



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
FACULTAD DE CIENCIAS

CAMBIOS EN LOS SISTEMAS REPRODUCTIVOS DEL PEZ VIVIPARO  
*Girardinichthys multiradiatus* (OSTHEICHTHYES: GOODEIDAE),  
DURANTE UN CICLO ANUAL DEL LAGO ACOYOTONGO, PARQUE  
NACIONAL LAGUNAS DE ZEMPOALA, MORELOS, MEXICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGIA EXPERIMENTAL)

PRESENTA  
NYDIA YAÑEZ GARCIA

DIRECTORA DE TESIS:  
DRA. MA. DEL CARMEN URIBE ARANZABAL

MÉXICO, D. F.



OCTUBRE, 2005

M: 350210



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Nydia Yañez García

FECHA: 17 Octubre / 2005.

FIRMA: [Firma manuscrita]

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

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 7 de marzo del 2005, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Experimental) del(a) alumno(a) **YÁÑEZ GARCIA NYDIA** con número de cuenta **99809968** con la tesis titulada: **Cambios en los sistemas reproductivos del pez vivíparo Girardinichthys multiradiatus (Osteichthyes: Goodeidae), durante el ciclo anual del lago Acoyotongo, Parque Nacional Lagunas de Zempoala, Morelos, México, bajo la dirección del(a) Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz.**

Presidente:	Dra. Leticia Moreno Fierros
Vocal:	Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz
Secretario:	Dra. María del Carmen Uribe Aranzabal
Suplente:	Dr. Edmundo Díaz Pardo
Suplente:	M. en C. Einar Topiltzin Contreras Macbeath

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"  
Cd. Universitaria, D.F. a, 11 de octubre del 2005

[Firma manuscrita]  
Dr. Juan Núñez Farfán  
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

## **A mi madre**

A quien sin estima esfuerzo alguno,  
ha sacrificado gran parte de su vida  
para fomentarme y educarme.

A quien nunca podré pagar  
todos sus desvelos ni aun  
con la riqueza mas grande del mundo.

A mi amiga la  
Dra. Ma. del carmen Uribe Aránzabal  
y Tutores

Sabiendo que jamás  
existirá una forma de  
agradecer, en esta vida de  
lucha y superación constante.  
Deseo expresarles, que  
mis ideas, esfuerzos y  
logros han sido también  
suyos e inspirados  
en ustedes y constituyen  
el legado más grande  
que pudiera recibir.

*Al amor de mi vida.*

A mis amigos

Adrianita, Gabino, Victor, Sandy, Juanita, Arlette y a la Dra. Marce Aguilar.

con mucho cariño

# CONTENIDO

## RESUMEN

### I. INTRODUCCIÓN

Aspectos generales de la reproducción en peces teleósteos

#### I. ANTECEDENTES

A. Morfofisiología del testículo en peces teleósteos vivíparos

B. Morfofisiología del ovario en peces teleósteos vivíparos

C. Características de la familia Goodeidae

D. Descripción de la especie *Girardinichthys multiradiatus*

E. Area de estudio

#### II. JUSTIFICACIÓN

#### III. OBJETIVOS

A. Objetivo general

B. Objetivos particulares

#### IV. MATERIAL Y METODO

#### V. RESULTADOS

A. Estructura del testículo de *Girardinichthys multiradiatus* y sus cambios morfológicos durante un ciclo anual

B. Estructura del ovario de *Girardinichthys multiradiatus* y sus cambios morfológicos durante un ciclo anual

#### VI. DISCUSIÓN

A. MACHOS DE *Girardinichthys multiradiatus*.

B. HEMBRAS DE *Girardinichthys multiradiatus*.

#### VII. CONCLUSIONES

#### VIII. REFERENCIAS

## RESUMEN

Con base en la riqueza de teleósteos vivíparos que habitan en México y la escasez de estudios sobre sus aspectos reproductivos, en particular la estructura de las gónadas y la gametogénesis, las especies de la familia Goodeidae endémicas de México, constituyen excelentes modelos biológicos en el análisis de las características morfológicas y fisiológicas de la reproducción de peces vivíparos. El presente estudio contribuye al conocimiento de la biología reproductiva del goodeido *Girardinichthys multiradiatus*, a través del análisis de los cambios estacionales de sus gónadas en un ciclo anual. El análisis realizado mostró que los machos de *G. multiradiatus* presentan testículos de tipo lobular con espermatogonias restringidas a la periferia del testículo y espermatogénesis longitudinal y quística. Cuando los espermatozoides dejan el quiste forman agrupaciones sin encapsular llamados espermatozeugmata. Durante todo el año están presentes las espermatogonias y espermatocitos, posteriormente de febrero a abril se encuentran muy abundantes espermátidas y espermatozoides. Las hembras de *G. multiradiatus* presentan un ovario sacular, donde se lleva a cabo la ovogénesis, fecundación interna y desarrollo embrionario. El ovario está dividido interiormente por un septo de tejido conectivo, presenta dos pliegues ováricos, uno a cada lado, en los que se localizan las células germinales. Las ovogonias se restringen al epitelio interno que limita los pliegues ovígeros. La ovogénesis se clasifica en 6 estadios. La vitelogénesis ocurre desde diciembre hasta abril, culminando con la formación del vitelo homogéneo. El epitelio folicular es monoestratificado y cambia de plano a columnar conforme avanza la ovogénesis. Durante todo el año se presenta la atresia folicular, la que puede ocurrir en todos los estadios de la ovogénesis. El desarrollo de los embriones es intraluminal y están presentes durante los meses de febrero a junio. Durante los meses de febrero y septiembre se observan espermatozoides en el lumen ovárico.

# I. INTRODUCCIÓN

## **Aspectos generales de la reproducción en peces teleósteos**

En el estudio de la biología de la reproducción de los peces teleósteos, al igual que en los demás vertebrados, el análisis de la gametogénesis y sus cambios cíclicos constituyen aspectos esenciales que determinan sus procesos de reproducción. En la gametogénesis ocurre la formación de gametos, los masculinos durante la espermatogénesis, y los femeninos durante la ovogénesis. Ambos procesos están controlados por factores ambientales tales como: luz, temperatura, humedad, disponibilidad de alimento y nivel del agua (Nagahama, 1983; Whittier y Crew, 1987; Redding y Patiño, 1993). Los factores ambientales influyen al sistema nervioso central desencadenando la secuencia neuroendocrina del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, mediante la neurosecreción de factores de liberación en el hipotálamo, los cuales controlan la liberación de gonadotropinas en la hipófisis las que, a su vez, regulan la gametogénesis y la secreción de hormonas esteroides en las gónadas (Redding y Patiño, 1993).

Las características morfológicas de las gónadas y sus cambios a lo largo del ciclo reproductor se pueden definir mediante la observación macroscópica de cambios como color, forma y tamaño, y de características de estructura microscópica como el desarrollo de los gametos (Díaz-Pardo y Ortiz-Jiménez, 1986, Wallace y Selman, 1990, Parenti y Grier, 2004). Ambos niveles de observación se complementan y contribuyen a una interpretación más integral de la actividad reproductora. Sin embargo, son escasos los estudios que se refieren

al análisis microscópico de la estructura de las gónadas y sus cambios cíclicos, particularmente, en teleósteos vivíparos de la fauna silvestre.

En el proceso de reproducción de teleósteos se manifiesta una variedad de estrategias reproductoras como: **a)** patrones de reproducción continuos ó cíclicos, que permite el nacimiento de las crías en la época mas adecuada del año para su sobrevivencia (Whittier y Crews, 1987); **b)** la morfofisiología de las gónadas, cambios estacionales de acuerdo con el ciclo de maduración de los gametos (Dodd, 1977; Grier et al., 1978, 1981, 2000; Nagahama, 1983; Billard, 1986; Wallace y Selman, 1990); **c)** la formación de ovarios pares o fusionados (Turner, 1938, 1947; Mendoza, 1940, 1941, 1943), **d)** la fertilización interna ó externa (Turner, 1947; Wourms et al. 1988, Burns et al. 1995); **e)** la carencia de conductos reproductores femeninos derivados del conducto de Müller, por lo cual las hembras de los teleósteos carecen de oviductos (Wourms, 1981; Wake, 1985; Wourms et al. 1988; Wourms y Lombardi, 1992 y, **f)** la relación que se establece entre la madre-huevo-cría, en especies ovíparas en donde los huevos no son retenidos en el cuerpo de la madre durante su desarrollo, ó en especies vivíparas, en donde los huevos son retenidos en el cuerpo de la madre hasta el nacimiento de un pez de vida libre (Turner, 1947; Amoroso, 1960; Nagahama, 1983 Wake, 1985; Wourms et al. 1988; Wallace y Selman, 1990).

La viviparidad es una forma de reproducción de gran trascendencia en la evolución de los vertebrados. En particular, los peces fueron los primeros vertebrados en los que ocurrió la viviparidad, por lo cual es un grupo muy importante para comprender el origen de esta forma de reproducción y el desarrollo de la estrecha relación que se establece entre la madre y la cría durante

la gestación (Mendoza, 1940; Amoroso, 1960, 1981; Wourms, 1981; Wourms et al. 1988; Wourms y Lombardi, 1992).

Durante la evolución de la viviparidad en los vertebrados se transformaron características estructurales y funcionales básicas de los sistemas reproductores masculino y femenino. Estos cambios representan adaptaciones que favorecen especialmente, la estructura y función de los sistemas reproductores de hembras y machos, así como las relaciones que se establecen con los embriones. Estas transformaciones se reflejan en el desarrollo de diversas estructuras entre ellas: **a)** el cambio de la fertilización externa a la interna; **b)** las adaptaciones del sitio de gestación como el tracto genital, en particular el útero ó el ovario; **c)** el desarrollo de estructuras del embrión en relación con el intercambio metabólico de la madre; y **d)** los mecanismos neuroendocrinos de la madre involucrados en el control de la gestación interna (Turner, 1947; Amoroso, 1981; Callard y Ho, 1987; Guillette, 1989, Wourms y Lombardi, 1992).

Varios autores analizan el proceso de la viviparidad de manera comparada en vertebrados, integrando la descripción de algunas adaptaciones presentes en teleósteos vivíparos como: la reducción del tamaño del huevo, la obligada fertilización interna y particularmente la gestación intraovárica (Turner, 1938, 1947; Mendoza, 1940, 1941, 1943, Amoroso, 1960, Amoroso, 1960, Wake, 1985; Wourms, 1981; Callard y Ho, 1987; Wourms et al. 1988; Wourms y Lombardi, 1992).

La viviparidad en los teleósteos ha sido reconocida desde hace más de dos siglos (Turner, 1947), como una característica evolutiva que les ha facilitado

colonizar una amplia diversidad de ambientes, al brindarle a los embriones mayor protección para su sobre vivencia (Amoroso, 1960; Wourms y Lombardi, 1992).

La viviparidad en los peces ocurre con mayor frecuencia en los cartilagosos (tiburones y rayas), en los que existen 420 especies vivíparas, que corresponden al 55% de un total aproximado de 600 especies. En tanto que en teleósteos, la viviparidad es menos común, pues de las aproximadamente 20 000 especies, solamente son vivíparas alrededor de 510, lo que corresponde al 2-3 % (Callard y Ho, 1987).

Las especies de teleósteos vivíparos pertenecen a 14 familias, y 123 géneros, siendo considerados como los teleósteos más evolucionados (Wourms et al., 1988). De estas 14 familias 4 habitan en México: Goodeidae, Anablepidae, Bythidae y Poeciliidae (Contreras MacBeath, 1995, 2005). En particular, las especies de goodeidos vivíparos son endémicas de México (Turner, 1947; Álvarez del Villar, 1970; Torres, 1991; Contreras Mc Beath, 1995, 2005; Domínguez-Domínguez et al., 2005).

La fecundación interna es una adaptación básica de la viviparidad, por lo que en muchas especies de teleósteos se ha modificado la aleta anal, funcionando como un órgano intromitente, el cual permite que los espermatozoides se depositen en el aparato reproductor femenino y se lleve a cabo la fecundación interna (Turner, 1941; Godínez, 1991; Burns et al., 1995). Este órgano intromitente se denomina andropodio en especies de la familia Anablepidae, gonopodio en especies de la familia Poeciliidae, ó espermpodio en especies de la familia Goodeidae. Sin embargo, es común llamarlo gonopodio,

independientemente de la familia a la que pertenezca el macho (Turner, 1941; Burns et al. 1995).

Debido a la ausencia de formación de conductos de Müller en las hembras de los teleósteos, la viviparidad ha implicado adaptaciones únicas, con el desarrollo de la gestación al interior del ovario, característica exclusiva de los teleósteos. La gestación intraovárica puede ocurrir en el lumen (gestación intraluminal), como el caso de las especies de la familia Goodeidae, ó en el interior del folículo (gestación intrafolicular), como ocurre en las especies de las familias Poeciliidae y Anablepidae (Mendoza, 1940, 1943, 1965; Wake, 1985; Wourms et al. 1988, Wourms y Lombardi, 1992; Schindler y Hamlett, 1993; De la Rosa Cruz, 2001, Uribe et al. 2004, 2005; Guerrero, 2005).

Los ovocitos de las especies vivíparas pueden contener la cantidad y tipo de vitelo que permite la nutrición de las crías durante toda la gestación hasta su nacimiento, de manera que la madre provee al embrión escasos materiales nutritivos, adicionales al vitelo (lecitotrofia); o bien puede reducirse la cantidad de vitelo en los ovocitos, por lo cual los embriones son mayoritariamente nutridos por intercambio metabólico con la madre a partir de la circulación sanguínea materna (matrotrofia) (Turner, 1938; Amoroso, 1981; Callard y Ho, 1987; W ourms et a l, 1988; Schindler y Hamblet, 1993).

## II. ANTECEDENTES

### A. Morfofisiología del testículo de peces teleósteos vivíparos

Los testículos son de forma alargada y de superficie lisa. Están suspendidos por mesorquios de la pared dorsal de la cavidad del cuerpo, por encima de la vejiga gaseosa. El color del testículo es blanco cremoso. La espermatogénesis ocurre de manera longitudinal en los lóbulos seminíferos, desde la periferia en dirección al conducto deferente (Grier *et al.* 1980; Grier, 1981; Billard, 1986).

Las células germinales de la espermatogénesis, forman grupos de células en estados de maduración sincrónicos llamados quistes, rodeados por células de Sertoli (Grier, 1981; Grier *et al.*, 1978, 1980, 1981; Billard, 1986). Las células de Sertoli se encuentran en estrecha relación con las células germinales formando la pared del quiste, relación que determina una pared de permeabilidad que controla la condición interna del quiste y, en consecuencia, de las células germinales (Grier, 1993). Durante toda la espermatogénesis, las células germinales se encuentran al interior de los quistes, los cuales se desplazan en los lóbulos testiculares desde la periferia hasta el conducto deferente central. En las etapas avanzadas de la espermatogénesis, se abren los quistes, y las células de Sertoli liberan a las células germinales, integrándose las células de Sertoli a la pared de los conductos deferentes. Por lo cual, en los quistes de espermatogonias, espermatocitos y espermátidas las células de Sertoli se observan cúbicas o columnares, bordeando la pared de los conductos deferentes (Grier, 1981, 1993).

De acuerdo con la disposición de las espermatogonias en los lóbulos

testiculares, se han descrito dos tipos de testículo: **a)** lobular restringido, en el cual las espermatogonias están localizadas exclusivamente en la periferia del testículo, situadas en los extremos distales de los lóbulos, y **b)** lobular no-restringido, en el cual, las espermatogonias se localizan no solo en el extremo distal de los lóbulos, sino distribuidas a lo largo de ellos (Grier, 1981; Grier et al. 1978, 1980, 1981, Billard et al. 1986; Parenti y Grier, 2004).

La espermatogénesis comprende la formación de espermatozoides a partir de las espermatogonias mismas que inician el proceso meiótico, transformándose en espermatoцитos primarios. Los espermatoцитos primarios, por medio de las dos divisiones celulares de la meiosis, forman espermatoцитos secundarios y espermatidas, éstas últimas células son células haploides, resultado al término de la meiosis, de la reducción cromosómica. En las espermatidas no ocurren más divisiones celulares y pasan por una etapa de espermiogénesis, que implica cambios morfológicos de la espermatida. En la espermiogénesis el núcleo disminuye por la pérdida de agua, se inicia la formación del flagelo y la pieza intermedia, formando espermatozoides al final de este proceso (Grier, *et al*, 1978, 1980, 1981; Nagahama, 1983; Billard, 1986). De acuerdo con las características morfológicas de los tipos celulares de la espermatogénesis diversos autores consideran 5 fases (Grier, 1978; 1980, 1981; Billard, 1986; Loft, 1987).

**1. Espermatogonias:** son células germinales esféricas ó ligeramente irregulares con núcleos basófilos redondos y abundante citoplasma. A través de procesos mitóticos las espermatogonias mantienen la población de espermatogonias ó bien, inician la meiosis y se rodean de células de Sertoli, constituyendo los quistes tempranos, transformándose en espermatoцитos primarios. Las espermatogonias

se localizan en la periferia del testículo (en el testículo del tipo lobular restringido), y en el epitelio germinal que recubre los lóbulos testiculares (en el testículo del tipo lobular no-restringido).

**2. Espermátocitos primarios:** son células esféricas que están en la primera fase de meiosis, son las células germinales de mayor diámetro. En los núcleos de estos espermátocitos se encuentran los pares de cromosomas en forma de filamentos densamente basófilos. Al término de la primera división de la meiosis, se dividen y forman espermátocitos secundarios.

**3. Espermátocitos secundarios:** son células esféricas, con núcleo también esférico que contiene cromosomas filamentosos. Son células escasas debido a que su división es rápida, durante la segunda fase de la meiosis. Al término de esta segunda división, forman las espermatidas.

**4. Espermatidas:** son esféricas, con núcleos esféricos y densamente basófilos. Son células haploides, resultado de la segunda división de la meiosis. En ellas comienza la espermiogénesis mediante transformaciones morfológicas que forman a los espermatozoides, desarrollando la pieza intermedia y el flagelo.

**5. Espermatozoides:** son células constituidas por la cabeza, que contiene el núcleo haploide densamente empaquetado la pieza intermedia que contiene mitocondrias, y el largo flagelo.

El tejido conectivo intersticial rodea a los lóbulos y conductos deferentes, contiene fibroblastos, fibras de colágeno y vasos sanguíneos que proporcionan transportes de nutrientes y eliminan los desechos celulares. El tejido conectivo intersticial también contiene a las células de Leydig, secretoras de testosterona, hormona que determina los caracteres sexuales secundarios. Durante el ciclo

reproductor anual, las células de Leydig muestran cambios en su actividad que se reflejan en su morfología, tamaño y número. En particular, las células de Leydig intervienen en el ciclo reproductor con receptores de gonadotropinas, la hormona luteinizante, mostrando hipertrofia debido a su actividad en la secreción de testosterona durante la fase de mayor actividad espermatogénica y de espermiación, esto es, cuando los espermatozoides salen del testículo (Grier et al. 1980; Ngahama, 1983; Loft, 1987; Billard, 1986).

## **B. Morfofisiología del ovario en peces teleósteos vivíparos**

El ovario es un órgano único, debido a la fusión de esbozos de los ovarios durante la embriogénesis, lo que origina, en algunas familias como Goodeidae, la formación de un septo que divide el lumen del ovario por la mitad, total o parcialmente; en otras familias como Poecilidae, no se observa septo.

El ovario es de tipo sacular, se encuentra dorsalmente suspendido en la cavidad abdominal por mesovarios detrás de la vejiga gaseosa. El color del ovario es blanco amarillento cuando es previtelogénico y no gestante, amarillo cuando es vitelogénico y gestante (Hubbs y Turner, 1939; Mendoza, 1940, 1943; Turner, 1947; Wourms et al. 1988, Wourms y Lombardi, 1992; Uribe et al., 2004).

Los elementos tisulares que contiene el ovario son: tejido germinal (ovogonias y ovocitos) y tejido somático (epitelio, estroma, músculo liso y serosa). Los elementos germinales y somáticos constituyen la pared del ovario formado por cuatro capas que de la periferia al interior son: **a)** una capa serosa cubierta por un epitelio plano peritoneal y una capa fina de tejido conectivo; **b)** una capa de músculo liso; **c)** una capa de tejido conectivo o estroma, que contiene fibroblastos,

fibras colágenas y reticulares y vasos sanguíneos, en particular, muestra abundantes capilares situados bajo el epitelio; el tejido conectivo rodea a folículos en diferentes estadios de desarrollo y forma pliegues llamados pliegues ovígeros, que se proyectan en el lumen ovárico; y, **d**) epitelio germinal cúbico simple que limita la pared interna del ovario y contiene las ovogonias entre células epiteliales somáticas. El epitelio germinal está separado del estroma por una membrana basal.

