

7  
2ef



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
"CAMPUS IZTACALA"

"ANALISIS CELULAR OVARICO DEL PEZ VIVIPARO  
*Poecilia sphenops* EN ESTADO DE MADUREZ  
GONADICA"

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**B I O L O G O**

P R E S E N T A :

**CESAR CARLOS BARRAGAN GUTIERREZ**



IZTACALA

DIR. BIOL. JOSE ANTONIO MARTINEZ PEREZ

MEXICO 1999

TESIS CON  
LLA DE ORIGEN.

271132



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.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A mis padres por toda su fe, confianza, ejemplo y apoyo.**

**A mis hermanos por crecer conmigo.**

**A Elena por su infinito amor y paciencia.**

**A la M.C. Leticia Verdín por su tiempo y apoyo incondicional.**

**A todos aquellos que me ayudaron a realizar esta tesis y que por temor a omitir alguno de los nombres prefiero no mencionarlos.**

## **DEDICATORIAS**

**Quiero dedicar este trabajo a todos aquellos amigos y amigas de múltiples empleos que no han tenido las mismas oportunidades que yo.**

**A mis abuelos, padres y hermanos.**

**A Juan, "Lola", Pablo y Arturo donde quiera que estén, donde quiera que hayan ido.**

## ÍNDICE

<b>Resumen</b>	<b>4</b>	
<b>Introducción</b>	<b>5</b>	
<b>Antecedentes</b>	<b>8</b>	
<b>Objetivos</b>	<b>11</b>	
<b>Metodología</b>	<b>11</b>	
<b>Resultados</b>	<b>12</b>	
<i>-Descripción de la especie</i>		<b>12</b>
<i>-Posición Sistemática de la Especie</i>		<b>14</b>
<i>-Organismos colectados</i>		<b>15</b>
<b>Análisis de Resultados</b>		<b>18</b>
<i>-Análisis macroscópico de la gónada</i>		<b>18</b>
<i>-Análisis histológico y relaciones foliculares</i>		<b>18</b>
<i>-Esquema</i>		<b>22</b>
<i>-Sección de fotos</i>		<b>23</b>
<i>-Análisis cuantitativo folicular</i>		<b>32</b>
<i>-Sección de gráficas</i>		<b>35</b>
<i>-fecundidad y fertilidad</i>		<b>43</b>
<b>Discusión</b>	<b>45</b>	
<b>Conclusiones</b>	<b>49</b>	
<b>Sugerencias</b>	<b>50</b>	
<b>Apéndices</b>	<b>51</b>	
<i>-Técnica histológica</i>		<b>51</b>
<i>-H-E</i>		<b>52</b>
<i>-Tricrómica de Masson de 1 paso</i>		<b>53</b>
<b>Bibliografía</b>		<b>54</b>

## RESUMEN

De todos los procesos fisiológicos la reproducción ocupa un lugar único en la biología, debido a su papel en la conservación de las especies, la transmisión de los factores hereditarios y la evolución. La adaptación de los peces a las condiciones de su reproducción y desarrollo, reflejan no solamente los factores ecológicos del periodo embrionario, sino las de todo su ciclo de vida. Estos aspectos han sido ampliamente estudiados en peces ovíparos, debido a que es el modo dominante de reproducción en peces óseos. Mientras que su estudio y comprensión en peces vivíparos es todavía insuficiente. La viviparidad es el modo dominante de reproducción entre los peces cartilaginosos, con un 55 % de aproximadamente 900 especies vivientes. Es menos prevaeciente entre los cinco mayores grupos de peces óseos con 2-3 % de un estimado de 20 000 o más especies. Dentro del 2-3 % de especies vivíparas reportadas en teleosteos, se encuentra la familia Poeciliidae. Si bien existen estudios acerca de esta familia, dicha información se encuentra fragmentada y dispersa. Por lo anteriormente descrito, en el trabajo de investigación que aquí se presenta, se realizó un análisis celular del ovario del pez vivíparo *P. sphenops*, en estado de madurez sexual, con el fin de contribuir al estudio sobre la viviparidad en teleosteos no marinos. Para lo anterior se describieron los tipos celulares de la gónada de *P. sphenops*, se hizo un análisis cuantitativo de los tipos celulares (foliculares) para determinar las diferencias de fecundidad y fertilidad entre tallas y, finalmente, se determinaron las relaciones entre los diferentes tipos de células foliculares. Los organismos fueron capturados en el estuario de Tecolutla, Ver. en diferentes meses del año, éstos se fijaron en formol al 10 %, a las hembras se les extrajo la gónada la cual se procesó histológicamente con inclusión en parafina y cortes de 5  $\mu$ m, posteriormente se tiñeron con H-E y tricrómica de Masson de 1 paso, las preparaciones obtenidas se observaron en un microscopio óptico y se fotografiaron los mejores campos. Se colectaron un total de 45 organismos de los cuales 12 fueron machos y 33 hembras. No a todas las hembras se les pudo procesar la gónada debido a su talla pequeña. El análisis mostró que la fecundidad y la fertilidad es baja en comparación con los peces ovíparos y va en proporción con la talla. También se pudo observar dos épocas reproductivas en los meses de captura que fueron Noviembre y Mayo; así mismo, se encontró que si bien los ovocitos maduran de manera asincrónica, no siguen el mismo patrón de desarrollo descrito para otros peces ya que en *P. sphenops* no se observa la depositación de vitelo, ésto, debido posiblemente, a las diferencias en su naturaleza química. También se encontró que los embriones, al parecer, desarrollan estructuras ligadas al intercambio trófico madre embrión por lo que sugieren ser matrótrofos. Con base en los resultados obtenidos, se propone hacer un seguimiento de este estudio el cual confirme las épocas reproductivas de *P. sphenops* en el estuario de Tecolutla, Ver. en las temporadas de lluvias y secas; así como, utilizar otras técnicas de tinción histológica a fin de hacer evidente la agregación de vitelo en los ovocitos y, finalmente, partiendo de este trabajo como antecedente, se sugiere hacer un estudio específico que confirme a *P. sphenops* como una especie lecitotrófica o matrotrofica.

## INTRODUCCIÓN

Aunque muchos investigadores sostienen que de todos los procesos fisiológicos la reproducción es el más importante, también es cierto que todos los procesos esenciales de la vida son igualmente indispensables e importantes; sin embargo, la reproducción ocupa un lugar único en la biología, debido a su papel en la conservación de la especie, la transmisión de los factores hereditarios y la evolución (Palomar, 1990).

Una de las adaptaciones, que asegura la continuación de las especies en peces, es el tipo de desarrollo que presenta la gónada de las hembras. En la mayoría de los peces que tienen una sola puesta en su vida y que es seguida por la muerte, el ovario de la hembra tiene un desarrollo sincrónico, esto es, los ovocitos tienen el mismo grado de madurez. Son conocidos con este tipo de desarrollo el salmón del Pacífico, las lampreas y las anguilas catádromas (Evans, 1993).

En el desarrollo sincrónico por grupos se reconocen dos estadios diferentes de maduración, en el primero, se observan ovocitos maduros destinados a ser expulsados. El segundo grupo, se distingue por la presencia de ovocitos con muy poca cantidad de vitelo e inmaduros, estos constituyen la reserva para la siguiente temporada de desove. Estos peces generalmente desovan una vez al año.

Como una estrategia para el ambiente tan heterogéneo y cambiante de los estuarios, los peces mejor adaptados reproductivamente, son los que presentan un desarrollo asincrónico, en el cual el ovario aloja ovocitos en diferentes estadios de desarrollo; La ovulación y el desove ocurren a través de una larga etapa reproductiva, y generalmente varias veces en la misma estación (Rodríguez, 1992).

La reproducción de los peces posee diferentes modalidades, siendo éstas específicas de animales acuáticos. En la mayoría de los peces ovíparos, la fertilización se lleva a cabo fuera del cuerpo de los padres (fecundación externa), el esperma y los huevos de los peces están en el agua durante algún tiempo. Los huevos son fertilizados en el agua, donde los espermias adquieren movilidad y penetran a través del micrópilo del huevo para fertilizarlo (Nikolsky, 1963).

La oviparidad puede ser dividida en tres categorías según su grado de complejidad; estas van desde la liberación del huevo del aparato reproductor de la hembra, hasta la liberación de un embrión bien desarrollado dentro de un huevo:

**Ovuliparidad:** liberación de un huevo por parte de la hembra, seguido de la fertilización o activación en el ambiente externo. Muchos teleósteos son ovulíparos.

**Zigoparidad:** el huevo fertilizado internamente o ginogenéticamente activo, es retenido dentro del aparato reproductor de la hembra por un corto periodo de tiempo. Algunos tiburones y teleósteos llevan acabo esta modalidad.

**Embrioparidad:** La fertilización es interna y el embrión formado puede desarrollarse hasta un estadio superior antes de ser liberado del aparato reproductor de la madre, para su subsecuente eclosión del huevo. En algunas especies el embrión rompe sus cubiertas dentro del aparato reproductor de la madre por lo que se puede considerar que los límites superiores de la embrioparidad se traslapan con la viviparidad (Wourms and Lombardi, 1992)

Dentro del modelo de oviparidad existen tipos de reproducción poco comunes, tales como el hermafroditismo, el cual es conocido solamente en peces marinos, serránidos y los espáridos. También en algunas especies en la naturaleza, se ha desarrollado la partenogénesis, que usualmente no lleva a la formación normal de la larva (Nikolsky, op. cit.).

Como ya se había mencionado, en la mayoría de los peces la fecundación es externa, pero en las especies de fecundación interna se han desarrollado órganos copulatorios especiales en los machos. En su forma más simple, estos órganos están representados por una papila anal como en las lampreas.

En el orden de los Cyprinodontiformes, la modificación de los radios de la aleta anal (usualmente el tercero y cuarto) forman una estructura copulatoria compleja llamada gonopodio. En ciprinodontes vivíparos este órgano ha adquirido movilidad y puede desplegarse y retraerse (Nikolsky, op. cit.)

En ciertos peces, toda la incubación o parte de ella, se lleva a cabo dentro del cuerpo de alguno de los padres. En algunos tiburones y rayas, existen adaptaciones especiales ligadas a la viviparidad. En otras especies se han observado órganos, con una función similar a la de la placenta de los mamíferos. En la raya *Pteroplatea*, la pared del útero tiene prolongaciones que crecen dentro de la cavidad oral del embrión, la cual secreta un fluido aceitoso que lo nutre.

Algunos investigadores sugieren que en teleosteos marinos la familia Scorpaenidae representa el grupo de transición de oviparidad a viviparidad, ya que en ella se encuentran especies tanto ovíparas como vivíparas.

La evolución de la viviparidad a partir de la oviparidad incluyó principalmente, entre otras modificaciones, un cambio de fertilización externa a interna y la retención de los embriones en el aparato reproductor materno (Wourms & Lombardi, op. cit.).

Con respecto a esto, el cuerpo lúteo y la progesterona fueron de importancia evolutiva para la aparición de la viviparidad tanto por su acción inhibitoria de la vitelogénesis, como por sus efectos en la retención del huevo dentro del aparato reproductor materno (Callard 1992)

Dentro de las ventajas que trajo consigo la viviparidad se encuentran una elevada sobrevivencia de los juveniles y la colonización de nuevos hábitats.

La viviparidad en peces ha desarrollado cuatro tipos de placentación: 1) Saco vitelino, 2) Folicular, 3) Branquial y 4) Trofotenia (Wourms & Lombardi , op. cit.).

Si bien Blackburn en 1992 ha establecido que los modelos de paridad son completamente ajenos a los modelos "tróficos de los embriones", diversos autores se basan en estos últimos para identificar el grado de evolución de la viviparidad en diferentes especies. De esta manera, según el grado de complejidad de estas relaciones madre-embrión la viviparidad se puede dividir en los dos modelos siguientes:

**Lecitotrófico** en el cual, los embriones dependen únicamente de las reservas de vitelo y que caracteriza un grado de viviparidad primitivo.

**Matrotrofico** donde a parte del vitelo o en sustitución de este el embrión recibe un aporte de nutrimentos de parte de la madre y que es característico de vivíparos altamente especializados (Wourms 1981, 1988 y Wourms & Lombardi, op. cit.)

Según Evans (1993) la oviparidad en peces persiste como un modelo primitivo de reproducción, muy efectivo todavía, siendo la viviparidad un modelo alternativo encontrado en algunos grupos taxonómicamente avanzados, en los cuales, la fertilización y el desarrollo embrionario total se lleva a cabo dentro del aparato reproductor de la hembra.

## ANTECEDENTES

La viviparidad apareció por vez primera dentro de los vertebrados craniados; sin embargo, se desarrolló independientemente, al menos 42 veces en cinco de los nueve mayores grupos de peces. La viviparidad es el modo dominante de reproducción entre los peces cartilaginosos, con un 55 % de aproximadamente 900 especies vivientes. Es menos prevaeciente entre los cinco mayores grupos de peces óseos, 2-3 % de un estimado de 20 000 o más especies (Wourms & Lombardi, 1992).

Dentro del 2-3 % de especies vivíparas reportadas en teleosteos, se encuentra la familia Poeciliidae. De los estudios realizados sobre esta familia destacan los realizados por Rosen y Bailey (1963), quienes describen su distribución y sistemática. Ellos dividieron a la familia Poeciliidae en 3 subfamilias, 21 géneros y 138 especies. La subfamilia Poeciliinae comprende 19 géneros los cuales están divididos en 5 tribus; las subfamilias Tomeurinae y Xenodexiinae son monotípicas. Estos autores describen también la distribución de estos peces desde el noroeste de los Estados Unidos, hasta el sur del Río de la Plata en Argentina y basados en estos patrones zoogeográficos clasifican a esta familia como ampliamente eurihalina.

Parenti y Rauchenberger en 1989, después de hacer una revisión minuciosa de la monografía de Rosen y Bailey, hacen un nuevo ordenamiento de la familia Poeciliidae empezando por describirla como subfamilia Poeciliinae la cual comprende 22 géneros, 12 subgéneros y arriba de 190 especies. Ambos trabajos incluyen a la especie ovípara *Tomeurus gracilis* dentro de este grupo, la diferencia es que los primeros la incluyen como subfamilia y los segundos como supertribu. Además indican que la mayor abundancia de especies se encuentra en México y América Central.

Meffe y Franklin (1989) señalan que la diversidad de hábitats explotados por la familia indican que son un grupo tolerante y altamente adaptativo lo cual les confiere dos características:

- a) son excelentes colonizadores y una sola hembra grávida puede fundar una nueva población, consecuentemente sus crías pueden explotar un nuevo hábitat.
- b) en segundo lugar su distribución los ubica como peces ampliamente eurihalinos y euri térmicos. En sistemas marinos estos peces se les encuentran entre los manglares y pastos.

