

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

CAMBIOS MORFOLOGICOS ESTACIONALES DEL TESTICULO DEL PEZ VIVIPARO Goodea atripinnis DEL LAGO DE CUITZEO, MICHOACAN.

E QUE PARA OBTENER TITULO EL I G 0 L 0 \mathbf{B} R Ε S E **ANTONIO** MEJIA ROA **VICTOR**



TESIS CON FALLA DE ORIGEN DIRIGIDA ROET MARIA PDEL CARMEN URIBE ARANZABAL

MEXICO, PARA DE CENCIAS

1998

865158





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.



M. en C. Virginia Abrín Batule Jefe de la División de Estudios Profesionales de la Facultad de Ciencias Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

Cambios morfológicos estacionales del testículo del pez vivíparo Goodea atripinnis del lago de Cuitzeo, Michoacán.

realizado por Víctor Antonio Mejía Roa

con número de cuenta 8817333-9 , pasant

, pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal

Ma del Cornen Vaile

Propietario Dra. Marcela Esperanza Aguilar Morales

Propietario M. en C. Karina Torres Villaseñor

Suplente M. en C. María Elena Calderón Segura

Suplente Biól. Teresa Sosa Rodríguez

Consejo Departamental de Biología

Dra. Edna María Suárez Díaz

TRTAMENTO

Dedicatoria

a Cristóbal Mejía Hernández y Victoria Roa López, quienes me han quiado y me han enseñado el verdadero valor de la vida

Agradecimientos

a Mari Carmen Uribe, Marcela Aguilar, Karina Torres, María Elena Calderón, Teresa Losa; a

Ruth Mejía, Nancy Mejía, Bladys Mejía, Miryam Mejía, Julio Mejía, Patricia Mejía, América Mejía, Cristobal Mejía, Karen Mejía; y a

Karlu, Pola, Ingrid, Susana, Quique, Juan, Vicky, Beto, Aldo, Luisa, Algandro, Ameriquita, Mariana, Karina, Mario, Erica, Carlos, Eduardo; a

Eva Donzález, Miguel Verde, Aracel Sánchez, Juana Hernández, Virginia Daribay, José Lius Rosales, María Lucrecia Irejo, Luz María Lazcano, Mari Carmen Marlínez, Norma Manríquez, Fernando Villegar, Angela Ramírez, Liba Lolís, Flora Varela, Cesar Lonzález, Martha Márquez, Julieta Lómez, Saúl Silva, Alejandro Villanueva; a

Azucema Herroz, Pilar Torres, Martín Pinzón, Louis Gullette, Edward Orlando, Carlos Labastida, Enrugue Buzo, Roberto Trápaga, Denoveva Lara, Enriqueta Durán; a

Laboratorio de Biología de la Reproducción Animal, a la Facultad de Cuncias, a la UNAM.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Biología de la Reproducción Animal a cargo de la Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal de la Facultad de Ciencias de la UNAM.

RESUMEN

El presente trabajo es el estudio del patrón espermatogenético del pez vivíparo Goodea atripnnis durante su ciclo anual; conocido en la región de Michoacán con el nombre común de "tiro criollo". Consiste en el análisis histológico con microscopía óptica de la estructura microscópica de testículos de ejemplares colectados durante las cuatro estaciones del año; evaluando los diferentes estadios espermatogenéticos.

La familia Goodeidae, endémica de México, tiene una gran importancia biológicoevolutiva, ya que la hembra se distingue por tener un ovario gestante. Esto es, que la fecundación es interna y el embrión se desarrolla en la gónada femenina. Para ello, los machos, una vez llegados a la edad adulta, forman un gonopodio "primitivo" o "pseudofalo" (Nelson, 1994) como órgano intromitente, resultado de la modificación de 5 a 7 radios anteriores de la aleta anal.

Los estudios de los ejemplares machos de *G. atripinnis* del lago de Cuitzeo en Michoacán, indicaron una variación estacional en la talla y el índice gonadosomático, los cuales están correlacionados con el fotoperíodo y la temperatura. Los valores más grandes se obtuvieron en el invierno y los mínimos en el verano. De cada ejemplar se disectaron las gónadas y se procesaron histológicamente, realizando cortes seriados longitudinales y transversales. Se aplicaron dos técnicas de tinción: H-E y tricrómica de gallego.

Las observaciones nos indican que la espermatogénesis avanza longitudinalmente y se desarrolla al interior de quistes sincrónicos. Los testículos de G. atripinnis corresponden al tipo espermatogonial restringido, donde las espermatogonias se encuentran exclusivamente hacia la periferia de los mismos. El testículo muestra dos zonas histológica y funcionalmente distintas. la zona anterior de espermatogénesis, y la posterior, de almacenamiento de espermatozoides. La disposición de los espermatozoides al interior de los quistes es irregular, y se encontró que sus cabezas son alargadas en su forma, relacionada con la conducción de estos a través de los conductos. Los espermatozoides forman paquetes (espermatozeugmata) que los mantienen

I. INTRODUCCION

I.1 Caracteres generales

Los peces han desarrollado diversas estrategias para lograr la unión del espermatozoide con el óvulo, y el crecimiento de las crías. Entre estas estrategias es notable el proceso de la fertilización e incubación interna que ocurre en los peces vivíparos. La viviparidad, con todas sus variaciones de intercambio materno-embrionario, ha surgido independientemente en distintos grupos de peces. Entre los peces óseos vivíparos más desarrollados se encuentra el orden Atheriniformes, al que pertenecen las familias Cyprinodontidae, los vivíparos mexicanos Goodeidae, los Anablepidae, y los Jenynsiidae (Rosen, 1964). Los goodeidos son una familia mexicana de teleósteos vivíparos, con relictos al sur del estado de Nevada, en Estados Unidos (Contreras, S., 1998, com. pers.), que cuentan, como otras familias de peces vivíparos, con adaptaciones específicas para la transferencia del esperma del macho hacia el aparato reproductor de la hembra y para la gestación interna.

I.2 Aparato reproductor en teleósteos

Los teleósteos presentan testículos pareados, aunque en algunas especies se fusionan. Los testículos son elongados, su grosor disminuye gradualmente en su parte posterior, en donde cada uno de ellos se continúa con el conducto espermático común, mismo que se comunica con la papila urogenital. Los testículos se encuentran adheridos a la pared dorsal del cuerpo en posición retroperitoneal. Están en posición ventrolateral con respecto a la "vejiga gaseosa" y se encuentran suspendidos por un mesorquio (Clarence, 1919; Nagahama, 1983; Berica, 1995).

Varios patrones generales de desarrollo testicular han sido observados en los teleósteos (Billard, 1986). En los pecílidos, por ejemplo, la actividad espermatogenética es continua a través del año. En otros teleósteos, tales como los salmónidos, existen distintos períodos de actividad espermatogenética, en los cuales, un nuevo ciclo no comenzará hasta que el ciclo precedente haya sido completado (Billard, 1986).

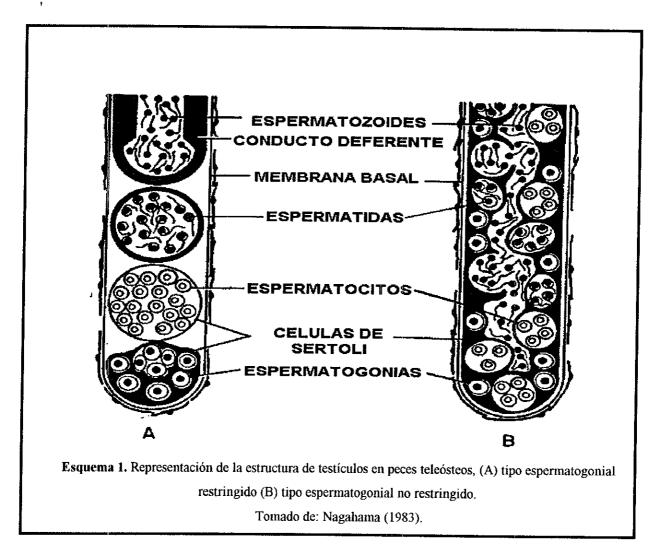
Existen básicamente dos tipos de estructura testicular en los peces: a) testículos espermatogoniales no restringidos, y b) testículos espermatogoniales restringidos; distinguidos uno del otro, por la distribución intratesticular de las espermatogonias (Grier, 1981; Nagahama, 1983) (Esquema 1).

- , a) Los **testículos espermatogoniales no restringidos** (típicos de teleósteos Salmoniformes, Cypriniformes y Perciformes) están tipificados por una distribución aparentemente azarosa de las espermatogonias en su epitelio germinal (Grier, et al, 1981; 1984).
- b) Los **testículos espermatogoniales restringidos** (típicos de teleósteos Atheriniformes) están tipificados por la distribución de las espermatogonias totalmente restringidas hacia la parte periférica de los testículos y adyacentes a la túnica albugínea (Grier et al, 1981; 1984).

Ambos tipos testiculares están compuestos de numerosos lóbulos, separados entre sí por una delgada capa de tejido intersticial. El intersticio entre los lóbulos está compuesto de tejido conjuntivo con fibroblastos, vasos sanguíneos, linfáticos y células de Leydig. Dentro de los lóbulos, las espermatogonias primarias pasan por numerosas divisiones mitóticas, formando grupos llamados "quistes", los que se diferencian en el proceso de espermatogénesis hasta la formación de espermatozoides (De Felice y Rasch, 1969; Grier et, al 1981; Takashima e Hibiya, 1995). En ambos tipos de testículos, espermatogonial restringido y no restringido, el desarrollo de las células germinales tiene lugar dentro de quistes limitados por células de Sertoli. Los estados de la espermatogénesis y espermiogénesis son distinguibles tomando como base el tamaño celular, las características nucleares y la morfología del citoplasma de las células germinales. Durante la maduración, todas las células germinales dentro de un quiste están aproximadamente en el mismo estado de desarrollo. Así, en la espermatogénesis y en el proceso de espermiación el quiste se expande, y al término de su maduración se rompe, liberando al esperma dentro del espacio lobular, que se continúa con el conducto deferente (Grier et al, 1981; Bone y Marshall, 1982).

Durante este proceso, el tamaño del testículo se incrementa debido tanto al aumento en el número de células germinales en diferenciación, como al número de quistes, y al aumento del tejido conjuntivo que los rodea (Redding y Patiño, 1993).

La espermatogénesis en peces óseos es de tipo longitudinal. Este tipo de maduración ocurre de la periferia hacia el centro del testículo, de manera que los quistes del centro del testículo se encuentran en etapas más avanzadas hasta completar su maduración (Redding y Patiño, 1993).



Existen varias escalas que emplean criterios macroscópicos para establecer el estadio de madurez gonádica de los peces; una de las más utilizadas es la de Nikolsky (1976). Esta escala se basa principalmente en la proporción del testículo dentro de la cavidad abdominal y establece cinco estadios de madurez, que incluyen desde un estado inicial en donde apenas se percibe la gónada como un filamento, hasta el máximo tamaño de ésta y la etapa posterior a la liberación de los espermatozoides (Nikolsky, 1976).

Para determinar el estadio de madurez de los peces, no bastan los criterios morfológicos antes citados, debido a que se basan fundamentalmente en la talla del individuo y el desarrollo de la gónada observados macroscópicamente, por lo cual se consideran de gran importancia los criterios histológicos (Hyder, 1970). Durante la activación de la espermatogénesis se presenta un incremento en la división de las espermatogonias primarias, una parte de ellas se divide para formar las espermatogonias secundarias, las cuales son retenidas dentro de la pared del quiste, y solamente en el estado de espermátidas y espermatozoides se rompe la pared del quiste para liberarlos en la luz del lóbulo (Bone y Marshall, 1982).

Turner (1919) y Lehry (1967) clasifican el ciclo sexual de manera semejante, coincidiendo en sus características fundamentales. Estas dos clasificaciones se presentan a continuación:

Turner (1919) divide al ciclo de Perca flavescens en los siguientes estadios:

- 1.- Estado de reposo, migración, proliferación, y crecimiento
- 2.- Período de transformación en espermatogonias,
- 3.- Sinapsis y divisiones de maduración y,
- 4.- Espermátidas y espermatozoides.

Lehry (1967), estudió el ciclo estacional de *Clarias batrachus* y lo dividió en cinco fases por la apariencia histológica del testículo:

- 1.- Fase de descanso y rehabilitación. De mediados de octubre, hasta diciembre, cuando los testículos son translúcidos y reducidos en tamaño. Esta fase se caracteriza por la proliferación de espermatogonias, lo que incrementa el tamaño de los lóbulos.
- 2.- Fase lenta de la espermatogénesis. Desde febrero hasta abril. El tamaño de los lóbulos se incrementa gradualmente. Los quistes de espermatocitos primarios y raramente secundarios son observados en la mayoría de los lóbulos.
- 3.- Fase rápida de la espermatogénesis. Se observa en mayo y junio. Los testículos pierden su translucidez y su volumen se incrementa rápidamente. Aumenta el diámetro de los lóbulos, así como el número de células intersticiales. La espermatogénesis está en su máxima actividad y los lóbulos se llenan con quistes de células en todos los estados de maduración; predominan los espermatocitos y espermátidas, con reducido número de espermatozoides.