Las ovogonias inician la meiosis, formando ovocitos preprimarios, los cuales se rodean de una capa de células foliculares, constituyendo los folículos primarios, que quedan integrados por el ovocito primario rodeado por una capa de células foliculares ó granulosa limitada por la membrana basal. Los ovocitos avanzan hasta la fase diplótena de la meiosis permaneciendo en esta fase durante la ovogénesis, al término de la cual formaran ovocitos maduros (Mendoza, 1940, 1941, 1943; Dodd, 1977; Nagahama, 1983; Wourms y Lombardi, 1992, Grier, 2000; Uribe *et al.*, 2004). Las ovogonias son células esféricas u ovoides con un núcleo también esférico, su citoplasma es hialino, son diploides y se dividen por mitosis permitiendo la proliferación de ovocitos antes de cada estación reproductora (Mendoza, 1941; Grier, 2000).

Yamamoto y Yamazaki (1961); Carrillo y Zanuy (1973); Wallace y Selman (1990, 1991); Mendoza (1940, 1943); Shindler *et al.* (1988); Koya *et al.* (1998), analizan los cambios morfológicos de los ovocitos primarios durante la ovogénesis en teleósteos ovíparos y en teleósteos vivíparos considerando seis estadios, los cuales son:

**Estadio 1. Cromatina nucléolo:** los ovocitos son células ovoides con núcleo

grande y esférico que contiene un nucléolo. El ovocito está rodeado de manera incompleta por células foliculares planas.

**Estadio 2. Perinucléolos:** los ovocitos incrementa su tamaño, el núcleo sigue siendo esférico con abundantes nucléolos perinucleares. En el ovoplasma se observa el núcleo vitelino en la periferia de la membrana nuclear, más denso y basófilo que el resto del ovoplasma. El ovocito está rodeado una delgada capa de células foliculares planas.

**Estadio 3. Vitelo lipídico:** se inicia la vacuolización del ovoplasma con la formación de las vesículas lipídicas en la región periférica al núcleo. El núcleo mantiene su forma esférica. En la periferia del ovocito se presenta una zona pelúcida delgada y homogénea. La zona granulosa se incrementa por el mayor volumen de las células foliculares que se observan cúbicas. La teca rodea a la granulosa, y está formada por tejido conectivo y fibras de colágena.

**Estadio 4. Vitelogénesis temprana con depósito de gránulos de vitelo:** se observa la formación de los primeros gránulos de vitelo pequeños, esféricos y acidófilos, en la periferia del ovocito. Alrededor del ovocito se observa la zona pelúcida, formada por los canalículos perpendiculares del ovocito y de las células foliculares a la membrana del ovocito. La granulosa aumenta en altura, observándose células columnares. La teca, al igual que en el estadio anterior, rodea a la granulosa, formada por tejido conectivo vascularizado y fibras de colágena.

**Estadio 5. Vitelogénesis avanzada con depósito de gránulos de vitelo:** el núcleo es similar al descrito en los estadios anteriores. Los gránulos vitelinos se distribuyen en todo el ovoplasma, y confluyen algunos de ellos. La zona pelúcida

se amplia. Las células foliculares son columnares y muestran el citoplasma vacuolado. La teca es similar a lo descrito en la etapa anterior.

**Estadio 6. Maduración:** los gránulos de vitelo incrementan su volumen progresivamente hasta fusionarse, formando una masa homogénea, esto ocurre en especies que presentan formación de vitelo homogéneo como goodeidos y poeciliidos. En las especies vivíparas *Skiffia* (=Neotoca) *bilineata* y *Jenynsia bilineata* (Mendoza, 1940, 1943); *Xenophorus captivus* (Shindler et al., 1988; *Gambusia affinis* (Koya et al., 1998), *Ilyodon whitei* (De la Rosa Cruz, 2001); *Chapalichthys encaustus* y *Poeciliopsis gracilis* (Guerrero, 2005). Se observa el depósito de vitelo homogéneo, en las especies que presentan esta característica, al final de la fase de maduración, los gránulos de vitelo alcanzan su mayor tamaño. La vesícula germinal se desplaza hacia el polo animal. La zona pelúcida es similar a la observada en la etapa anterior. Las células foliculares son cúbicas.

La atresia folicular es un proceso común en todos los vertebrados, ocurre en todas las etapas de la ovogénesis. Durante la atresia, los folículos presentan hipertrofia de las células de la granulosa, rompimiento y dispersión de la zona pelúcida y disolución del vitelo, el cual es absorbido paulatinamente por las células foliculares. Se ha propuesto que la atresia es un proceso que interviene en la regulación del número de folículos que serán ovalados durante el ciclo reproductor (Redding y Patiño, 1993; Tyler y Sumter, 1996).

### **C. Características de la familia Goodeidae**

Las especies vivíparas de la familia Goodeidae forman un grupo de peces pertenecientes exclusivamente a la Meseta Central de México (Álvarez del Villar,

1970; Torres, 1991; Contreras MacBeath, 1995; Domínguez-Domínguez et al., 2005). Habita en los sistemas hidrológicos como el Lerma- Santiago, la parte alta del río Pánuco y río Balsas, la parte baja del río Balsas que comprende el río Cuautla cerca de Puente de Ixtla, y a lo largo del río Yautepec y Amacuzac en el estado de Morelos y Cuenca hidrológica de Colima (Contreras MacBeath, 1995).

Hubbs y Turner (1939) clasifican a los goodeidos en cuatro subfamilias, basándose en características como: **a)** presencia y tipo de trofotenia (extensión del intestino de las crías en desarrollo que absorbe nutrientes del lumen ovárico), el tipo de trofotenia puede ser roseta (plegada), ó listón (no plegada); y **b)** el tipo de ovario, que puede ser primitivo, en el cual el tejido germinal está disperso alrededor de la pared del ovario y en el septo; ó derivado en el cual el tejido germinal se concentra en los pliegues de la pared del ovario, llamados pliegues ovígeros. Las cuatro subfamilias de Goodeidos son: **a)** Ataeniobinae, que presenta el ovario fusionado de tipo primitivo y carece de trofotenia; **b)** Goodeinae, que presentan el ovario fusionado de tipo primitivo y trofotenia en roseta; **c)** Characodontinae, que presenta ovario de tipo intermedio entre el primitivo y derivado, debido a que muestra el tejido germinal en dos pliegues ovígeros muy pequeños y en un tercio del septo, y trofotenia en listón; y **d)** Girardinichthyinae, que muestra el ovario de tipo derivado y trofotenia en listón.

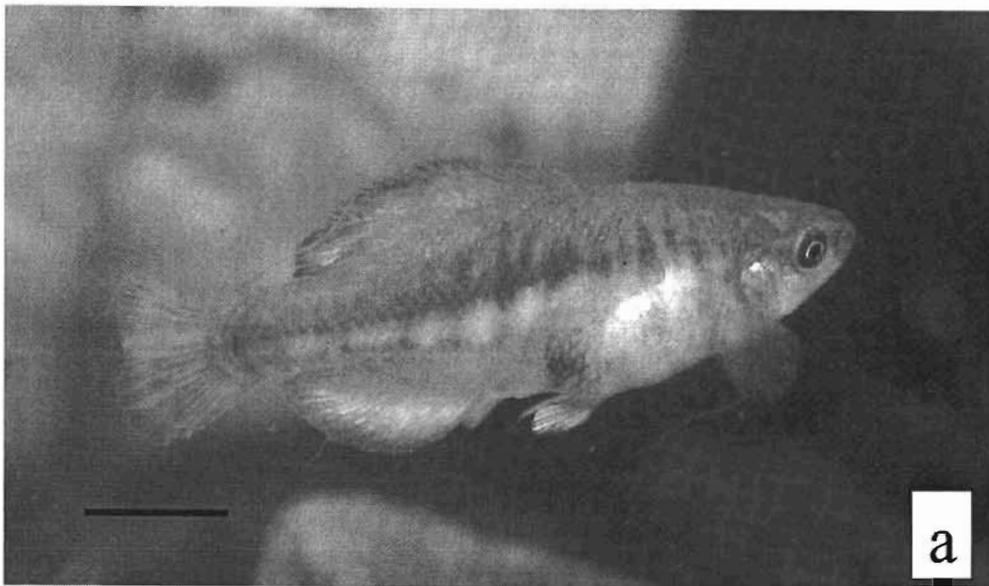
#### **D. Descripción de *Girardinichthys multiradiatus***

*Girardinichthys multiradiatus* (Figs. 1a,b), pertenece a la familia Goodeidae y a la subfamilia Girardinichthyinae. Esta especie es conocida popularmente como mexcalpique. Su consumo como alimento constituye una tradición en diferentes

poblados del centro de México aledaños a los cuerpos de aguas donde habita (Contreras MacBeath, 1995). Desde el punto de vista de su conservación *G. multiradiatus* se encuentra en categoría de protección amenazada (NOM-059-ECO-2001).

*G. multiradiatus*, se distribuye en el río Lerma, en los estados de México y Michoacán, en el río Tuxpan que drena al río Balsas en Michoacán y al sistema de las Lagunas de Zempoala en el estado de Morelos (Domínguez-Domínguez et al. 2005). Habita en aguas con intervalos de temperatura de 13 a 28°C. Se localiza entre la vegetación acuática, la cual utiliza como refugio y protección. Su alimentación es omnívora, ingiere larvas de insectos, pulgas de agua y materia orgánica. Es vivípara, de fecundación interna. Presenta dimorfismo sexual, ya que las hembras son más grandes que los machos, y éstos presentan colores más llamativos y brillantes (Contreras MacBeath, 1995; Domínguez-Domínguez et al. 2005). Godínez (1991) describe sus características morfológicas mencionando que muestran cuerpo moderadamente comprimido, aleta caudal simétrica, boca amplia, terminal y protractil, mandíbula inferior sobresaliente a la superior. Los machos alcanzan 44mm de longitud patrón, la aleta dorsal presenta coloración amarillo anaranjada y las aletas dorsales y ventrales poseen un borde negro. La aleta muestra la reducción y separación de los primeros radios formando el espermapodio, órgano intromitente que permite el paso del esperma al gonoducto femenino. Las hembras alcanzan 50mm de longitud patrón su coloración es de gris a verdoso; en la parte media de los costados presenta una banda oscura, que se origina detrás del opérculo y termina en el inicio de la aleta caudal. Por debajo de esta banda, se distingue un lunar negro dispuesto en la porción

abdominal, junto al inicio de la aleta anal, siendo más evidente en época de gestación; en la parte anterior del lunar se observa pigmentación azul con puntos rojos y un margen amarillo, y en la parte más externa se localizan algunos pigmentos negros.



**Figura 1.** Ejemplares de *Girardinichthys multiradiatus*

a) Macho. b) Hembra.

Barra= 1cm

Fotos: Topiltzin Contreras Mac Beath. Centro de Investigaciones Biológicas UAEM. 15

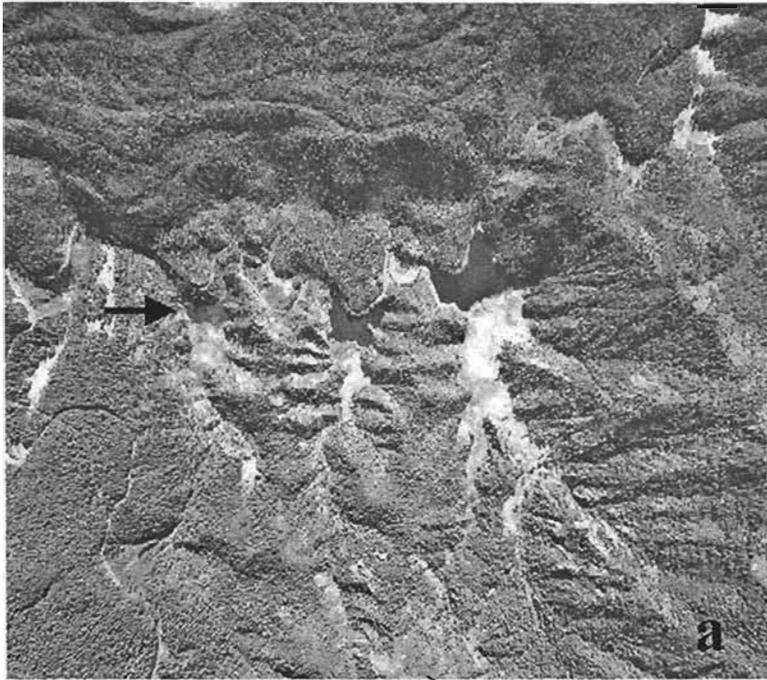
## **E. Área de estudio**

El Parque Nacional Lagunas de Zempoala está situado a 38Km al norte de Cuernavaca, pertenece al Corredor Ecológico Ajusco-Chichinautzin (Fig. 2). Se localiza entre los 19°01'20" y 99°06' norte y 99°16'20" y 99°21' oeste.

En relación con su topografía, el parque está bordeado por pequeñas serranías de altitudes entre 2400 y 3000msnm, formando pequeñas depresiones o cuencas endorreicas profundas, donde se encuentran los lagos Zempoala, Compila, Tonatiahua, Acomantla, Acoyotongo y la Joya de Atezcapan. El clima de esta zona es C(w<sub>2</sub>)(w), templado-subhúmedo con lluvias en verano.

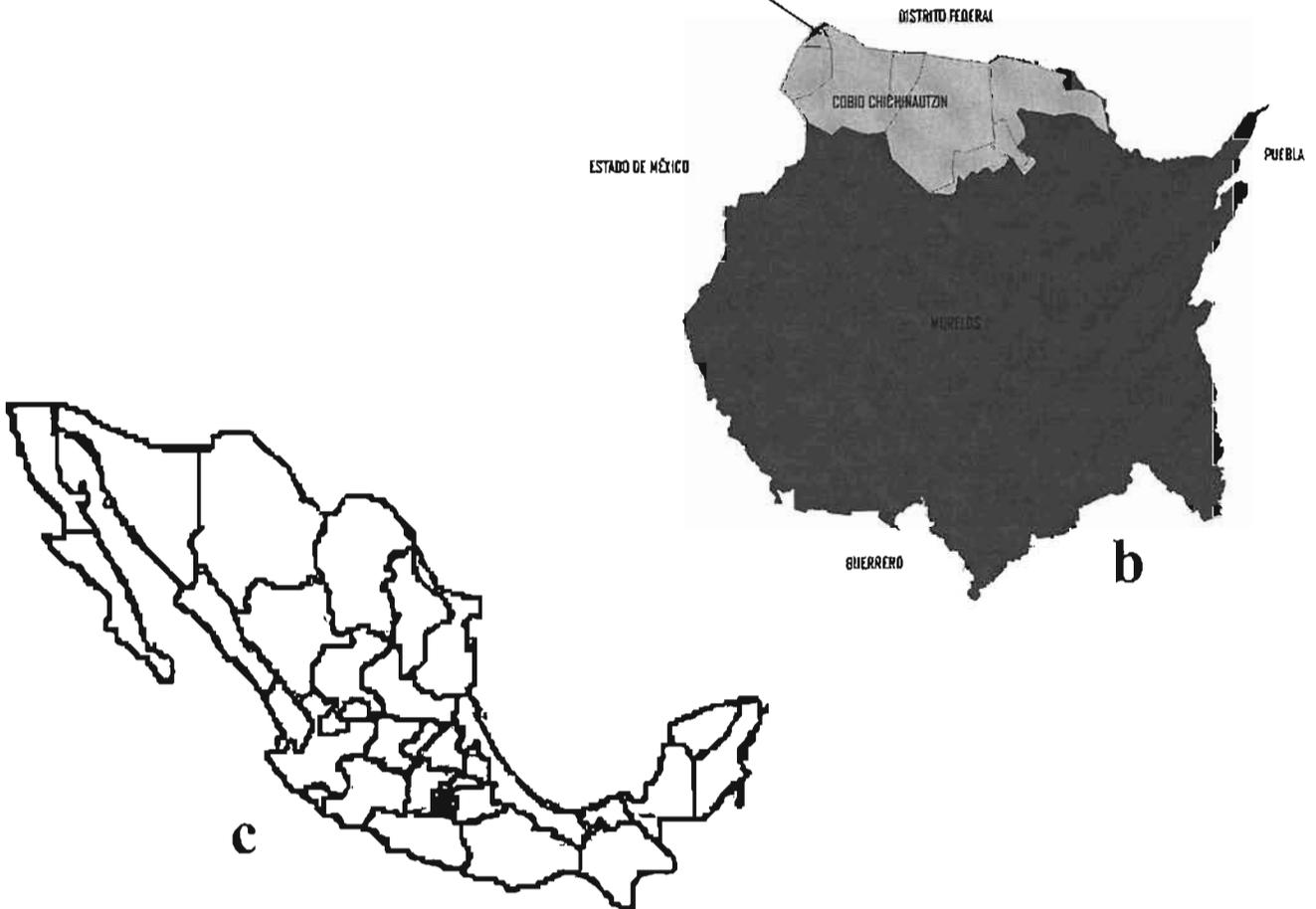
La vegetación corresponde a bosque de encino, pino y oyamel. Este sitio presenta una temperatura del agua mínima de 11°C y una máxima de 28°C.

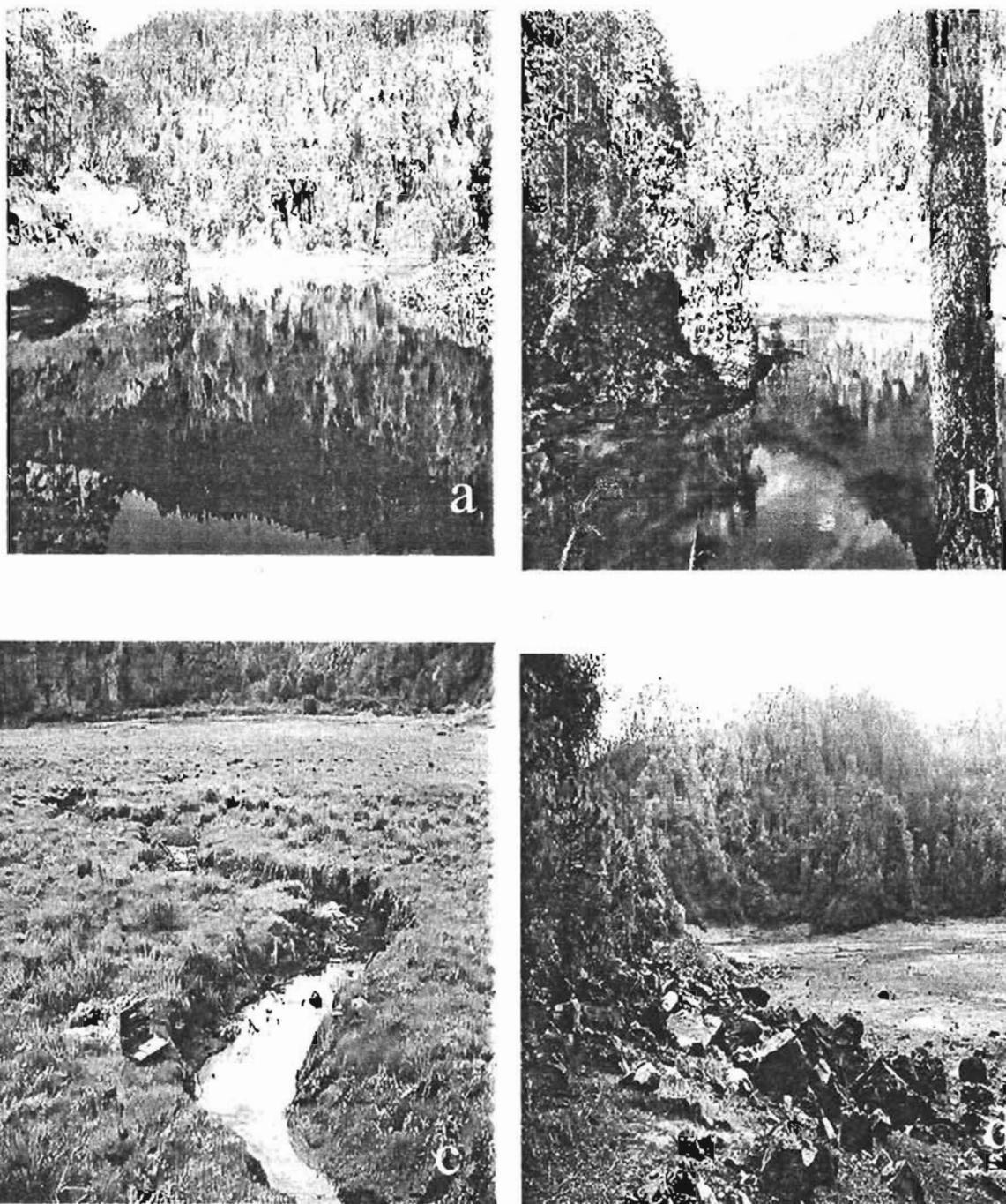
Durante la época de estiaje se observa la reducción del volumen de agua del río y los lagos. El sitio de colecta presenta dos estaciones, la de lluvias y de estiaje, la primera se caracteriza por presentar una inundación total del lago y la segunda disminuye el caudal del agua hasta un 30 % de su volumen, observándose el arroyo que provee de agua al lago (Bonilla-Barbosa y Viana-Lases, 1987) (Fig. 3 a, b, c, d ).