Rosen y Bailey (1963), describen tres modelos de paridad para la familia Poeciliidae ovíparos, ovovivíparos y vivíparos.

Thibault y Schultz (1978) describen diferentes estadios de desarrollo embrionario dentro de una sola hembra de pecílido (esto es observado por diversos investigadores y lo llaman superfetación). Basados en los modelos de lecitotrofia y matrotrofia además de la superfetación (término traducido del inglés), estos autores proponen 2 grupos de pecílidos:

1) especies con embriones en el mismo estado de desarrollo dentro de la madre y que presentan lecitotrofia y 2) especies con diferentes estados de desarrollo dentro de una misma hembra grávida y con matrotrofia. Molero y Pisano en 1987, describen el desarrollo embrionario de *Cnesteredon decemaculatus* (pecílido), desde su segmentación hasta se eclosion en 15 estadios de desarrollo observando una superfetación intermedia.

Wourms 1981, 1988 y Wourms & Lombardi 1992, reconocen sólo dos modelos (no específicos para la familia) oviparidad y viviparidad, esta última la dividen en dos modelos según su complejidad: 1) lecitotrofia cuando los embriones son esencialmente de metabolismo autónomo y 2) matrotrofia cuando los embriones tienen un alto grado de dependencia trófica de la madre. En la lecitotrofia el nivel de viviparidad es más primitivo.

Constantz (1989) retoma los modelos de gestación de Wourms y los aplica para la familia Poeciliidae, pero en su caso, la especie ovípara *Tomeurus gracilis* -clasificada dentro de la familia Poeciliidae por Rosen y Bailey (1963) y por Parenti y Rauchenberger (1989)- la clasifica como "vivípara facultativa" y la lecitotrofia que Wourms clasifica como una condición de viviparidad primitiva, él lo aplica como un modelo de gestación presente tanto en ovíparos como en vivíparos. Éste autor concluye que peces con superfetación muy desarrollada corresponden a un grado de viviparidad elevado (matrotrofia). por el contrario la ausencia de superfetación o un pobre desarrollo de esta, corresponde a peces cuyos huevos fertilizados contienen suficiente nutrimento para sostener la embriogénesis (lecitotrofia).

Wourms en 1991, clasifica a *Heterandria formosa* como matrótrofo debido a su desarrollo embrionario durante el cual el embrión establece relaciones placentarias con la madre, entre otras se encuentran, el desarrollo de microvellosidades en toda la superficie del cuerpo que sirven para la asimilación de nutrimentos, además del incremento en peso seco del embrión al final del desarrollo, el cual aumenta hasta en 3, 900 %.

Blackburn en 1992 menciona que la desatención a la terminología usada para los modelos de paridad (oviparidad y viviparidad) y de gestación (lecitotrofia, matrotrofia etc.) crea problemas para la clasificación de los organismos en uno u otro modelo y estos problemas residen en el uso indiscriminado de conceptos diferentes para un mismo fin.

En Febrero de 1998, dentro del International Symposium on Viviparus Fishes, celebrado en Cuernavaca, Mor., se presentaron "posters", que en su mayoría, describían la distribución y abundancia en diferentes ríos y lagos, de la región centro y sur de la República mexicana, así como la morfología y técnicas de masculinización de diferentes especies de pecílidos entre ellos *Poecilia sphenops* (Márquez-Ezpinoza; Paredes y Mejía; Trujillo J, 1988)

Acerca de estudios realizados sobre la descripción histológica del ovario de peces (no pecílidos) destacan los trabajos de Wallace & Sellman (1981); Forberg (1982); González (1982); Wallace & Sellman (1986) y Badillo (1998) entre otros. Estos estudios se realizaron en ovarios de peces ovíparos y están basados principalmente en la síntesis y depositación de vitelo dentro de los ovocitos.

Nikolsky afirma en 1963, que la adaptación de los peces a las condiciones de su reproducción y desarrollo, reflejan no solamente los factores ecológicos del periodo embrionario, sino las de todos los periodos de vida, lo cual está conectado con el modo de vida del pez adulto, así como las características de migración y otros aspectos del ciclo de vida.

Estos aspectos mencionados por Nikolsky, han sido mayormente estudiados en peces ovíparos, debido a que, como ya se ha visto, es el modo dominante de reproducción en peces óseos. Mientras que su estudio y comprensión en peces vivíparos exceptuando a los elasmobranquios, es todavía insuficiente. Si bien existen estudios acerca de peces de la familia Poeciliidae incluyendo a *P. sphenops*, esta información está fragmentada y dispersa, además de que no hay un trabajo que describa las gónadas de *P. sphenops* y sus características reproductivas. Por lo anteriormente descrito, en el presente trabajo se realizó un análisis celular del ovario del pez vivíparo *P. sphenops* en estado de madurez sexual, con el fin de contribuir al estudio sobre la viviparidad en teleosteos no marinos.

## OBJETIVOS

- Describir los tipos celulares de la gónada de *P. sphenops*
- Realizar un análisis cuantitativo de los tipos celulares (foliculares).
- Determinar las diferencias de fecundidad y fertilidad entre tallas
- Intentar determinar las relaciones entre los diferente tipos de células foliculares.

## METODOLOGÍA

Para el caso del análisis histológico se procesaron organismos de la especie *Poecilia sphenops*. (Álvarez del Villar, 1970), colectados en el estuario de Tecolutla, Ver. con un chinchorro charalero y 2 ejemplares hembras de *Poecilia reticulata* (como testigo para la agregación de vitelo) obtenidos de un acuario.

Los organismos se sacrificaron y fijaron con formol al 10 %, para evitar los cambios post-mortem. A las hembras se les extrajo la gónada y cada una se colocó en un frasco diferente, etiquetado con el número del organismo, peso, longitud patrón, lugar y fecha de colecta, para ser tratadas posteriormente, con la técnica histológica de rutina con inclusión en parafina y cortes de 5 micras (apéndice 1).

Las muestras ya procesadas se tiñeron con H-E y Tricrómica de Masson de 1 paso (Luna, 1988; Kiernan 1990; ver apéndice 2 y 3) y se analizaron en un microscopio óptico; se identificaron y describieron los tipos foliculares de la especie; se contaron los diferentes tipos foliculares; se graficaron los números de ovocitos y embriones por mes y por longitud patrón para determinar las diferencias de fecundidad y fertilidad entre tallas y se determinaron las relaciones entre tipos celulares.

A las hembras grávidas o preñadas se les contó el número de embriones y no se les procesó histológicamente.

Se utilizó un fotomicroscopio marca NIKON tipo 104, para la referencia gráfica del estudio.

## RESULTADOS

### Descripción de la especie

A la familia Poeciliidae la integran peces dulceacuícolas relativamente pequeños, y de muy alta distribución en las zonas intertropicales, muy conocidos son el "guppy" y el "pez mosquito" por tener una importancia comercial y biológica. Su fecundación es interna y se lleva a cabo mediante un aparato intromitente llamado gonopodio, el cual no es más que la aleta anal modificada de la siguiente forma: El tamaño de los dos primeros radios se reduce en algunos casos, casi hasta desaparecer, los radios 3, 4, y 5 se alargan y cada uno se divide en dos ramas, una anterior y otra posterior. Las ramas están formadas por segmentos, algunos de ellos presentan modificaciones estructurales a manera de espinas, espinulas, ganchos, dientes de sierra o "garras".

Como la disposición de estructuras que forman el gonopodio es constante, se ha tomado como característica para identificar géneros. En *Poecilia*, el gonopodio presenta una prominencia membranosa en el ápice a manera de capuchón, la cual semeja un prepucio, además de este, *P. sphenops* presenta una estructura con forma de gancho en el ápice del gonopodio (FOTO 1), (Alvarez del Villar, op. cit.).

*P. sphenops*, es una especie de talla promedio, dentro de la familia Poeciliidae, siendo el macho, en la mayoría de los casos, un poco más pequeño que la hembra.

La cabeza es deprimida en la región anterior, la boca tiene una posición terminal, el premaxilar es un elemento óseo flotante sin articulación con otra pieza, esto hace a la boca más protractil, tiene varias hileras de dientes cónicos de los cuales los centrales son más grandes.

Paredes y Mejía, (1998) describen para esta especie cuatro tipos de dientes que son: espatulados, cúspides, tricúspides y dientes en forma de peine. Según estos mismos autores, *P. sphenops* se alimenta en la parte media y baja de la columna de agua, y por la manera en que consigue su alimento, la forma de la boca y tipo de dientes es considerado como "raspador". Obtiene su alimento de substratos lisos, rocas, troncos sumergidos, tules y otros substratos del fondo en donde crecen algas. Trujillo y Jiménez (1998), clasifica a esta especie como detritívora (FOTO 2).

El tubo digestivo es alargado, en el primer tercio su diámetro es mayor y va disminuyendo a medida que avanza hacia el ano. El tubo digestivo se encuentra ubicado dentro de la cavidad visceral en dirección dorsal y da varias vueltas sobre sí mismo, a manera de rosca, de 4 a 17, siempre en dirección posterior culminando en el ano (FOTO 3). Así mismo presenta un corto esófago, un hígado muy grande y la bolsa biliar es un órgano pequeño comparado con las estructuras anteriores. En tallas menores, el tubo digestivo tiene un

crecimiento alométrico el cual cambia a no alométrico a medida que crece, lo cual puede ser causa de cambios en la dieta (Paredes y Mejía, op. cit.).

Las membranas branquiostegas están unidas al istmo y el preopérculo no se observa. Tiene dos nostrilos ubicados en la parte anterior de cada ojo, los cuales se encuentran separados por una pequeña membrana (Martínez, 1998). Los ojos son grandes y ocupan una quinta parte de la longitud cefálica, la cual, a su vez, cabe aproximadamente cuatro veces en la longitud patrón (FOTO 2). Todo el cuerpo tiene una forma típica hidrodinámica y está cubierto por escamas cicloideas, las cuales alcanzan un número de 28 a 31 en una línea longitudinal y de 12 a 13 escamas predorsales. Esta especie, se caracteriza por tener un recubrimiento de escamas en la totalidad de la cabeza. Las escamas presentan melanóforos en su parte libre (FOTO 4).

La aleta caudal es redonda y la dorsal es única. Las aletas pectorales se encuentran en posición media lateral y las pélvicas están en posición abdominal; la base de estas últimas se halla recubierta de escamas. La aleta anal en el macho es característica del género y la especie presenta una estructura a manera de gancho en el ápice. La fórmula radial es la siguiente:

D: 10;      C: 29;      P1: 12-13;      P2: 6;      A: 5.

Los machos, en época reproductiva, presentan una coloración amarilla en el margen externo de la aleta caudal y en el ápice de la aleta dorsal lo cual los hace muy llamativos. En época no reproductiva tanto machos como hembras presentan una coloración similar, la cual se caracteriza por ser de un color verde oliváceo en la parte dorsal que va matizando a gris hacia la región lateral, hasta un blanco amarillento en la región ventral. En la región lateral, donde se cruzan las escamas, se forman manchas por la concentración de melanóforos, estas manchas vistas en conjunto forma líneas bien definidas en la región lateral y van de tres a cinco según el tamaño del organismo (ESQUEMA 1).

*Poecilia sphenops* es conocido también como "topote mexicano" y se distribuye en la vertiente del Atlántico, cerca de Veracruz hacia la cuenca del río Coatzacoalcos; así como, en el río Grijalva en Chiapas y Guatemala (Rosen y Bailey, 1963). Está ampliamente distribuido en el parque acuático natural "las estacas", y en el río Amacuzac, ambos en el estado de Morelos (Martínez y Medina, Trujillo y Jiménez, op. cit.).

**Posición sistemática de la especie.**

La sistemática de la especie fue tomada de Nelson (1976) y Alvarez del Villar (1970).

PHYLLUM Chordata  
SUPERCLASE Gnathostomata  
CLASE Osteichthyes  
SUBCLASE Actinopterygii  
INFRACLASE Teleostei  
DIVISIÓN Euteleostei  
SUBORDEN Acanthopterygii  
ORDEN Atheriniformes  
SUBORDEN Cyprinodontoidei  
SUPERFAMILIA Cyprinodontoidea  
FAMILIA Poeciliidae  
SUBFAMILIA Poeciliinae  
GÉNERO Poecilia  
ESPECIE *Poecilia sphenops*. (Valenciennes, 1846)

## Organismos colectados

Se colectaron un total de 45 organismos, de los cuales 12 fueron machos y 33 hembras. No a todas las hembras se les procesó las gónada, debido a su talla pequeña.

De las 33 hembras colectadas, sólo 10 fueron viables para realizar el análisis histológico y 6 más estaban grávidas, a éstas se les contó los ovocitos y embriones en el microscopio estereoscópico (FOTO 5). Las hembras que no fueron procesadas histológicamente se almacenaron en frascos con formol debidamente etiquetadas.

Cabe mencionar que de los 6 organismos colectados en Mayo de 1998, 5 eran hembras y a excepción de la más pequeña todas las demás estaban en un estadio de gravidez avanzado, por lo que no se les pudo procesar histológicamente. Se hizo una comparación del número de embriones y ovocitos con los de otras hembras procesadas en corte longitudinal y se observó, que no había diferencias significativas, por lo que se decidió graficarlos junto a los organismos procesados histológicamente en este mismo corte.

Los intervalos de talla que se registraron para *P. sphenops* fueron de 25 a 90 mm de longitud patrón, con una media de 69 mm. Los pesos estuvieron dentro de un intervalo de 0.2 a 12.9 g con una media de 7.6 g.

Las especies de *P. reticulata* estaban grávidas así que se procesaron ovocitos aislados.

A continuación se presentan los datos de peso y longitud por mes, de los organismos capturados.