- 4.- Fase de madurez. Desde julio hasta principios de septiembre. Los testículos se vuelven opacos; adquieren su máximo tamaño, y los lóbulos su máximo diámetro, con un aumento en el número de células intersticiales. Esta fase se caracteriza por la presencia de masas de espermatozoides.
- , 5.- Fase de expulsión. Se da desde mediados de septiembre hasta octubre. Los espermatozoides son expulsados y los testículos se reducen de tamaño y se transparentan. Esta fase presenta una compactación de los lóbulos y reducción de su tamaño; el tejido conjuntivo es denso y aumenta la vascularización y vacuolización de las células intersticiales.

I.3. Características de los tipos celulares del testículo de teleósteos

I.3.1 Células germinales

Las características morfológicas de las células germinales durante la espermatogénesis han sido mencionadas para diversas especies como es el caso de *Clarias batrachus* de acuerdo con Lerhy (1967), aunadas al análisis hecho por Carrillo y Zanuy (1997), para *Spycara chryselis*.

a) Espermatogonias

Presentan una talla promedio de 12 μm, su núcleo es de gran tamaño, de 8 μm (Carrillo y Zanuy, 1977), con una conspicua membrana nuclear, fina cromatina reticular y citoplasma denso. En subsecuentes estadios, la membrana nuclear y el nucléolo desaparecen y los cromosomas se observan como pequeños filamentos. El tamaño de las espermatogonias disminuye en el curso de la fase de multiplicación, en la cual el tamaño medio es de 3.25 μm, mientras que el volumen de los quistes que contienen las diferentes generaciones aumenta progresivamente. Las primeras generaciones de espermatogonias se identifican por la dimensión de su núcleo, mientras que las de las últimas generaciones se distinguen por la magnitud de los quistes. Cuando la división mitótica termina, surgen los espermatocitos primarios (Carrilo y Zanuy, 1977).

b) Espermatocitos primarios

Cumplen el período de crecimiento incrementando gradualmente su tamaño hasta la fase cigótena y después se reducen. Carrillo y Zanuy (1977), mencionan estos cambios observados durante las etapas de la profase I de la meiosis: en la fase leptótena; los espermatocitos primarios muestran un diámetro promedio de 4.39 μm, se diferencian de las espermatogonias por su núcleo más grande y filamentos cromosómicos individuales. En la fase cigótena alcanzan un diámetro de 4.41 μm, la red de cromatina se hace más densa, los cromosomas se aparean en la fase paquítena, cuando llegan a un diámetro de 3.67 μm. La fase diplótena que exhibe un diámetro de 2.60 μm, se caracteriza por la acumulación periférica de los cromosomas. La división meiótica continúa y se forman los espermatocitos secundarios.

c) Espermatocitos secundarios

Sus cromosomas están contraídos como en los de espermatocitos primarios y pueden ser vistos en un mismo quiste con los espermatocitos primarios. Los espermatocitos secundarios son más pequeños que los primarios, con diámetro de 2.50 µm (Carrillo y Zanuy, 1977), y son de corta duración. Se dividen, realizándose la segunda división meiótica, originando a las espermátidas.

d) Espermátidas

Se caracterizan por su diámetro de tamaño pequeño, en promedio de $2.34~\mu m$ (Carrillo y Zanuy, 1977), y su cromatina densa; en su maduración cambian de forma y tamaño; de acuerdo con este cambio hay distintos tipos de espermátidas (S= estadio):

- a) (S1) redondas. El núcleo es denso, con forma semiesférica, con una ligera depresión en el centro.
- b) (S2) alargadas. La cromatina tiene forma de bastoncillos ligeramente curvos, se encuentra en uno de los polos del núcleo.
- c) (S3) lanceoladas. Presentan un alargamiento en un extremo del núcleo, tomando la forma de una lanza.
- d) (S4) insertadas en las células de Sertoli. En el curso de la fase S2 y S3, las espermátidas son orientadas hacia la periferia, colocándose alrededor de las células nodrizas.

Esta fase se puede dividir en dos períodos:

S4a. Eliminación de la gota citoplásmica y

S4b. El citoplasma es completamente eliminado, el núcleo se hace más denso y se forman los espermatozoides.

e) Espermatozoides

Son móviles y pequeños, la cabeza tiene un diámetro promedio de 1.56 µm (Carrillo y Zanuy, 1977). Los espermatozoides tienen una cabeza de forma arriñonada, una pieza media y un corto flagelo. Las cabezas apuntan en una misma dirección, mientras que las colas son movidas al mismo tiempo. Los espermatozoides morfológicamente maduros se encuentran en espermatoquistes adyacentes a los conductos deferentes.

En peces de fertilización externa los espermatozoides se encuentran dispersos al interior de los conductos deferentes de los testículos, en tanto que en peces vivíparos de fertilización interna, los espermatozoides están incluídos en secreciones que los mantienen en paquetes. Estos pueden estar encapsulados formando espermatóforos, o bien, en paquetes de espermatozoides no encapsulados formando los *espermatozeugmata*, ambos se forman al interior de los espermatoquistes y son liberados completamente maduros dentro del conducto deferente central (Grier 1993; Downing y Burns, 1995).

I.3.2 Células somáticas

a) Celulas de Sertoli

Han sido descritas en el testículo de algunas especies de peces por varios autores (Turner, 1919; Matthews, 1938a; Nazar, 1966; Carrillo y Zanuy, 1977; Nagahama, 1983; van Tienhoven, 1983). Estas células se localizan en la periferia del testículo, ubicadas entre el tejido conjuntivo, con grupos de espermatogonias entre ellas. Posteriormente rodean a las células germinales formando el límite del quiste, constituyen un epitelio escamoso con núcleos alargados en las primeras etapas de la espermatogénesis, y forman un epitelio cúbico o columnar con núcleo esférico en etapas posteriores. Son células relativamente pobres en organelos cuando forman el epitelio escamoso, mientras que cuando constituyen el epitelio

columnar son ricas en organelos. La fisiología de las células de Sertoli es: a) mutritiva, indicada por la abundancia de gránulos de glucógeno implicados en la nutrición de las espermátidas; b) fagocítica, indicada por el contenido de vacuolas para la degeneración del cuerpo residual; Burns y Flores (1981), afirman esta función en el pez vivíparo gupy; y, c) hormonal, indicada por la actividad esteroidogénica del retículo endoplasmático; esta función ha sido postulada en varias especies de peces óseos basadas en observaciones histoquímicas de la actividad de la esteroides-deshidrogenasa (Turner, 1919; Burns, y Flores, 1981; Rasotto, 1995)

b) Células de Leydig

Están en el tejido intersticial entre los lóbulos seminíferos, especialmente alrededor de los vasos sanguíneos; también se localizan en la túnica albugínea y en el conducto espermático. Están bien identificadas en ciclóstomos (Hoar, 1969; Redding y Patiño, 1993), en elasmobranquios (Grier et al, 1978; Grier et al, 1980; Lofts, 1987), y en peces teleósteos (Nagahama, 1983; Lofts, 1987; Redding y Patiño, 1993).

Las células de Leydig son ovoides, con núcleo esférico u oval, y son secretoras de testosterona (Burns, 1995). Gilbert (1988), correlaciona el ciclo estacional de las células intersticiales con las características sexuales secundarias. Los cambios de estas células se reflejan por el incremento en su número, tamaño, y concentración de lípidos, a partir de los estados más avanzados de la espermatogénesis, hasta la espermiación (Hyder, 1970). Las células de Leydig son el sitio de mayor síntesis de andrógenos en el testículo, aunque comparten esta actividad con las células de Sertoli (Lofts, 1987; Berica, 1995; Downing y Burns, 1995; Rasotto, 1995).

I.4 Control neuroendócrino de la espermatogénesis

Además de su función relativa a la producción de espermatozoides, los testículos actúan también como glándulas endócrinas. Los testículos de los peces son capaces de sintetizar esteroides, particularmente la testosterona, los cuales a su vez regulan la expresión de varias características sexuales secundarias y el comportamiento, así como el metabolismo en general (Redding y Patiño, 1993). Además, los esteroides se emplean como un control de retroalimentación positiva y negativa sobre el cerebro, el hipotálamo, la hipófisis, y las gónadas

mismas (Clarence, 1919; Palmer et al, 1994). Los ciclos sexuales de todos los teleósteos tienen origen común en el hipotálamo, pasando la señal a la hipófisis, la cual, modificaciones cíclicas de los testículos. Los estímulos sensoriales originados interna o externamente, son traducidos por el cerebro; así, la actividad de las neurohormonas y neurotransmisores específicos son apropiadamente modificados. Como consecuencia, la concentración de hormonas hipotalámicas (hormona liberadora de gonadotropina [GnRH]), actúa en la hipófisis propiciando la liberación de FSH la cual actúa en la gónada, en las células de Sertoli, controlando la espermatogénesis; asimismo, la hipófisis libera también la hormona LH, que actua en las células de Leydig las que, a su vez liberan esteroides (testosterona). Luego, por medio de la fluctuación de la producción de esteroides, producen cambios en el resto del sistema genital y en los caracteres sexuales secundarios. Numerosos estudios han correlacionado las variaciones de las concentraciones de los esteroides en sangre y en el tejido gonadal con los ciclos de regresión y recrudescencia gonadal. La manipulación experimental del ambiente esteroideo, o la del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, confirma el rol central de los esteroides en los procesos reproductivos (Billard y Christen, 1986; Billard, 1986).

La testosterona producida por las células de Leydig, localizadas en el tejido intersticial de los testículos, es la responsable de las características sexuales secundarias en el macho, así como de la reaparición cíclica de estas manifestaciones en los animales en los que los testículos sólo son activos estacionalmente. Esta hormona es responsable del crecimiento y desarrollo del aparato reproductor masculino así como de su corservación en estado activo y del color del macho en el período de celo cuando éste es distintivo; también se ha demostrado que los peces tratados con determinadas dosis de testosterona se vuelven más agresivos y se colocan en un sitio más elevado dentro del orden social (Crim y Glebe, 1990).

II. ANTECEDENTES

En la familia Goodeidae se reconocen 18 géneros y 34 especies, algunas de estas especies son vivíparas; tal es el caso de *Goodea atripinnis*, de acuerdo con Alvarez del Villar (Ceballos et al, 1994).

II.1 Clasificación taxonómica

Phylum

Chordata

Subphylum

Vertebrata

Superclase

Gnatostomata

Clase

Actinopterygii

Subclase

Osteichthyes

Orden

Atheriniformes

Familia

Goodeidae

Género

Goodea

Especie

Goodea atripinnis, Jordan, 1880 (Rosen, 1964).

II.2 Características de la anatomía externa de G. atripinnis

Su cuerpo es alargado y robusto, de escamas muy pequeñas. La mayor parte del cuerpo es plateada, con algunas zonas grises; se destacan algunas líneas longitudinales amarillas más o menos definidas en el dorso en estado de madurez. Es un pez de 12 a 13 cm de longitud total (Meyer et al, 1985), de cuerpo elongado y comprimido lateralmente; tiene cabeza ancha, cónica y corta; ojos grandes y muy separados, boca pequeña, provista de dientes bífidos. Se trata de una especie que presenta dimorfismo sexual. En los machos se modifican los primeros 5 a 7 radios de la aleta anal, siendo éstos más cortos que los restantes; las hembras son más osbcuras y grandes. Habita en aguas lacustres poco profundas, templadas o semicálidas, sobre fondos lodosos y ricos en vegetación. Se alimenta de algas verdes filamentosas y de fauna asociada a éstas (microcrustáceos, moluscos y gusanos diminutos) (Nelson, 1994).

II.3 Distribución geográfica

Esta Familia se encuentra distribuída principalmente en la región centro-oeste de México, en la cuenca del río Lerma, y en los diversos lagos del estado de Michoacán (Ceballos et al, 1994), con relictos en la zona sur del estado de Nevada en los Estados Unidos (Contreras, 1998, coms. pers.).

II.4 Importancia de la especie Goodea atripinnis

La especie más ampliamente conocida de la familia Goodeidae es *Goodea atripinnis*. En ocasiones se utiliza como especie tipo, de acuerdo con Alvarez del Villar (Ceballos, et al, 1994; Barragán y Magallán, 1994).

La especie tiene importancia biológica, debido a que su fertilización es interna y su alumbramiento es vivíparo. Evolutivamente se considera una especie avanzada, ya que para fecundar a la hembra, el macho cuando madura, modifica de 5 a 7 rayos anteriores de la aleta anal, lo que se interpreta como un gonopodio primitivo o pseudofalo; mientras que en la hembra, una vez fecundada, el ovario se vuelve gestante. Los ovarios están semiunidos; los embriones y las crías presentan una pseudoplacenta-trofotenia, que son extensiones de la región intestinal-anal de la cría, asociada con la nutrición y la respiración (Nelson, 1994). Sus adaptaciones a la reproducción vivípara han sido utilizadas en el esclarecimiento de problemas taxonómicos y de clasificación. La importancia de la especie radica también en su distribución, ya que es una especie confinada a la Mesa Central de México, donde se han originado y diversificado (Barragán y Magallán, 1994).