**Figura 4.**

- a) Vista aérea del lago Acoyotongo, → Parque Nacional Lagunas de Zempoala, Morelos, México
- b) Ubicación del Parque Nacional Lagunas de Zempoala, en el Estado de Morelos, México
- c) Ubicación del Estado de Morelos en la República Mexicana.





**Figura 3.** Sitio de colecta de *Girardinichthys multiradiatus*, Lago Acoyotongo, Parque Nacional Lagunas de Zempoala, Morelos, México. a,b) época de lluvias. c,d) época de estiaje.

### III. JUSTIFICACIÓN

Con base en la riqueza de teleósteos vivíparos que habitan en México, la condición endémica de la familia Goodeidae, formada por 41 especies (Domínguez-Domínguez, 2005), el desarrollo intraluminal de las crías en el ovario y la escasez de estudios sobre su biología reproductora, en particular la gametogénesis, se considera a las especies vivíparas de esta familia como excelentes modelos biológicos para el análisis de las características morfológicas y fisiológicas de la reproducción de los teleósteos vivíparos. El análisis de la estructura de las gónadas y la gametogénesis son aspectos básicos que contribuyen al conocimiento de la biología reproductora de estas especies, las cuales, a su vez, se integran con proyectos de sistemática, conservación, ecología y evolución. En este sentido, el presente estudio contribuye al conocimiento de la biología reproductora de *Girardinichthys multiradiatus*, perteneciente a la familia Goodeidae, en particular, de la estructura de las gónadas, de la gametogénesis y sus cambios estacionales. Por lo cual, se plantean los siguientes objetivos:

## **IV. OBJETIVOS**

### **A. OBJETIVO GENERAL**

- Definir las características estructurales de las gónadas, y la gametogénesis de *Girardinichthys multiradiatus*, durante un ciclo anual.

### **B. OBJETIVOS PARTICULARES**

- Describir la estructura del testículo y el proceso de espermatogénesis.
- Describir la estructura del ovario y el desarrollo folicular durante la ovogénesis.
- Relacionar la estacionalidad de la espermatogénesis y la ovogénesis.
- Identificar la presencia de espermatozoides en el ovario y su relación con la espermatogénesis y la ovogénesis.

## V. MATERIAL Y METODO

### Trabajo de campo.

Se colectaron 54 ejemplares adultos de *Girardinichthys multiradiatus*, 26 machos con una longitud patrón de 44mm y 28 hembras con una longitud patrón de 50mm, durante 1999, mediante muestreos mensuales (Tabla 1).

MES	No. MACHOS	No. HEMBRAS	
		NO GESTANTES	GESTANTES
Enero	3	3	0
Febrero	3	3	0
Marzo	3	0	2
Abril	2	2	1
Mayo	3	1	2
Junio	3	1	2
Julio	3	3	0
Agosto	3	2	1
Septiembre	2	2	1
Diciembre	1	2	0
	26	19	9
<b>Total del no. de organismos:</b>		54	

**Tabla 1.** Número de organismos colectados durante un ciclo anual

La colecta de ejemplares se llevó a cabo en el Lago Acoyotongo, Parque Nacional Lagunas de Zempoala, Morelos, México, con un chinchorro playero de 3m de largo y 1.5m de caída, con una luz de malla de 1/4 de pulgada.

### Trabajo de laboratorio.

Los ejemplares se anestesiaron con vapores de cloroformo.

Las gónadas se disectaron mediante un corte longitudinal ventral y se midieron en su longitud y diámetro (Fig. 4).

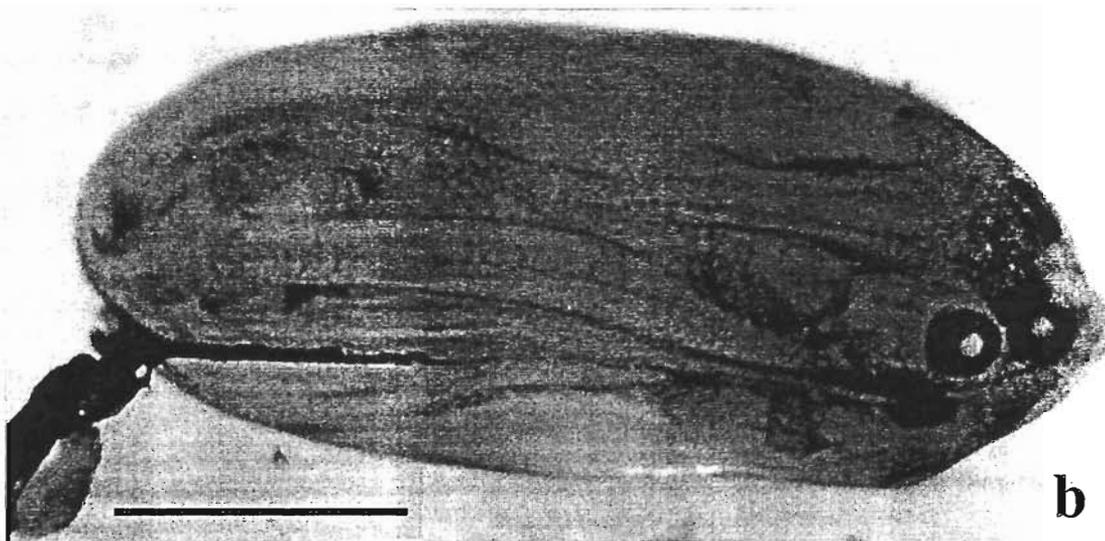
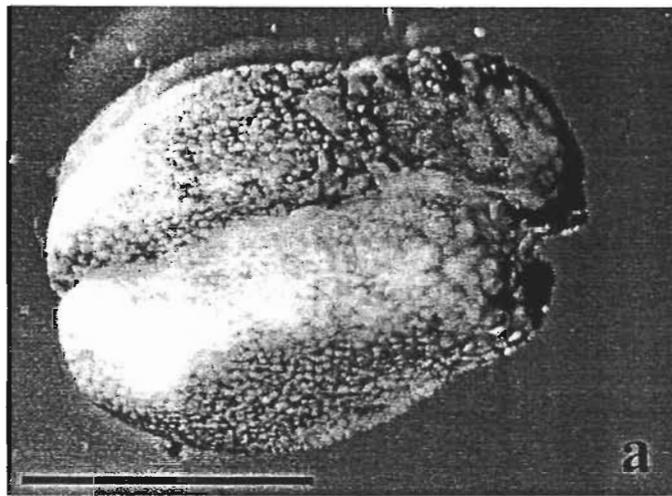


Figura 4. Gónadas de *Girardinichthys multiradiatus*, Barra = 5 mm.

a) Testículos recolectados en Marzo.

b) Ovario gestante recolectado en Junio.

## **Procesamiento histológico de las gónadas.**

Las gónadas se fijaron en Bouin durante 8-12 horas y se prepararon para su análisis histológico, de acuerdo con Aguilar et al. (1996), con el siguiente procedimiento:

1. Se lavaron en agua corriente, con chorro suave, durante 5 minutos.
2. Se deshidrataron con alcoholes graduales (50°, 70°, 80° 96° y 100°) y se aclararon con xilol.
3. Se incluyeron en parafina a una temperatura de 56° a 58°C. Se aplicaron 3 cambios de 1 hora cada uno: a) xilol-parafina 1:1, b) parafina pura, y c) parafina pura.
4. Se hicieron cortes seriados en un microtomo de rotación American Optical modelo 820, con un rango de grosor de 5 a 7µm; los cortes obtenidos se colocaron en baño de flotación preparado con grenetina para extenderlos y fijarlos en los portaobjetos.
5. Se aplicaron las tinciones de:
  - Hematoxilina-Eosina (panorama general de los tejidos, características nucleares, límites celulares y afinidad acidófila y basófila);
  - tricrómica de Masson (contraste entre tejidos epitelial, conectivo y muscular, fibras de colágena, músculo, células glandulares exocrinas); y
  - PAS (zona pelúcida, membranas basales, mucopolisacáridos, células exocrinas) .
6. Los cortes teñidos se montaron con bálsamo de Canadá:
7. Se analizaron los cortes obtenidos en microscopio óptico.

8. Con un ocular micrométrico se realizaron 30 medidas de los siguientes elementos histológicos: diámetro de las células germinales en sus diferentes estadios, altura de las células de Sertoli, altura de las células foliculares y altura del epitelio germinal.

9. Se tomaron fotomicrografías de las estructuras seleccionados en un fotomicroscopio Zeiss III, utilizando película de color ASA 100.

## VI. RESULTADOS

### A. Estructura del testículo de *Girardinichthys multiradiatus* y sus cambios morfológicos durante un ciclo anual.

Los testículos de *Girardinichthys multiradiatus* se localizan en la parte abdominal de la cavidad visceral, su posición es posterior a la vejiga gaseosa y se encuentran suspendidos por mesorquios a la pared dorsal del cuerpo.

Los testículos son de forma alargada y fusiforme, uno de ellos se encuentra situado ligeramente mas anterior al otro. Su coloración es blanco–amarillenta (Fig. 4a). Las longitudes de los testículos observadas durante el ciclo anual tienen un intervalo de 7.7mm a 12.3mm

La estructura histológica del testículo de *Girardinichthys multiradiatus*, es de tipo lobular, con espermatogonias restringidas a la periferia. Los lóbulos son paralelos y se observan distribuidos longitudinalmente, sus extremos iniciales se localizan en la periferia del testículo, y el extremo terminal desemboca en el sistema de conductos deferentes que, a su vez, vacían su contenido al conducto deferente central (Fig. 5a,b). En sentido longitudinal, en el interior de los lóbulos testiculares, se observan las células gerrriinales en etapas progresivas de la espermatogénesis (Fig. 6a). En la periferia del testículo se localizan las etapas tempranas de este proceso (Fig. 6b), como espermatogonias, espermatocitos primarios y espermatocitos secundarios y, hacia el conducto deferente central (Fig. 5a), se observan las etapas avanzadas de la espermatogénesis, como espermátidas y espermatozoides (Fig. 5a,b, 6a,c).

El desarrollo de la espermatogénesis ocurre en condición quística. Los quistes

están formados por conjuntos de células germinales (Fig. 6a, 7a), limitados por células de Sertoli, las cuales muestran su núcleo alargado y basófilo en la periferia del quiste (Fig. 6b, 7a). Los quistes contienen conjuntos de células germinales sincrónicas, es decir, dichas células que se encuentran en su interior están en la misma etapa de espermatogénesis (Fig. 6a, 7a).

Las células germinales incluyen cinco etapas de maduración.

- 1. Espermatogonias:** se localizan restringidas a la periferia del testículo, son esféricas ó de forma ligeramente irregular, tienen de 10 a 12 $\mu$ m de diámetro. Sus núcleos son esféricos y el citoplasma es ligeramente basófilo (Figs. 6b, 7a).
- 2. Espermatocitos primarios:** su forma es esférica con un diámetro que varía de 6 a 9 $\mu$ m, sus núcleos contienen cromosomas densos que hacen evidente su condición meiótica (Fig. 6b,c, 7a,b,c,d) en el cual se distinguen las fases paquítena con cromosomas en forma de filamentos basófilos (Fig. 7d), ó diplótena con cromosomas en los que pueden observarse quiasmas.
- 3. Espermatocitos secundarios:** son células esféricas, con diámetro de 4 a 5 $\mu$ m, su núcleo también esférico. Son escasos debido a que corresponden a la segunda división de la meiosis y forman rápidamente espermatidas.
- 4. Espermatidas:** el tamaño celular continúa su disminución, son de 2 a 4 $\mu$ m de diámetro. Son células que se transforman morfológicamente durante la espermiogénesis constituyendo en su fase final espermatozoides. En etapa temprana su forma es esférica (Figs. 6b, 7b), su núcleo es basófilo (Figs. 6b,c, 7a). El acomodo de las espermatidas tardías (Fig. 7a) dentro de los quistes es de forma irregular, debido a que las cabezas de los espermatozoides en formación se observan irregularmente distribuidas (Fig. 7a).

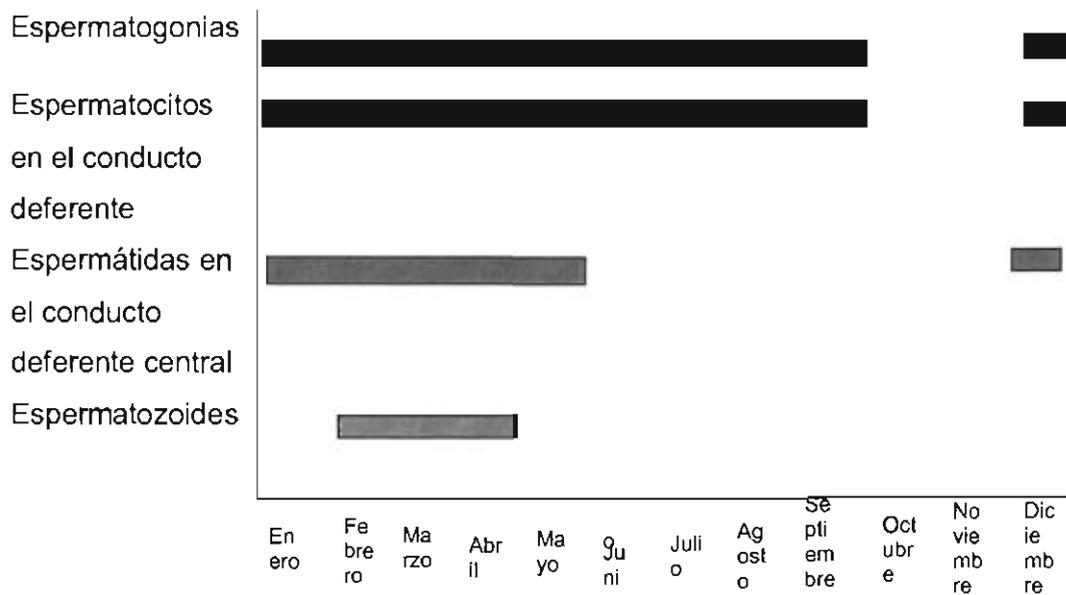
**5. Espermatozoides:** muestran las cabezas densamente basófilas (Figs. 6c, 7c), su flagelo puede observarse con mayor claridad en espermatozoides aislados, esto es cuando los quistes se abren y los espermatozoides desembocan en regiones terminales de los lóbulos (Fig. 6c). Los espermatozoides no muestran encapsulamiento. Esta característica de los espermatozoides formando grupos sin envoltura define su condición de espermatozeugmata. Durante la espermiación se observan grupos muy abundantes y compactos de espermatozoides en los conductos deferentes y el conducto deferente central (Figs. 5b, 6c).

Además de las células germinales, el testículo contiene elementos somáticos integrados por las células de Sertoli, localizadas alrededor de las células germinales (Figs. 6b,c, 7a) y por tejido interlobular. Alrededor de las células germinales, las células de Sertoli definen la estructura quística y en las regiones terminales de los lóbulos, las células de Sertoli limitan la pared de los conductos deferentes (Fig. 6c). Cuando las células de Sertoli rodean los quistes de espermatogonias, espermatocitos y espermatidas son alargadas, con núcleos alargados y densos, en tanto que cuando están alrededor de espermatozoides, limitando a los conductos deferentes, se observan cúbicas o columnares, con núcleos esféricos y basales, citoplasma ligeramente granuloso y con algunas vacuolas (Fig. 6c).

El tejido interlobular (Figs. 7a,c) está formado por tejido conectivo vascularizado que contiene a las células de Leydig y fibroblastos rodeados por fibras de colágena. Las células de Leydig son de forma ovoide, contiene núcleos excéntricos, esféricos y citoplasma vacuolado (Fig. 7a).

*G. multiradiatus* durante de todo el año presenta todos los estadios tempranos de células germinales como espermatogonias y espermatocitos en el testículo. Durante los meses de diciembre a abril se observan los conductos deferentes llenos de espermátidas y en los meses de febrero a abril se observa el conducto deferente central lleno de espermatozoides (Gráfica 1).

Los cambios estructurales que sufre el testículo de *G. multiradiatus* durante un ciclo anual, se indican en la Gráfica 1.



**Gráfica 1.** Cambios en los tipos celulares del testículo de de *Girardinichthys multiradiatus* durante un ciclo anual.

**Figura 5.** Panoramas del testículo de *Girardinichthys multiradiatus*

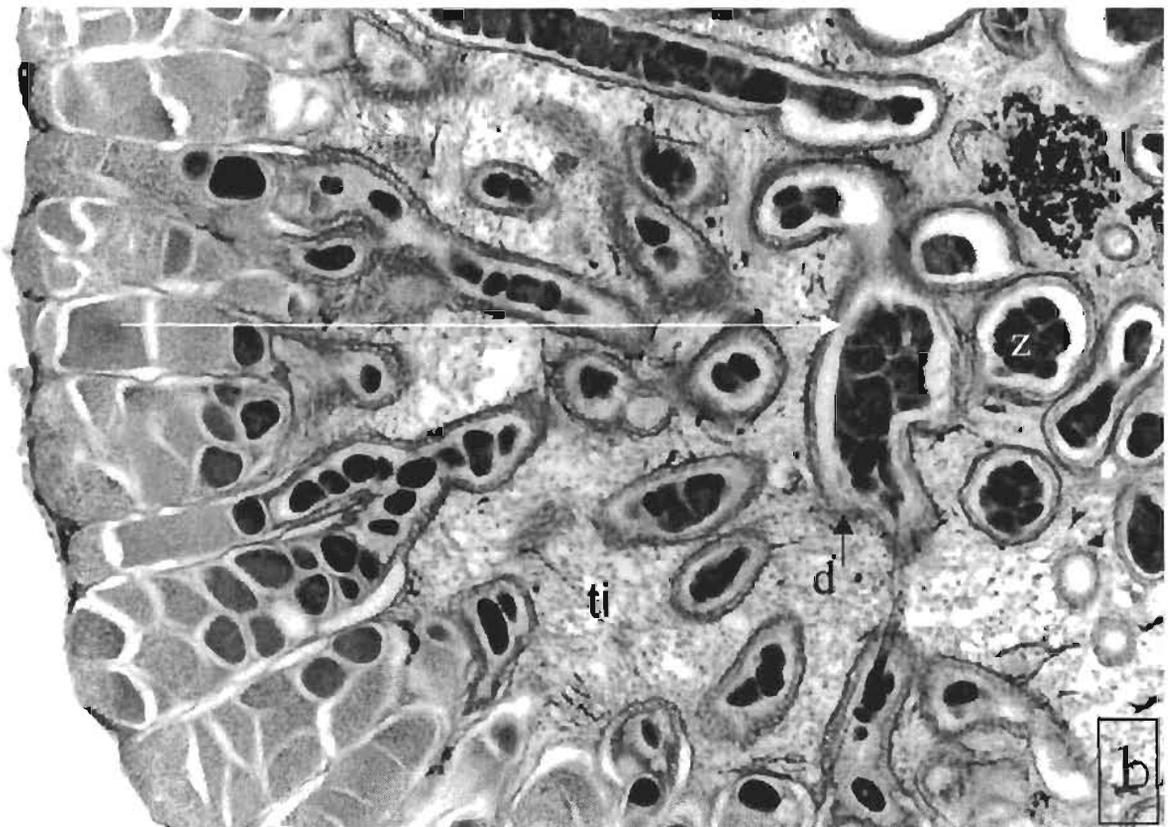
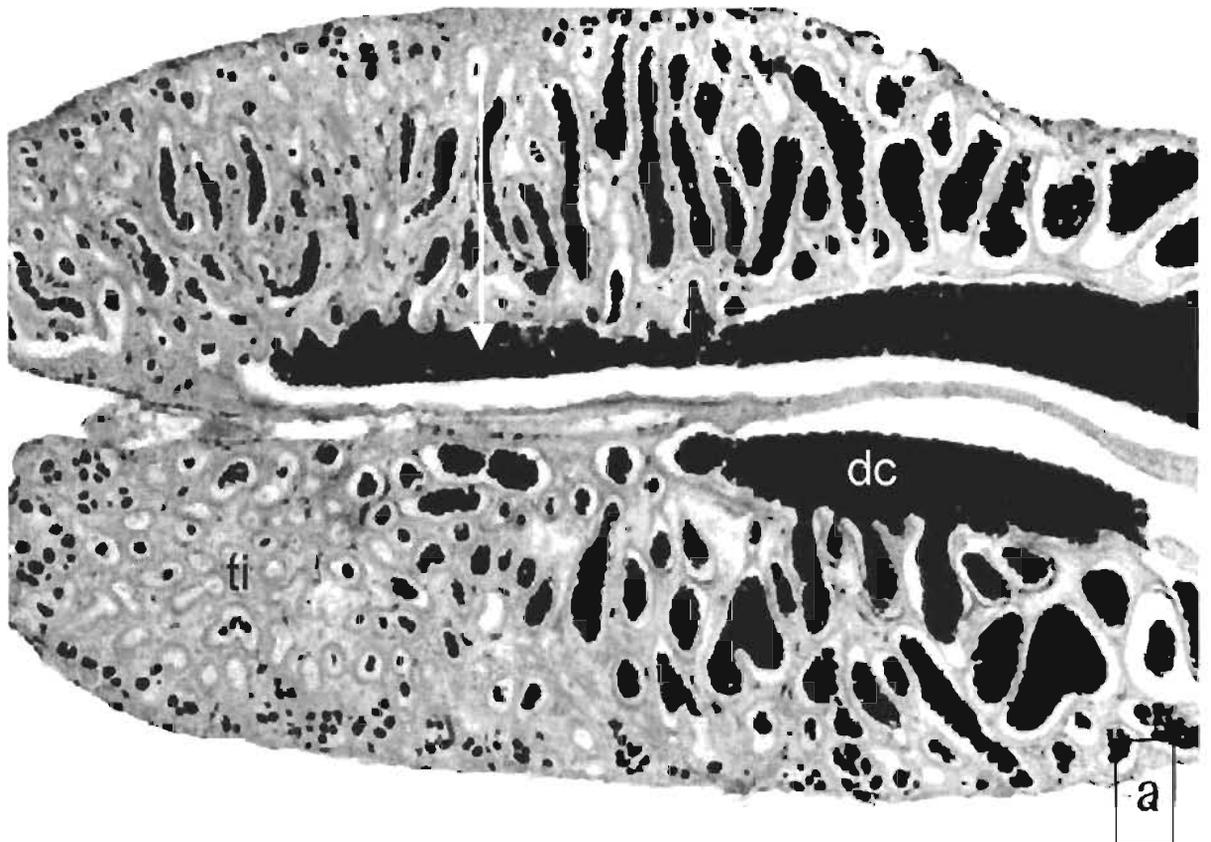
a) Dirección de la maduración de las células germinales de la periferia del testículo (→) hacia el conducto deferente central (dc). En esta dirección se observan las etapas que integran la espermatogénesis. Se observa tejido intersticial (ti).