**TABLA 1.** Valores de peso (g) y longitud (mm) de machos de *P. sphenops* por mes

<i>ORGANISMO</i>	<i>MES</i>	<i>PESO (g)</i>	<i>LONGITUD (mm)</i>
1	Noviembre	2.3	53
2	Noviembre	2.3	50
3	Noviembre	1.9	49
4	Noviembre	2.4	48
5	Noviembre	2.7	51
6	Noviembre	2	49
7	Noviembre	1.6	41
8	Noviembre	1.4	40
9	Febrero	1.6	42
10	Febrero	1.8	41
11	Febrero	3	27
12	Mayo	7.1	64

**TABLA 2.** Valores de peso (g) y longitud (mm) de hembras de *P. sphenops* por mes

<i>ORGANISMO</i>	<i>MES</i>	<i>PESO (g)</i>	<i>LONGITUD (mm)</i>
1	Noviembre	12.6	90
2*	Noviembre	12.6	88
3	Noviembre	9.3	85
4	Noviembre	4.5	57
5	Noviembre	2.4	49
6	Noviembre	3.6	58
7	Noviembre	2	47
8	Noviembre	2.6	9
9	Noviembre	2	48
10	Noviembre	1.6	49
11	Noviembre	4.4	56
12	Noviembre	2.3	50
13	Diciembre	0.4	25
14	Diciembre	0.2	25
15	Diciembre	0.5	25
16	Diciembre	0.2	25
17	Diciembre	1.3	37
18	Diciembre	3.3	51
19	Diciembre	4.4	56
20	Febrero	3.5	53
21	Febrero	4.2	57
22	Febrero	3	51
23	Febrero	4	56
24	Febrero	1.8	41
25	Febrero	1.4	39
26	Febrero	1.2	37
27	Febrero	1.2	37
28	Febrero	1.1	37
29	Mayo	7.4	74
30	Mayo	7.1	69
31	Mayo	6.9	65
32	Mayo	3.1	50
33	Mayo	2.6	48

\* Hembra con un total de 242 embriones en estadios de desarrollo muy avanzado.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

En las tablas 1 y 2, podemos ver el número de organismos totales capturados en los diferentes meses de muestreo. En el mes de Octubre no se capturó ningún pez; los organismos capturados en Noviembre representan la población más grande con 20 organismos de los cuales 8 fueron machos; le sigue Febrero con 12 organismos, 3 de ellos machos y finalmente Diciembre con 7 hembras y Mayo con 6 organismos de los cuales sólo 1 fue macho.

### Análisis macroscópico de la gónada

El ovario de *P. sphenops* es una estructura única, esto es, no pareada como en la mayoría de los peces. Se encuentra cubierta por peritoneo en la parte posterior o dorsal; tiene forma ovoide y es de color amarillo pálido. El gonoducto es corto y desemboca en un poro urogenital (Constantz 1989).

Macroscópicamente el ovario de *P. sphenops*, en tallas menores a 37 mm llega a medir 3 mm y se encuentra envuelto por pequeños acúmulos de grasa, es delgado y transparente en aquellos sitios donde no hay ovocitos. En peces mayores a los 37 mm, alcanza una longitud que va de 6 a 10 mm de largo y se alcanzan a observar los ovocitos más maduros. En la parte dorsal de la gónada, que estuvo cubierta por el peritoneo, se observa siempre una línea longitudinal oscura y punteada.

Conforme va madurando el pez, la gónada incrementa su tamaño y la grasa a su vez va desapareciendo (FOTO 6).

### Análisis histológico celular y relaciones foliculares

El ovario presenta un lumen conformado por varias capas de epitelio y algunos vasos sanguíneos que irrigan esa zona celularmente más densa. Así mismo, existen vasos sanguíneos que corren a todo lo largo del ovario los cuales se distribuyen entre los folículos ováricos en desarrollo. El corte histológico transversal muestra la presencia de estroma ovárico, de tejido conectivo laxo, vasos sanguíneos y capas celulares que rodean a los folículos, éstas varían en su número dependiendo del estado de desarrollo del ovocito o del embrión y van de 1 a 8 capas de células foliculares, hasta un promedio de 20 que pueden, en algunos casos aislados, rodear a un embrión.

La distribución de los ovocitos es azarosa y con una gran cantidad de vasos sanguíneos, además de ovocitos en diferentes estadios de madurez (FOTO 7).

En corte longitudinal, la periferia se observa bordeada en su mayor parte por ovocitos "vitelogénicos" (más maduros), también se aprecia un lumen que corre a todo lo largo de la gónada (FOTO 8).

Con respecto a la agregación de vitelo en el ovocito, Wallace y Sellman (1981 y 1986), Rodríguez (1992) y otros, dividen el crecimiento de los ovocitos en dos fases de desarrollo. La primera fase de crecimiento es conocida también como de previtelogénesis, en ésta los ovocitos se caracterizan por ser de tamaño pequeño y no acumular vitelo en su interior. Se reconocen 3 estadios en esta fase: cromatina nucleolar, perinucleolar temprano y perinucleolar tardío (Forberg, 1982). La segunda fase de crecimiento es conocida también como de vitelogénesis; el desarrollo de esta fase depende de estímulos ambientales y se caracteriza por la agregación de vitelo en el citoplasma de los ovocitos. En esta segunda fase se reconocen cuatro estadios: vesículas de vitelo, vitelino primario, vitelino secundario y vitelino terciario (Forberg, op. cit).

Tratando de adecuar en esta clasificación los ovocitos de *P. sphenops*, se caracterizarían en cada estadio por:

#### Primera fase de crecimiento: Previtelogénesis.

Cromatina nucleolar: Son células pequeñas, en muchos casos ovaladas; el citoplasma tiene gran afinidad con la hematoxilina, lo que demuestra que es basófilo, generalmente se aprecian vesículas; el núcleo es grande menos basófilo que el citoplasma por lo que se observa un poco más pálido y también ovalado. El nucleoplasma se encuentra condensado en el centro del núcleo y allí mismo se encuentran de 3 a 4 nucleolos pequeños y dispersos. Entre el nucleoplasma condensado y la membrana nuclear se observa un espacio libre que es probable efecto del manejo histológico (FOTO 9).

Perinucleolar temprano: El ovocito incrementa su tamaño; la forma es ahora mas o menos redonda; el citoplasma se regionaliza y es menos basófilo en la periferia, por lo que se pierde un poco más la afinidad por la hematoxilina en esta zona; se ven un poco más nítidas las vesículas lipídicas en la parte central del citoplasma; aparecen algunas células foliculares difusas en la periferia del ovocito. En el núcleo hay de 2 a 6 nucleolos, algunos de ellos se localizan en la periferia, en algunos casos uno de ellos sobresale por ser de mayor tamaño. Las demás características no sufren cambio aparente (FOTO 9).

**Perinucleolar tardío:** El ovocito incrementa ligeramente su tamaño; el núcleo se va haciendo más pequeño en proporción con el tamaño del ovocito. El citoplasma sigue perdiendo su afinidad por la hematoxilina y la capa de células foliculares se ve más nítida (FOTO 10).

### **Segunda fase de crecimiento: Vitelogénesis**

**Vesículas de vitelo:** El tamaño del ovocito se incrementa y adquiere una forma casi redonda, el citoplasma continua regionalizado, es menos basófilo y sigue perdiendo su afinidad por la hematoxilina; hay más cantidad de vesículas. La primera capa de células foliculares se completa y comienza a aparecer el “corión” (amnicorión). El núcleo incrementa su tamaño y va creciendo aparentemente en relación al resto de la célula; el nucleoplasma se distribuye homogéneamente por todo el núcleo, desapareciendo así el espacio periférico libre de él; por otro lado, ha perdido su afinidad por la hematoxilina y en este momento se le observa casi del mismo color que el citoplasma, se aprecian en promedio 14 nucleolos, los más grandes están bordeando la membrana nuclear en uno de los polos y los más pequeños, al parecer, van migrando hacia el mismo punto (FOTO 11).

**Vitelino primario:** El ovocito sigue incrementando su tamaño; en algunos casos pierde la forma redonda ya que el citoplasma comienza a plegarse, este último sigue perdiendo su afinidad por la hematoxilina por lo que ahora se ve más pálido que el nucleoplasma, también desaparece su regionalización y la tinción se hace homogénea, se ve otra capa incipiente de células foliculares que comienza a sobreponerse a la primera. Las vesículas son más grandes e invaden ya gran parte del citoplasma. El núcleo toma la forma general del folículo, ahora es más básico que el citoplasma y no se alcanzan a ver nucleolos (FOTO 7).

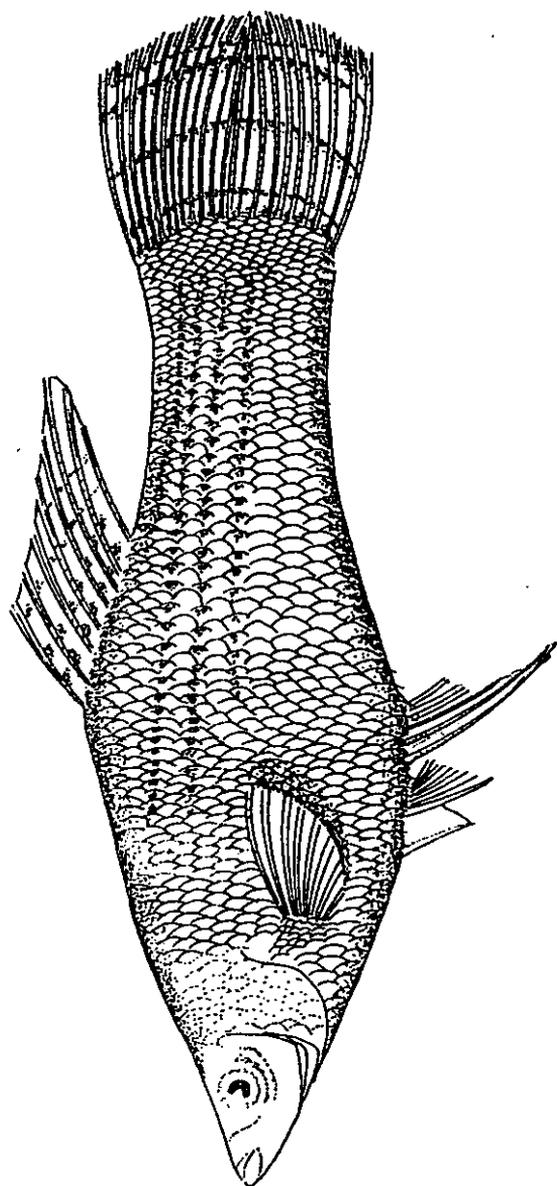
**Vitelino secundario:** El tamaño sigue aumentando; el citoplasma se torna levemente acidófilo por lo que se tiñe de lila a rosa pálido. Las vesículas ya de gran tamaño se regionalizan en la periferia del citoplasma. Las dos capas de células foliculares (granulosa y teca) se ven ya bien definidas, el amnicorión se aprecia mejor formado (FOTO 7).

**Vitelino terciario:** El ovocito alcanza su tamaño máximo; el citoplasma más acidófilo se observa lleno de alvéolos de gran tamaño, lo cual hace que este se vea como un halo entre las vesículas y la membrana nuclear. También se aprecia que el citoplasma se invagina en ciertas regiones. El núcleo comienza a migrar, y se ve flanqueado por uno o dos glóbulos

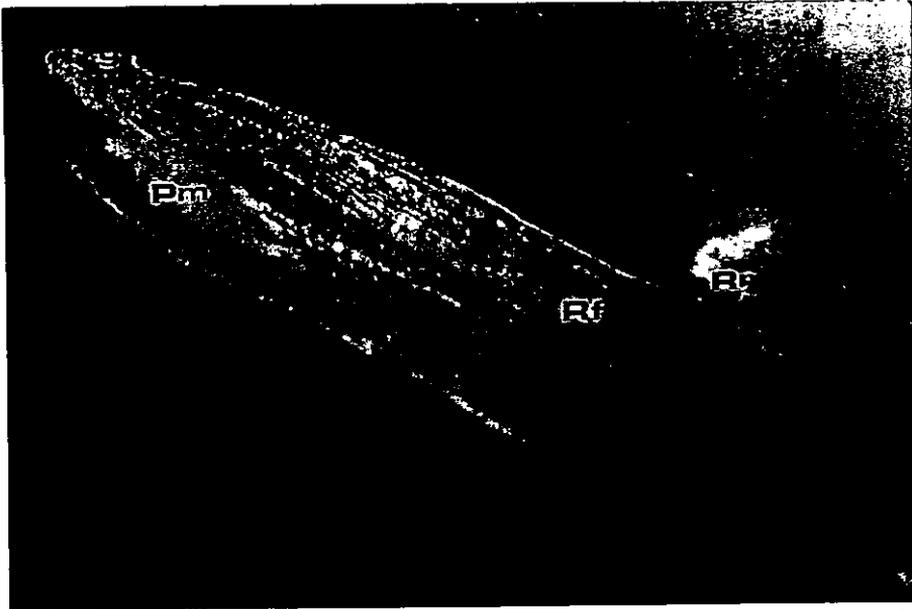
casi de la mitad de su tamaño, se alcanzan a ver de 7 a 11 nucleolos en uno de los polos (FOTO 12)

En *P. sphenops*, una vez que el folículo está maduro, puede ser fecundado sin haber ovulado, dando lugar al desarrollo folicular del embrión dentro de la misma gónada (FOTO 13 y 14).

A continuación se presentan las fotos de *P. sphenops* tomados en fotomicroscopio óptico y estereoscópico.



(ESQUEMA 1) Ejemplar macho de *P. sphenops* en estado de madurez sexual, obsérvese la aleta anal modificada en gonopodio característico de esta familia.



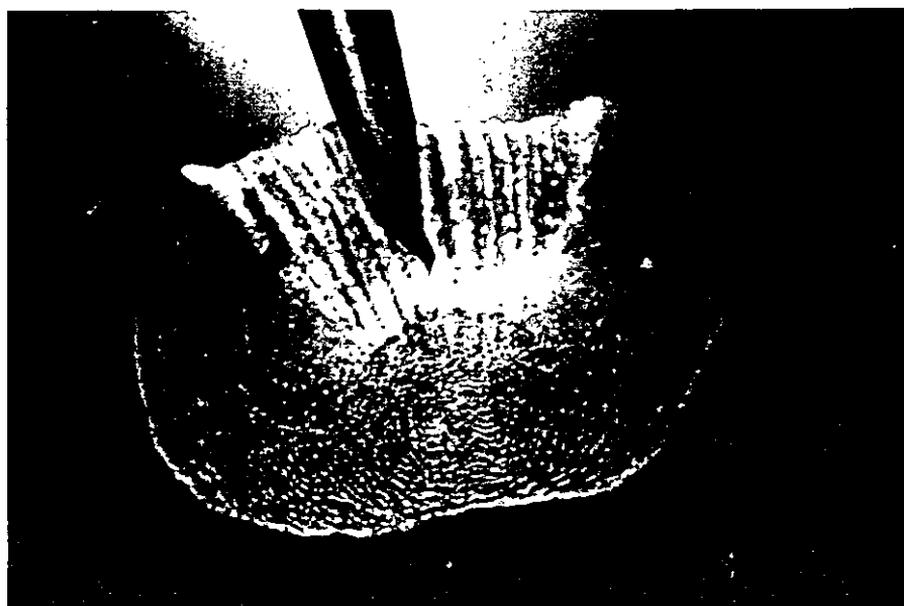
(Foto 1) Gonopodio de *P. sphenops*. Se observan claramente los primeros radios reducidos (Rr) y los últimos radios fusionados (Rf) así como la prominencia membranosa (Pm) característica del género *Poecilia* y una estructura parecida a un gancho (g) en el ápice del gonopodio. (3.0 x).