La especie se consume como alimento en la zona tarasca, en los lugares donde se captura, aunque no es muy comercial. No se distribuye a nivel nacional.

II.5 Area de estudio

A nivel nacional, Michoacán es uno de los estados más importantes en aspectos hidrológicos; cuenta con gran cantidad de cuerpos de agua dulce, Se encuentra drenado por seis sistemas fluviales. Destacan por su importancia las cuencas del Balsas-Tepalcatepec al sur, y la del río Lerma-Chapala al norte (Barragán y Magallán, 1994).

Dentro de la cuenca Lerma-Chapala se encuentran ubicados los lagos más importantes

del estado: Pátzcuaro, Zirahuén y Cuitzeo (Ceballos et al, 1994). Tradicionalmente se han establecido poblaciones humanas alrededor de ellos desde las culturas prehispánicas hasta las actuales, mismas que hacen distintos usos de estos cuerpos de agua.

Hasta 1979 el lago Cuitzeo era considerado el más grande de Michoacán y el sexto a nivel nacional (SEPESCA 1990 en Ceballos et al, 1994). Las actividades realizadas por el hombre sobre sus riberas datan de épocas precolombinas; destaca sobre todo la explotación pesquera y la realización de artículos artesanales con elementos tanto pesqueros como no pesqueros (Mapa 1).

El lago de Cuitzeo se encuentra ubicado al norte de Michoacán abarcando parte de los municipios de Huandacareo, Chucándiro, Copándaro, Cuitzeo, Santa Ana Maya, Zinapécuaro y Alvaro Obregón, y al sur del estado de Guanajuato en el Municipio de Chapala-Santiago, en la cuenca de Cuitzeo, entre las coordenadas 20° 04' 34"- 19° 53' 15" latitud norte y 101° 19'34"- 100° 50' 20" longitud oeste, a una altitud de 1820 msnm, 20 km al noreste de la ciudad de Morelia, capital del estado de Michoacán. La parte central del lago está cruzada por la carretera federal número 43, dividiendo el lago en dos vasos: este y oeste (Ceballos et al, 1994).

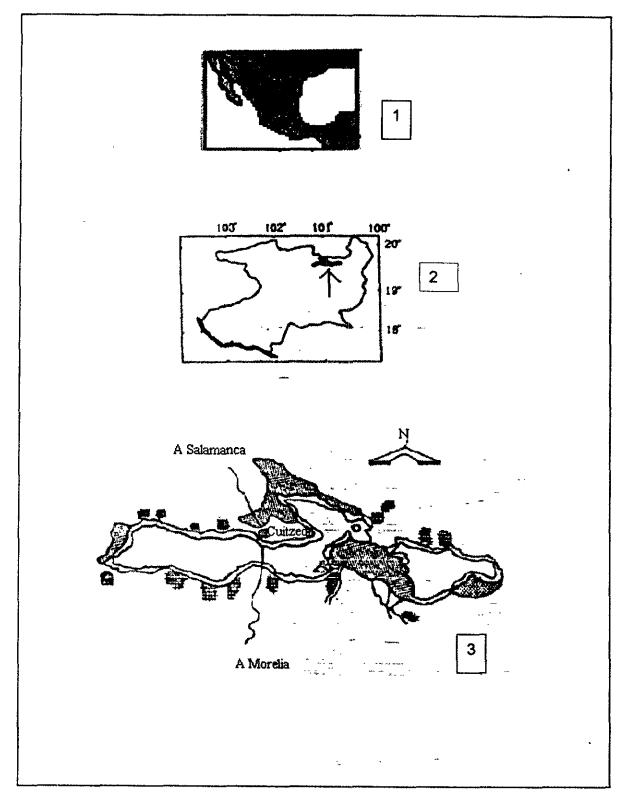
Las zonas advacentes al lago muestran un clima subtipo Cb (W₀) (W) (i') g, considerado el más seco de los templados subhúmedos; es el caso de las estaciones Presa Malpais y Huingo en la zona este del lago, Copándaro en la oeste y Cuitzeo en la zona centro (Ceballos et al, 1994).

La temperatura mínima en la superficie se presenta en el mes de diciembre con un promedio de 16.9° C, no presentando diferencias notables con la temperatura de fondo (17.6°C), en tanto que la máxima se da en el mes de junio con 27.0° C en promedio, tanto en la superficie como en el fondo, sin observarse diferencias importantes (Ceballos et al, 1994).

En el lago, la composición ictiofaunística se forma de especies tanto introducidas como nativas; sin embargo ha experimentado cambios por las condiciones de deterioro avanzado, las cuales se agravan hacia finales de 1980 y principios de 1981 cuando se reportan mortalidades masivas de peces en la zona oeste del lago con el consecuente impacto en la captura comercial, debido principalmente al desequilibrio en el ciclo dial del oxígeno con períodos anóxicos nocturnos (Ceballos et al, 1994).

En forma general los trabajos de investigación que se han realizado en el lago de Cuitzeo tienden, la mayoría, a tratar los aspectos taxonómicos (Ceballos et al, 1994).

En la actualidad no se cuenta con estudios referentes a características reproductivas del macho de G. atripinnis, en particular del análisis histológico de los testículos y sus variaciones estacionales, por lo cual en el presente trabajo se plantea esta temática.



Mapa 1. 1) Localización geográfica del estado de Michoacán en la República Mexicana. 2) Estado de Michoacán con la localización del lago de Cuitzeo (†). 3) Lago de Cuitzeo.

III. OBJETIVOS

III. 1 Objetivo general

Definir la estructura del aparato reproductor masculino en relación con los cambios estacionales del pez vivíparo Goodea atripnnis, especie endémica de la fauna mexicana.

III. 2 Objetivos particulares

- 1.- Definir el tipo de estructura testicular que muestra G. atripinnis.
- 2.- Caracterizar morfológicamente los tipos celulares de la espermatogénesis y del tejido intersticial.
- 3.- Determinar las variaciones estacionales de la estructura macroscópica y microscópica del testículo de *G. atripinnis*.
- 4.- Aportar elementos que resulten del estudio histológico del testículo de la especie estudiada durante su ciclo reproductivo, que permita su mejor uso y explotación como recurso natural.

IV. MATERIAL Y METODO

IV.1 Trabajo de campo

Se utilizaron 16 organismos machos adultos de Goodea atripinnis, correspondientes a las cuatro estaciones del año: 4 individuos por cada estación. Los ejemplares fueron colectados en el lago de Cuitzeo, estado de Michoacán. Se registraron las siguientes medidas morfométricas utilizando un vernier: longitud total, longitud estándard (boca-ano), peso total y peso gonadal, mismas que se muestran en la Tabla 1. Mediante un corte longitudinal ventral se extrajeron los testículos, y se midió largo y ancho de cada par. Las gónadas obtenidas se procesaron para su observación con técnicas histológicas de la siguiente manera:

IV.2 Trabajo de laboratorio

Se fijaron durante 12 a 15 h en Bouin, se deshidrataron en alcoholes graduales de 70°, 80°, 96° y 100 % durante 3 horas cada uno. Se aclararon en una mezcla de alcohol-xilol durante tres horas y en xilol 100 % durante 12 a 16 horas.

Se procedió a incluirlos en una mezcla de xilol-parafina (56°-58° de punto de fusión) (1:1) durante 20 minutos y en parafina 100 % durante 20 minutos. Una vez incluídos los testículos, se procedió a hacer cortes seriados en sentido longitudinal y transversal en un microtomo de rotación Reichert, con un grosor de 7 µm. Los cortes obtenidos se tiñeron con técnicas de anilinas: hematoxilina-eosina (HE) y tricrómica de gallego, y se montaron con bálsamo de Canadá (Aguilar et al., 1996).

Una vez montados los cortes, se procedió a su observación en un fotomicroscopio Zeiss III. Se midieron los diferentes tipos celulares utilizando un ocular micrométrico. De cada tipo celular se midieron 45 células de cada estación del año. Se tomaron fotografías utilizando películas para negativos en color, Kodak 135, 100 ASA.

V. RESULTADOS

V.1 Aspectos generales

I Same

El macho de Goodea atripinnis está provisto de un par de testiculos elongados (Fig. 1A), separados en la región anterior de cada uno de éstos, y cercanos en la parte posterior. La región anterior es más ancha que la posterior, compartiendo esta última un conducto deferente común que desemboca en el poro genital. Los testículos se encuentran suspendidos de la pared de la cavidad celómica por un mesenterio.

Los testículos son órganos en los cuales se observa el proceso de espermatogénesis en la región anterior, y acúmulos de espermatozoides en almacenamiento en la región posterior, distinguiéndose en consecuencia dos zonas, una espermatogénica y otra de almacenamiento (Figs. 1A, B; 2B). En la zona espermatogénica se nota la espermatogénesis activa en dirección longitudinal, esto es, de la periferia hacia el centro del testículo (Figs. 1A; 3A, B), en donde se localiza el conducto deferente central (Figs. 1A, B; 3C).

En la región posterior del testículo, correspondiente a la zona de almacenamiento, se observa la presencia de abundantes melanocitos situados en la periferia y alrededor de la luz interna del conducto deferente central (Figs. 2A, C).

A partir de la periferia del testículo se forman invaginaciones de tejido conjuntivo intersticial proyectados hacia el centro del mismo, que separan a su vez tóbulos que poseen conjuntos de células germinales en distintos estadios de desarrollo (Figs. 3A, B). El tejido intersticial que rodea a los lóbulos seminíferos contiene vasos sanguíneos y fibras colágenas (Figs. 4A, B, C; 5C); también pueden observarse algunos melanocitos (Fig. 4D). En la región distal de los lóbulos, el tejido conjuntivo es más abundante (Figs. 3A, C; 5A, C) y tienen mayor número de células de Leydig (Fig. 5C). Los lóbulos incluyen a las células germinales, desembocando en conductos deferentes limitados por epitelio cúbico o columnar (Fig. 5B, C), los cuales a su vez terminan en el conducto deferente central (Fig. 1B).

Al interior de los lóbulos se observan quistes con células en distintas etapas de la espermatogénesis, en los cuales es evidente la sincronía en su proceso de diferenciación (Figs. 3B; 4 A a D).

Like Bertelling with

En G. atripinnis, los testículos son del tipo espermatogoniales restringidos, donde las espermatogonias están localizadas exclusivamente en la parte periférica del testículo, adyacentes a la túnica albugínea (Figs. 3B; 4A).

En este tipo testicular, el origen de los quistes de células germinales está restringido hacia la periferia del testículo, justo por debajo de la túnica albugínea, donde se sitúan los nidos de espermatogonias (Figs. 3B; 4A; 6A, B). Las espermatogonias se encuentran en asociación con las células de Sertoli, siendo distinguibles sus núcleos alargados y densos alrededor del quiste (Fig. 6A). La sincronía en el desarrollo de las células germinales es característica para todos los quistes en los cuales el proceso de espermatogénesis incluyendo la espermiogénesis tiene lugar (Figs. 4 y 5).

Los quistes, conteniendo células germinales en estadios de desarrollo progresivos, van avanzando hacia el conducto deferente (Fig. 3A, B), y en aquellos quistes en los que la espermiogénesis se ha completado, generalmente se encuentran en contacto directo con el conducto deferente central, listos para la espermiación (Figs. 3A). Este proceso comienza cuando el citoplasma de las células de Sertoli se incrementa, y la células se vuelven cúbicas o columnares, entonces hacen contacto con el conducto deferente, poco antes y durante la espermiación (Figs. 3C; 5B, C). Al final, se liberan los espermatozoides maduros hacia el conducto deferente central. Como se mencionó para la región distal de los lóbulos, alrededor de estos quistes, en etapas avanzadas de su desarrollo, se observa mayor cantidad de tejido conjuntivo intersticial (Figs. 5A, B, C).

V.2. Características de las células del testículo

V.2.1 Células Germinales

Los tipos celulares germinales de la espermatogénesis se midieron en su diámetro (n=45), obteniéndose para cada uno de ellos, un promedio que se muestra en la Tabla 2.

Espermatogonias. Se observan en la zona periférica del testículo; son células de gran tamaño (X=9.0-11μm para espermatogonias A y 5-8 μm para espermatogonias B; n=45), su forma es esférica, con citoplasma hialino y un núcleo central redondo, dentro del cual se puede observar un nucléolo y cromatigue espermatogonias A

permanecen como células tronco, mientras que otras se dividen mitóticamente varias veces formando espermatogonias B, mismas que se transformarán en espermatocitos primarios (Fig. 6A, B).