b) El conducto deferente (d) contiene abundantes espermatozoides (z) que dan aspecto denso y oscuro a su interior. Se observa la dirección de la maduración de las células germinales. Alrededor del tejido germinal se encuentra el tejido intersticial (ti).

a) Tricrómica de Masson 32 X

b) PAS 78 X

FIGURA 5



**Figura 6.** Testículo de *Girardinichthys multiradiatus*

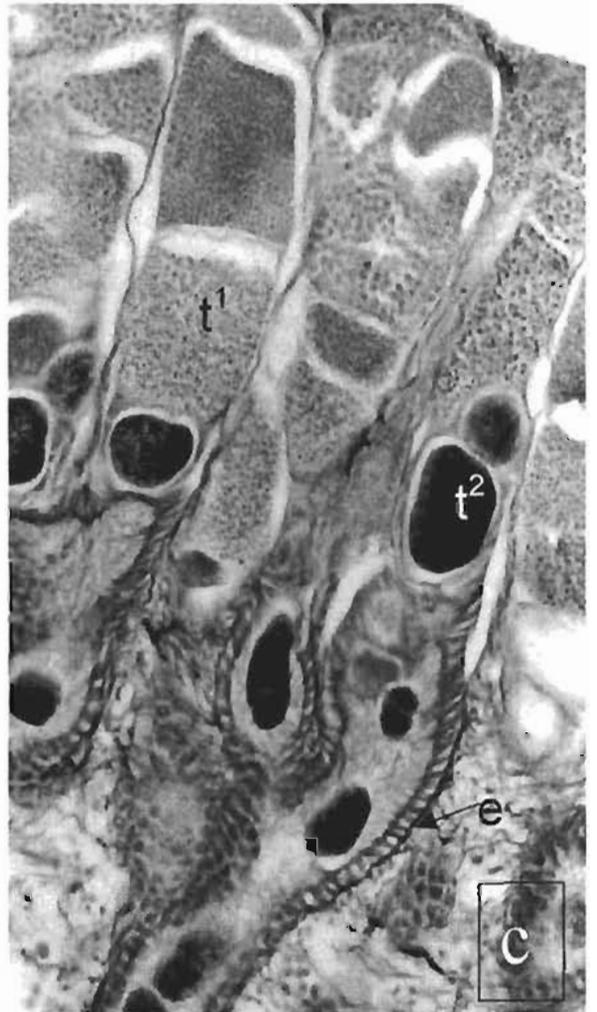
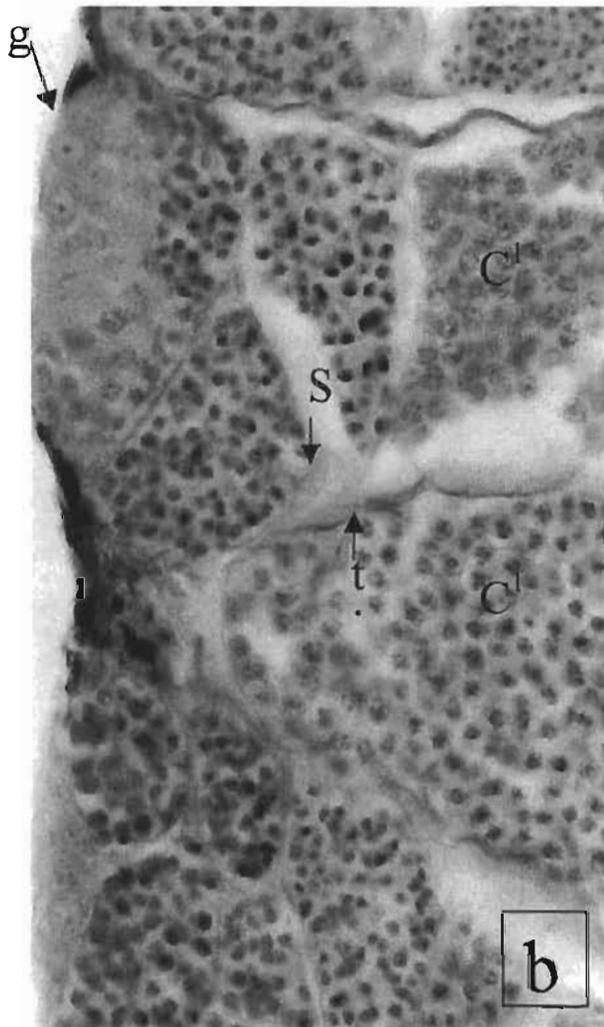
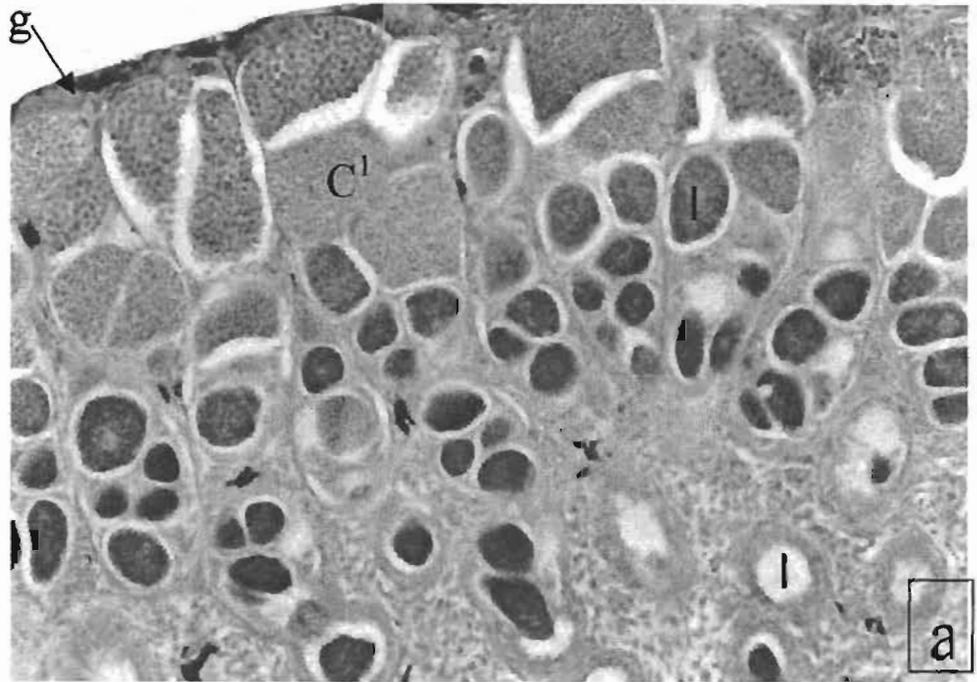
a) Sección del testículo desde la región periférica hacia el centro mostrando los quistes celulares de la espermatogénesis. Las células germinales están situadas en quistes de espermatogonias (g), espermatocitos primarios (C<sup>1</sup>). Se observan los lóbulos (l).

b) Etapas tempranas de la espermatogénesis. Se observan las espermatogonias (g) en su característica posición restringida a la periferia y algunos quistes con espermatocitos primarios (C<sup>1</sup>), los núcleos de las células de Sertoli (S). El tejido intersticial (ti) que limita los lóbulos es escaso.

c) Quistes con espermátidas tempranas (t<sup>1</sup>) y tardías (t<sup>2</sup>), el epitelio que las limita, formado por células de Sertoli, es columnar (e).

Hematoxilina- Eosina a) 500 X b) 1250 X PAS c) 1250 X

FIGURA 6



**Figura 7.** Testículo de *Girardinichthys multiradiatus*

a) Detalle de la región periférica mostrando espermatogonias (g) y espermatocitos primarios ( $C^1$ ). El tejido intersticial (ti) rodea los lóbulos.

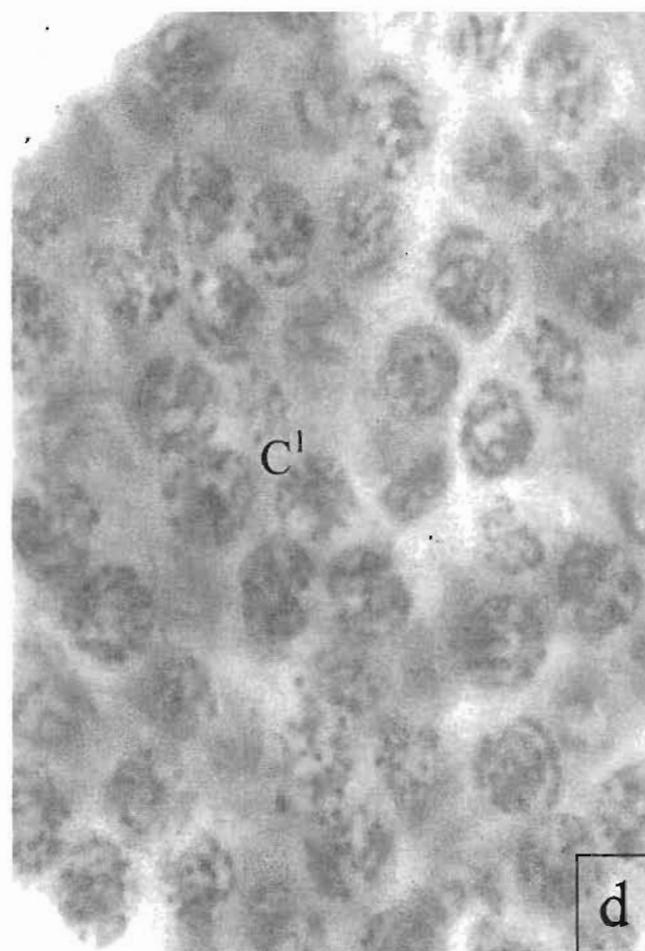
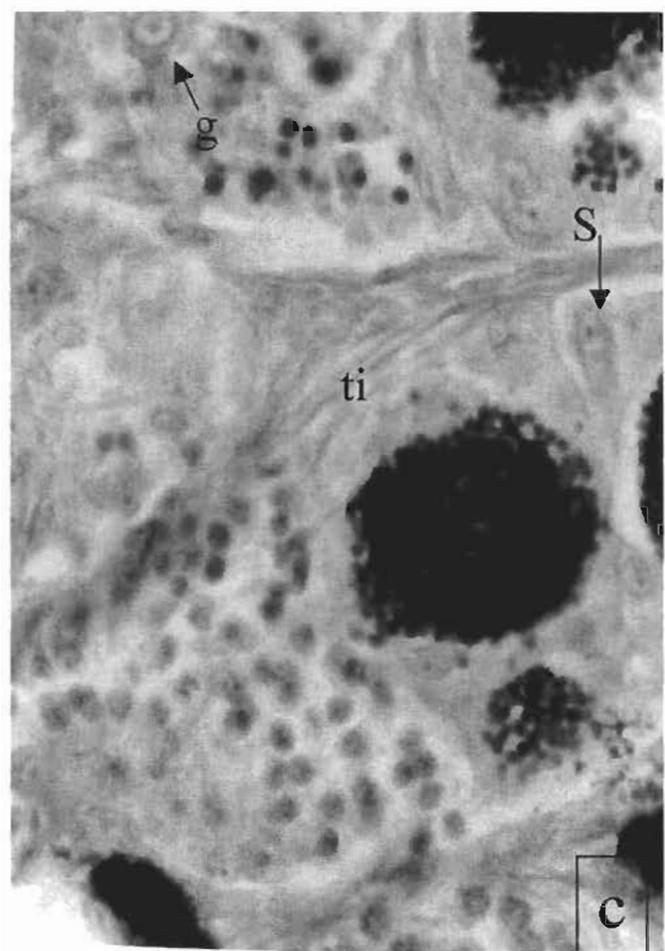
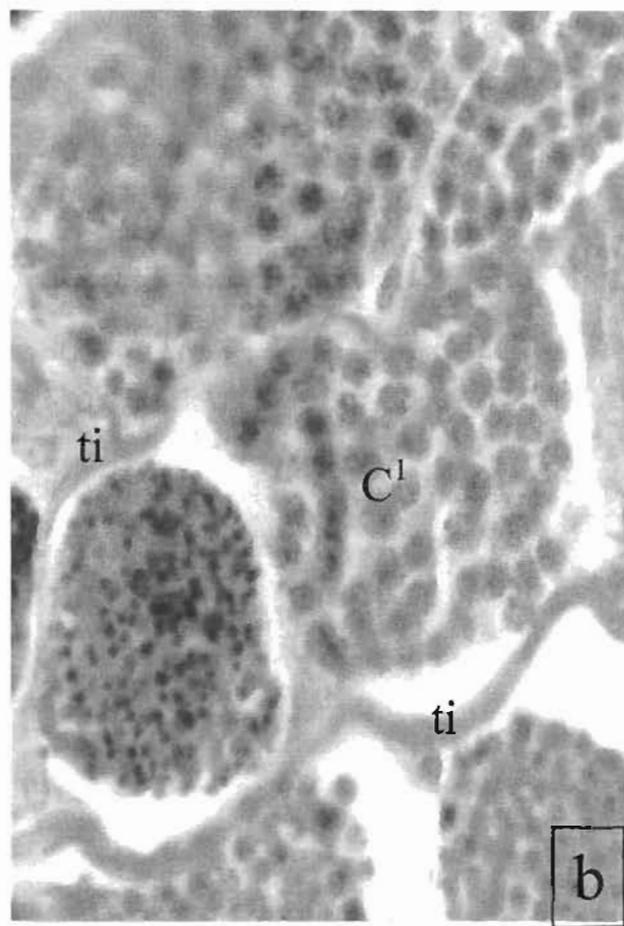
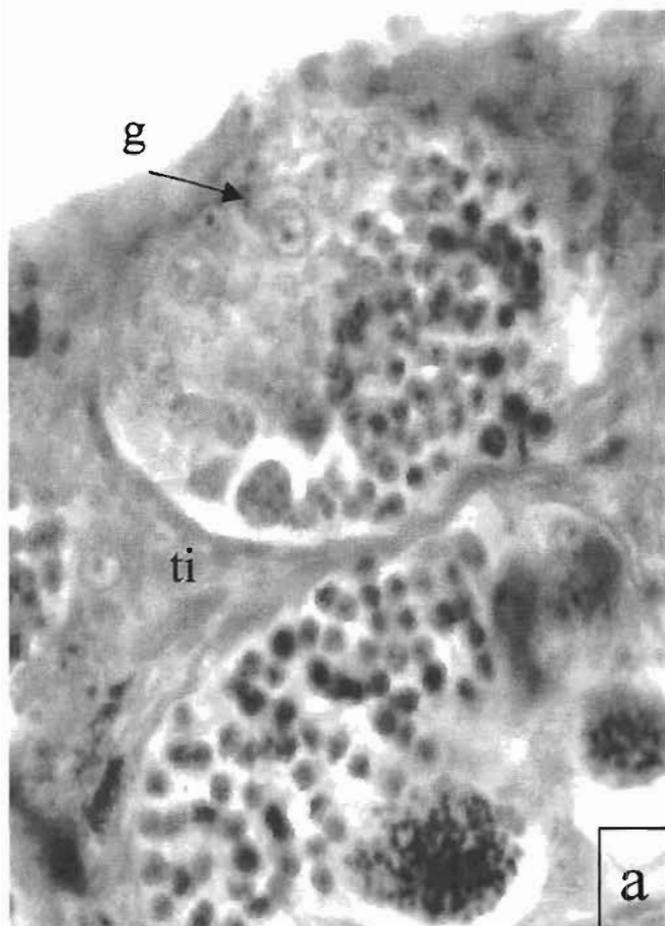
b) Quistes conteniendo espermatocitos primarios ( $C^1$ ) y espermátidas tempranas ( $t^1$ ). Tejido intersticial (ti).

c) Se observan espermatogonias (g), espermatocitos primarios ( $C^1$ ) y espermátidas tardías ( $t^2$ ), en la periferia del testículo y células Sertoli (S) rodeando los quistes de células germinales. Se observa tejido intersticial (ti).

d) Detalle de quistes con espermatocitos primarios ( $C^1$ ). Nótese la presencia evidente de los cromosomas en fase paquítena dentro de ellos.

Hematoxilina- Eosina a) 500 b) 500 c) 500 X d) 1250 X.

FIGURA 7



## **B. Estructura del ovario de *Girardinichthys multiradiatus* y sus cambios morfológicos durante un ciclo anual.**

El ovario *Girardinichthys multiradiatus* es único y situado centralmente en la cavidad abdominal. El ovario se encuentra suspendido por el mesovario a la pared dorsal de la cavidad abdominal, por detrás de la vejiga gaseosa. Su forma es ovoide ligeramente aplanado en sentido dorsoventral, su coloración varía de blanco a amarillento cuando es previtelogénico, a amarillento-grisáceo cuando es vitelogénico y gestante (Fig. 4b,c). El ovario es de tipo sacular y esta internamente dividido por un septo completo que va desde la región dorsal hasta la ventral y separa al lumen por la mitad (Fig. 8a). La pared del ovario presenta dos pliegues que se proyectan desde ambos lados hacia el lumen. Estos pliegues contiene el tejido ovígeno (Figs. 8a,b), por lo cual la ovogénesis ocurre exclusivamente en los pliegues ováricos, donde se desarrollan los diferentes estadios de maduración de los folículos.

El ovario se encuentra histológicamente formado, del exterior al interior, por serosa, constituida por epitelio peritoneal simple plano y tejido conectivo. Subyacente a la serosa se localiza una capa de músculo liso, en disposición circular, hacia el interior del músculo se observa tejido conectivo laxo, que rodea los folículos en diferentes estadios de desarrollo, interiormente, la pared del ovario está cubierta por el epitelio germinal de tipo cúbico o columnas. Después del apareamiento, el lumen puede contener espermatozoides. Durante la gestación, en el lumen ovárico se observan los embriones en desarrollo (Fig. 8d).

El epitelio que limita el lumen ovárico contiene, además de células somáticas, una membrana basal que se define claramente por ser positiva a la técnica de PAS (Figs. 9c). Las células germinales del epitelio son ovogonias y ovocitos primarios que han iniciado la meiosis (Fig. 9a). Durante esta fase temprana de la ovogénesis en el epitelio germinal ocurre la foliculogénesis, cuando se constituyen los folículos mediante la formación de la granulosa ó capa de células foliculares que rodean íntegramente al ovocito y de la membrana basal que separa a las células foliculares del tejido conectivo subyacente.

Las ovogonias tienen 9 $\mu$ m de diámetro promedio, se localizan exclusivamente en el epitelio germinal (Fig. 9a). Durante toda la fase de maduración folicular, el núcleo de los ovocitos primarios muestran los cromosomas plumosos, lo que indica la permanencia de la fase diplótena de la meiosis. La maduración de los folículos se desarrolla entre el tejido conectivo de los pliegues ovígeros, distinguiéndose seis estadios:

**1. Cromatina nucléolo:** los ovocitos presentan 21 $\mu$ m de diámetro promedio, con núcleo grande, esférico y nucléolo basófilo, con frecuencia se observa la presencia de cromosomas plumosos. El ovoplasma es hialino y escaso en relación al tamaño del núcleo. Las células foliculares son planas y rodean completamente al ovocito. (Figs. 9 b,c).