(Foto 2) Cabeza de *P. sphenops*. se aprecia la boca protráctil y el ojo de gran tamaño. Las escamas cefálicas fueron retiradas. (4.0 x).



(Foto 3) Cavidad celómica de una hembra joven. Se observa el intestino (I), peritoneo (P) y la gónada inmadura (G). (7.5 x).



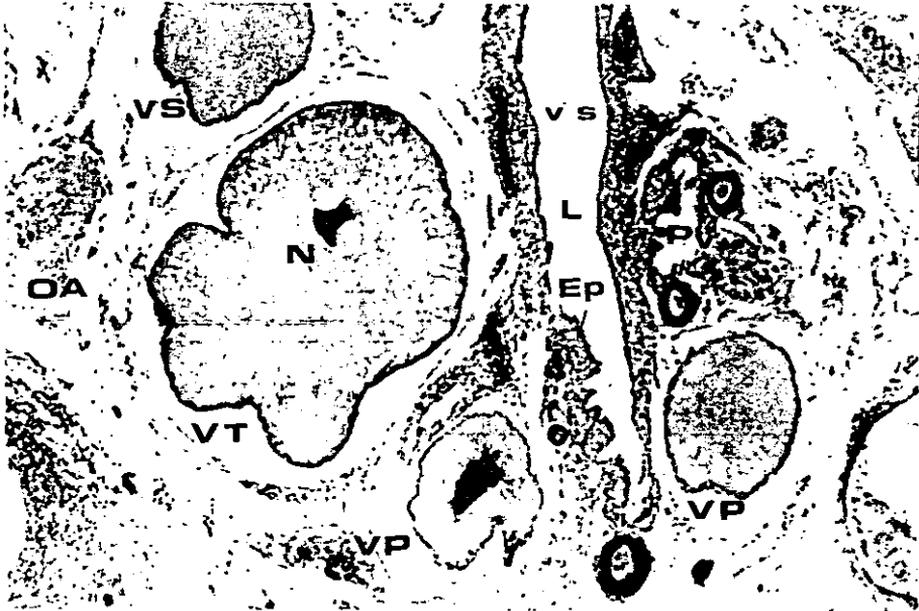
(Foto 4) Escama cicloidea de *P. sphenops*. se observan tenuemente los melanóforos (m). (12.5 x).



Foto 5) "Paquete" de embriones. Vistos en detalle se aprecian diferentes estadios de desarrollo ("superfetación"), en el interior de este paquete se encuentran los ovocitos no fecundados.



(Foto 6) Gónada de hembra madura sin embriones, donde se aprecian los ovocitos (Ov), la línea oscura (Lo), y la desembocadura al poro urogenital (pu).



(Foto 7) En este corte se aprecia el arreglo ovárico de *P. sphenops*, el cual es similar al de mamíferos, además de tener un desarrollo asincrónico. Se observan ovocitos en estadios previtelogénicos (Pv), ovocito atrésico (OA), vitelino primario (VP), vitelino secundario (VS) y vitelino terciario (VT) en este último el núcleo (N) se observa migrando hacia el polo animal. Obsérvese la gran cantidad de vasos sanguíneos (vs) así como el lumen (L) y su epitelio (Ep). (H-E, 40 x. 5  $\mu$ ).



(Foto 8) Corte histológico longitudinal, se observa un desarrollo asincrónico en el cual los ovocitos maduros se encuentran en la periferia y los más inmaduros al centro, cerca del lumen (L). Obsérvese del lado izquierdo los nucleolos de un ovocito (n). (H-E, 40 x. 5  $\mu$ ).



(Foto 9) Corte transversal de ovario de *P. sphenops* en estadios de cromatina nucleolar (C) y Perinuclear temprano (Pte). Nótese la presencia de vesículas (v) desde estadios tempranos. Se aprecia también tejido conectivo laxo (TC) con fibroblastos (fb) y un vaso sanguíneo (vs); (H-E, 100 x. 5  $\mu$ ).



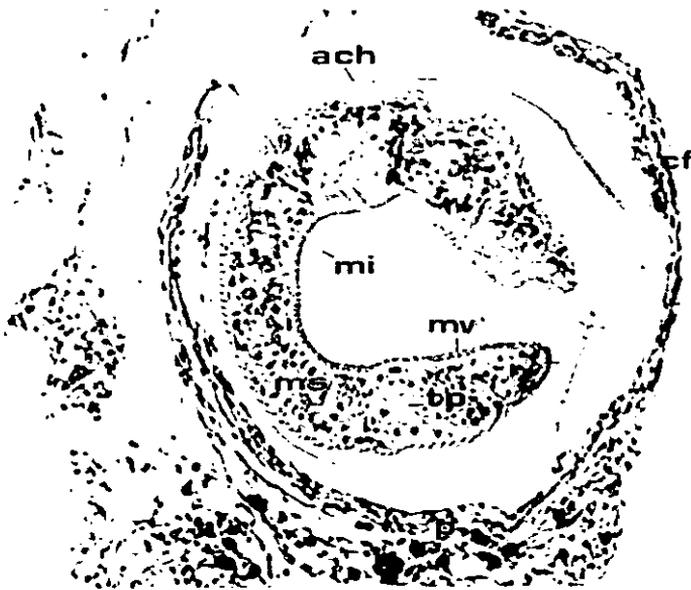
(Foto 10) Ovocito en estadio de perinuclear tardío (Pta), obsérvese la regionalización del citoplasma y la presencia de células foliculares difusas así como el tejido conectivo laxo del estroma ovárico (Es). (H-E 100 x. 5  $\mu$ ).



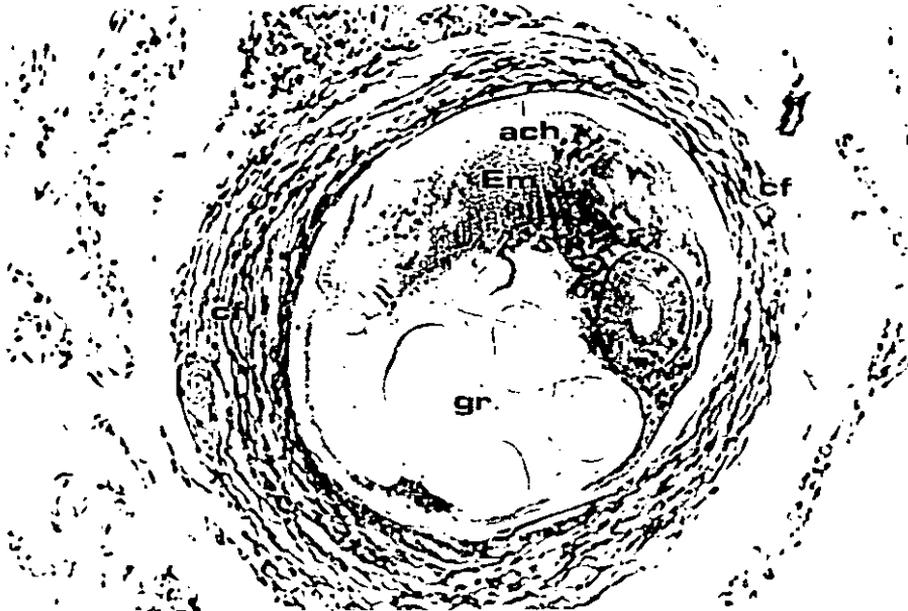
(Foto 11) Ovocito en estadio de vesículas de vitelo (O), se aprecian vesículas en el citoplasma (v). El amnion (ach), comienza a ser evidente en este estado. En la periferia se observan algunos fibroblastos (fb) dispersos y parte del epitelio del lumen (Ep). (H-E, 100 x. 5  $\mu$ ).



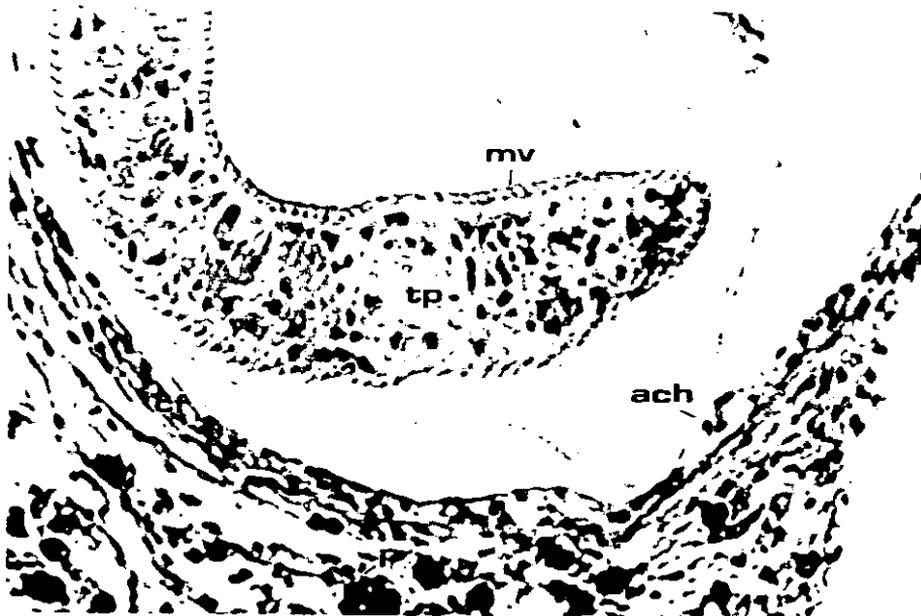
(Foto 12) Ovocito en vitelino terciario (VT), se observan el núcleo migrando al polo animal (N) con algunos nucleolos (n) así como citoplasma altamente vacuolado (v) y las capas de células foliculares (cf) y parte de la luz del ovario (L). (H-E, 100 x. 5  $\mu$ ).



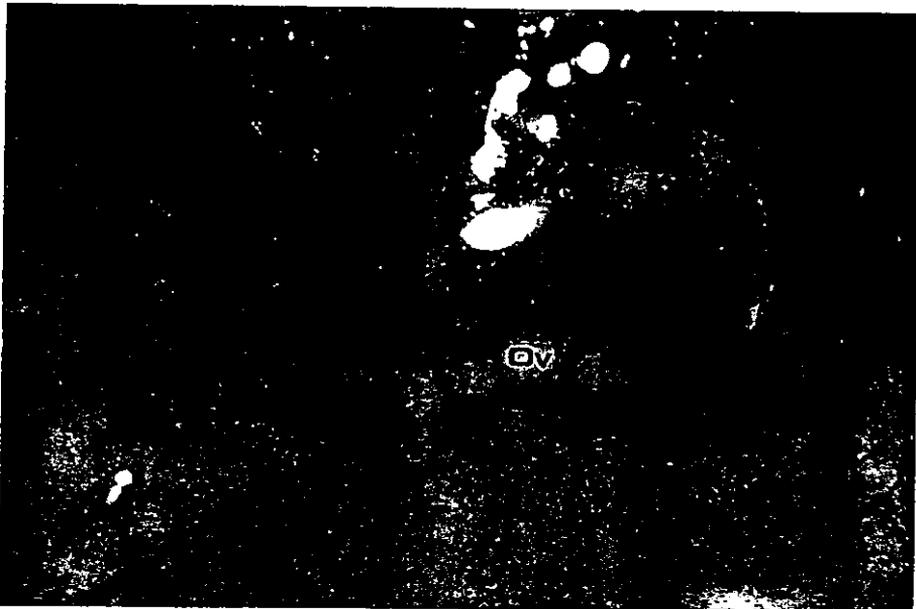
(Foto 13 ) Embrión de *P. sphenops* en un estadio de organogénesis en el cual, se encuentra principalmente constituido de células mesenquimatosas (ms), también se observa claramente el amnicorion (ach) y una estructura parecida a una membrana en el interior (mi), así como prolongaciones epiteliales (mv) ligadas tal vez, con alguna función de intercambio trófico, se observan también parte del tubo pronéfrico (tp) así como las diferentes capas de células foliculares (cf) y pigmento (p) además de otras estructuras no del todo diferenciadas. (H-E, 100 x. 5  $\mu$ ).



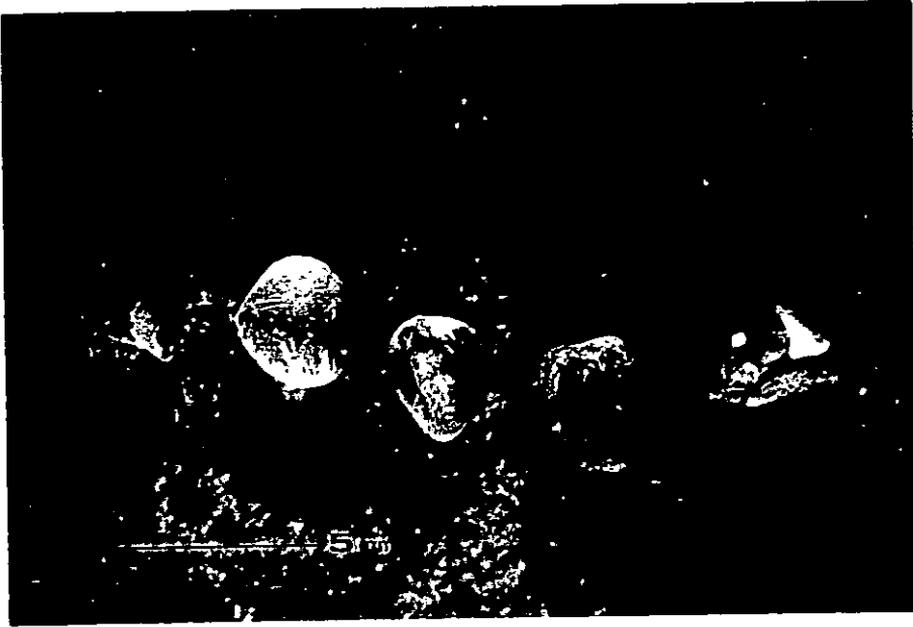
(Foto 14) Embrión (Em) con aproximadamente 20 capas de células foliculares (cf). Al parecer estos embriones no llegan a madurar. Nótese la presencia del amnicorion (ach) y algo que al parecer es grasa (gr) en el interior del folículo. (H-E, 100 x. 5  $\mu$ ).