Espermatocitos primarios. Se encuentran a continuación de las espermatogonias. Son células de talla promedio de 4.4 μm (n=45) con un prominente núcleo bien definido que presenta su cromatina muy evidente (Fig. 6 A a C). Se observan algunas figuras meióticas; núcleos con material cromatínico visible (profase I temprana) y núcleos con cromosomas muy densos (profase I tardía) (Fig. 6C).

Espermatocitos secundarios. Es una fase que se realiza en forma muy rápida. Son células más pequeñas que los espermatocitos primarios (X=3.07µm; n=45). Estas células se dividen en la segunda fase de la meiosis (fig. 7A), originando las espermátidas.

Espermátidas. Se observan frecuentemente en los quistes localizados desde la zona intermedia del testículo hacia la región cercana al conducto deferente. Los quistes de espermátidas pueden ubicarse cercanos a quistes con espermatocitos primarios y con masas de espermatozoides; muestran un tamaño menor que las células de las etapas anteriores de la espermatogénesis (X=2.1 μm; n=45); su núcleo es central y redondo, con material cromatínico que aumenta en densidad y disminuye en tamaño con su maduración, durante la espermiogénesis, pueden compararse estas características observando espermátidas tempranas (Figs. 5A, B; 7A, B) y avanzadas (Figs. 5A, B; 7B).

Espermatozoides. Se encuentran en la zona central del testículo, formando masas en la luz del conducto deferente. Son pequeños (X=1.4 μm; n=45) y tienen bien definidas las cabezas, mismas que se observan sin apuntar a una dirección determinada; el núcleo se aprecia elongado con densa cromatina (Figs. 5A, B, C; 7C). Los espermatozoides de G. atripinnis son liberados dentro de los conductos deferentes en forma de paquetes de espermatozoides no encapsulados, llamados espermatozeugmata (Figs. 4D; 5C; 7C). Los espermatozeugmata llenan el conducto deferente central (Figs. 1B; 3A, C).

V.2.2 Células somáticas

Células de Sertoli. Son de gran tamaño; rodean inicialmente a las células germinales constituyendo los quistes y las contienen hasta la finalización de la espermatogénesis; su

citoplasma es hialino, y su núcleo es prominente, con finas granulaciones, en la parte central se observa un nucléolo. Las células de Sertoli que formaban la periferia del quiste, se transforman en células cúbicas o columnares del conducto deferente cuando la espermiación se ha completado (Figs. 3C; 5B, C).

Células de Leydig. Se localizan en el tejido intersticial entre los lóbulos seminíferos; se presentan en forma individual o en grupos; su forma es ovalada; su citoplasma presenta finas granulaciones acidófilas, y su núcleo está ubicado ligeramente excéntrico, con cromatina densa (Fig. 5C).

V.2.3 Cambios estacionales del testículo

Los cambios histológicos cíclicos en la actividad de los testículos de G. atripinnis fueron relacionados con las variaciones en los factores ambientales, esto es, longitud del día y temperatura del agua. El ciclo anual consiste principalmente de una prolongada fase mitótica durante la primavera y el verano.

La distribución de la longitud y el peso promedio de las gónadas a través de las estaciones de los especímenes está dada en la Tabla 1.

Para conocer la madurez de los testículos, fueron examinados inicialmente en su peso y talla. El peso del testículo está representado por el índice gonadosomático (el porcentaje del peso del testículo respecto del peso completo), mediante la fórmula IGS=Wt/Wg x 100 (peso total sobre peso gonadal multiplicado por cien) (Tabla 1). En general, los valores del índice gonadosomático cambian muy poco durante el año. Los rangos van de 11g en el verano, con un índice gonadosomático de 1.32; posteriormente, los valores se incrementan paulatinamente. Durante el otoño, los testículos ganaron peso a 0.12 g promedio y el índice gonadosomático fue de 1.34. En el invierno, el peso de los testículos alcanzó su máximo con 0.17 g promedio, obteniéndose un índice gonadosomático de 1.71. Durante la primavera, el valor promedio del peso fue de 0.13, con un índice gonadosomático de 1.33.

Los testículos más pequeños tuvieron 0.05 g de peso y 12 mm de longitud, correspondientes a la estación de otoño. Estos testículos estaban en un estadio avanzado e incluso final, en la formación de elementos intersticiales y espermatogénicos.

La conformación morfológica e histológica de los testículos a través del año fue cambiando, en respuesta a los factores ambientales como la temperatura y el fotoperíodo. La estación del año en la que se observó la activación de la espermatogénesis, correspondió al otoño, por lo cual, se describirán las caracteríticas testiculares encontradas a partir de esta estación del año.

En el otoño, los testiculos se encuentran en gran actividad espermatogenética, con una longitud promedio de 14.75 mm (Tabla 1). La zona espermatogenética se halla en plena actividad de proliferación mitótica y en divisiones meióticas; los conductos deferentes y el deferente central se encuentran llenos de espermatozoides, y el tejido conjuntivo bien desarrollado. Los túbulos de almacenamiento se comienzan a formar y a llenarse de espermatozoides maduros (Figs. 8A, B).

El invierno, es la estación de mayor actividad espermatogenética para el testículo alcanzando entonces las mayores tallas promedio: 19 mm de longitud (Tabla 1). La zona espermatogenética se observa con la mayor actividad proliferativa mitótica y de divisiones meióticas que en las otras estaciones. Los conductos deferentes y el conducto deferente central se encuentran bien desarrollados y llenos de espermatozoides (Figs. 1A, 9A). La zona de almacenamiento está bien desarrollada y puede ocupar más de la mitad en longitud de los testículos (Fig. 1A).

Durante la primavera, el testículo mostró una talla promedio de 15.25 mm de longitud y la actividad espermatogénica se encuentra en niveles medios de desarrollo. Los testículos muestran la zona espermatogénica aún en plena actividad, pero ya se observan algunos indicios de vaciamiento de los espermatozoides (Fig. 10A, B). Otros testículos están en franco drenaje de espermatozoides y algunos conductos deferentes, vacíos; mientras que en otros, se nota la zona espermatogenética totalmente reducida y sin actividad; los conductos deferentes y el conducto deferente central están casi vacíos, el tejido conjuntivo es abundante (Figura 10).

En el verano los testículos tuvieron una talla promedio de 14.0 mm de longitud, siendo ésta la menor de las cuatro estaciones, y con actividad espermatogenética mínima (Fig. 11A, B). En la zona espermatogenética de algunos testículos hay pocos espermatozoides en los conductos deferentes, no así en los lóbulos, que están vacíos (Figs. 11A; C). La zona de almacenamiento se ha vaciado prácticamente (Figs. 11A; D) y el tejido conjuntivo se ha

reducido notablemente. Mientras que en otros testículos de esta época, no existe más actividad que la de la espermiación y están prácticamente vacíos, y el tejido conjuntivo es escaso (Fig. 11B).

Los cambios testiculares posteriores observados en el otoño se deben en gran parte al incremento en las divisiones de las espermatogonias y por lo tanto al incremento en el tamaño del lóbulo y del testículo. Los quistes más avanzados van ocupando regiones más cercanas al conducto deferente, así, los quistes más tempranos se encuentran más cercanos a la periferia.

Acompañando estos cambios, hay un incremento en el peso testicular debido al incremento en la talla y al número de quistes y lóbulos.

Tabla 1. Promedios de las medidas morfométricas de los organismos colectados por estación del año. LT= longitud total; Lstd=longitud estándard; PT=peso total; Pg=peso gonadal; Lg=longitud gonadal; IGS=índice gonadosomático.

Organismo	Estación	LT, mm	Lstd, mm	PT, g	Pg, g	Lg, mm	IGS
1	0	80.75	44.75	9.49	0.12	14.75	1.34
2	I	86.75	48.75	10.21	0.17	19	1.71
3	P	86	48.5	10.20	0.13	15.25	1.33
4	V	76.75	44.25	9.02	0.11	14.0	1.32

Tabla 2. Promedio de las tallas de las células germinales por época del año (µm)

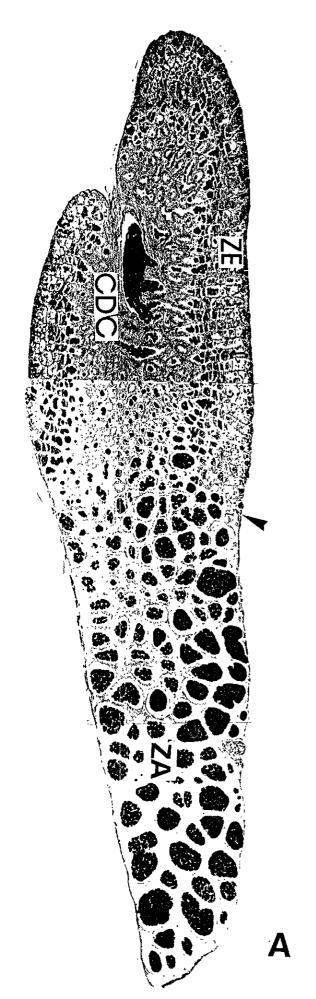
Estación	E-gonias A	E-gonias B	E-citos I	E-citos II	E-tidas	E-zoides
Otoño	10.5	5.0	4.09	3.19	2.23	1.63
Invierno	11.0	8.0	4.53	3.33	2.18	1.26
Primavera	10.5	5.0	4.53	2.93	2.16	1.45
Verano	10.5	5.0	4.48	2.86	2.16	1.57

Figura 1. Panorama general de corte longitudinal del testículo de Goodea atripinnis. 1A, vista panorámica longitudinal, donde se observa la región anterior espermatogénica (ZE) y la presencia del conducto deferente central (CDC); la zona posterior es de almacenamiento (ZA). 1B, detalle de la zona periférica que muestra la condición longitudinal (L) de la espermatogénesis, y el punto donde termina la zona espermatogénica y comienza la zona de almacenamiento (cabeza de flecha).

Técnica: Aumento:

1A H-E 25X

1B Tricrómica de gallego 78X



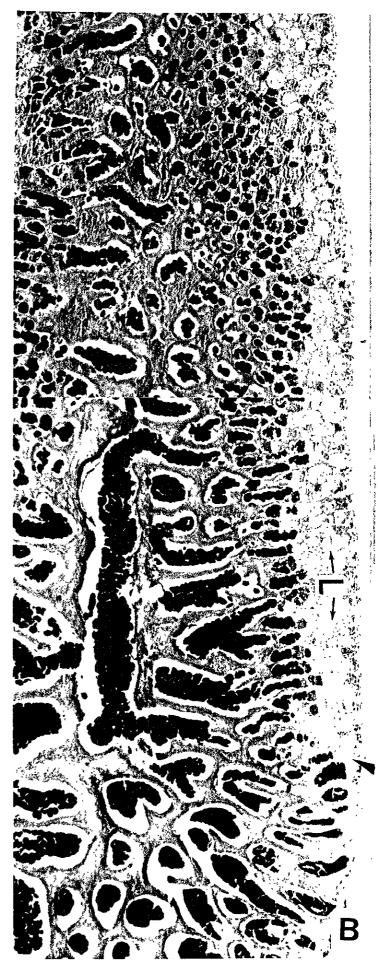


Figura 2. Región posterior del testículo de G. atripinnis. 2A, zona posterior del testículo; se observa gran cantidad de tejido conjuntivo (TC), algunos túbulos de almacenamiento (TA) y conductos deferentes vacíos (CD); en la zona central se destaca el conducto deferente central (CDC) ya vacío. La periferia del testículo y algunas partes centrales con gran cantidad de melanocitos (M). 2B, detalle de la región donde termina la zona espermatogénica y comienza la zona de almacenamiento (cabeza de flecha). 2C, detalle del acumulo de melanocitos (M) que se concentran hacia la región posterior del testículo.