**2. Perinucléolos:** el ovocito muestra incremento en su volumen, alcanza 66 $\mu$ m de diámetro promedio. Se caracteriza por presentar un núcleo esférico y grande donde se encuentran varios nucléolos localizados en la periferia del núcleo. El ovoplasma es basófilo. Las células foliculares muestran características similares al estadio anterior (Figs. 9 a,b,c,d).

**3. Vitelo lipídico:** el ovocito alcanza un diámetro promedio de 115 $\mu$ m, muestra la formación progresiva de vesículas lipídicas dándole una apariencia vacuolar (Figs. 10a,b,c). El núcleo contiene nucléolos que mantienen su posición periférica, similar a la observada en el estadio anterior. En la periferia del ovocito se presenta la zona pelúcida delgada, densa y homogénea, intensamente PAS+. La presencia de la zona pelúcida sugiere el incremento en la transferencia de materiales entre el ovocito y las células foliculares. Estas aumentan de altura, observándose cúbicas con una altura promedio de 6 $\mu$ m. La teca rodea a la granulosa formada por tejido conectivo vascularizado y fibras de colágena.

**4. Vitelogénesis temprana con depósito de gránulos de vitelo:** el ovocito alcanza un diámetro promedio de 285 $\mu$ m, el núcleo es esférico y contiene nucléolos que mantienen su posición periférica. El ovoplasma contiene abundantes vesículas lipídicas distribuidas en todo el ovoplasma. Se distingue la formación inicial de plaquetas de vitelo esféricas y acidófilas (Figs. 10c,d). Las primeras plaquetas de vitelo se disponen en la periferia del ovoplasma. La zona pelúcida es similar a la observada en el estadio anterior y mantiene su reacción PAS+ (Fig. 10c). Las células foliculares son columnares (Fig. 10d), y se observan más altas que las observadas en el estadio anterior alcanzando una altura promedio de 8 $\mu$ m. La teca al igual que en el estadio anterior, rodea la granulosa formada por tejido conectivo vascularizado.

**5. Vitelogénesis avanzada con depósito de gránulos de vitelo:** el ovocito alcanza un diámetro promedio de 715 $\mu$ m. La plaquetas vitelinas, son esféricas e intensamente acidófilas (Figs. 11a,b), progresivamente aumentan en el ovoplasma, mostrando confluencia entre algunas de ellas, y formando grandes

glóbulos de vitelo, regularmente distribuidos (Fig. 11d). La zona pelúcida, las células foliculares y la teca son similares al estadio anterior.

**6. Maduración:** el ovocito alcanza un diámetro promedio de 850 $\mu$ m, progresivamente se fusionan las plaquetas vitelinas, formando grandes masas homogéneas de vitelo, hasta formar un solo cúmulo de vitelo fluido y homogéneo (Fig.11d), que llena el ovoplasma. Las células foliculares disminuyen su altura, se observan cúbicas con una altura promedio de 6 $\mu$ m.

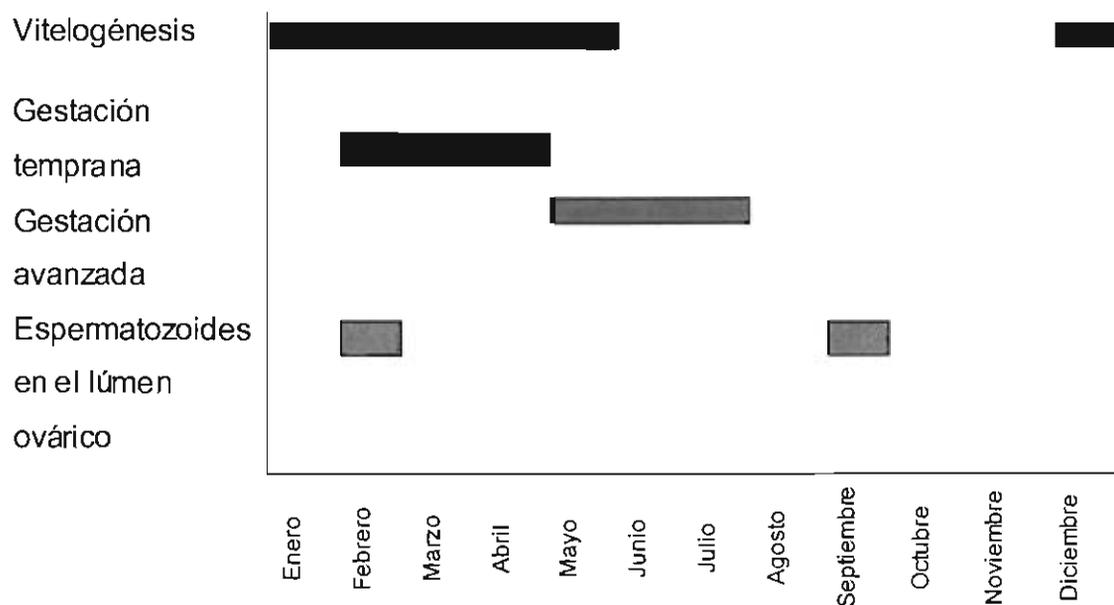
La atresia folicular está presente en todos los estadios de desarrollo de la ovogénesis, en los que se observan cambios morfológicos que caracterizan la degeneración del folículo que inicia su desarrollo pero no lo termina. Los folículos atrésicos manifiestan inicialmente plegamiento de la zona pelúcida (Figs. 12a,b) y posteriormente, su fragmentación. Las células foliculares proliferan y se hipertrofian (Figs. 12c) y, en etapas más avanzadas de atresia, se observa la disolución y disminución del ovoplasma (Fig. 12b).

La presencia de espermatozoides en el lumen ovárico, situados entre los pliegues ovígeros (Figs. 12c,b, 13a,b,c,d), se observó en los meses de febrero y septiembre (Fig. 15). En algunos casos los espermatozoides fueron muy abundantes, ocupando la mayor parte del lumen ovárico (Fig. 13a).

La presencia de embriones en estadios tempranos de gestación son evidentes durante los meses de febrero a abril, etapa que comprende las primeras divisiones celulares y la formación del tubo neural, momento en el que observa gran cantidad de vitelo en la región ventral del embrión (Figs. 14a,b). En los meses de mayo a junio se observa la presencia de embriones en estadio de desarrollo intermedio que muestra a los embriones en organogénesis intermedia, en este

estadio aun es evidente el vitelo (Fig. 14c), y los estadios avanzados de gestación donde se observa a los embriones en organogénesis avanzada, en los cuales no se observa vitelo (Fig. 14d). Los nacimientos de las crías se llevan a cabo durante el mes de julio hasta septiembre (Fig. 16).

Los cambios estructurales que sufre el ovario de *G. multiradiatus* durante un ciclo anual se indican en la Gráfica 2.



**Gráfica 2.** Cambios en las etapas reproductoras del ovario de *Girardinichthys multiradiatus* durante un ciclo anual.

**Figura 8.** Características generales de ovarios no gestantes (a,b,c) y gestante (d) de *Girardinichthys multiradiatus*.

a) Panorama de la pared ovárica con diferentes estados de maduración de folículos en los pliegues ovígeros (PO). Se observa el lumen ovárico (Lu) y el septo (s) que divide el lumen ovárico a la mitad.

b) Células germinales en los pliegues ovígeros en diferentes estadios de maduración. Ovocitos primarios en etapas de cromatina nucléolo (crn) y perinucleolo (pn). Tejido intersticial (ti) en los pliegues de la pared del ovario.

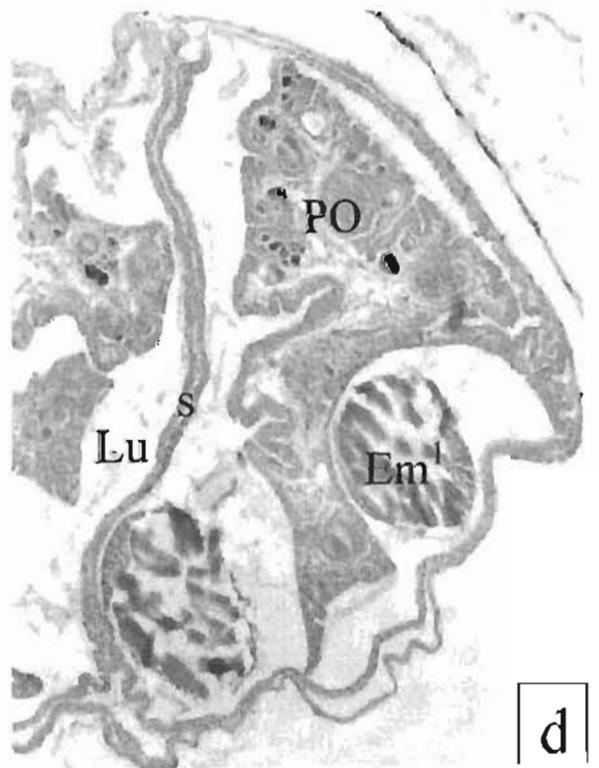
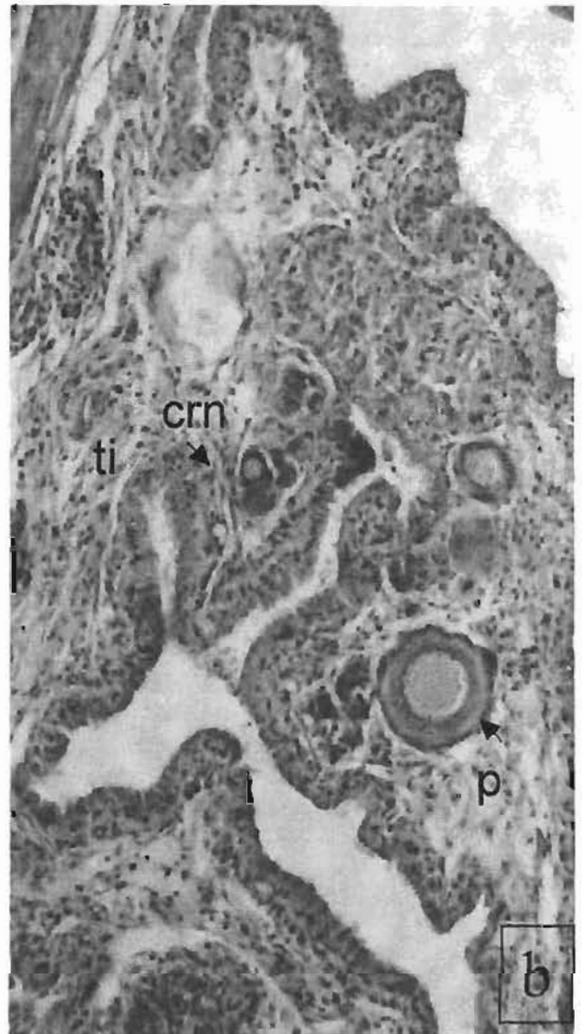
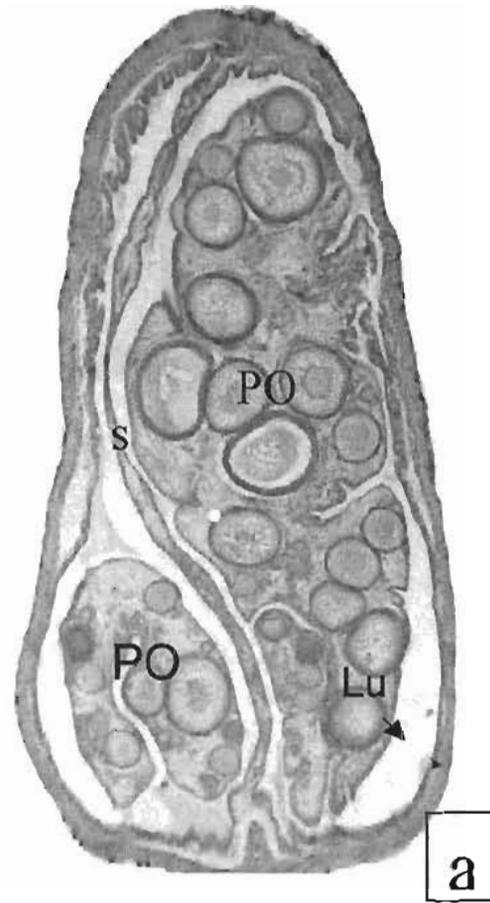
c) Ovocitos en estadios de vitelogénesis temprana, durante el inicio del depósito de las plaquetas lipídicas (vl). Septo (s) y espermatozoides (z) en el lumen ovárico (Lu).

d) Pliegues ovígeros (PO), septo (s), nótese la presencia de embriones en etapa temprana de desarrollo (Em<sup>1</sup>) en el lumen ovárico (Lu).

Hematoxilina- Eosina a) 32 X b) 78 X c) 200 X

Tricrómica de Masson d) 78 X

FIGURA 8



**Figura 9.** Ovogénesis en ovario de *Girardinichthys multiradiatus*

a) Se observan ovogonias (o), localizadas en el epitelio germinal (eg), en nidos de ovocitos tempranos. En el tejido intersticial se observan ovocitos en estadio de núcleo vitelino (nv).

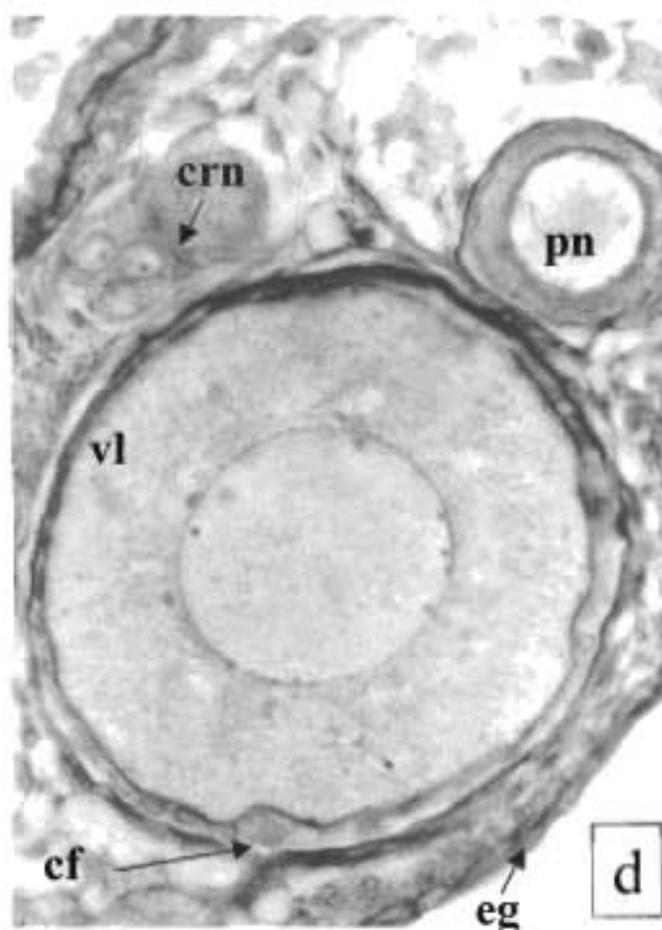
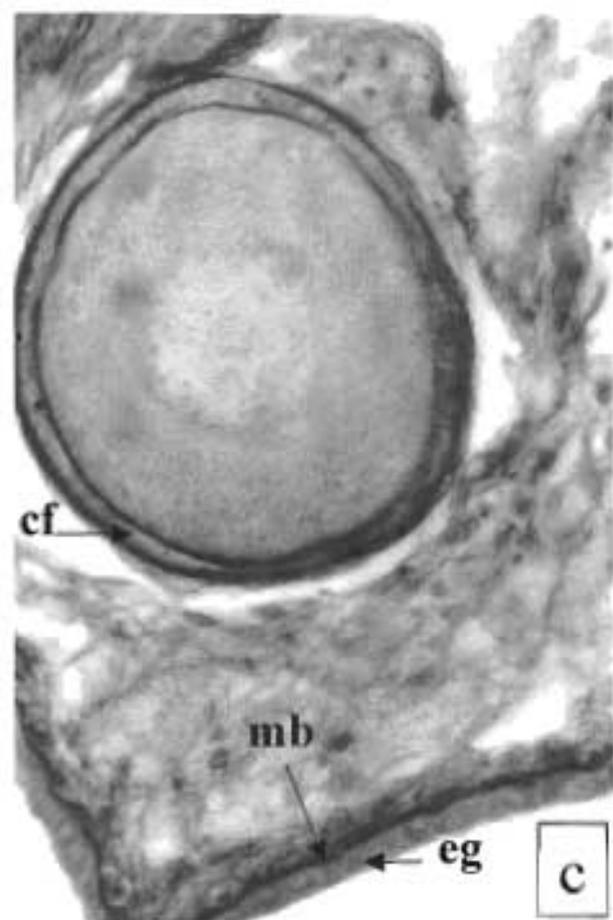
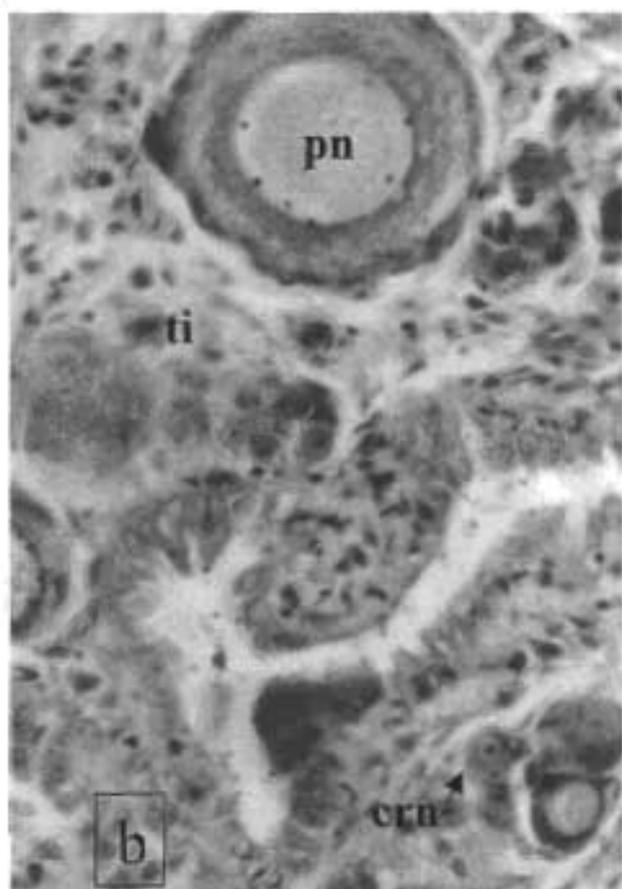
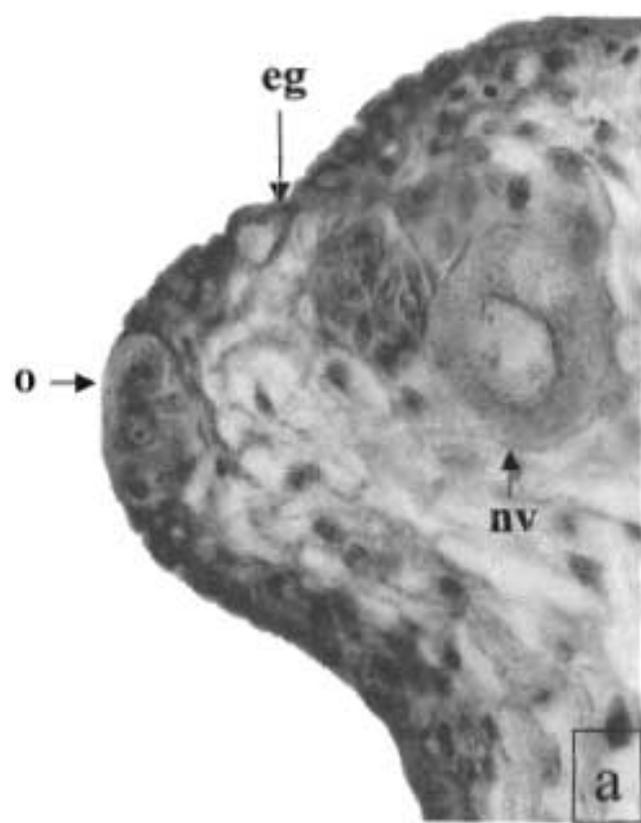
b) Se observa un ovocito en el estadio de perinúcleo (pn). En el tejido intersticial (ti) se observan ovocitos en estadio de cromatina núcleo (crn).

c) El epitelio germinal (eg) es evidente, limitado por la membrana basal (mb). En el tejido intersticial (ti) se observa un ovocito en estadio de perinúcleo (pn), le rodean las células foliculares (cf).

d) Ovocitos en etapa temprana de formación de vesículas lipídicas (vl) y un ovocito en perinúcleo (pn). Las células foliculares (cf) forman una capa continua alrededor del ovocito, es evidente el epitelio germinal (eg).