(Foto 15) Porción de un embrión en estado de organogénesis. Se observan las diferentes estructuras vinculadas al metabolismo, proyecciones epiteliales (mv), amnicorión (ach), capas foliculares (cf), pigmento (p) y parte del tubo pronéfrico (tp). (H-E. 200 x. 5  $\mu$ ).



(Foto 16) "Paquete" de embriones abierto, se observan los huevos llenos de vitelo (hv) así como la presencia de ovocitos inmaduros y en diferentes estadios que no fueron fertilizados entre ellos (Ov). (12.5 x).



(Foto 17) embriones de diferentes hembras de *P. sphenops* en diferentes etapas de desarrollo. Se aprecia como el de la derecha es un poco más grande que los demás. Vista al microscopio estereoscópico.

### Análisis cuantitativo folicular

A continuación se presentan las tablas con el número de ovocitos y embriones por hembra.

**TABLA 3. Número de ovocitos y embriones de *P. sphenops* con respecto a su talla y peso, en dos diferentes cortes.**

#### **CORTE LONGITUDINAL**

W (g)	3.1	4	4.4	4.4	6.9	7.1	7.4
LONG (mm)	50	56	56	56	65	69	74
PREVIT	74	50	97	71	92	89	91
VIT	28	53	69	61	57	47	55
3°	0	10	7	7	0	0	0
EMBRIOS	23	0	0	0	66	43	87

#### **CORTE TRANSVERSAL**

W (g)	1.1	1.3	2.6	2.3	3.3	4.5	12.6
LONG (mm)	37	37	48	5	51	5.7	90
PREVIT	27	10	8	6	16	7	17
VIT	14	13	5	6	11	5	18
3°	0	1	1	2	2	1	4
EMBRIOS	0	0	0	0	0	20	10

**PREVIT:** Ovocitos previtelogénicos.

**VIT:** Ovocitos vitelogénicos.

**3°:** Ovocitos en vitelino terciario.

**EMBRIOS:** Embriones.

**TABLA 4. Número de ovocitos y embriones de *P. sphenops* por talla y peso con respecto al mes en dos cortes diferentes.**

**CORTE LONGITUDINAL**

MES	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	FEBRERO	MAYO			
ORGANISMO	1	2	3	4	5	6	7
W (g)	4.4	4.4	4	3.1	6.9	7.1	7.4
LONG (mm)	56	56	56	50	65	69	74
PREVIT.	71	97	50	74	92	89	91
VIT	61	69	53	28	57	47	55
3°	7	7	10	0	0	0	0
EMBRIOS	0	0	0	23	66	43	87

**CORTE TRANSVERSAL**

MES	NOVIEMBRE			DICIEMBRE	FEBRERO	MAYO	
ORGANISMO	1	2	3	4	5	6	7
W (g)	2.3	4.5	12.6	1.3	3.3	1.1	2.6
LONG (mm)	50	57	90	37	51	37	48
PREVIT	6	7	17	10	16	27	8
VIT	6	5	18	13	11	14	5
3°	2	1	4	1	2	0	1
EMBRIOS	0	20	10	0	0	0	0

**TABLA 5. Datos promedio del número de ovocitos y embriones de *P. sphenops* por mes en dos diferentes cortes.**

**CORTE LONGITUDINAL**

<i>PROMEDIOS</i>	<i>NOVIEMBRE.</i>	<i>DICIEMBRE</i>	<i>FEBRERO</i>	<i>MAYO*(total)</i>
PREVITELOGÉNICOS	71	97	50	86.5
VITELOGÉNICOS	61	69	53	46.75
VITELINO 3°	7	7	10	0
EMBRIONES	0	0	0	54.75
*PROMEDIO	35.5	48.5	25	70.6

**CORTE TRANSVERSAL**

<i>PROMEDIOS</i>	<i>NOVIEMBRE.</i>	<i>DICIEMBRE</i>	<i>FEBRERO</i>	<i>MAYO</i>
PREVITELOGÉNICOS	10	23	27	8
VITELOGÉNICOS	9.6	12	14	5
VITELINO 3°	2.3	1.5	0	1
EMBRIONES	10	0	0	0
*PROMEDIO	10	6.5	13.5	4

\*promedio total de ovocitos y embriones por mes.

A continuación se presentan los valores de las tablas 3, 4 y 5 en diferentes gráficas.

NÚMERO DE OVOCITOS Y EMBRIONES DE *P.sphenops* EN CORTE TRANSVERSAL CON RESPECTO A SU TALLA

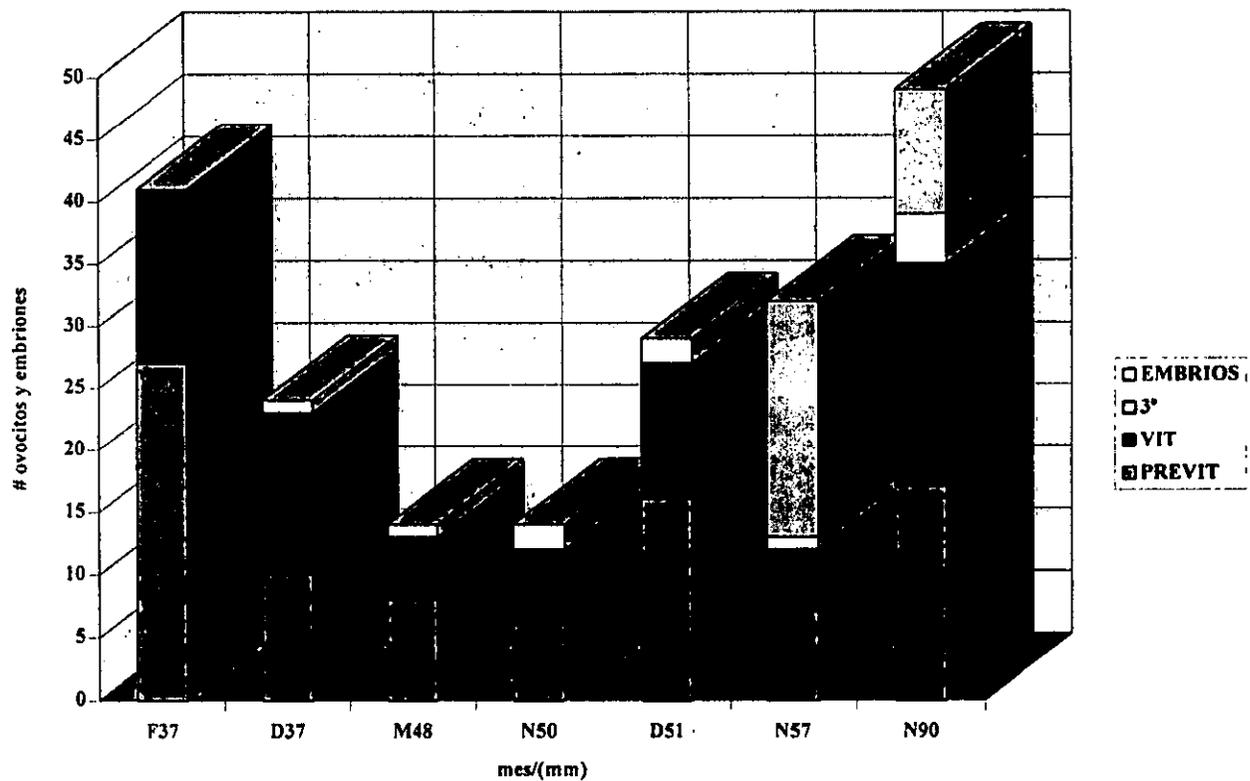


GRÁFICO 1.

NÚMERO DE OVOCITOS Y EMBRIONES DE *P. sphenops* EN CORTE LONGITUDINAL CON RESPECTO A SU TALLA

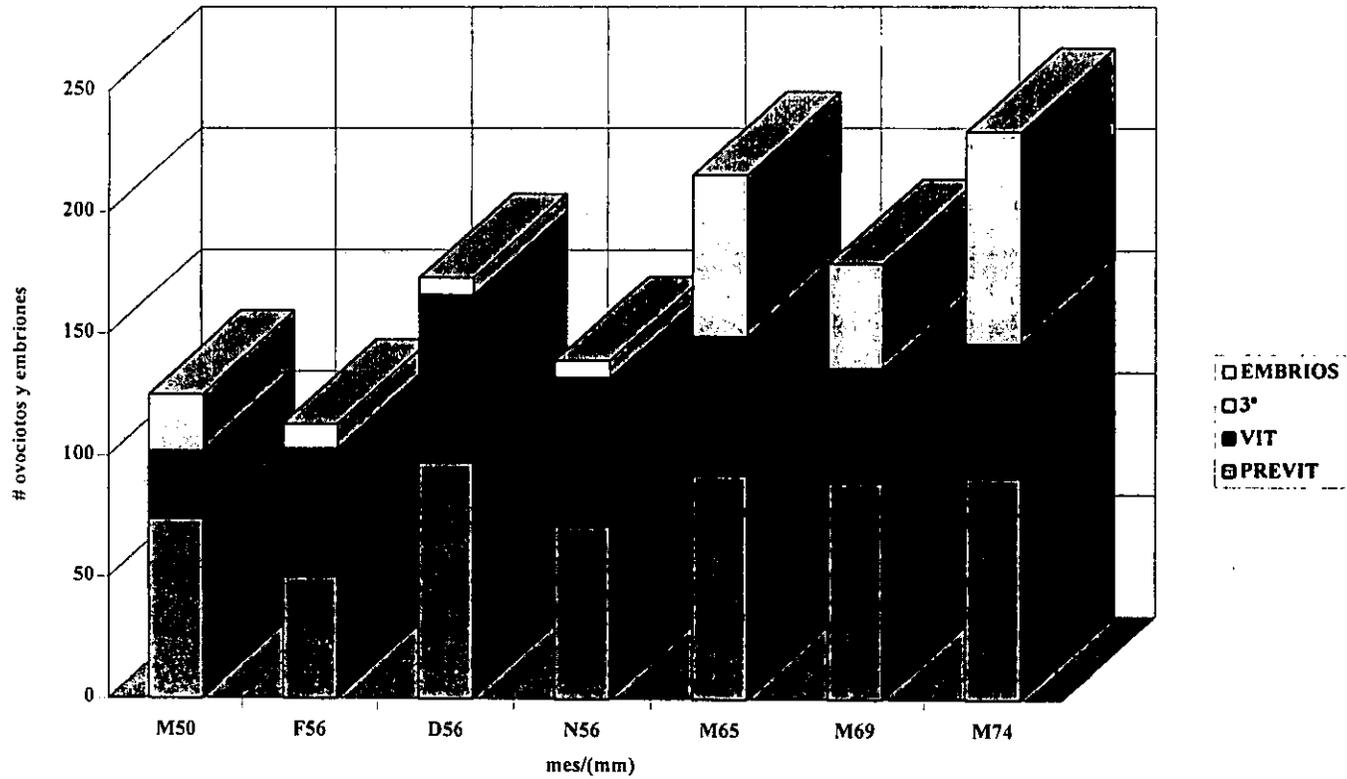


GRÁFICO 2.

NÚMERO DE OVOCITOS Y EMBRIONES DE *P. sphenops* POR TALLA CON REPECTO AL MES EN CORTE TRANSVERSAL

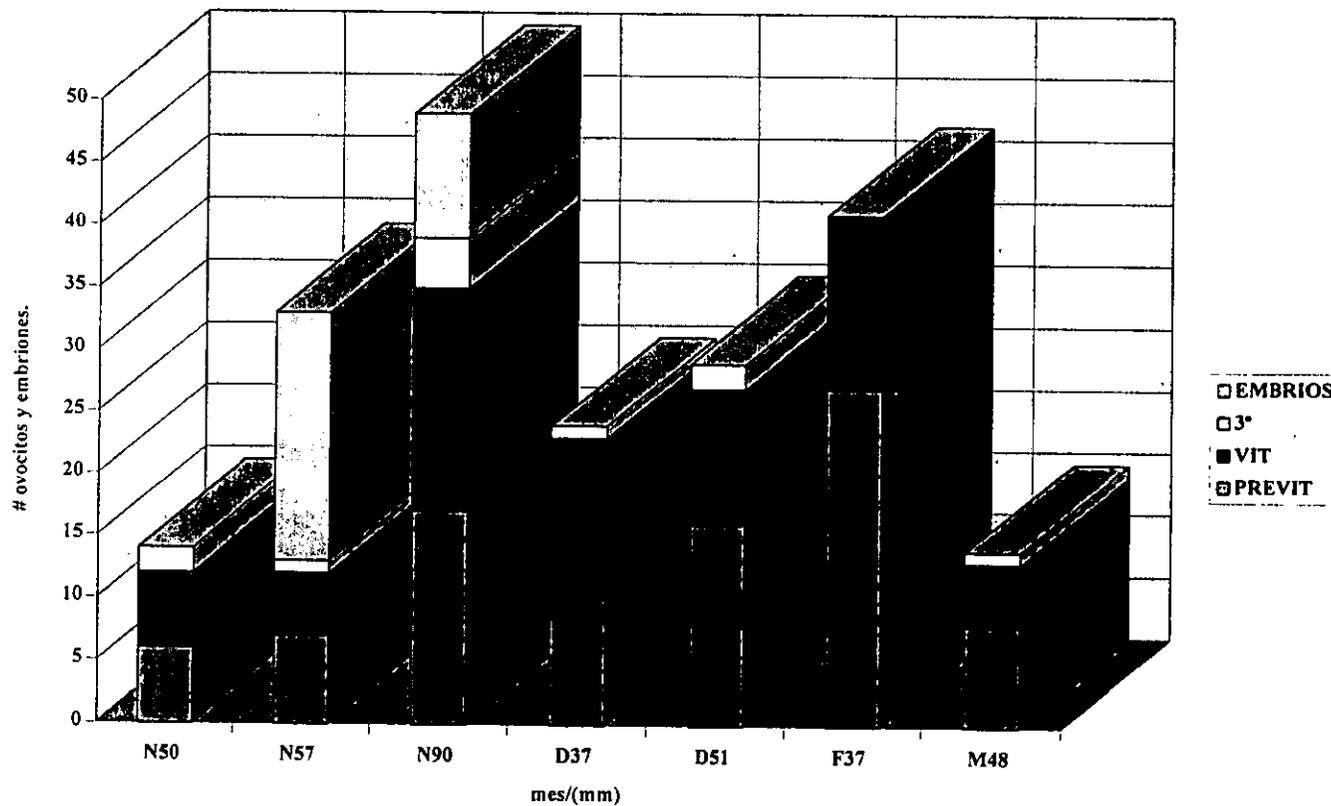


GRÁFICO 3.