	Técnica:	Aumento:
2A	H-E	78X
2B	н-Е	78X
2C	H-E	200X

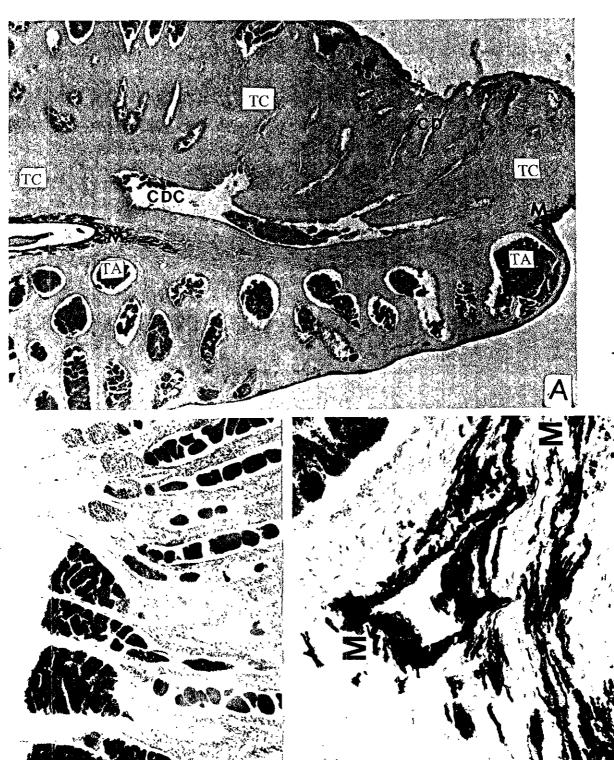
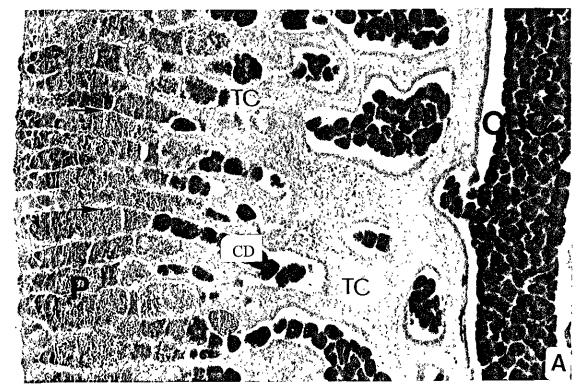




Figura 3. Panorama de la zona periférica del testículo de G. atripinnis. 3A, se observa la posición paralela de los lóbulos y la condición longitudinal de la espermatogénesis (flechas), de la periferia hacia el centro, el desarrollo de tejido conjuntivo (TC) en la zona distal de los lóbulos, los conductos deferentes (CD) que desembocan en el conducto deferente central (CDC). 3B, zonación de los lóbulos espermatogénicos y diferenciación de quistes sincrónicos: (NE) nido de espermatogonias, (EP) espermatocitos primarios, (ES) espermatocitos secundarios, (ET) espermátidas, (EZ) espermatozoides, y (EZM) espermatozeugmata. 3C, se observan los elementos histológicos en fases avanzadas de la espermatogénesis, espermatozeugmata (EZM); tejido conjuntivo (TC); epitelio columnar (EC); conducto deferente central (CDC).

	Técnica:	Aumento:
3A	H-E	78X
3B	н-Е	200X
3C	н-Е	500X



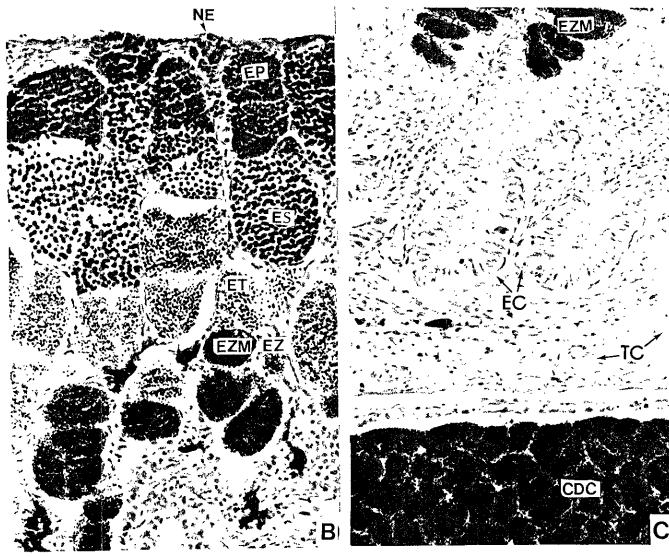


Figura 4. Detalle y diferenciación de la condición quística sincrónica de la espermatogénesis. 4A, se observan en la periferia quistes de espermatogonias (EG) embebidos en el epitelio germinal; quiste de espermátidas tempranas (ETT); quistes de espermátidas avanzadas (ETA); separando a ambos tipos de quistes encontramos tejido intersticial (TI). 4B y 4C, se observa la separación entre lóbulos por tejido intersticial (TI), y la delimitación entre quistes por membrana y citoplasma de células de Sertoli (CS). Los quistes se encuentran en distintos momentos del desarrollo, pero las células al interior de los mismos están en el mismo estadio; 4D, Paquetes de espermatozoides ya liberados de los lóbulos en forma de espermatozeugmata (EZM). Presencia de melanocitos (M) a este nivel entre el tejido intersticial.

	Técnica:	Aumento:
4A	H-E	500X
4B	H-E	500X
4C	H-E	500X
4D	Н-Е	500x

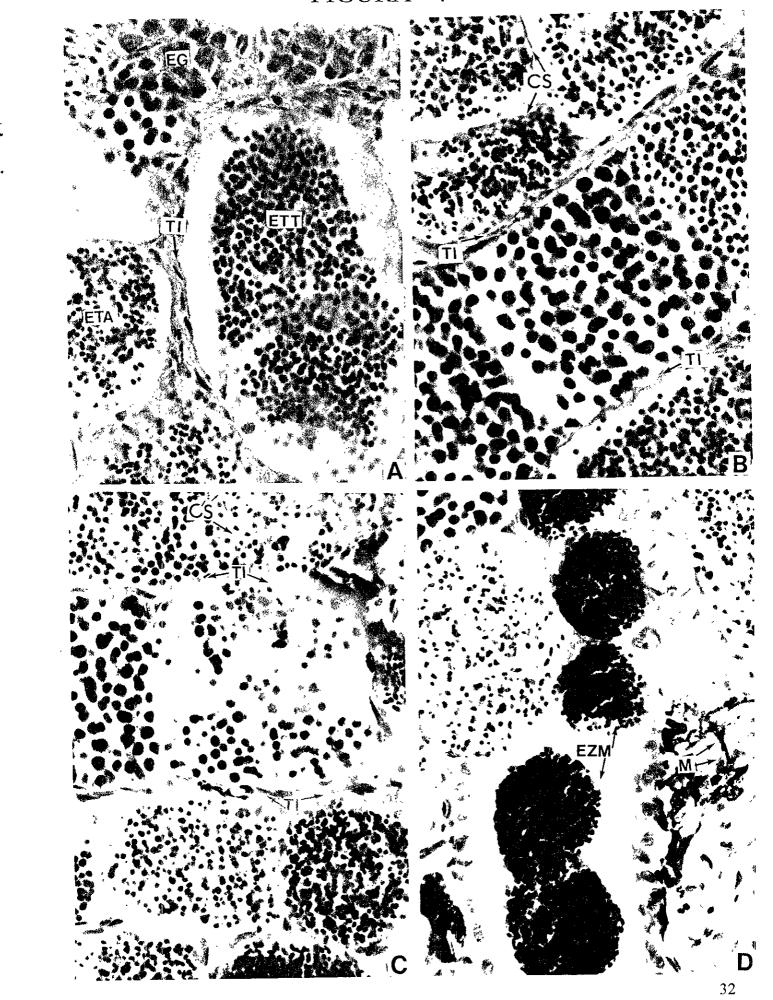
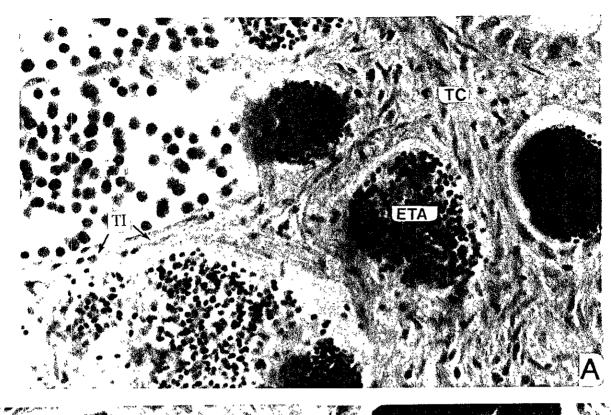


Figura 5. Detalle de la región distal de los lóbulos, y su relación con el tejido conjuntivo. 5A y 5B, región en que los paquetes de espermátidas avanzadas (ETA) son liberados de los lóbulos y se forma el conducto deferente (CD) delimitado por células epiteliales cúbicas (EC). Se observa también el engrosamiento del tejido intersticial (TI) formando un estroma de tejido conjuntivo (TC). 5C, detalle en corte tranversal de conductos deferentes transportando los espermatozeugmata (EZM), Se observa epitelio cúbico (EC) delimitando al conducto deferente; anexos al epitelio hay vasos sanguíneos (VS); se distingue gran desarrollo de tejido conjuntivo (TC) entre un conducto y otro, y entre él, células de Leydig (CL).

	Técnica:	Aumento:
5A	н-Е	500X
5B	H-E	500X
5C	Н-Е	500X



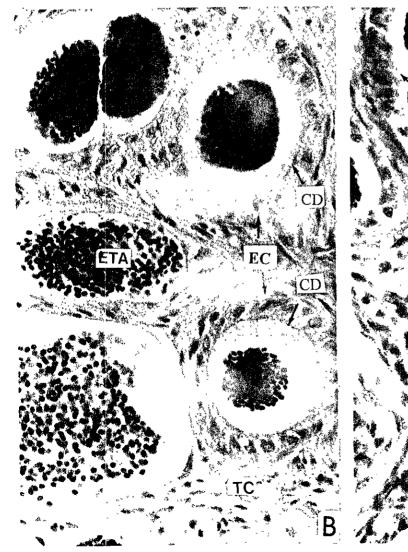


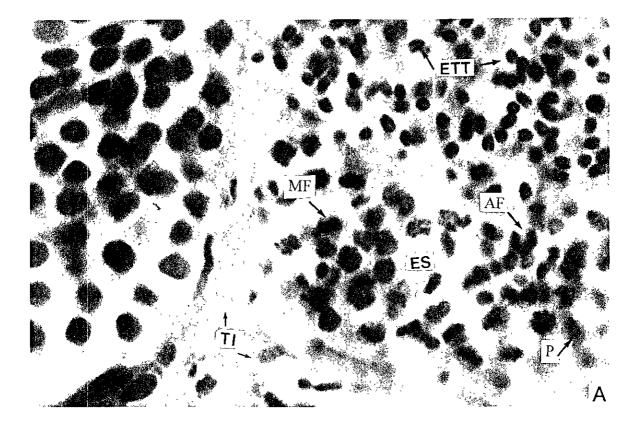


Figura 6. Células germinales durante el proceso de espermatogénesis. 6A, inicio del proceso espermatogénico; las espermatogonias A (EGA) se dividen mitóticamente para dar origen a las espermatogonias B (EGB), es también el momento del envolvimiento de las espermatogonias por parte de las células de Sertoli (CS), formando así un quiste temprano. 6B, quistes de espermatogonias B en división meiótica (EGB); observamos células en profase (P) y en metafase (MF). 6C, espermatocitos primarios (EP) en meiósis; se observan células en estadio de profase (P) y metafase (MF) de la primera meiosis.

	Técnica	Aumento:
6 A	H-E	1250X
6B	H-E	1250X
6C	н-Е	1250X

Figura 7. Células germinales durante el proceso de espermatogénesis. 7A, quistes de espermatocitos secundarios en diferentes estadios meióticos (ES). Se observa tejido intersticial (TI) separando a los quistes en estadios de paquíteno (P), metafase (MF), y anafase (AF); se observan también espermátidas tempranas (ETT). 7B, quiste de espermátidas tempranas (ETT) y quiste de espermátidas avanzadas (ETA) donde es evidente el alargamiento de las cabezas. 7C, conjuntos "desnudos" de espermatozoides maduros, tomando forma de espermatozeugmata (EZM); donde las cabezas se muestran elongadas, y sin un acomodo determinado.