Hematoxilina- Eosina    a) 200 X    b) 500 X    PAS c) 500 X    d) 500

FIGURA 9



**Figura 10.** Ovocitos en etapa de formación de vitelo lipídico de *Girardinichthys multiradiatus*

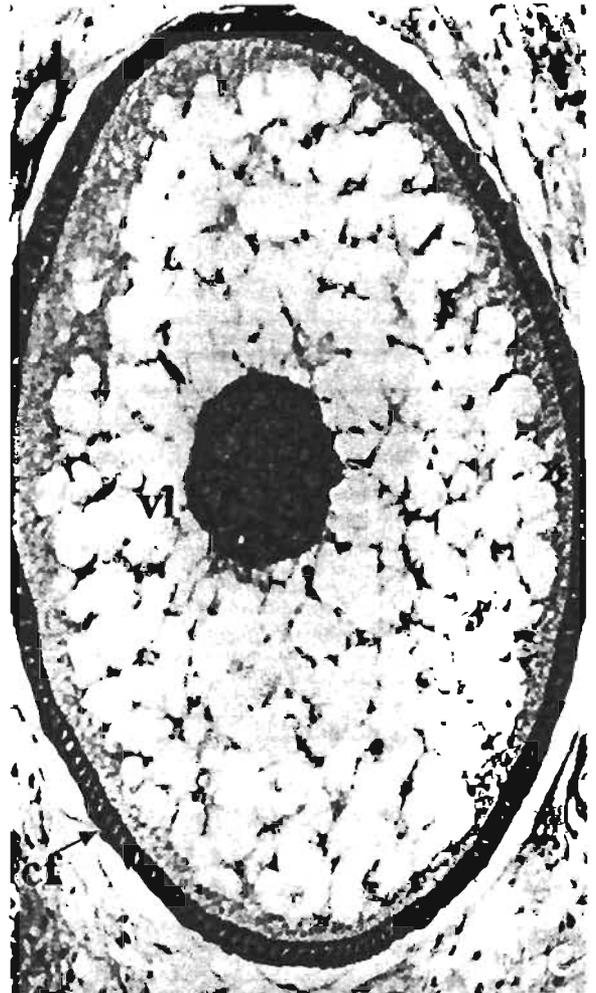
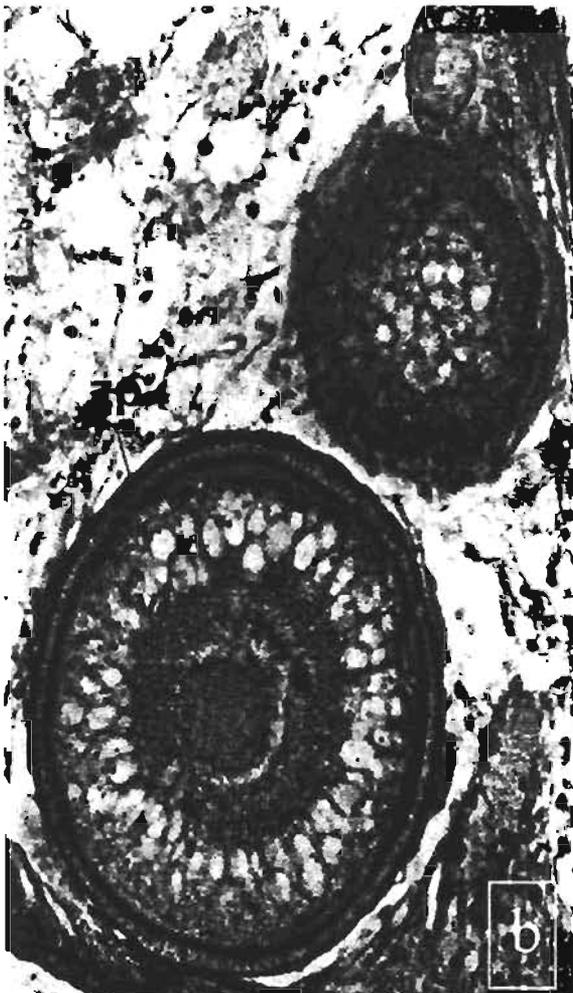
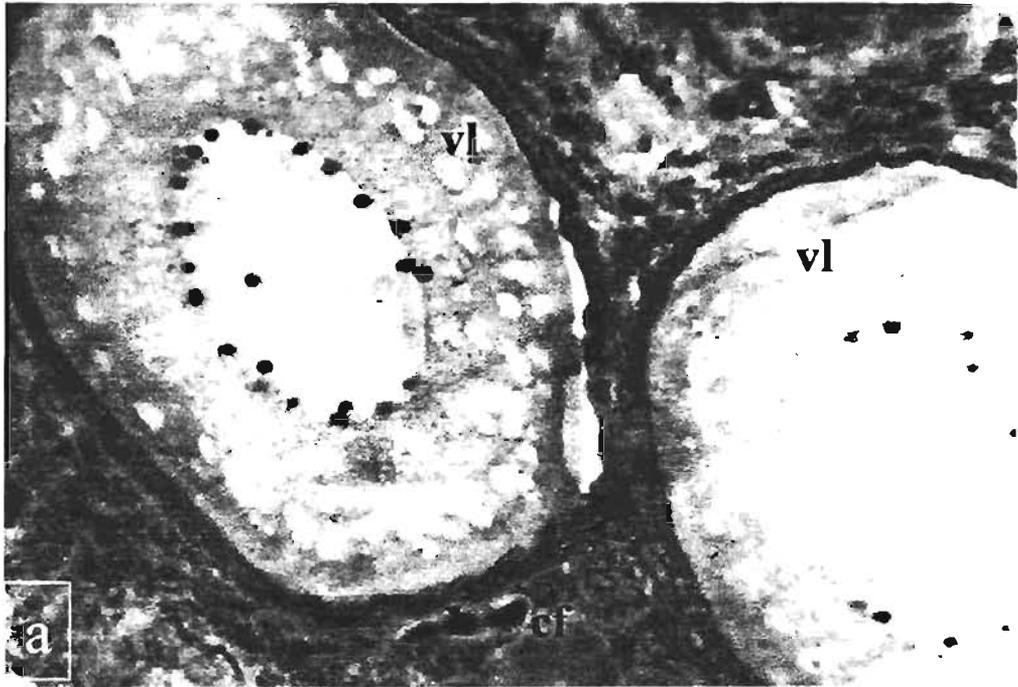
a) Ovocitos que muestran el depósito de vesículas lipídicas (vl) en el ovoplasma. El núcleo muestra los nucléolos periféricos y las células foliculares (cf) son alargadas.

b) Ovocitos en los que es evidente el incremento en la formación de vesículas lipídicas (vl). La zona pelúcida (zp) se define con claridad entre el ovocito y las células foliculares (cf).

c) Ovocito en depósito de vitelo lipídico (vl) que ocupa la mayor parte del ovoplasma. En la periferia del ovoplasma se muestra la formación de los primeros gránulos de vitelo. Las células foliculares (cf) forman una capa columnar.

PAS a) 500X      Hematoxilina – Eosina    b) 200 X    c) 200X

FIGURA 10



**Figura 11.** Folículos en vitelogénesis de *Girardinichthys multiradiatus*

a) Ovocito que muestra el aumento progresivo de los gránulos de vitelo (vt) en número y tamaño. Asimismo, se observa el incremento de altura de las células foliculares (cf). La zona pelúcida (zp) es evidente. Se observan abundantes vasos sanguíneos de la teca (T).

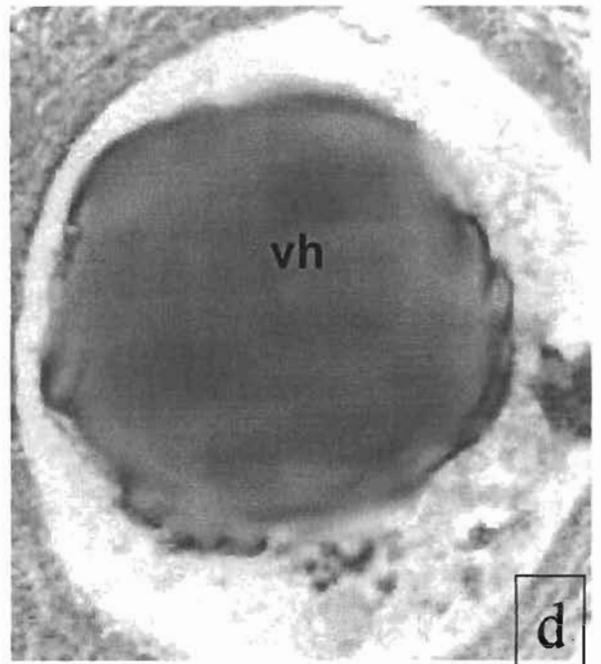
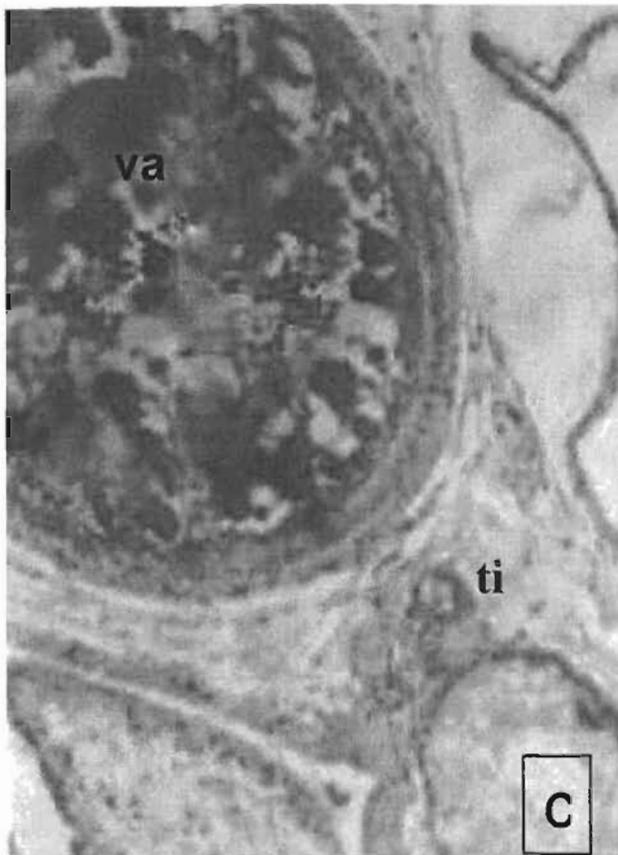
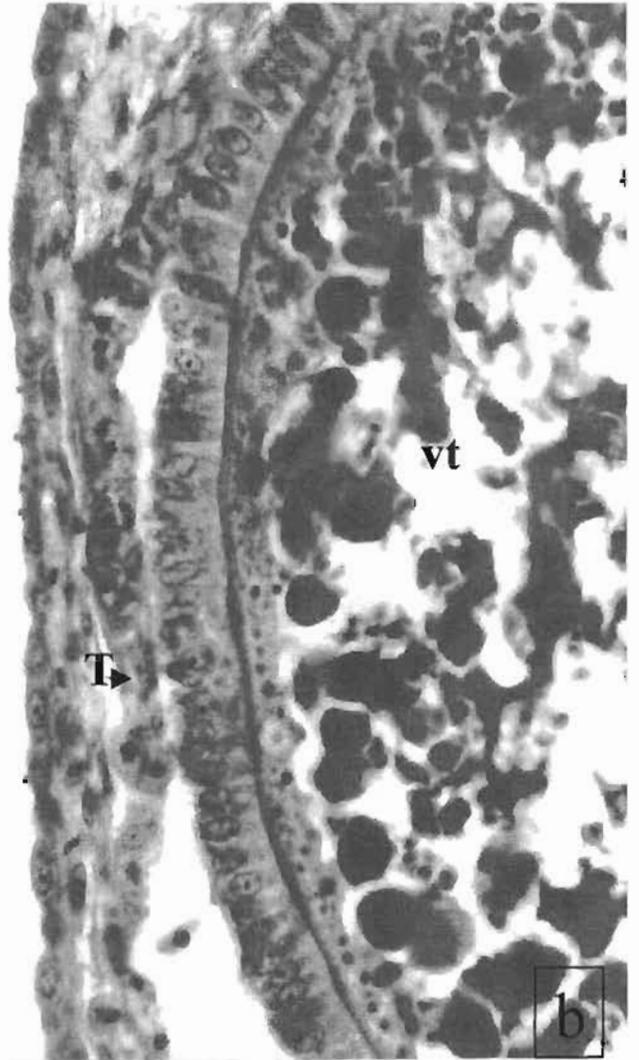
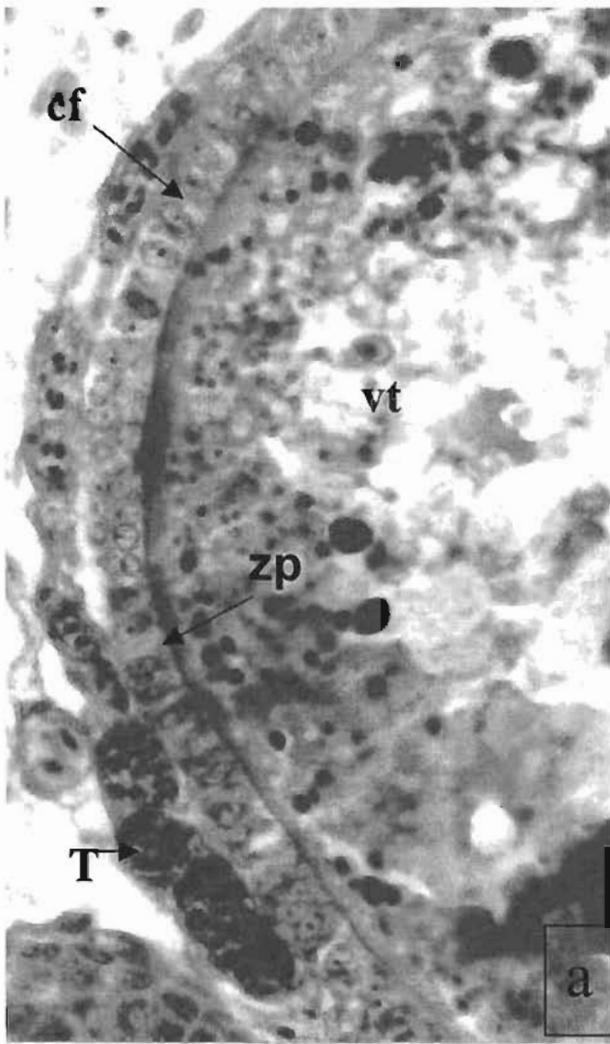
b) Ovocito que contiene plaquetas vitelinas (vt). Muestra en su periferia la capa de células foliculares (cf) de forma columnar y la teca (T).

c) Ovocito con abundantes gránulos de vitelo parcialmente homogéneo durante la vitelogénesis avanzada (va). Se observa el tejido intersticial (ti).

d) Etapa final de maduración folicular con la formación de vitelo homogéneo (vh).

Hematoxilina – Eosina a) 500X b) 500X c) 78 X d) 200 X

FIGURA 11



**Figura 12.** Folículos atrésicos en diferentes estadios de maduración folicular de *Girardinichthys multiradiatus*

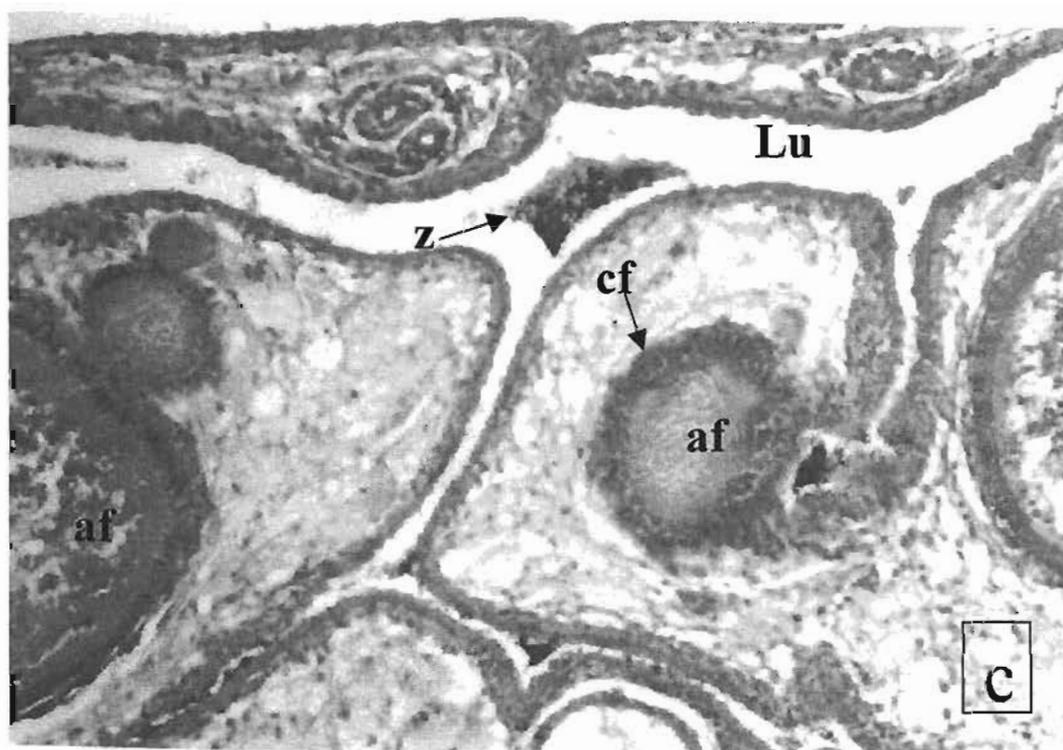
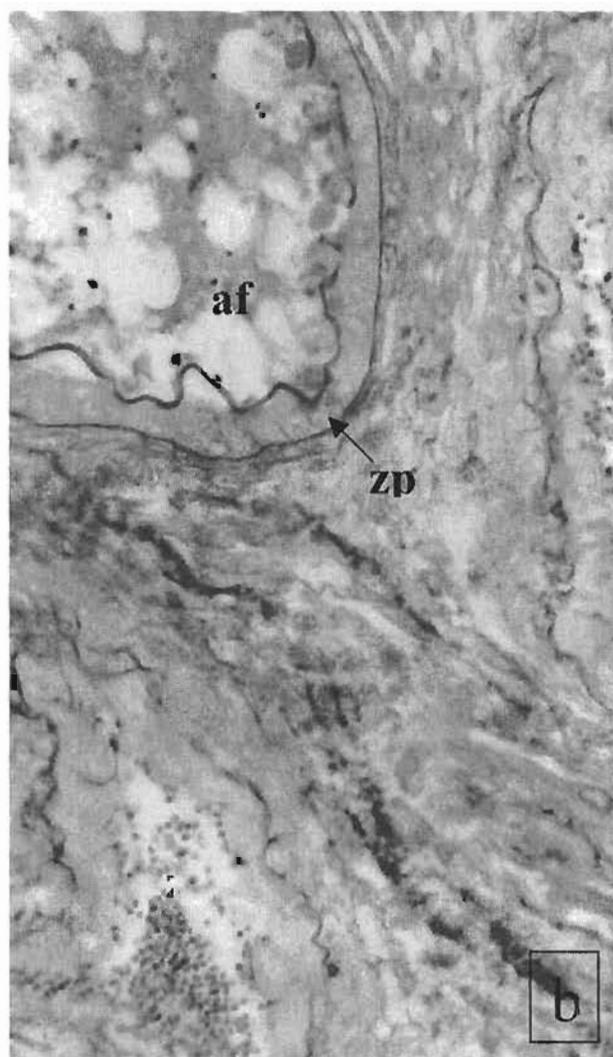
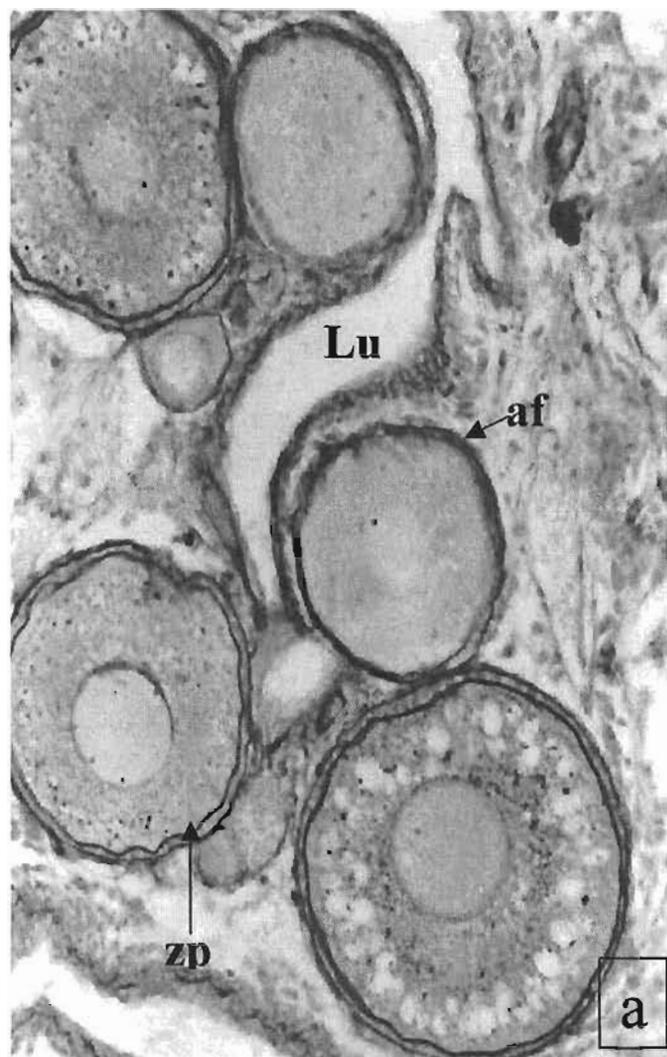
a) Folículos en atresia folicular (af), mostrando plegamiento y deformación de la zona pelúcida (zp). Se observa el lumen ovárico (Lu).

b) Folículo atrésico (af) con evidente plegamiento de la zona pelúcida (zp). Se observa el lumen ovárico (Lu) que contiene espermatozoides (z) en cúmulos irregulares.

c) Folículos atrésicos (af) que muestran la proliferación de las células foliculares (cf) y reducción del ovoplasma. Se observan espermatozoides (z) en el lumen ovarico (Lu).