NÚMERO DE OVOCITOS Y EMBRIONES DE *P. sphenops* POR TALLA CON RESPECTO AL MES EN CORTE LONGITUDINAL

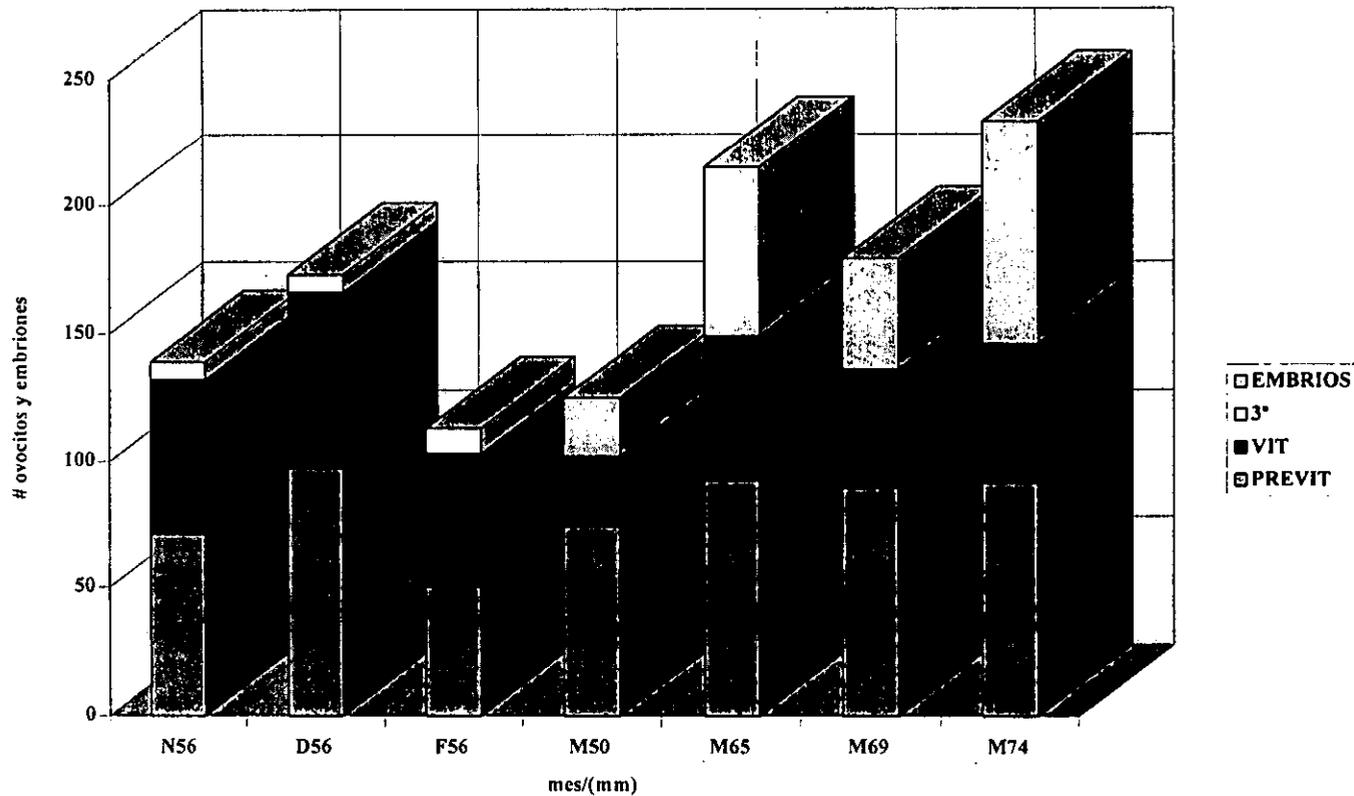
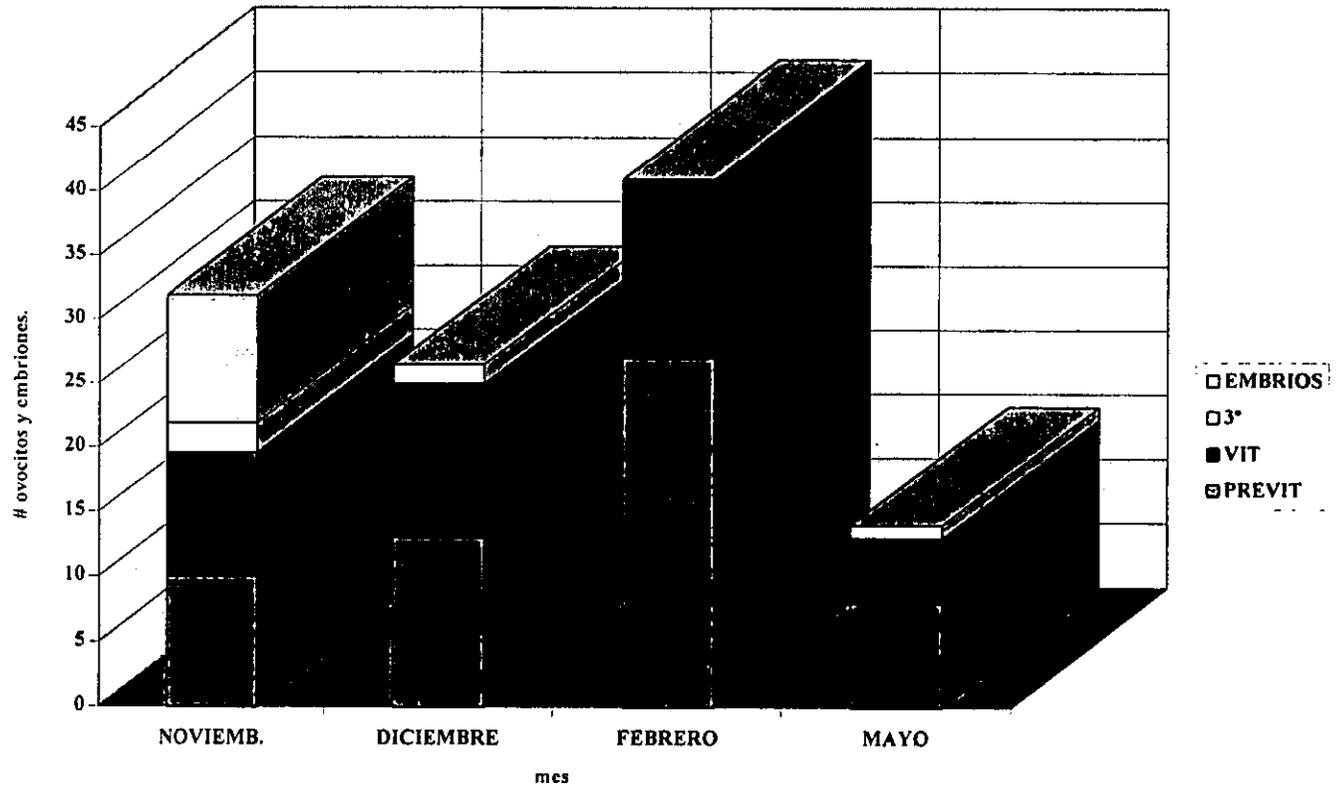


GRÁFICO 4.

NÚMERO DE OVOCITOS Y EMBRIONES DE *P. sphenops* POR MES EN CORTE TRANSVERSAL.



39

GRÁFICO 5.

NÚMERO DE OVOCITOS Y EMBRIONES DE *P. sphenops* POR MES EN CORTE LONGITUDINAL

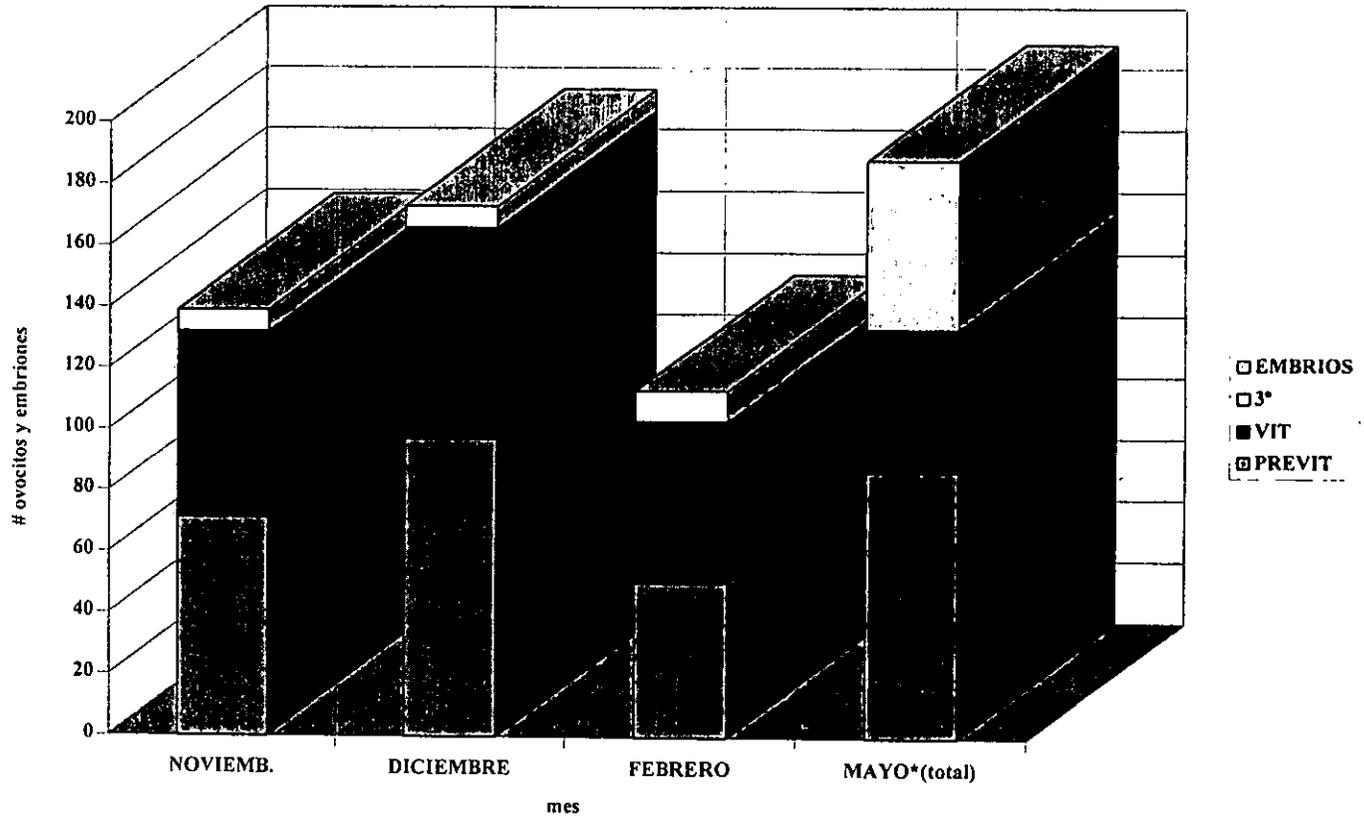


GRÁFICO 6.

PORCENTAJE DE OVOCITOS Y EMBRIONES DE *P. sphenops* EN CORTE TRANSVERSAL POR MES

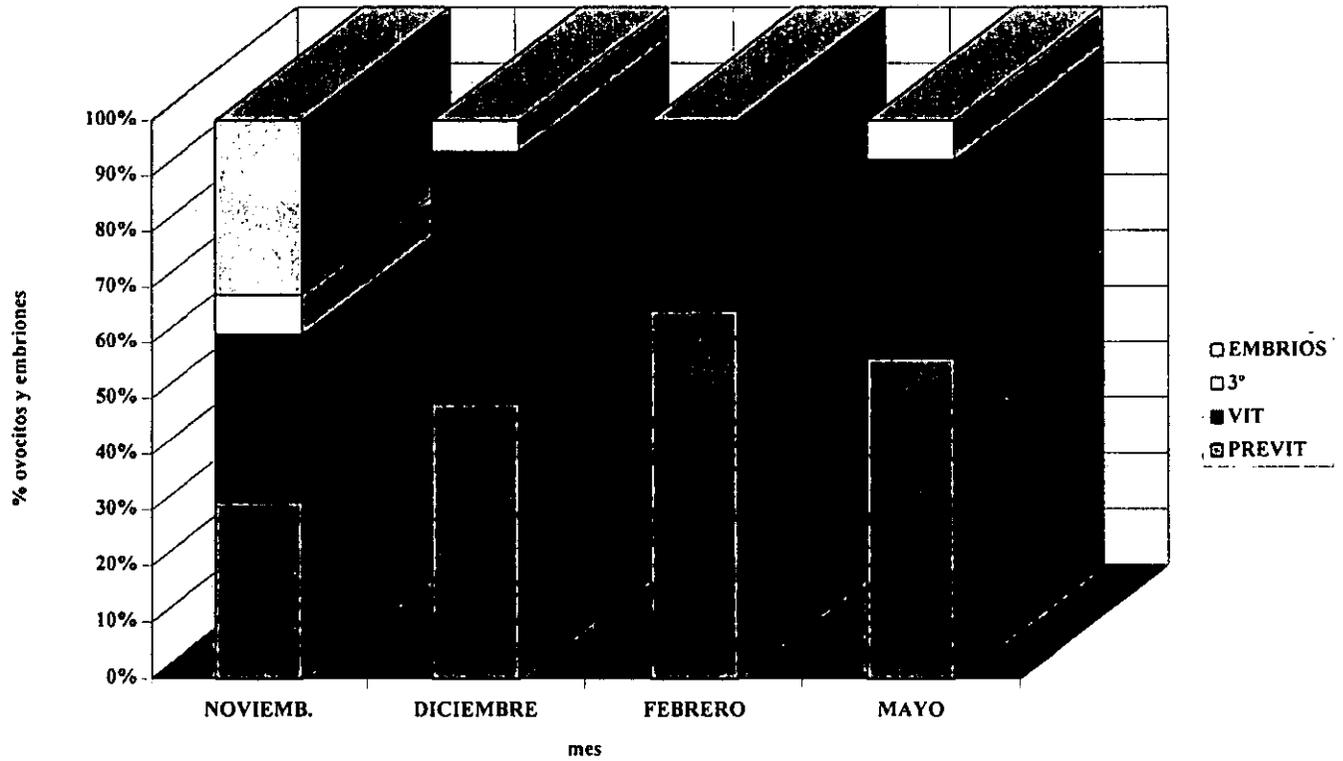


GRÁFICO 7.