	Técnica	Aumento:
7A	н-Е	1250X
7B	н-Е	1250X
7C	H-E	1250X



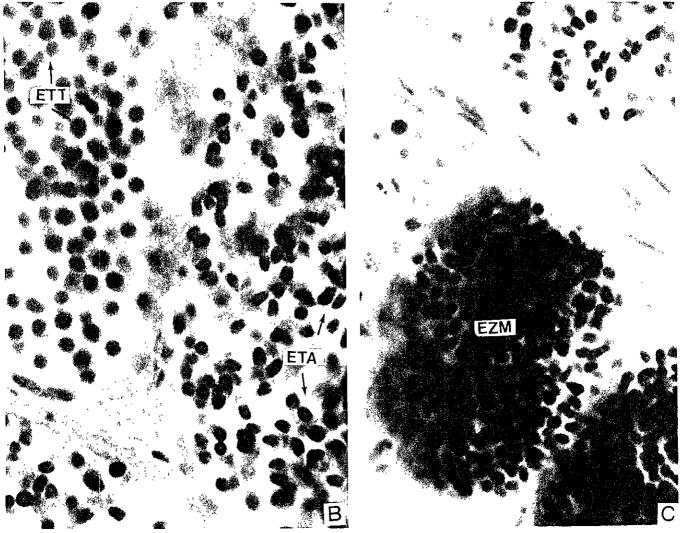
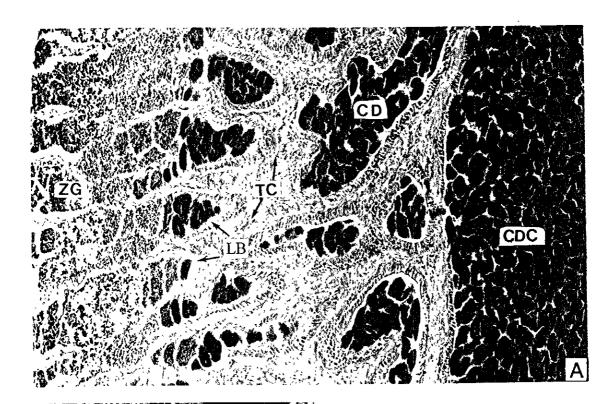


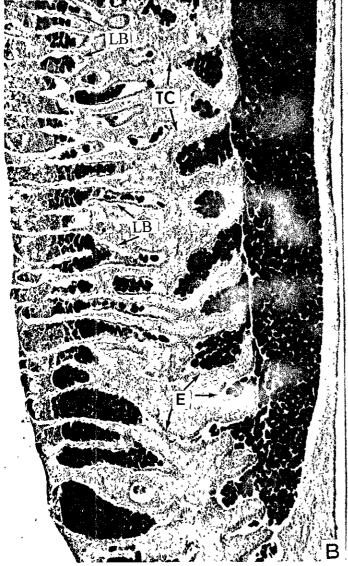
Figura 8. Vista del testículo de G. atripinnis, durante el otoño. 8A, vista general de la parte anterior del testículo, donde se observa la zona germinal (ZG) en la periferia, una zona de tejido conjuntivo (TC) intermedia, y el conducto deferente (CD) hacia la región central. Es evidente la actividad espermatogenética en los lóbulos (LB). 8B, detalle del testículo donde se ve a los lóbulos en plena actividad; el tejido conjuntivo (TC) intermedio, y la formación de epitelio (E) delimitando a los conductos deferentes y al conducto central deferente.

	Técnica:	Aumento
8A	н-Е	200X
8B	н-Е	78X

Figura 9. Vista del corte longitudinal del testículo de G. atripinnis durante invierno. (Ver también Figura 1). 1A (Figura 1), Se observa claramente regionalizado al testículo; en la parte anterior se encuentra la zona espermatogénica (ZE), muy activa en esta época; y la zona posterior convertida en zona de almacenamiento (ZA), donde ya no se lleva a cabo la espermatogénesis. En esta época, el testículo alcanza las mayores tallas. 9A, se observa la gran actividad espermatogénica en esta época; los lóbulos contienen gran cantidad de células en fase de espermátidas avanzadas (ETA) y espermatozoides (EZ) en forma de espermatozeugmata ocupando gran longitud del lóbulo y del conducto deferente central (CDC). Se observa también la continuidad de los lóbulos con los conductos deferentes (CD), y de éstos con el conducto deferente central (CDC).

	Técnica:	Aumento:
1 A	н-Е	25X
9 A	Н-Е	200X





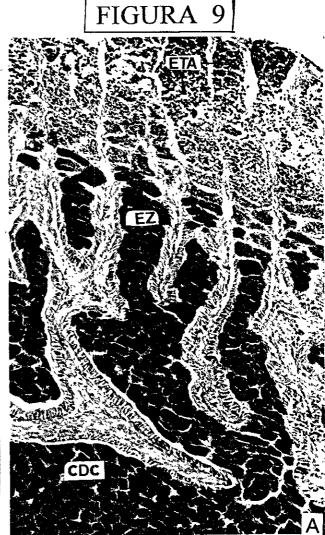


Figura 10. Aspectos del testículo de *G. atripinnis* durante la primavera. 10A, vista de la región media del testículo en corte longitudinal. Se observa la condición longitudinal (L) de la espermatogénesis en la parte periférica; en la parte central, formación de conductos deferentes (CD). 10B, detalle de los lóbulos y conductos deferentes (CD). Se observan espermátidas tempranas (ETT), avanzadas (ETA) y espermatozoides (EZ). En esta época prácticamente no hay proliferación. 10C, detalle de los conductos deferentes que ya se empiezan a vaciar (CD), mientras, no hay producción de nuevas células germinales. Existe gran cantidad de tejido conjuntivo (TC). 10D, vista de la región posterior del testículo en esta época. Se observan algunos conductos deferentes totalmente vacíos (CD), y el conducto deferente central (CDC), con restos de espermatozeugmata (EZM), se observa una escasa zona de espermatogénesis (ZE), sin actividad proliferativa, y gran cantidad de tejido conjuntivo (TC).

	Técnica:	Aumento:
10A	Н-Е	32X
10B	Н-Е	32X
10C	н-Е	32X
10 D	н-Е	32X

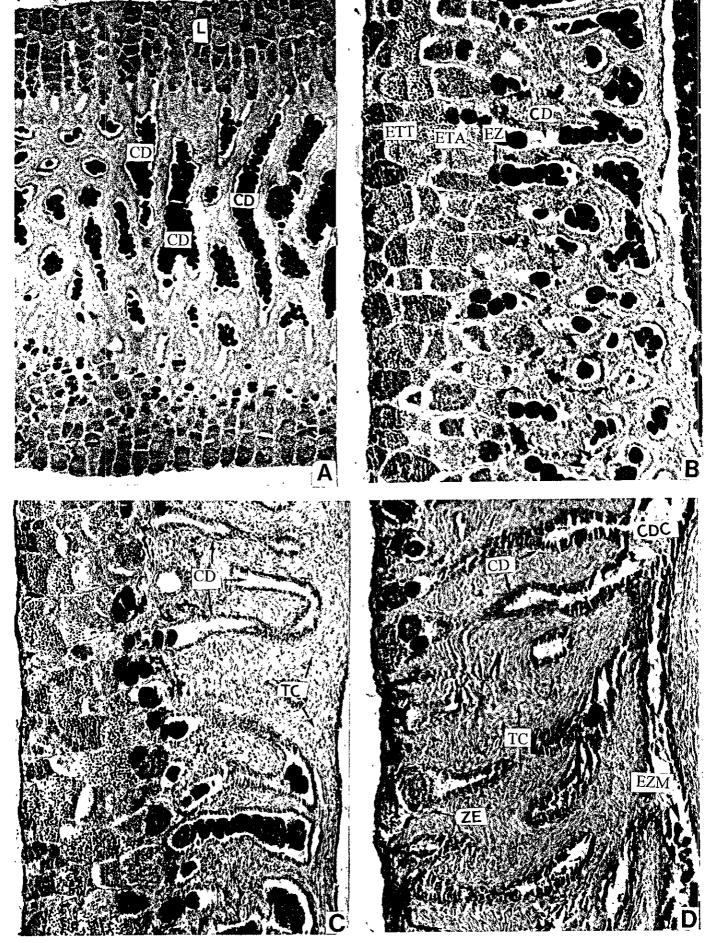
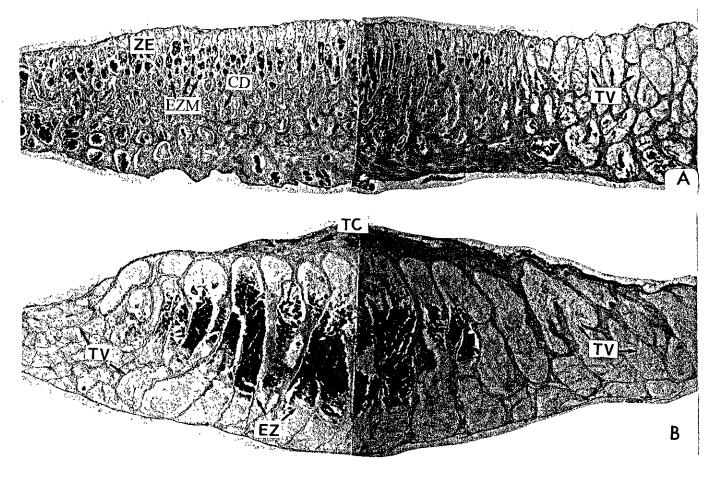
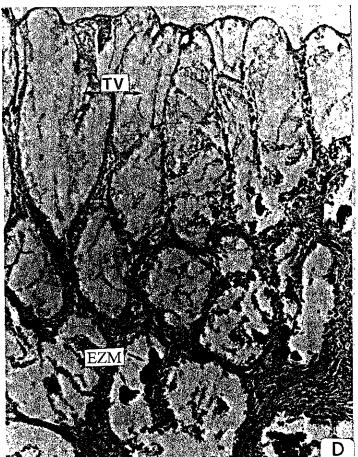


Figura 11. Aspectos del testículo de G. atripinnis durante el verano. 11A, vista general del testículo donde se aprecia en la parte anterior, baja actividad espermatogénica (ZE), con poca cantidad de espermatozeugmata (EZM), conductos deferentes vacíos (CD). La zona posterior, correspondiente al almacenamiento, con túbulos totalmente vacíos (TV). 11B, vista general del testículo de otro organismo de la misma época, donde la mayor parte del testículo se ha vaciado (TV); sólo quedan espermatozoides en la parte central (EZ). El tejido conjuntivo (TC) en esta época es muy escaso, y el tamaño del testículo ha disminuido. 11C, detalle de la parte media del testículo. Se observa hacia la periferia la zona germinal (ZG) con baja actividad; hacia la zona final de los lóbulos pocos espermatozeugmata (EZM), y hacia la parte central, gran cantidad de conductos deferentes (CD) vacíos. 11D, detalle de la figura 11B, en la región posterior del testículo se observa en la periferia túbulos de almacenamiento vacíos (TV) y en los tubos subyacentes aún se encuentran algunos espermatozeugmata (EZM).

	Técnica:	Aumento:
11 A	Tricrómica de gallego	25X
11 B	Tricrómica de gallego	25X
11 C	н-Е	200X
11 D	Tricrómica de gallego	200X







VI. DISCUSION

En la longitud total observada en los organismos procesados de G. atripinnis (8-10 cm) se encontró una diferencia respecto de lo reportado por autores como Meyer (1985) y Nelson (1994), quienes mencionan una talla de 12 cm y 13 cm para los ejemplares machos respectivamente. Se considera que estas discrepancias pueden deberse a que Meyer trabajó con ejemplares descendientes de organismos mexicanos transladados a Alemania y mantenidos en acuario, lo que hace las condiciones de interacción ecológica totalmente distintas a las encontradas entre las poblaciones silvestres de G. atripinnis del lago de Cuitzeo. Mientras que para el caso de Nelson, se sugiere que las variaciones se deben a que él trabajó con poblaciones de regiones geográficas distintas a las de Cuitzeo; lo que se ve reflejado en las tallas de los organismos.

El proceso espermatogenético en G. atripinnis es de tipo longitudinal y quistico, donde la maduración de las células germinales ocurre en grupos sincrónicos de la periferia hacia el centro del testículo, de manera que los quistes del centro se encuentran en etapas más avanzadas, a punto de completar su maduración. Este proceso se presenta en la mayoría de los peces teleósteos (Frazer, 1969; Grier et al, 1980; Grier, 1981).

La estructura testicular de G. atripinnis fue examinada e interpretada con base en dos diferentes tipos testiculares propuestos por Grier (1981; 1993), distinguido uno del otro por la distribución de las espermatogonias en el testículo. En los Ordenes Salmoniformes, Perciformes y Cypriniformes, las espermatogonias están dispuestas a todo lo largo del lóbulo testicular. Sin embargo, el Orden Atheriniformes, que incluye los goodeidos, al cual corresponde G. atripinnis, las espermatogonias están restringidas hacia la parte periférica de los lóbulos y adyacentes a la túnica albugínea. En relación a lo anterior, la clasificación de los testículos de G. atripinnis corresponde a "testículos espermatogoniales restringidos".

En los testículos de G. atripinnis se muestran claramente dos zonas morfológica y funcionalmente distintas: la zona espermatogénica y la zona de almacenamiento; donde en la primera se lleva a cabo activamente el proceso de espermatogénesis, mientras que en la segunda, existen grandes túbulos que guardan los espermatozoides ya maduros en forma de espermatozeugmata; esta carcacterística coincides con lo observado por Burns (1995) para

especies pertenecientes a las familias Anablepidae, Poeciliidae y Jenynsiidae del mismo Orden. La presencia de abundantes melanocitos en la periferia de la zona posterior del testículo, y alrededor de la luz interna del conducto deferente, podría indicar que el testículo necesita de un tejido que proteja a los epitelios, especialmente durante la época de intensa actividad espermatogénica y de desalojo de los espermatozoides. Este pigmento es más evidente en los testículos de otoño e invierno, los cuales se encuentran en espermatogénesis activa.

Los testículos de *G. atripinnis* están rodeados por la túnica albugínea, la cual contiene los elementos estructurales típicos de esta capa (Hyder, 1970; Grier et al, 1980; Dodd y Sumpter, 1984): fibroblastos, vasos sanguíneos, células de Leydig, fibras musculares y vasos linfáticos; la túnica a su vez está provista de una cubierta mesotelial. Proyectándose desde la túnica albugínea, hay invaginaciones de tejido conjuntivo intersticial hacia el centro del testículo, que separan a los lóbulos que contienen conjuntos de células germinales en diferentes estadios de desarrollo y que al término de su maduración se rompen liberando a los espermatozoides hacia el conducto deferente, tal como sucede en la mayoría de los teleósteos (Hyder, 1970; Grier et al, 1980; Dodd y Sumpter, 1984).