PAS a) 200 X                      Hematoxilina – Eosina      b) 500X      c) 78 X

FIGURA 12



**Figura 13.** Presencia de espermatozoides en el ovario de *Girardinichthys multiradiatus*

a) El lumen ovárico (Lu) está ocupado por abundantes espermatozoides (z). Compare la mayor abundancia de espermatozoides en el lumen ovárico (Lu), con los observados en la siguiente Figura (13b).

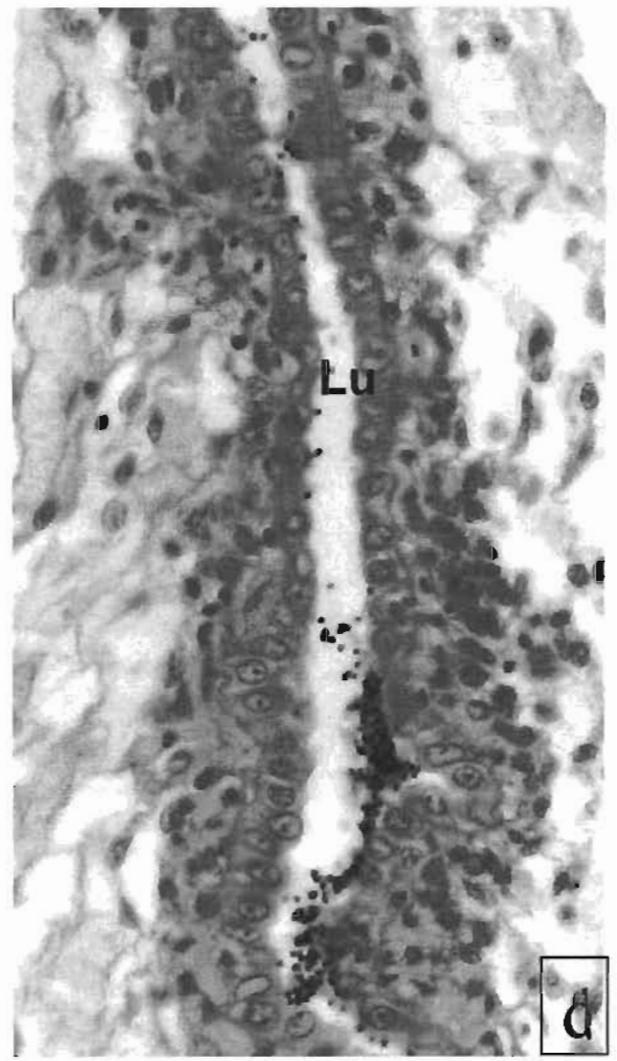
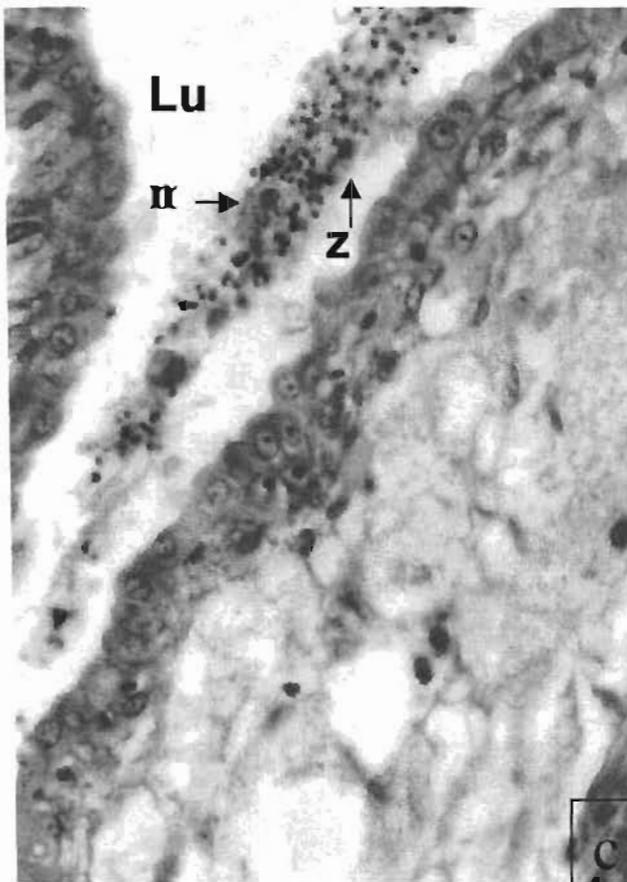
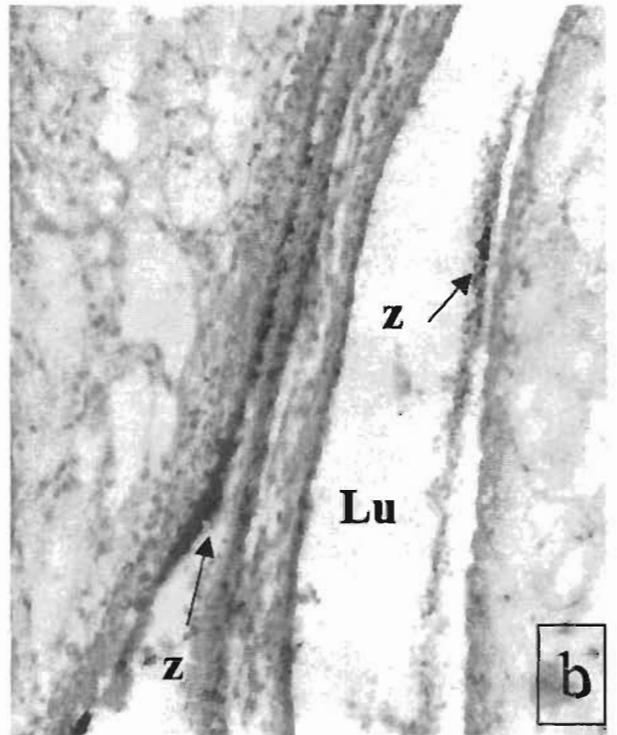
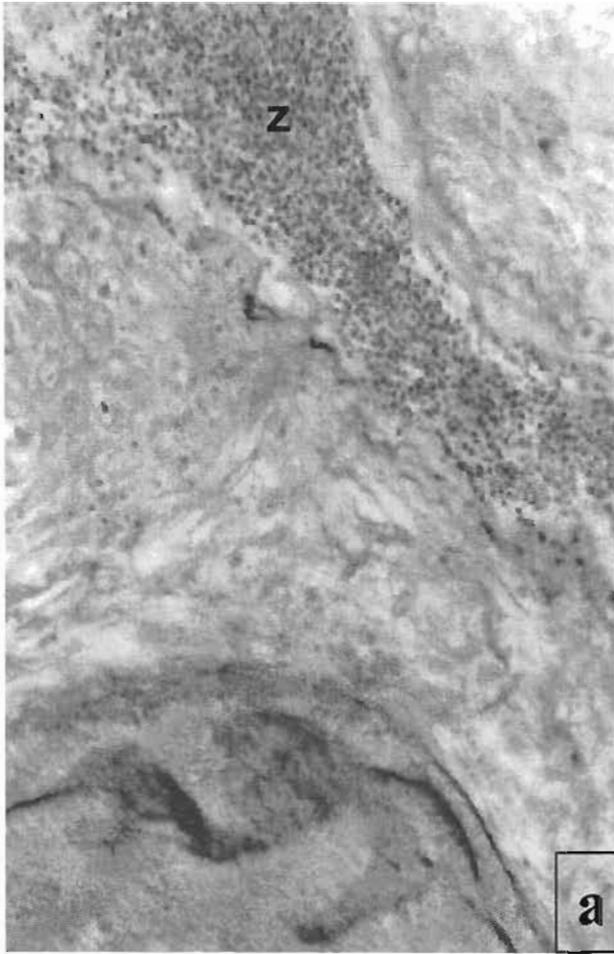
b) Se observa la presencia de espermatozoides (z) dispersos en el lumen ovárico (Lu).

c, d) Detalles del lumen ovárico (Lu) con espermatozoides (z) entre los pliegues de la pared del ovario (PO), y la presencia de macrófagos (m) entre los espermatozoides.

Tricrómica de Masson a) 500 X PAS b) 78 X

Hematoxilina – Eosina c) 500X d) 500X

FIGURA 13



**Figura 14.** Ovarios gestantes de *Girardinichthys multiradiatus*

a, b) Presencia de embriones en estadios tempranos (Em1) durante la formación del tubo neural, aun se observa gran cantidad de vitelo (Vi) en la región ventral del embrión.

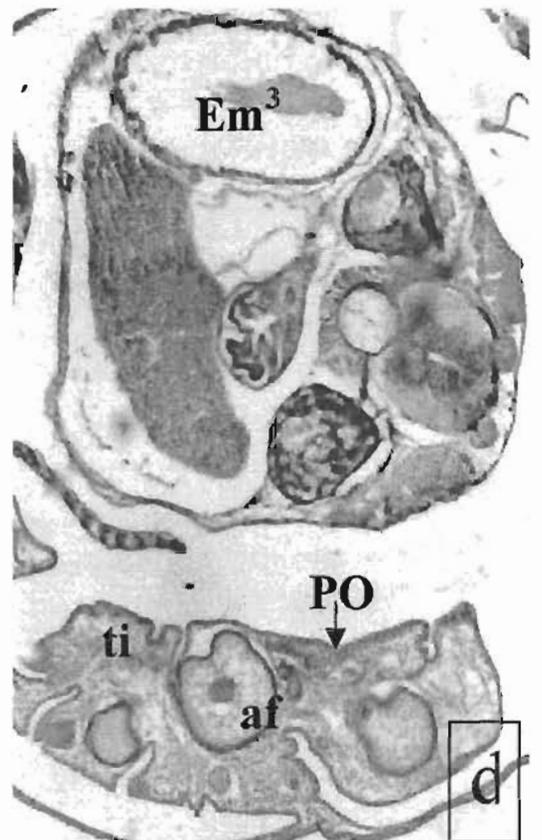
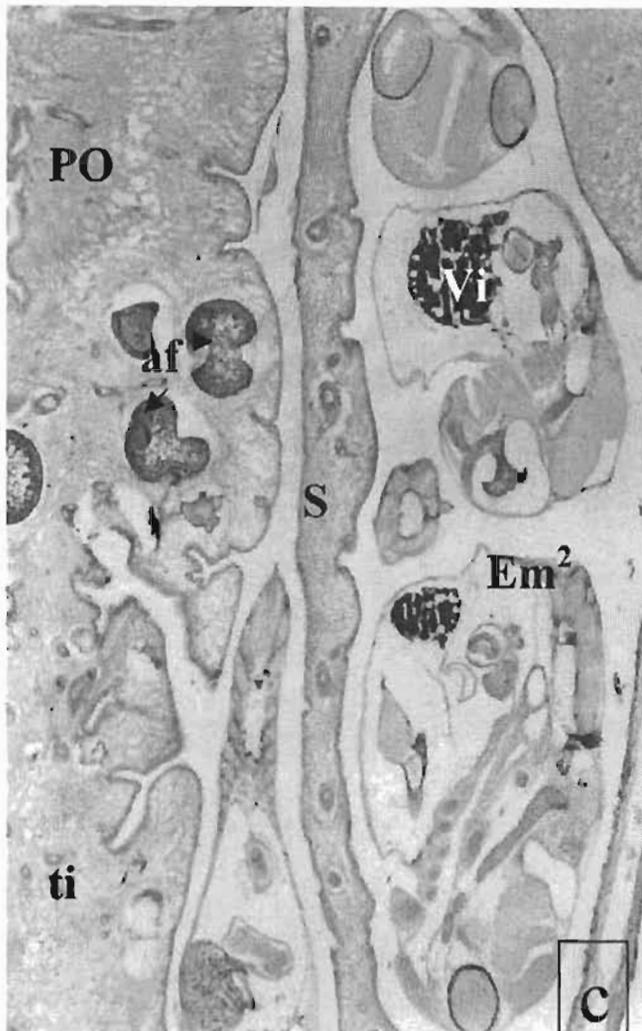
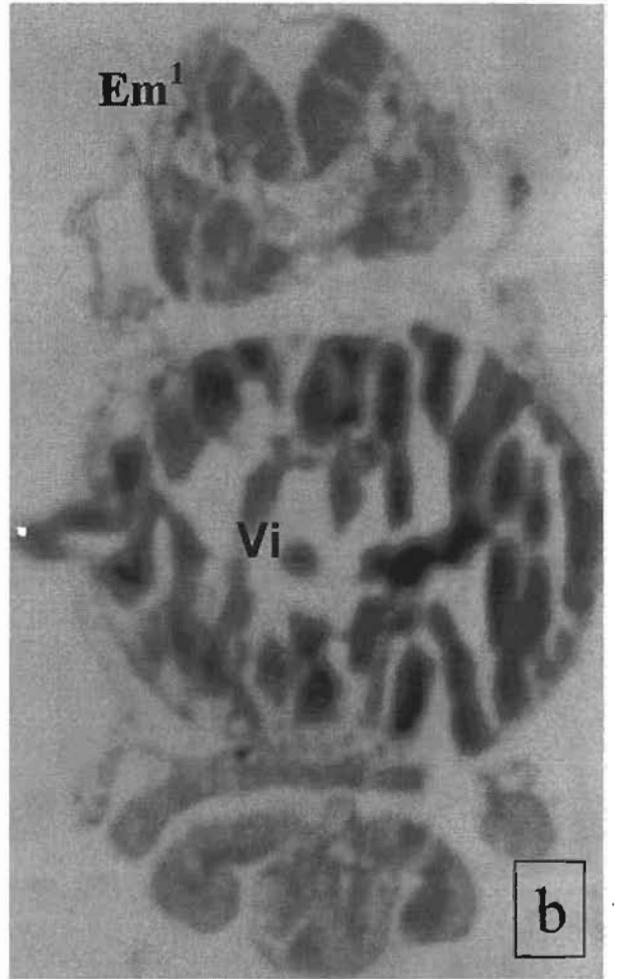
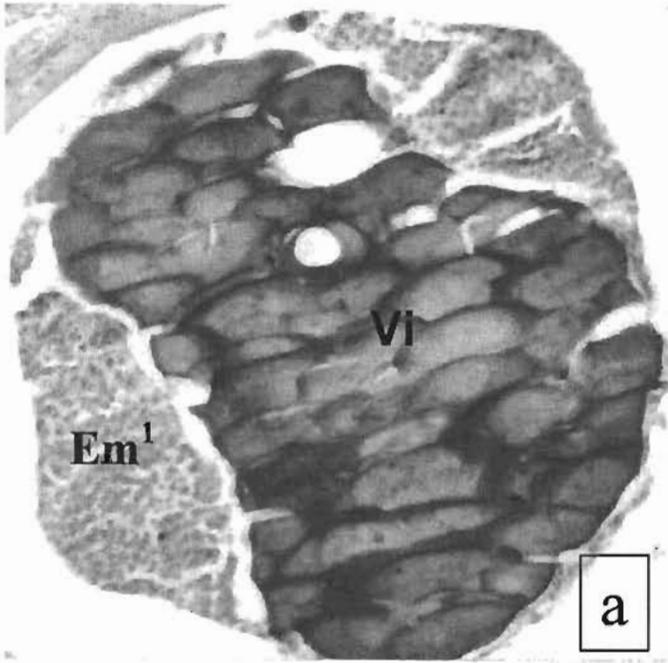
c) Presencia de embriones en estadio de desarrollo intermedio (Em2), aun es evidente el vitelo (Vi) en la región ventral del embrión. Nótese la presencia del septo (s) y de un pliegue ovárico (PO), con algunos folículos atrésicos (af) y abundante tejido intersticial (ti).

d) Presencia de un embrión en estadio avanzado de gestación (Emb3). Nótese la ausencia de vitelo. Se observa un pliegue ovárico (PO) con algunos folículos atrésicos (af) y abundante tejido intersticial (ti).

Hematoxilina – Eosina a) 500 X Tricrómica de Masson b) 500 X PAS c) 78 X

Hematoxilina – Eosina d) 78 X

FIGURA 14



## VII. DISCUSION

### A. MACHOS DE *Girardinichthys multiradiatus*.

Las características reproductivas de los machos de *Girardinichthys multiradiatus* coinciden, en lo general, con las descritas en otras especies de teleósteos vivíparos como *Ameba splendens* y *Xenotoca eiseni* (Grier, 1993). Estas características son: el tipo testicular, la morfología de las células germinales, el desarrollo de espermatozoides sin encapsular (espermatozeugmata), y los cambios estacionales del testículo.

El tipo de testículo observado en *G. multiradiatus* es lobular restringido. Su condición lobular se debe a la disposición de los lóbulos testiculares que terminan de manera ciega y sin ramificarse. Su condición lobular restringida se debe a la disposición de las espermatogonias en la periferia del testículo ya que se sitúan exclusivamente en la periferia, coincidiendo con lo descrito en las especies de goodeidos: *Ameba splendens*, *Xenotoca eiseni* (Grier, 1993), así como *Characodon lateralis* y *Ataenobius toweri* (Parenti y Grier, 2004). El tipo testicular lobular restringido es también característico de las especies del orden Atheriniformes, como lo menciona Grier (1978,1981). A su vez Parenti y Grier (2004) consideran que este tipo testicular es un carácter diagnóstico de los Neoteleosteos, en contraste con el tipo testicular presente en teleósteos más primitivos como celacantos, pejelagartos y salmónidos, que poseen testículo tubular no restringido.

La espermatogénesis en *G. multiradiatus* determina las características de la estructura microscópica del testículo, la cual se desarrolla de manera longitudinal,

desde la periferia hacia el conducto deferente central, de manera similar a lo observado, en general, en teleósteos (Billard, 1986; Grier, 1981, 1993).

Es también característica morfológica, observada en *G. multiradiatus*, similar a la descrita por diversos autores en teleósteos vivíparos (Billard, 1969 y 1986; Carrillo y Zanuy, 1977; Grier, *et al.* 1980, Grier, 198; Parenti y Grier, 2004), la disposición de las células germinales en grupos sincrónicos llamados quistes. Grier (1993) considera que la barrera de permeabilidad que forman las células de Sertoli definen las condiciones hormonales internas del quiste, lo que permite la diferenciación de las células germinales.

Grier (1992,1993), compara esta relación estructural entre las células de Sertoli con las células germinales, no solamente en los peces, sino en el contexto de los vertebrados, considerando que es el origen del aislamiento de las células germinales del estroma, mediante el papel de barrera de permeabilidad y, en consecuencia, formando los dos compartimentos de los testículos de vertebrados.

Las células de Sertoli de *G. multiradiatus* muestran diferente morfología cuando rodean a las espermatogonias y espermatocitos, como células aplanadas que limitan los quistes, y columnares cuando rodean a las etapas de espermátidas y espermatozoides, limitando conductos. Este cambio de morfología puede indicar su capacidad secretora en los conductos, de acuerdo a lo que menciona Grier (1993). La presencia de membrana basal alrededor de las células de Sertoli también sugiere, tanto su naturaleza epitelial, como su papel de barrera de permeabilidad.

El acomodo de las espermátidas y espermatozoides en *G. multiradiatus* dentro de los quistes es de forma irregular, coincidiendo con lo observado en otra

especie de goodeido, *Ilyodon whitei* (Yáñez, 1998). Este acomodo es diferente al descrito en los teleósteos también vivíparos, como los poeciliidos en los cuales se observa una disposición regular de los espermatozoides al interior del quiste, también coincidiendo con lo descrito en *Poeciliopsis gracilis* (Yáñez, 1998). Grier (1978, 1993), y Billard (1986), sugieren que el acomodo irregular ocurre cuando la relación de los espermatozoides con las células de Sertoli se establece con el flagelo en tanto que, en el acomodo regular las cabezas de los espermatozoides se asocian con las células de Sertoli dirigiendo sus cabezas hacia la periferia del quiste.