PORCENTAJE DE OVOCITOS Y EMBRIONES DE *P. sphenops* POR MES EN CORTE LONGITUDINAL

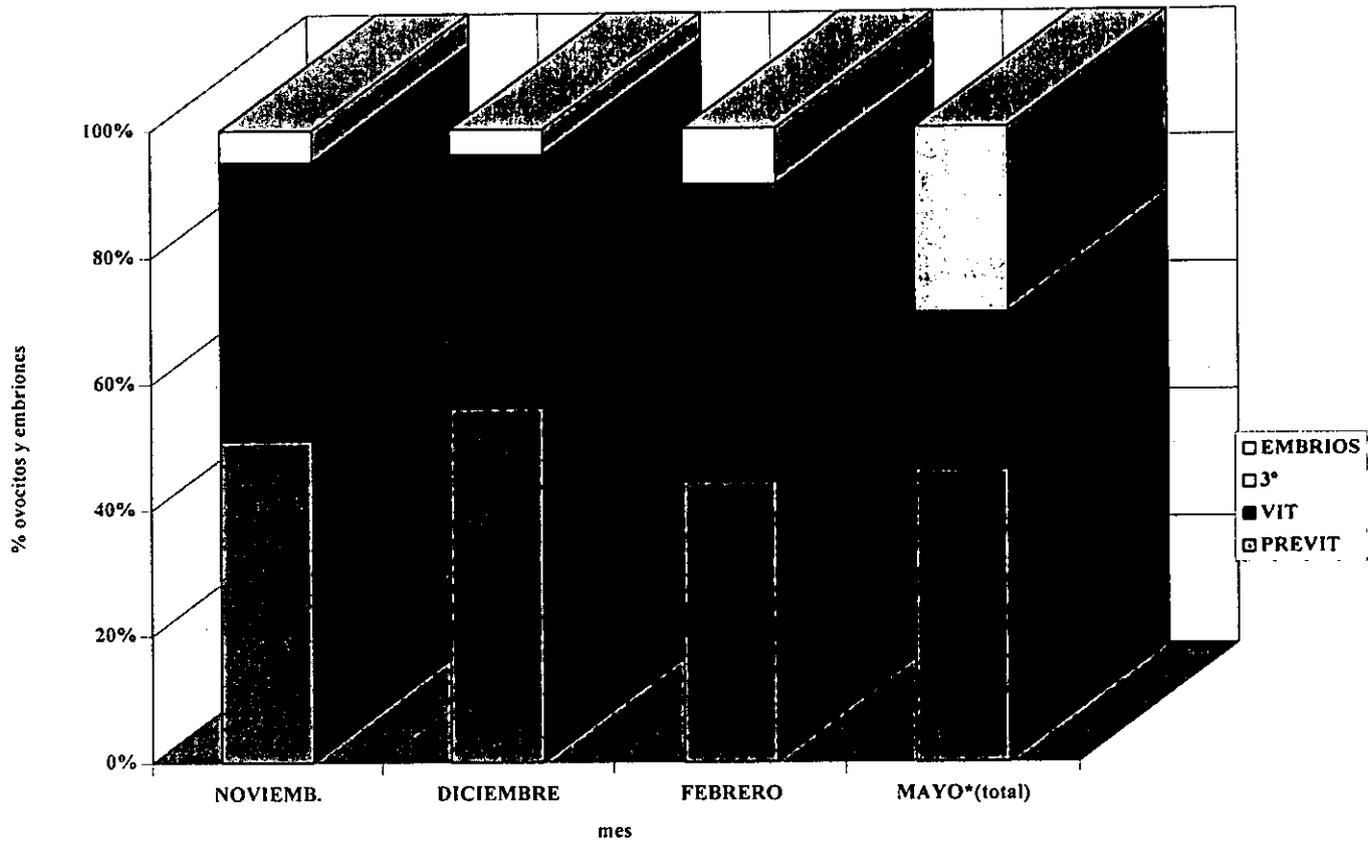


GRÁFICO 8.

## **Fecundidad y Fertilidad**

En la gráfica 1, se analizaron los valores de la tabla 3, en corte transversal, (número de ovocitos con respecto a la talla). En esta, se puede apreciar un decremento en el número de ovocitos a medida que aumenta la talla del pez. La hembra que mide 37 mm, alcanza a tener 40 ovocitos en un solo corte y, a partir de aquí hay una disminución en su número, hasta llegar a un número de menos de 15 ovocitos para una talla de 48-50 mm.

A partir de esta talla (50 mm), comienza nuevamente un crecimiento, hasta un número cercano a 50 ovocitos para una hembra de 90 mm de longitud patrón.

En la gráfica 2, se pueden ver los valores de la tabla 3, pero en corte longitudinal. En esta gráfica se observa un comportamiento un poco diferente al de la gráfica 1, ya que, si bien se aprecia un crecimiento en el número de ovocitos con respecto a la talla, este crecimiento es fluctuante y lo hace ver poco constante y significativo.

Con respecto a la fertilidad (embriones), se observa en la gráfica 1 que el número de ovocitos en estadio maduro ("vitelino terciario) y la aparición de embriones, incrementa con respecto a la talla. A partir de una hembra con talla de 37 mm, comienzan a aparecer ovocitos en estadios de "vitelino 3<sup>o</sup>" y su número se eleva a medida que el pez también crece.

Tomando como fertilidad el número de embriones, en la tabla 4, en corte transversal, se aprecia claramente como una hembra que mide 57 mm tiene 20 embriones y otra hembra que mide 90 mm tiene solo 10 embriones.

En esta misma tabla, pero en corte longitudinal, se observa también como una hembra que mide 50 mm, solo tiene 23 embriones en total (organismo capturado en mayo). Si se compara a la hembra que tiene 20 embriones en un corte transversal, con los 23 embriones que fueron contados en total, se podría inferir que no hay una relación en cuanto a la cantidad de embriones (fertilidad) y el tamaño de la hembra (talla), aunque no se puede afirmar categóricamente ya que no se cuenta con más ejemplares.

En la gráfica 2, se aprecia que la aparición de embriones se hace evidente a partir de una talla de 50 mm, en la cual éstos ya están bien formados.

También se observa en la tabla 4, en corte transversal, que el organismo número 1 mide 50 mm, y no tiene embriones, a diferencia del organismo 4 (procesado en corte longitudinal) que mide lo mismo, y si tiene embriones.

En las gráficas 3 y 4 se acomodaron los datos de número de ovocitos y embriones con respecto a la talla por mes.

En la gráfica 3 (corte transversal), se ve para el mes de Noviembre un incremento en la fecundidad con respecto a la talla y se destaca la presencia de embriones, lo mismo ocurre para los correspondientes del mes de Diciembre.

En la gráfica 4 (corte longitudinal), se puede hacer este análisis solo para el mes de Mayo. En este se aprecia, que si bien hay un incremento de la fecundidad y la fertilidad (se evidencia la presencia de embriones), las fluctuaciones que existen lo hacen poco evidente y significativo.

## DISCUSIÓN

Se puede apreciar claramente en las tablas 1 y 2, que las poblaciones de *P. sphenops*, en el sistema estuarino de Tecolutla, Ver. son bajas, en comparación con las encontradas en otros cuerpos de agua no salobres. Su presencia en este estuario se explica, porque las especies de esta familia se adaptan fácilmente a diferentes condiciones físicas. Por lo anterior, podría pensarse que esta especie dulceacuícola, en particular, empieza a invadir un medio salobre y es por eso que su población es baja y tal vez temporal en este sistema.

En estas mismas tablas, se observa que en las poblaciones encontradas en el estuario predominan las hembras en una proporción aproximada de 2.7:1 con respecto al macho, lo cual a su vez, podría ser una estrategia ecológica para preservar la especie, debido a que al haber más hembras la tasa de fecundidad a nivel poblacional se eleva.

Histológicamente el ovario de *P. sphenops* tiene una disposición similar al de la gónada de mamíferos (FOTO 7).

La disposición de ovocitos maduros encontrados en la región periférica de la gónada y que se observa mejor en corte longitudinal es constante durante todo el desarrollo embrionario. Al sacar el "paquete" de embriones de hembras grávidas los ovocitos no fertilizados se encontraron en el centro de dicho "paquete" y cerca del lumen ovárico, lo anterior puede ser una estrategia que evita que los ovocitos no fertilizados se dañen o sean arrastrados al momento de ser expulsados los embriones del tracto reproductor de la madre al momento de su nacimiento (FOTO 5 Y 16). Esto implicaría también, que los espermatozoides penetraran el epitelio lumenal, el estroma ovárico y las capas foliculares para fecundar al ovocito maduro. Una prueba para comprobar lo anterior es la presencia de tejido conectivo bastante laxo en el estroma ovárico.

En los estadios vitelogénicos de *P. sphenops*, no hay una depositación de vitelo como la que hay en peces ovíparos o al menos la depositación no es parecida o tan aparente; esto probablemente se debe a características propias del vitelo de esta especie, ya que para *P. sphenops*, al parecer es de naturaleza química diferente, esto se puede comprobar ya que el vitelo en peces ovíparos tiene afinidad con la eosina cuando se tiñe con H-E, adquiriendo un color rosa intenso y café cuando es teñido con tricrómica de Masson de un paso; en el caso de *P. sphenops* ninguno de los colorantes denotó la presencia de vitelo.

Cabe mencionar que en trabajos paralelos a este, realizados con *Gobiomorus dormitor* (Familia Eleotridae), *Oostethus lineatus* (Familia Syngnathidae) y *Belonexus belizanus* (Familia Poeciliidae), se trabajó con la misma técnica histológica y en más de una ocasión las muestras se tiñeron juntas tanto con H-E y tricrómica de Masson, con la diferencia que en estas 3 especies si apareció vitelo mientras que en *P. sphenops* no fue evidente (no se tomaron fotos de los cortes teñidos con tricrómica ya que se rasgaron). Por lo anterior se decidió comparar con una especie perteneciente al mismo Género la cual fue *P. reticulata* e

incluso en esta aparecieron glóbulos de vitelo dispersos. Debido al desgarramiento de los ovocitos de esta especie no fue posible fotografiarlos.

La ausencia de vitelo o la diferencia en su naturaleza química puede ser consecuencia del tipo de desarrollo del embrión, el cual difiere en gran medida al de peces ovíparos.

Por otra parte, cabe recordar que en *P. sphenops* la ovulación no se lleva a cabo y la fecundación y el desarrollo embrionario ocurre dentro del mismo folículo, lo que implica que el ovocito después del estadio vitelino terciario, llega a estar rodeado hasta por 3 capas de células foliculares y puede ser fecundado para dar lugar al embrión dentro del mismo folículo, el cual aumenta de 4 a 8 sus capas celulares en la gran mayoría, hasta un promedio de 20 en algunos casos aislados (FOTOS 11, 12, 13, 14).

Lo anterior podría justificar la ausencia de una agregación de vitelo similar a la de peces ovíparos, siendo en parte, a causa de su sustitución por un abastecimiento trófico por parte de la madre a través de las capas foliculares en las primeras fases de desarrollo.

Por otra parte, una de las características del inicio de la segunda fase de crecimiento es la aparición del corión (Wallace & Sellman 1981; Forberg, 1982; Sellman & Wallace 1986; Rodríguez, 1992, y Badillo, 1998). Sin embargo en pecílidos este se presenta sólo en la especie ovípara *Tomeurus gracilis* ya que las demás no lo presentan, en su lugar han desarrollado una estructura conocida como amnicorion el cual tiene fusiones de intercambio metabólico con la madre, protege al embrión del rechazo inmunológico y en su región pericárdica sirve para el intercambio trófico en matrótros. Esta estructura es de sumo interés por su semejanza al amnios presente en tetrápodos (Rosen & Bailey, 1963; Wourms 1981; Constantz, 1989; Wourms & Lombardi 1992).

Aunque la clasificación de los ovocitos de *P. sphenops* puede más o menos ajustarse a la descripción utilizada para la mayoría de los peces ovíparos, ésta resulta ser un tanto ambigua debido a todo lo anteriormente descrito.

Si bien, los ovocitos de *P. sphenops*, no se ajustan satisfactoriamente a las clasificaciones de la mayoría de los peces por la agregación de vitelo, esto no quiere decir que en él no exista tal agregación, en las fotos 5, 16 y 17 se observa claramente la presencia de vitelo en los embriones. Sin embargo, su síntesis y agregación en los ovocitos no se hace evidente de la misma forma que en peces ovíparos. Esto puede ser debido, efectivamente por una condición de viviparidad compleja (matrotrofia).

La ausencia de corión confirma a *P. sphenops* como una especie vivípara (Blackburn, 1992). La presencia de membranas, superfetación, el número de capas foliculares y algo parecido a microvellosidades en estadios tempranos de desarrollo embrionario, además de una ganancia ligera en volumen (no se registró peso seco) colocan a *P. sphenops* dentro de un modelo de matrotrofia incipiente, aunque no se puede afirmar categóricamente (Foto 17).

En la tabla 7, se observan los promedios de los ovocitos por mes. Si bien, es un tanto ambiguo el clasificar a los ovocitos de *P. sphenops*, según las clasificaciones de peces ovíparos; al ver el total de ovocitos e incluso el total de embriones, éstos reflejan un número muy bajo en comparación con los que se pueden cuantificar en peces ovíparos. La baja cantidad de ovocitos, por lo tanto, es reflejo de una fecundidad también baja, que es consecuencia de una condición de viviparidad. Esta baja fecundidad, sin embargo, podría ser garantía de una mayor supervivencia, ya que el pez nace de la madre no como larva o huevo, sino como juvenil (desarrollo directo), esto es, con características de adulto a excepción de las sexuales.

Con respecto a los datos de fertilidad y fecundidad, el análisis hace suponer que no hay diferencias entre tallas. Sin embargo, si se parte, de que no hay una diferencia significativa entre las mismas tallas, podría explicarse la ausencia de diferencias de fertilidad y fecundidad entre estas.

