149: 221-228.

- Wolke, R. E; Murchelano, R. A; Dickstein, C. y George, C. J. 1985.** *Preliminary evaluation of the use of macrophage aggregates (MA) as fish health monitors. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.* 35: 222-227.
- Wourms, J. P. 1981.** *Viviparity: the Maternal-Fetal Relationship in Fishes.* Am. Zool. 21, 473-515.
- Wourms, J. P. 1999.** Teleosts, Viviparity. *En: Encyclopedia of Reproduction.* (Ernst Knobil y Jimmy D. Neill, editores). Volumen 4. Academic Press. EUA.
- Wourms, J. P. 2005.** *Functional Morphology, Development, and Evolution of Trophotaeniae.* *En: Viviparous Fishes.* (Mari Carmen Uribe Aranzábal y Harry J. Grier, editores). New Life Publications. México.
- Wourms, J. P.; Grove, B. D. y Lombardi, J. 1988.** *The Maternal-Embryonic Relationship in Viviparous Fishes. En: Fish Physiology.* (Hoar, W. S. y Randall, D. J., editores). Vol. XI. Parte B. EUA.
- Wourms, J. P. y Lombardi, J. 1992.** *Reflections on the Evolution of Piscine Viviparity.* Amer. Zool. 32: 276-293.
- Yan, Y. L.; Miller, C. T.; Nissen, R. M.; Singer, A.; Liu, D.; Kirn, A.; Draper, B.; Willoughby, J.; Morcos, P. A.; Amsterdam, A.; Chung, B. C.; Westerfield, M.; Haffter, P.; Hopkins, N.; Kimmel, C.; Postlethwait, J. H. y Nissen, R. 2002.** *A zebrafish sox9 gene required for cartilage morphogenesis. Development.* 129: 5065-5079.
- Yokoi, H.; Kobayashi, T.; Tanaka, M.; Nagahama, Y.; Wakamatsu, Y.; Takeda, H.; Araki, K.; Morohashi, K. I. y Ozato, K. 2002.** *Sox9 in a teleost fish, medaka (Oryzias latipes): evidence for diversified function of Sox9 in gonad differentiation. Mol. Reprod. Dev.* 63: 5-16.
- Zhou, R. J.; Liu, L.; Guo, L. Q.; Yu, H. S.; Cheng, H.; Huang, X.; Tiersch, T. R. y Berta, P. 2003.** *Similar gene structure of two Sox9a genes and their expression patterns during gonadal differentiation in a teleost fish, rice field eel (Monopterus albus). Mol. Reprod. Dev.* 66: 211-217.