Desde el origen de los quistes las células germinales siempre se encuentran en íntima relación con las células de Sertoli; cuando un conjunto de espermatogonias se confinan al interior de un quiste delimitado por una célula de Sertoli. Posteriormente, la sincronía en el desarrollo de las células germinales ocurre al interior de todos los quistes. Estas células y sus funciones han sido descritas para todos los peces teleósteos estudiados, así como para los agnatos (myxinoideos y ciclóstomos), y para los peces condrictios, (Matthews, 1938b; Nazar, 1966; Redding y Patiño, 1993; Rasotto, 1995). Cuando el proceso de espematogénesis se ha completado y los quistes están muy avanzados en su desarrollo, generalmente se encuentran en contacto directo con el conducto deferente central, listos para ser expulsados durante la espermiación. Grier (1981; 1993) afirma que en este momento la célula de Sertoli se transforma y pasa a formar parte de las células del conducto deferente, continuando con sus funciones endócrinas. Estas observaciones han sido ampliadas por Grier (1993), mostrando con microscopía electrónica esta relación.

En cuanto a las características específicas de las células germinales de G. atripinnis, podemos decir que coinciden ampliamente con lo que se observa en el testículo de Clarias batrachus, de acuerdo con estudios hechos por Lerhy (1967), así como los realizados por Carrillo y Zanuy (1977) y Grier (1981). Así, vemos que las espermatogonias en cuanto a su posición, se encontraron hacia la periferia del testículo, pero en cuanto a su tamaño, se notó una ligera variación, ya que las de C. batrachus midieron en promedio 12 μm de diámetro, mientras que las de G. atripinnis midieron 9-11 μm espermatogonias A, y 5-8 μm espermatogonias B. Estas diferencias también se ponen en evidencia con la talla promedio de las espermatogonias en Spycara chriselys por Carrillo y Zanuy (1977).

Existe durante las cuatro estaciones del año estudiadas, una similitud en cuanto al tamaño de las células germinales en cada uno de los diferentes estadios. Así, vemos que el diámetro total de las espermatogonias A fue de 10.5 μm, 11.0 μm, 10.5 μm, y 10.5 μm; y 5.8 μm, 8.0 μm, 5.0 μm, y 5.0 μm para espermatogonias B en el otoño, invierno, primavera, y verano respectivamente; para los demás tipos celulares como los espermatocitos primarios fueron 4.09 μm, 4.5 μm, 4.5 μm, y 4.4 μm; para los espermatocitos secundarios 3.1 μm, 3.3 μm, 2.9 μm, y 2.8 μm; para las espermátidas 2.2 μm, 2.1 μm, 2.1 μm, y 2.1 μm; y para los espermatozoides 1.6 μm, 1.2 μm, 1.4 μm, y 1.4 μm. La Tabla 2 muestra que las diferencias son mínimas. En la literatura consultada no hay análisis referentes a las tallas de las células germinales en diferentes etapas reproductivas del testículo durante el ciclo anual.

La morfología de las células germinales de *G. atripinnis* también coincide con otras características observadas por Downing y Burns (1995) en otras especies, tales como la forma esférica, citoplasma hialino, núcleo central esférico, presencia de nucléolo, y cromatina dispersa. Aquí cabe resaltar que la cabeza del espermatozoide en *G. atripinnis* es de forma elongada, a diferencia de las formas descritas en los peces ovíparos, esto coincide con especies de fertilización interna (Grier, 1981; 1993).

En cuanto a la formación de los espermatozeugmata, conformación especializada en peces con fertilización interna, cuando se forman en G. atripinnis los espermatozoides, son liberados dentro de los conductos deferentes en forma de paquetes no encapsulados, y se notó que estas estructuras llenan el conducto deferente central. Downing y Burns (1995) han propuesto que estas agregaciones se desarrollan en peces con fertilización interna, para facilitar

el transporte de los espermatozoides a través de los conductos femeninos, asegurando que llegue el mayor número posible de los mismos y no se dispersen en su travesía hasta el sitio de fecundación. En *Goodea atripinnis* como en la familia Goodeidae se vio que los flagelos y las cabezas de los espermatozoides se encuentran en aparente desorden al interior de los espermatozeugmata, cuya estructura es no encapsulada y que contiene a los espermatozoides maduros manteniéndolos en forma compacta mediante una sustancia gelatinosa. A esta estructura se le designa como desnuda, a diferencia del espermatóforo que contiene una cápsula que delimita toda la estructura (Grier, 1993).

Un aspecto general de la espermatogénesis de los vertebrados, es el hecho de que el proceso de proliferación por mitosis de las espermatogonias, permite la formación de células tronco, las espermatogonias A que mantienen la capacidad de seguir dividiéndose mitóticamente y de células que pasarán al estadio de espermatogonias B, mismas que iniciarán el proceso meiótico (Palmer et al, 1994).

Con respecto a las células somáticas en los testículos de G. atripinnis, nos referimos a las de Sertoli, y a las de Leydig. Las células de Sertoli alcanzan grandes tallas (Carrillo y Zanuy, 1977, Grier, 1993), y han sido descritas con la misma forma y función para todas las especies de peces teleósteos estudiados, incluyendo a los peces agnatos y a los condrictios (Nazar, 1966; Redding y Patiño, 1993). Estas células inicialmente se encuentran en la periferia del testículo, después rodean a las espermatogonias y forman los quistes espermatogenéticos. Hasta que se hipertrofian y pasan a formar parte de las células del conducto, a continuación de la espermiación.

En el interior de los lóbulos, sólo se encuentran células germinales asociadas a las células de Sertoli, que están involucradas en roles alimenticios y esteroidogénicos, formando a su vez una barrera de permeabilidad entre el quiste y el exterior (Shibata y Hamaguchi, 1986); y en adición, participan en la formación de los espermatozeugmata y de los espermatóforos (Grier, 1981; Burns, 1995). Las células de Leydig se encuentran típicamente en el tejido intersticial interlobular (Redding y Patiño, 1993). Su función primaria es producir andrógenos, principalmente testosterona, y están bien identificadas en ciclóstomos, elasmobranquios y en peces teleósteos (Marshall y Lofts, 1956; Redding y Patiño, 1993).

El control ambiental de la reproducción en los teleósteos ha sido estudiado en una amplia variedad de especies (Crim y Glebe, 1990; Yao et al, 1995). Los cambios estacionales observados en el testículo de *G. atripinnis* están directamente relacionados con los cambios en los factores ambientales como la longitud del día y la temperatura del agua. Los procesos reproductivos exhiben ritmos endógenos controlados por "relojes biológicos" internos, y entrenados por señales ambientales; aunado a estos ritmos, se observa una relación de los cambios estacionales con la actividad testicular (Billard y Christen, 1986; Redding y Patiño, 1993) coincidiendo también con lo observado en el goodeido *Ilyodon whitei* (Yañez, 1998). *G. atripinnis* no es la excepción, y se observó que sus testículos sufren cambios en grosor, peso y talla, y en la actividad espermatogenética (Tablas 1 y 2).

Asimismo, observando el comportamiento espermatogenético estacional de los testículos de G. atripinnis comparado con el de C. batrachus, hayamos que:

- 1) la activación de los testículos en G. atripinnis es muy rápida, abarcando tan sólo un mes, y se adelanta cuatro meses en el año, al iniciar desde noviembre; mientras que la activación de C. batrachus es más lenta y se inicia hasta febrero del siguiente año, su activación abarca cuatro meses, febrero, marzo, abril y mayo.
- 2) la fase de proliferación y madurez en G. atripinnis es muy larga y empieza desde febrero, a mediados de invierno, abarcando ocho meses de duración, finalizando hasta agosto, cuando termina el verano. En C. batrachus la madurez es más corta, se inicia en mayo a mediados de la primavera y termina en septiembre a fines del verano tomándole cuatro meses, y
- 3) la regresión de G. atripinnis se inicia en el mes de septiembre a inicios del otoño, coincidiendo con lo observado en C. batrachus; diferenciándose en que la regresión de G. atripinnis es muy rápida y abarca sólo un mes, de septiembre a octubre; mientras que la regresión de C. batrachus inicia también en septiembre, pero abarca cuatro meses, hasta febrero del siguiente año (Esquema 2).

En los testículos de G. atripinnis no se encontró una clara diferenciación como en los del ciprínido de agua dulce Coesius plumbeus, donde los cambios descritos se pueden dividir en dos fases, a) la fase mitótica: es una etapa muy larga, que comienza en septiembre, progresando lentamente hasta abril, y b) la fase meiótica: esta es rápida y de corta duración. Esta fase comienza en la primavera y son formados los espermatocitos secundarios, los cuales

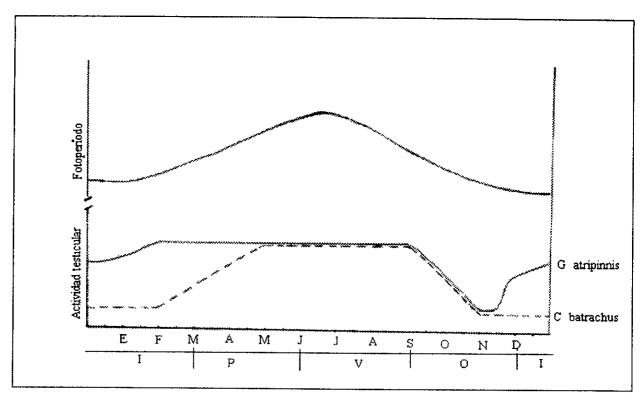
finalmemente se transforman en espermatozoides (Matthews, 1938a; Nazar, 1966). A diferencia de ello, en G. atripinnis se notó un mantenimiento del proceso espermatogenético durante casi todo el año aunque con variaciones en el ciclo; la principal se vió en el corto período de regresión. Así, en el otoño, los testículos se encuentran en gran actividad espermatogenética, alcanzando una longitud promedio de 14.75 mm.; la zona espermatogenética se encuentra en plena actividad, y los conductos deferentes y el conducto deferente central están llenos de espermatozoides; el tejido conjuntivo es muy abundante; los túbulos de almacenamiento se forman y se llenan. El invierno es la estación de mayor actividad espermatogenética y se alacanzan las mayores tallas promedio de las cuatro estaciones: 19 mm; las zonas espermatogenética y de almacenamiento están bien formadas y totalmente llenas de espermatozoides; y los conductos deferentes y deferente central también se encuentran llenos. Los testículos de primavera alcanzaron una talla promedio de 15.25 mm de longitud, la actividad espermatogenética se encuentra en niveles medios del desarrollo. En este momento, los testículos muestran ya indicios de vaciamiento de espermatozoides, mientras que otros se encuentran ya en pleno drenaje, y hay tejido conjuntivo abundante. Los testículos correspondientes al verano, alcanzaron una talla promedio de 14.0 mm de longitud, siendo ésta la menor de las cuatro estaciones. La actividad espermatogenética es mínima. La zona de almacenamiento la encontramos prácticamente vacía, y el tejido conjuntivo notablemente

De lo anterior, se puede afirmar que si bien no hay una suspensión total de la actividad espermatogenética en ninguna estación del año, sí se observa una marcada baja en la actividad durante el verano. Al analizar los períodos de actividad, se encuentran diferencias en la primavera, verano, otoño e invierno. Así, poniendo en perspectíva el comportamiento estacional espermatogenético de los testículos de G. atripinnis respecto a lo observado por Licht y Gorman (1970) quienes esquematizan diversos tipos de ciclos reproductores en vertebrados encontramos que G. atripinnis corresponde con una curva descrita por ellos, específicamente de tipo V, caracterizada por la activación del ciclo en invierno, larga fase de actividad y regresión de corta duración al fin del verano; el comportamiento de la curva está en relación a las variaciones del fotoperíodo (Esquema 3).