Lo anterior se justificaría de la siguiente forma: Al observar el gráfico 1 (corte transversal), se observan los dos extremos de las tallas trabajadas (37 y 90 mm); para la talla más grande (90 mm), se aprecia, que el número de ovocitos y embriones, es apenas mayor que el número de ovocitos cuantificados para la talla más pequeña (37 mm). Esto podría interpretarse como una falsa idea, de que no hay mayor diferencia de fertilidad y fecundidad entre tallas, pero si se toma en cuenta que la gónada de ésta especie crece más a lo largo que a lo ancho, podemos ver que si hay diferencias puesto que la gónada del pez que mide 90 mm es más larga que la del pez que mide 37 mm; la gráfica 2 lo comprueba de forma contundente, en ésta, se aprecia el número de ovocitos en corte longitudinal (esto es a lo largo de la gónada), y aunque las diferencias entre tallas son poco significativas (50 a 74 mm) en comparación con la gráfica 1, se aprecia un crecimiento de la fecundidad y la fertilidad conforme crece el organismo.

Para confirmar las diferencias entre fertilidad con respecto a la talla, podemos comparar el número de embriones encontrados en las hembras capturadas en Mayo (tabla 4, corte longitudinal) y los de la hembra número 2 de la tabla 2. En el primer caso la hembra más pequeña que tiene embriones mide 50 mm y tiene un total (no en corte histológico) de 23 crías; la más grande mide 74 mm y tiene un total de 87 embriones y finalmente la hembra número 2 de la tabla 2, mide 89 mm y tiene un total de 242 embriones; Lo anterior indica, que efectivamente existen diferencias de fertilidad y fecundidad entre tallas.

Cabe señalar, que por lo regular las hembras que se aparean por primera vez, tienen menos descendencia que las que ya lo han hecho varias veces, esto sin importar su talla.

En la gráfica 5, están los valores promedio del número de ovocitos por mes en corte transversal. En ésta se destaca la de un periodo fértil en el mes de Noviembre.

En la gráfica 6 se encuentran también los promedios del número de ovocitos en corte longitudinal. En ésta se puede identificar un periodo fértil en el mes de Mayo. Lo anterior indica que existen al menos dos épocas reproductivas en el periodo de Octubre a Mayo (no

se muestreo Enero ni Marzo). El macho capturado en Mayo lo confirma ya que presentaba una coloración amarilla muy vistosa en las aletas dorsal y caudal.

En las gráficas 7 y 8 se presentan los porcentajes de ovocitos y embriones tanto en corte transversal como en corte longitudinal. En ambas gráficas se puede apreciar, que el porcentaje de embriones que existe para cada caso se encuentra entre el 25 y el 35 % aproximadamente. Si se toma como fertilidad el número de ovocitos fecundados (embriones), tenemos que en las épocas de reproducción aproximadamente entre el 25 y 35 % del total de ovocitos son fertilizados.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

## CONCLUSIONES

- Por la abundancia y distribución de la especie en el estuario de Tecolutla, Ver. se infiere que *P. sphenops* empieza a invadir un hábitat no dulceacuicola.
- Se reconocen dos épocas de reproducción durante el periodo de muestreo, una en Noviembre y otra en Mayo.
- Las hembras empiezan a madurar sexualmente a partir de los 37 mm aproximadamente. Esto podría ser una señal de precocidad, que además es característica de organismos vivíparos.
- La fertilidad aumenta conforme a la talla a partir de los 50 mm y ocurre, en 30 % del total de los ovocitos.
- La fecundidad aumenta con respecto a la talla y en comparación con los peces de fecundación externa, esta fecundidad es baja.
- Las desventajas de la baja fecundidad, se abaten, con una mayor supervivencia, debido al grado avanzado de desarrollo con el que nacen sus crías y con una mayor proporción de hembras en las poblaciones.
- La ausencia de corión en *P. sphenops* la clasifica como una especie vivípara.
- Los ovocitos se desarrollan de forma asincrónica.
- El crecimiento y desarrollo de los ovocitos de *P. sphenops*, siguen un patrón diferente al caracterizado para los peces ovíparos en cuanto a la depositación de vitelo. Estas diferencias se hacen más evidentes en la segunda fase de crecimiento (vitelogénesis).
- Estas diferencias pueden ser causadas por una condición de viviparidad avanzada.
- La presencia de estructuras especializadas para el intercambio trófico ubican a *P. sphenops*, como una posible especie matrótropa.

## **SUGERENCIAS**

- Con base en los resultados obtenidos, se sugiere hacer un seguimiento de este estudio el cual confirme, tanto las épocas reproductivas como la incidencia de *P. sphenops* en el estuario de Tecolutla, Ver. en las temporadas de lluvias y secas
  
- También se recomienda hacer un análisis cuantitativo de fecundidad y fertilidad en corte longitudinal,
  
- Se sugiere utilizar otras técnicas de tinción histológica a fin de hacer evidente la agregación de vitelo en los ovocitos. Así como una clasificación que describa su desarrollo.
  
- Finalmente partiendo de este trabajo como antecedente se sugiere hacer un estudio específico que confirme a *P. sphenops* como una especie lecitotrófica o matrotrofica.

## APÉNDICE 1

### \*Técnica histológica de inclusión en parafina.

REACTIVO	TIEMPO
Formol 10%	Lo suficiente para ser absorbido
OH 70 %	1 hr
OH 80 %	1 hr
OH 90 %	1 hr
OH 100 %	1 hr
OH Amílico	12 hr
Xilol	45 min
Xilol	45 min
Parafina 1 58- 60 °C	2 hr
Parafina 2 58-60 °C	2 hr
Parafina de inclusión	hasta que se solidifique

\* El grosor de los cortes fue de 5 micras. Los cortes se pusieron en portaobjetos que tenían una clave que permitió su identificación según la muestra. Para permitir el estiramiento y adhesión del tejido en el portaobjetos, estos se bañaron con solución Ruyter.

## APÉNDICE 2

### Técnica de tinción Hematoxilina-Eosina (H-E).

REACTIVO	TIEMPO
Horno 58-60 °C ( para desparafinar)	2 hr
Xilol 1	5 min.
Xilol 2	5 min.
OH 100 %	1 min.
OH 90 %	1 min.
OH 80 %	1 min.
OH 70 %	1 min.
Hematoxilina	8 min.
Agua corriente	Paso rápido
OH ácido	Paso rápido
Agua corriente	Paso rápido
Agua amoniacal	Paso rápido
Eosina	5 min.
OH 70 %	1 min.
OH 80 %	1 min.
OH 90 %	1 min.
OH 100 %	1 min.
OH 100 %	1 min.
Xilol 1	5 min.
Xilol 2	Hasta su montaje con resina.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez del Villar, . 1970. Peces mexicanos (claves). serie de investigación pesquera. Estudio No. 1. Instituto Nacional de Investigaciones Biológica Pesquera. Comisión Nacional Consultiva de Pesca. México.
- Badillo, A. M. 1998. "Algunos aspectos de la biología de *Gobionellus hastatus* (Familia: Gobidae) en el sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz". Tesis. UNAM. ENEPI.
- Blackburn, D. G., H. E. Evans, and L. J. Vitt. 1985. The evolution of fetal nutritional adaptations. Fortchr. Zool. 30: 437-439.
- Blackburn, D. G. (1992) Convergent evolution of viviparity, matrotrophy, and specializations for fetal nutrition in reptiles and other vertebrates. Amer. Zool., 32: 313-321
- Burton, P. M. 1994. A critical period for nutritional control of early gametogenesis in female winter flounder, *Pleuronectes americanus* (Pisces: Teleostei). J. Zool; Lond. 233, 405-415.
- Callard, Y. P., et al. 1992. Role of the corpus luteum and progesterona in the evolution of vertebrate viviparity. Amer. Zool., 32. 264.
- Constants, D. George. 1989. Reproductive biology of poeciliid fishes. In G. K. Meffe and F. F. Snelson (eds), Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae). pp. 33-55. Prentice Hall, Englewood Cliffs; New Jersey
- Espinosa P. H: (1990). "Priapella olmecae sp. n. a new species from Veracruz (México)". Zool. Abh. Museum Tier kade, 45 (12) 121-125.
- Evans. David H. (1993). The physiology of fishes.CRC press; USA
- Forberg, K. G. 1982. A histological study of development of oocytes in capelin, *Mallotus villosus villosus* (Müller). J. Fish Biol. 20, 143-154.
- González, L. C. 1982. Estudio histológico en el pez *Lermichtys*. Tesis . UNAM
- Gary, K. M. (1989). "Ecology and evolution of livebearing fishes (poeciliidae)". Prentice. Hall, New Jersey, 3-371
- Grove, B. D. 1985. The structure, function, and development of the follicula placenta in the viviparus fish, *Heterandria formosa*; Ph. D. Diss; Clemson Univ; South Carolina.
- Grove; B. D. and Wourms. 1991. The follicular placenta of the viviparous fish *Heterandria formosa*. I. Ultrastructure and development of the embrionic absortive surface. J. Morphol. 209: 265-284.

-Holleberg ; F. and J. P. Wourms. 1986 Relationship of embryonic hindgut epithelium to trophotaenial cells of two goodeid fishes. Amer. Zool. 25:95A.

-Ingermann, R. L. and t. Yamamoto. 1995. Maternal-fetal oxygen transfer in lower vertebrates. Amer. Zool. 32: 322-330.

-Kiernan, J. A. (1990). Histological & histochemical methods. Theory and practice. 2ª ed. Pergaman Press. NY. pp 243.

-Knight; F. M; J. Lombardi; J. P. Wourms, And J. R. Burns. 1985. Follicular placenta and embryonic growth of the viviparous four-eyed fish (Anableps). J. Morphol. 185: 131-142.

-Lombardi, J. and J. P. Wourms. 1985a. The trophotential placenta of a viviparous goodeid fish .II. Ultrastructure of trophotaeniae, the embryonic componet. J. Morph. 184: 293-309

-Lombardi, J. and J. P. Wourms. 1985b. The trophotential placenta of a viviparous goodeid fish .III. Protein uptake by trophotaeniae, the embryonic componet. J. Exp. Zool. 236: 165-179.

-Lombardi, J. and J. P. Wourms. 1988a. Embryonic growth and trophotaeniae development in goodeid fishes Teleostei: (Atheriniformes). J. Morphol: 197:193-208.

-Luna, L. G. (1988). Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology, 3ª ed. Mc Graw Hill. NY. pp 258.

-Márquez, E. A. (1998). Esteroides en la dieta de hembras grávidas de *Xiphophorus helleri* (pisces: Poeciliidae). International symposium on viviparus fishes, Febrero 25-27, Cuernavaca, Mor. meeting program.

-Martínez. P, J.A. (1998). Identificación de peces, "guía ilustrada". UNAM. ENEPI. Mex.

-Martínez. S, J. y Medina. R, G. (1998). Validación de un método de marcaje de peces pequeños mediante captura-recaptura, para la estimación de poblaciones. International symposium on viviparus fishes, Febrero 25-27, Cuernavaca, Mor. meeting program.

-Molero, A. M., y A. Pisanó. 1987. Estadios de desarrollo de *Cnesterodon decemmaculatus* (pisces: (Poeciliidae). Rev. Brasil. Biol., 47(1/2): 115- 125.

-Nagahama, Y. 1983. The fuctional morphology of teleost gonads. In W. S. Hoar, D. J.

-Nikolsky, G. V. 1963. The ecology of fishes. Academic Press. London. pp. 145-199.

-Obregón, .B. 1988 "Una nueva especie de pez del género *Xiphophorus* del grupo cuochianus en Coahuila México (Poeciliidae); Publ. Biol; F.C.B; U.A.N.L; Méx. pp. 93-97.

-Nelson, Joseph. S. 1976. Fishes of the world. ed. A. Wiley-Interscience. USA.

- Palomar, M. (1990). Reproducción animal. ENEPI. Cuadernos de biología # 5.
- Paredes, L. M. y Mejía, M. H. (1998). Ecomorfological study in *P. esphenops* (Pisces: Cyprinodontiformes). International symposium on viviparus fishes, Febrero 25-27, Cuernavaca, Mor. meeting program.
- Parenti, R. L. & Rauchenberger, M. 1989. Sistematic overview of the poeciliines. In G. K. Meffe and F. F. Snelson (eds), Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae). pp. 3-31. Prentice Hall, Englewood Cliffs; New Jersey
- Randall, and E. M. Donaldson (eds.) Fish physiology. Vol 9a, pp.223-275. Academic Press, New York.
- Reznick, D. N. and D. B. Miles. 1989. Review of life history patterns in poeciliid fishes. In G. K. Meffe and F. F. Snelson (eds), Ecology and evolution of livebearing fishes (Poeciliidae). pp. 125-148. Prentice Hall, Englewood Cliffs; New Jersey
- Rodríguez, G. M. 1992. Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces. AGT. México. pags. 79
- Rosen and Bailey 1963 "The poeciliidae fishes (ciprinodontiformes) their structure, zoogeographic and sistematic". Bulletin American Museum of Natural History, 126 (1): 35-140.
- Sellman, K. Wallace, A. R. 1986. Gametogenesis in *Fundulus heteroclitus*. Amer. Zool., 6: 173-192.
- Thibault, R. E and R. J. Schultz. 1978. Reproductive adaptions among viviparous fishes (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). Evolution 32: 320-333.
- Trexler, J. C. Variation in the degree of viviparity in the sailfin molly, *Poecilia latipinna*. Copaeia 1985 : 999-1004.
- Trexler, J. C. 1990. Experimental study of environmental effects on female reproduction in sailfin mollies (Pisces: Poeciliidae). Amer. Zool. 30:67A.
- Trujillo-Jiménez. (1998) Food partitioning among fishes of the amacuzac river, Morelos. International symposium on viviparus fishes, Febrero 25-27, Cuernavaca, Mor. meeting program.
- Turner, C. L. 1937. The trophoteniae of the Goodeidae, a family of viviparous cyprinodont fishes. J. Morphol. 61: 495-523.
- Turner, C.L. 1942. Diversity of endocrine function in the reproduction of viviparous fishes. Amer. Natur. 76: 179-190.

-Wallace, A. R. Sellman, K. 1981. Cellular and dynamic aspect of oocyte growth in teleost. Amer. Zool., 21: 325-343.

-Wootton, R. J. 1992. Fish ecology. Blackie. USA. 45-69

-Wourms, J. P. 1981. Viviparity: The Maternal-fetal relationship in fishes. Amer. Zool. 21: 473-515.

-Wourms, J. P., B. D. Grove, and J. Lombardi. 1988. The maternal embrionic relationship in viviparous fishes. In W. S. Hoar and D. J. Randall (eds.), Fish physiology, Vol. 11B, pp. 1-134. Academic Press. San Diego.

-Wourms, J. P. and J. Lombardi. 1992. Reflection on the evolution of piscine viviparity. Amer. Zool; 32: 276-293.