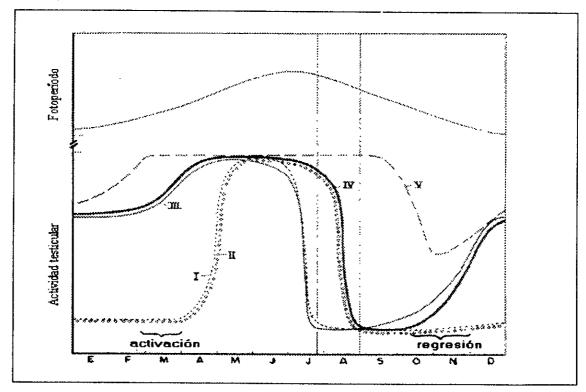
En G. atripinnis durante el otoño, cuando la temperatura comienza a declinar, las lluvias disminuyen marcadamente en la región, y la longitud del fotoperíodo también decrece, la actividad espermatogenética recrudesce, y el testículo por lo tanto, crece; hay entonces una gran proliferación mitótica de las células germinales. En el invierno, en el área del lago de Cuitzeo, la temperatura, el fotoperíodo y las lluvias, alcanzan los niveles mínimos del año; por lo tanto, no es un período óptimo para el apareamiento. La actividad espermatogenética llega a los niveles máximos durante esta estación; el testículo está produciendo y almacenando espermatozoides en su zona posterior, especializada para tal función. En la primavera el testículo está activo espermatogenéticamente, pero se propone que en esta temporada, por lo observado en los cortes histológicos, suceden las primeras espermiaciones del año; esto es, el testículo comienza a desalojar lo almacenado en el invierno. En esta época se inicia la elevación de la temperatura, y ya han caído las primeras lluvias. Durante el verano, y a finales del mismo, la actividad espermatogenética está en plena regresión y alcanza los niveles mínimos, así como las tallas y los pesos mínimos, siendo esta la temporada de mayor temperatura y de mayor duración de incidencia de luz de sol, así como la de más lluvias; por lo tanto, los peces se hallan en época de apareamiento y espermiación plenas.

A pesar de las variaciones en las tallas y en el índice gonadosomático, en G. atripinnis la actividad reproductiva ocurre en tres estaciones del año, otoño, invierno, y primavera, y su regresión se continúa rápidamente en el verano con el siguiente ciclo reproductivo. En relación a lo observado en hembras de G. atripinnis colectadas en las cuatro estaciones del año, se les encontró gestantes en todo el año (Uribe, 1998, com. pers.). A diferencia de la estacionalidad mencionada para G. atripinnis, la reproducción continua se ha observado en otros vivíparos, como B. episcopi en Panamá; X. maculatus y X. helleri bajo condiciones de laboratorio; G. puncticulata en las Bahamas; Poecilopsis occidentalis de Arizona y Poecilia spp. en el noroeste de México (Burns, 1981).

Ampliamente conocido es el hecho de que los ciclos reproductivos pueden ser regulados, completa o en parcialmente por factores ambientales. Existen familias de peces vivíparos que tienen especies representativas en un gran rango de latitud y se encuentran en condiciones ambientales muy diferentes. Así como las especies de distintas familias responderán a distintas señales ambientales, o combinaciones de ellas; donde cada especie involucra



Esquema 2. Representación esquematica del ciclo reproductor masculino de *G. atripinnis* señalando las variaciones de actividad testicular en un año, comparándolo con las observaciones hechas por Lehry (1967) en *C. batrachus*.



Esquema 3. Representación esquemática de las variaciones de cinco tipos de ciclos reproductores en vertebrados. Tomado de: Licht y Gorbman (1970).

VII. CONCLUSIONES

- 1.- La espermatogénesis en *Goodea atripinnis* avanza longitudinalmente de la periferia del testículo hacia el conducto deferente central.
- La espermatogénesis se desarrolla al interior de quistes sincrónicos limitados por células de Sertoli.
- 3.- La estructura testicular de G. atripinnis es de tipo espermatogonial restringido, debido a que las espermatogonias se encuentran restringidas exclusivamente en la periferia del testículo.
- 4.- Las características morfológicas de los diferentes estadios de las células germinales son similares a lo largo del año.
- 5.- En el testículo de G. atripinnis se distinguen dos zonas histológica y funcionalmente distintas: la zona anterior, de espermatogénesis, y la posterior, de almacenamiento.
- 6.- La disposición de las espermátidas y espermatozoides al interior de los quistes es irregular.
- 7.- Las cabezas de los espermatozoides son alargadas en su forma.
- 8.- Los espermatozoides forman paquetes (espermatozeugmata) en los cuales su orientación no tiene un arreglo definido.
- 9.- Los testículos de G. atripinnis muestran actividad espermatogénica durante las cuatro estaciones del año; con una fase de disminución de talla que inicia en la primavera, y alcanzan su máximo durante el verano, durante un período muy corto de regresión.
- 10.- La actividad se reinicia durante el otoño al inicio de la disminución del fotoperíodo, puesta en evidencia por una mayor talla de los testículos y un incremento en su peso.
- 11.- El máximo almacenamiento de espermatozoides se observa durante el invierno.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- Aguilar, M.; Coutiño, B. y Salinas, R. 1996. Manual General de Técnicas Histológicas y Citoquímicas. Ed. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F.
- Barragán, J. y Magallán, S. 1994. Peces Dulceacuícolas Mexicanos. Zoología Informa. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. D.F. 27-36.
- Berica, M. 1995. Male Reproductive Apparatous of Some Blennioidei (Pisces: Teleostei). COPEIA. (4): 907-914.
- Billard, R. y Christen, R. 1986. Biology of the Gametes of Some Teleost Species. <u>Fish</u>

 <u>Physiology and Biochemistry</u>, Vol. 2 (1-4): 115-120.
- Billard, R. 1986. Spermatogenesis and Spermatology of Some Teleost Fish Species. Reprod.

 Nutr. Develop. 26(4): 877-920.
- Bone, Q. y Marshall, N. 1982. Biology of Fishes. Blackie Edit. Glasgow and London. 253.
- Burns, J. R. y Flores, J. 1981. Reproductive Biology of the "Cuatro Ojos", *Anableps dowi*(Pisces: Anablepidae), from El Salvador and its Seasonal Variations. <u>COPEIA</u>. (1): 25-32.
- Burns, J. R. 1995. Internal Fertilization, Testis and Sperm Morphology in Glandulocaudine Fishes (Teleosteii) Characidae: Glandulocaudinae. J. of Morph. 224: 131-145.
- Carrillo, M. y Zanuy, S. 1977. Quelques Observations Sur le Testicles chez Spicara chryselis. C.V. Inv. Pesq. 41(1): 121-146.

- Ceballos, G.; Ortega, M. y Medina, M. 1994. <u>Análisis Limnológico del Lago de Cuitzeo</u>, <u>Michoacán, México</u>. Secretaría de Difusión Cultural. Edit. Universitaria. Michoacán, México. 45.
- Clarence, L. T. 1919. The Seasonal Cycle in the Spermary of the Perch. J. of Morph. 32: 681-711.
- Crim, L. W. y Glebe, B. D. 1990. Reproduction. 529-553. In Schreck, C. B. y Moyle, P. E. 1990. Method for fish Biology. Edit. American Fishering Society, USA. 673.
- De Felice, D. A. and Rasch, E. M. 1969. Chronology of Spermatogenesis and Spermiogenesis in Poeciliid Fishes. J. of Zool. (171): 191-208.
- Dodd, J. M. y Sumpter, J. P. 1984. Fishes. In: <u>Marshall's Physiology of Reproduction</u>. Edit. G. E. Lamming. 1-126
- Downing, A. and Burns, J. 1995. Testis Morphology and Spermatozeugmata Formation in Three Genera of Viviparous Halfbeaks: *Nomorhamphus, Dermogenys*, and *Hemirhamphodon* (Teleostei: Hemirhamphidae). J. of Morph. 225;329-343.
- Frazer, J. F. 1969. Los Ciclos Sexuales de los Vertebrados. Edit. Labor, S. A. Barcelona, España, 140.
- Gilbert, S. F. 1988. <u>Biología del Desarrollo.</u> Ediciones Omega, 3a. ed. Barcelona, España. 724.
- Grier, H. J. 1981. Cellular Organization of the Testis and Spermatogenesis in Fishes. <u>Am. Zool.</u> 21: 345-357.

Grier, H. J. 1984. Testis Structure and Formation of Spermatophores in the Atherinimorph Teleost *Horaichthys setnai*. <u>COPEIA</u>. 4: 833-839.

ī

- Grier, H. J. 1993. Comparative Organization of Sertoli Cells Including The Sertoli Cell Barrier. In: <u>The Sertoli Cell</u>. Ed. Russell L. D. and Griswold M. D. Cache River Press. Cleawater Fl. 703-736.
- Grier, H. J.; Burns, J. R. y Flores, J. A. 1981. Testis Structure in Three Species of Teleosts with Tubular Gonopodia. <u>COPEIA</u>. 4: 797-801.
- Grier, H. J.; Fitzsimons, J. M. y Linton, J. R. 1978. Structure and Ultrastructure of the Testis and Sperm Formation in Goodeid Teleost. <u>J. of Morph.</u> 156: 419-438.
- Grier H. J.; Linton J. R.; Leatherland J. F., y DE Vlaming, V. L. 1980. Structural Evidence for Two Different Testicular Types in Teleost Fishes. Am. J. of Anat. 159: 331-345.
- Hoar, W. S. 1983. Reproduction. In Hoar W. S. Randall D. J. (eds) <u>Fish Phisology.</u> Vol. IX. Academic Press. New York. 519.
- Hyder, M. 1970. Histological Studies of the Teleosts of Ponds Specimens of *Tilapia nigra* (Gunther) (Pisces: Cihclidae) and Their implications of the Pituitary Testis Relationship. Gen. Comp. Endocrinol. 14: 198-211.
- Lerhy, G. K. 1967. The Annual Cycle in the Testis of the Catfish Clarias batrachus. L. Acta Anat. 67: 134-154.
- Licht, P. y Gorman, G. 1970. <u>Reproductive and Fat Cycles in Caribbean Anolys Lizards</u>.

 University of Carolina Publications 95: 1-52.

- Lofts, B. 1987. Testicular Function 283-314. In Norris D. and Jones R. 1987. Hormones and Reproduction in Fishes, Amphibians and Reptiles. Ed. Plenum Press. New York and London. 612.
- Marshall, N. B. y Lofts, B. 1956. The Leydig Cell Homologue in Certain Teleost Fishes.

 Nature. London. 177: 704-705.
- Marine Biological Laboratory. Wood Hole, Mass. 74: 66-74.
- Matthews, S. A. 1938b. The Effects of Implanting Adult Hypophyses Into Sexually Inmature *Fundulus*. Biological Bulletin, Marine Biological Laboratory. Wood Hole, Mass. 74: 207-214.
- Meyer, M.; Wischnath, L. y Foerster, W. 1985. <u>Labendgebärende</u> <u>Zierfische</u>, (<u>Arten der Welt</u>). Mergus Press. Hong Kong. 496.
- Nagahama, Y., 1983. The Functional Morphology of Teleost Gonads. 223-265. In Fish

 Phisiology, Vol. IX A, W. S. Hoar, D. J. Randall and Donaldson (eds) Acad. Press,

 New York.
- Nazar, A. S. 1966. Cyclical Changes in the Testicular Activity of the Lake Chub, *Couesius plumbeus* (Agassiz). Can. J. of Zool. 44: 149-159.
- Nelson, J. S. 1994. Fishes of the World. John Wiley and Sons Inc Ed. New York; Chichester. 600.
- Nikolsky, G. V., 1976. The Ecology of Fishes. A. C. Press, England. 1-352.

- Palmer, E. E.; Sorenses, P. W. y Adelman I. R. 1994. A Histological Study of Seasonal Ovarian Development in Fresh Water Drum in the Red Lakes, Minnesota. <u>J. of Fish Biology.</u> 47: 199-210.
- Rasotto, M. B. 1995. Male Reproductive Apparatous of Some Blennioidei (Pisces: Teleostei) <u>COPEIA</u>. 4: 907-914.
- Redding, J. and Patiño, M. 1993. Reproductive Phisiology. In Evans, D. H. <u>The Phisiology</u> of Fishes. CRC Press. Boca Raton, Florida. 592.
- Rosen, 1964. In <u>Medaka Biology and Strain</u>. T. Yamamoto, ed. Yugakusya Publ. 17-25. Taxonomy.html.en biol.bio.nagoya-u.ac.jp.Microsoft Internet Explorer.
- Shibata, N. y Hamaguchi. 1986. Electron Microscopic Study of the Blood Testis Barriers in the Teleost *Orizias latipes*. Zool. Science. 3: 331-338.
- Takashima, T. y Hibiya T. 1995. Fish Histology, (And Atlas of), 2a ed. Edit. Kodanssha, LTD. Tokyo. 102.
- Turner, C., 1919. The Seasonal Cycle in the Spermary of the Perch J. of Morphol. 32: 681-711.
- van Tienhoven, A. 1983. <u>Reproductive Physiology of Vertebrates</u>. 2a. ed. Cornell University Press. (Ithaca). London, 491.
- Yañez, G. N. 1998. Espermatogénesis en dos especies de peces vivíparos Iliodon whitei (Goodeidae) y Poeciliopsis gracilis (Poecilidae) de la Cuenca del Río Balsas, Morelos, México. Tesis Profesional. Facultad de ciencias Biológicas, UAEM.



Yao, Z.; Emerson, C. J. y Crim, L. W. 1995. Ultrastructure of the Spermatozoa and Eggs of the Ocean Pout (Macrozoarces americanus L.), an Internally Fertilizing Marine Fish.
 Mol. Reprod. and Develop. 42: 58-64. Exp. Zool. (año) 191-208.