La formación de espermatozeugmata observada en *G. multiradiatus*, es característica de los goodeidos vivíparos como especies, en las cuales la fecundación es interna. La formación de espermatozeugmata se ha descrito en estrecha relación a la fertilización interna observada en especies del orden Atheriniformes por Turner (1941), Burns (1991) y, en particular, en especies de goodeidos por Grier (1978). Esta característica se ha relacionado con el mejor desplazamiento de los espermatozoides en el camino hacia el ovario durante la fertilización interna (Grier, 1978,1981).

La fertilización interna en *G. multiradiatus* muestra una de las adaptaciones fundamentales que han ocurrido en los machos de los teleósteos vivíparos, que permite el apareamiento y la entrada eficiente de los espermatozoides al sistema reproductor femenino, al ovario. Esta adaptación consiste en el desarrollo del gonopodio, transformación de varios radios de la aleta anal, que forman una estructura en forma de eje. Burns (1997) analiza la estructura del gonopodio en varias especies de teleósteos con fecundación interna. La fecundación interna es

intraovárica ya que durante el apareamiento, los espermatozoides se depositan directamente en el ovario, debido a la ausencia de oviducto (Wourms y Lombardi, 1992; Wourms, et al. 1988).

*G. multiradiatus* presenta a lo largo de todo el año todos los estadios tempranos de células germinales (ovogonias y espermatoцитos) en el testículo. En los meses de diciembre a abril son más abundantes las espermatidas y espermatozoides en el conducto deferente central, sin disminución de tamaño del testículo. Este ligero cambio estacional difiere del observado en *Ilyodon whitei* (Yáñez, 1998), especie en la que se presenta mayor reducción del tamaño del testículo, mostrando la presencia de estadios tempranos de células germinales como espermatoцитos primarios y muy escasas células germinales de estadios avanzados de la espermatogénesis, como espermatidas y espermatozoides.

## **B. HEMBRAS DE *Girardinichthys multiradiatus***

El ovario de *Girardinichthys multiradiatus* es único y sacular, similar a lo mencionado para las especies de teleósteos vivíparos descritos por Turner (1938), Mendoza (1965), Hoar (1969), Wourms (1981), Nagahama (1983), Wourms et al. (1988), De la Rosa Cruz (2001), Uribe et al. (2004, 2005). El origen de este tipo de ovario único ha sido mencionado por Hoar (1969) y Wourms (1981) quienes afirman que, en la mayoría de los teleósteos vivíparos, el ovario se origina como estructuras pareadas, pero durante el desarrollo embrionario se fusionan, formando uno solo, exceptuando el caso de especies de los géneros *Sebastodes* (Scorpaeniformes), *Dermogenys* (Atheriniformes) y *Stygicola* (Ophidiiformes), en los cuales los ovarios son dobles ó están parcialmente fusionados (Wourms 1981).

Otra característica anatómica esencial del sistema reproductor femenino de *G. multiradiatus*, similar a lo descrito en los peces teleósteos, a diferencia de lo que ocurre en los demás vertebrados, es la ausencia de oviductos derivados del conducto de Müller (Hoar, 1969; Wake, 1985; Wourms et al. 1988, Uribe et al., 2005), por lo cual, el ovario es el sitio de gestación.

El ovario de *G. multiradiatus* es de tipo derivado, de acuerdo a lo propuesto por Hubbs y Turner (1939), para la subfamilia Girardinichthyinae a la cual pertenece esta especie. El ovario derivado hace referencia a características morfológicas de la pared ovárica y el septo. Estas características se refieren a la formación de plegamientos en la pared del ovario y la presencia de tejido ovígero (el tejido que contiene células germinales). El ovario de *G. multiradiatus* muestra solamente dos pliegues hacia el lumen, uno a cada lado de la pared ovárica, en los que exclusivamente se localiza el tejido ovígero; en cuanto al septo, es completo, sin pliegues y carente de tejido ovígero.

Godínez (1991), menciona que los pliegues ovígeros de *G. multiradiatus* se localizan en la porción dorso-lateral del ovario. Sin embargo, en nuestros resultados se observó que los pliegues ovígeros se encuentran en la porción media lateral de la cavidad ovárica, coincidiendo con la posición de los pliegues ovígeros descrita en *Ilyodon whitei* (De la Rosa Cruz, 2001).

La composición histológica de la pared ovárica de *G. multiradiatus* es similar a la descrita en otras especies de goodeidos como *Skiffia* (= *Neotoca*) *bilineata* (Mendoza, 1943), *Ameca splendens* (Lombardi y Wourms, 1985), *I. whitei* (De la Rosa Cruz, 2001).

El septo de *G. multiradiatus* que atraviesa al ovario, recto y completo, es similar al descrito en *Skiffia* (=Neotoca) *bilineata* (Hubbs y Turner, 1939), e *I. whitei* (De la Rosa Cruz, 2001). En contraste con esta estructura del septo, otras especies de goodeidos lo muestran plegado como *Allophorus robustus* (Hubbs y Turner, 1939) y *Goodea atripinnis* (Uribe et al., 2005); ó en las especies en las que el septo no es completo, formando dos pliegues hacia el lumen ovárico que permiten la comunicación entre ambas partes de la cavidad ovárica, como en *Ataenobius toweri*, *Neophorus diazi*, *Xenophorus captivus* (Hubbs y Turner, 1939). Ambas características morfológicas del ovario, tanto la pared ovárica, como el septo, han sido analizadas por Hubbs y Turner (1939), Wourms (1981), Wourms et al. (1988), utilizándolas en estudios taxonómicos. Estos autores consideran que los ovarios de Goodeidos que presentan ambas características, la pared ovárica con tejido ovígero exclusivamente en dos pliegues, y el septo completo, recto y carente de tejido ovígero, muestran los caracteres más evolucionados, como es el caso de *G. multiradiatus*.

El epitelio ovárico de *G. multiradiatus* es el sitio donde se encuentran las ovogonias, las cuales inician el proceso meiótico, transformándose en ovocitos, los que posteriormente, formaran folículos primarios en la foliculogénesis cuando se rodean de células foliculares, limitadas por una membrana basal coincidiendo con Mendoza (1940), quien describe este proceso con claridad en *Skiffia* (=Neotoca) *bilineata*. El proceso de foliculogénesis ha sido descrito, de manera similar, por Grier (2000), en un teleósteo ovíparo, *Centropomus undecimalis*, sugiriendo un proceso similar de foliculogénesis, en los peces en particular, y en los vertebrados en general. Los folículos primarios se rodearán de estroma, que constituye las

tecas, durante la continuación del proceso de ovogénesis, que aportan los elementos necesarios para el metabolismo del folículo mediante los abundantes vasos sanguíneos que contienen (Wourms, 1981; Wourms et al., 1988).

Durante la ovogénesis en los peces teleósteos ovíparos se forman ovocitos con abundante vitelo, mediante una activa vitelogénesis. Esta riqueza de vitelo, permite contener los elementos nutricionales necesarios para el desarrollo de la cría hasta su nacimiento. En relación a los peces vivíparos, el proceso de ovogénesis forma ovocitos en los cuales se observa disminución de la cantidad de vitelo, característica que se relaciona con la retención de las crías en el cuerpo materno, condición que permite el intercambio metabólico entre la madre y la cría durante la gestación (Turner, 1938; Mendoza, 1940, 1943; Wourms, 1981; Wourms et al., 1988). Este cambio nutricional en el proceso de desarrollo de las crías define una mayor dependencia de la cría en relación a los tejidos ováricos. En este sentido, el epitelio ovárico es la estructura de comunicación directa con las crías, siendo la barrera de permeabilidad entre los vasos sanguíneos y el lumen ovárico. El epitelio luminal, a la vez, muestra características de actividad secretora, que vierten sus contenidos al lumen. Sin embargo, son escasos los estudios realizados sobre la estructura del ovario y el proceso de ovogénesis en peces vivíparos.

El proceso de ovogénesis en *G. multiradiatus*, considerando las características morfológicas de los ovocitos como: la talla, la forma y estructura de núcleo y nucléolo, del ovoplasma y la vitelogénesis, de la zona pelúcida y las células foliculares, es básicamente similar al observado en otras especies de teleósteos, tanto ovíparos como lo describen Yamamoto y Yamazaki (1961),

Carrillo y Zanuy (1973), Wallace y Selman (1981, 1990), Tyler y Sumpter (1996), (Bailey 1933; Mendoza 1940, Thibault y Schultz 1978, como vivíparos, en particular, en goodeidos como lo describen Mendoza (1940, 1943) en *Skiffia* (= *Neotoca*) *bilineata*, Wourms et al. (1988) en *Ameca splendens*, y De la Rosa Cruz (2001) en *Ilyodon whitei*.

Durante los meses de diciembre a abril, ocurre la vitelogénesis en las hembras de *G. multiradiatus*, lo que concuerda con la actividad de los machos, que presentan abundantes espermátidas en quistes, y espermatozoides en el conducto deferente central, características que indican la etapa de apareamiento. Los ovarios gestantes se observaron desde febrero hasta junio culminando en julio con los nacimientos.

Al comparar los cambios anuales de la ovogénesis y la espermatogénesis se observó que existe un cambio estacional que permite el apareamiento, cuando ambos sexos se encuentran en la etapa de máximo desarrollo gamético durante los meses de diciembre a abril, cuando la ovogénesis se encuentra en etapa de vitelogénesis avanzada y la espermatogénesis se encuentra con las células germinales tardías y abundantes e espermatozoides en los conductos deferentes, condición adecuada para que se lleve a cabo la fertilización interna. Esta observación indica que *G. multiradiatus*, es una especie en la cual las gametogénesis masculina y femenina son sincrónicas, es decir, macho y hembra alcanzan la maduración de los gametos en la primavera. Durante los meses de febrero y marzo se observan estadios tempranos de gestación y la presencia de espermatozoides es aún evidente en el lumen ovárico. Cabe hacer notar que en febrero se observó un ovario de *G. multiradiatus* con el lumen lleno de

espermatozoides, característica no ilustrada previamente en la literatura, lo que sugiere corresponde a una hembra colectada inmediatamente después del apareamiento.

El análisis histológico de las gónadas y la gametogénesis realizado en *G. multiradiatus* pone de manifiesto la importancia del estudio de la biología reproductora de los teleósteos vivíparos y de los aspectos morfológicos de los sistemas reproductores, aspectos que, se integran al análisis de la evolución de la viviparidad en vertebrados.

## VIII. CONCLUSIONES

### Espermatogénesis

1. El tipo de testículo que presenta *Girardinichthys multiradiatus* es lobular con espermatogonias restringidas a la periferia.
2. La espermatogénesis es longitudinal y quística.
3. La disposición de los espermatozoides es en grupos llamados espermatozeugmata.
4. El acomodo de las espermátidas y espermatozoides dentro de los quistes es de forma irregular.
5. Los meses con mayor actividad espermatogénica son de enero a julio.
6. La regionalización del testículo, muestra la región germinal en el extremo cefálico del testículo y la región de almacenamiento de espermatozoides y espermiación en la parte caudal del testículo.

### Ovogénesis

1. El ovario de *Girardinichthys multiradiatus* es único, sacular y del tipo derivado.
2. La ovogénesis presenta 6 estadios de maduración.
3. Las ovogonias se restringen al epitelio germinal que limita el lumen ovárico.
4. El tejido germinal se distribuye exclusivamente en dos pliegues ováricos.
5. Las células foliculares forman una membrana que cambia de plano a pseudoestratificado conforme ocurre el avance de la ovogénesis.
6. Los cromosomas plumosos son evidentes en los ovocitos previtelogénicos

7. La zona pelúcida se define claramente, en particular, desde el estadio de vitelo lipídico.
8. La vitelogénesis temprana ocurre desde junio hasta abril y la vitelogénesis avanzada ocurre desde diciembre hasta abril, culminando con la formación aparente del vitelo homogéneo.
9. La atresia folicular se presenta en todos los estadios de la ovogénesis durante todo el año.
10. El desarrollo de los embriones es intraluminal.
11. La presencia de la formación de la discoblástula en los embriones ocurre durante el mes de febrero
12. Se observa la formación de los primordios del desarrollo del tubo neural durante los meses de febrero a abril
13. Durante los meses de febrero a agosto se observan espermatozoides en el lumen ovárico.

## IX. REFERENCIAS

- Adkins-Regan E. 1987.** Hormones and sexual differentiation. En: Norris DO. and Jones RE. (Eds). Hormones and reproduction in fishes, amphibians and reptiles. Plenum Press. New York. Cap. 1.
- Aguilar MM, Coutiño B. Y Salinas R. 1996.** Manual general de técnicas histológicas y citoquímicas. Las prensas de Ciencias, Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Alvarez del Villar J. 1970.** Peces mexicanos (Claves). Ed. Comisión Nacional Consultiva de Pesca pp. 100-114.
- Amoroso EC. 1960.** Viviparity in fishes. Symp Zool Soc. London. 1:153 – 181.
- Amoroso EC. 1981.** Viviparity. En: Glasser SR. and Bullock DW. (Eds.). Cellular and molecular aspects of implantation. New York, Plenum Press
- Begovac P. and Wallace R. 1988.** Stages of development in the pipefish, *Syngnathus scovelli*. J Morphol. 197:353-369
- Billard R. 1986.** Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. Reprod Nutr Develop. 26(4):921-932
- Bond CE. and Saunders WB. 1979.** Reproduction. En: Bond CE. and Saunders W. (Eds.). Biology of fishes. Co. Philadelphia, London. Toronto. Cap. 15
- Burns JR. 1991.** Testis and gonopodium development in *Anableps dowi* (Pisces: Anablepidae) correlated with pituitary gonadotropic zone area. J Morphol. 210:45-53.
- Burns JR., Weitzman SH., Grier HJ. and Menezes NA. 1995.** Internal fertilization, testis and sperm morphology in Glandulocaudine fishes (Teleostei: Characidae; Glandulocaudinae). J Morphol. 224:131-145
- Burns JR., Weitzman SH., and Malabarba LR. 1997.** Insemination in eight species of cheirontine fish (Teleostei: Characidae: Cheirontinae. Copeia 1997:433-438.

- Callard IP. and Ho SM. 1987.** Vitellogenesis and viviparity. In: Chester-Jones I, Ingleton PM, Phillips JG, (Eds.). *Fundamentals of Comparative Vertebrate Endocrinology*. Plenum Press, pp 255-282.
- Contreras-MacBeath T. 1995.** Ecosistemas acuáticos del estado de Morelos; con énfasis en los peces. *Ciencia y Desarrollo*. XXI (122):42 -51
- Contreras-MacBeath T. and Ramírez-Espinoza H. 1996.** Some aspects of the reproductive strategy of *Poeciliopsis gracilis* (Osteichthyes: Poeciliidae) in the Cuautla River, Morelos, Mex. *J. Freshwater Ecology*. 11(3):327-338.
- De la Rosa Cruz, G. 2001.** Estructura ovarica del pez vivíparo *Ilyodon whitei* (Goodeidae) en distintas etapas reproductivas. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM. México.
- Díaz Pardo E. y Ortiz Jiménez D. 1986.** Reproducción y ontogenia de *Girardinichthys viviparous* (Pisces: Goodeidae). *An Esc Nac Cienc Biol. México*. 30:45-66.
- Dodd JM. 1977.** The e structure of the ovary of f nonmammalian vertebrates. En: Zuckerman S. and Weir B. (Eds.). *The ovary*. 2nd Vol. 1 Ac. Press. New York. 219-263.
- Domínguez-Domínguez O, Mercado-Silva N, Lyons J and Grier HJ. 2005.** The viviparous goodeid species. Uribe MC and Grier HJ (Eds.). *The viviparous Fishes*. New Life Publications. Homestead, Florida, USA.
- Downing AL. and Burns JR. 1995.** Testis morphology and spermatozegmata formation in three Genera of viviparous Halfbeaks: *Nomorhamphus*, *Dermogenys*, and *Hemirhamphodon* (Teleostei: Hemiramphidae). *J Morphol*. 225:329-343
- Gardiner DM . 1978.** Cyclic changes in fine estructure of the epithelium lining of the ovary of the viviparous teleost, *Cymatogaster aggregata* (Perciformes: Embiotocidae). *J Morphol*. 156:367-380.
- Godínez MA 1991.** Peces dulceacuicolas Mexicanos. *Zoología Informa Boletín Informativo*. Depto Zool ENCB, IPN. 21:18-25.
- Grier HJ. 1981.** Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. *Am Zool* 21:345-357.

- Grier HJ. 1993.** Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier. En: Rissell LD. And Griswold MD (Eds.). The Sertoli cell. Cache River Press, Clearwater Florida. Pp 704-739.
- Grier HJ. 2000.** Ovarian germinal epithelium and folliculogenesis in the common snook, *Centropomus undecimalis* (Teleostei, Centropomidae). J Morphol 243:265-281.
- Grier HJ., Fitzsimons JM. and Linton JR. 1978.** Structure and ultrastructure of the testis and sperm formation in Goodeid teleosts. J Morphol. 156: 419-438
- Grier HJ., Linton JR., Leatherland JF. and Vlaming VL. 1980.** Structural evidence for two different testicular types in teleost fishes. Am J Anat. 159:331 -345.
- Grier HJ., Burns JF. and Flores AJ. 1981.** Testis structure in three teleost with tubular gonopodia. *COPEIA* 4:797-801.
- Guillette LJ. 1987.** The evolution of viviparity in fishes, amphibians and reptiles: an endocrine approach. En: Norris DO. and Jones R. (Eds.). Hormone and reproduction in fishes, amphibians and reptiles. Ed. Plenum Press. New York. 523-562 .
- Guillette LJ. 1989.** The evolution of viviparity: morphological modifications and endocrine control. En: Wake DB. and Roth G. (Eds.). Complex organismal functions: integration and evolution in vertebrates. Wiley J and Sons. New York. Pp 219-233
- Guraya SS. 1978.** Maturation of the follicular wall of nonmammalian vertebrate. En: Jones RE. (Ed.). The vertebrate ovary. Plenum Press. New York. pp 261-329.
- Hubbs CL. and Turner CL. 1939.** Studies of the fish of the order Cyprinodontes. XVI. A revision of the Goodeidae. Misc Publ Mus Zool Univ Michigan. N° 42.
- Lofts B. 1987.** Testicular function. En: Norris DO. and Jones R. (Eds.). Hormone and reproduction in fishes, amphibians and reptiles. Plenum, Press. New York. 283-296.

- Lombardi J. and Wourms JP. 1985.** The trophotaenia placenta of a viviparous goodeid fish. I. Ultrastructure of the internal ovarian epithelium, the maternal component. *J Morphol.* 184:277-292.
- Mendoza G. 1940.** The reproductive cycle of the viviparous teleost, *Neotoca bilineata*, a member of the family Goodeidae. II. The cyclic changes in the ovarian soma during gestation. *Biol Bull* 78:349-365.
- Mendoza G. 1941.** The reproductive cycle of the viviparous teleost, *Neotoca bilineata*, a member of the family Goodeidae. III. The germ cell cycle. *Biol Bull* 81:70-79.
- Mendoza G. 1943.** The reproductive cycle of the viviparous teleosts, *Neotoca bilineata*, a member of the family Goodeidae. IV. The germinal tissue. *Biol Bull* 84:87-97.
- Mendoza G. 1965.** The ovary and anal processes of *Characodon eiseni*, a viviparous cyprinodont teleost, from México. *Biol Bull.* 129:303-315.
- Nagahama Y. 1983.** The functional morphology of teleost gonads. En: Hoar WS, Randall DJ and Donaldson EM. (Eds.). *Fish Physiology* Vol. IX. Pp 223-275.
- Parenti LR, Grier HJ. 2004.** Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes. *Integr Comp Biol* 44 (5):3-18
- Redding JM. and Patiño R. 1993.** Reproductive Physiology. En: *Physiology of the fishes*. De. PJR. Boca Ratón. Florida. 486-592
- Schindler JF. and de Vries U. 1988.** Ovarian structural specialization facialitate aplacental matrotrophy in *Jenysia lineata* (Cyprinodontiformes: Osteichthyes). *J Morphol.* 198:331-339.
- Schindler JF. and Hamlett WC. 1993.** Maternal-embryonic relations in viviparous teleosts. *J Exp Zool* 266:378-393.
- Tyler CR and Sumpter JP. 1996.** Oocyte growth and development in teleosts. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 6:287-318.
- Torres OR. 1991.** *Los peces de México*. AGT. Mexico: 68, 142, 163, 200.
- Turner CL. 1937.** The trophotaeniae of the Goodeidae, a family of viviparous cyprinodont fishes. *J Morphol.* 61:495-523.

- Turner CL. 1938.** Histological and cytological changes in the ovary of *Cymatogaster aggregatus* during gestation. J morphol 62:351-373.
- Turner CL. 1941.** Morphogenesis of the gonopodium in *Gambusia affinis affinis*. J Morphol. 69:161-185.
- Uribe MC., De la Rosa G., Guerrero SM., Garcia Alarcon A., Aguilar ME. 2004.** Estructura del ovario de teleósteos vivíparos. Gestación intraovárica: intraluminal en *Ilyodon whitei* (Goodeidae), e intrafolicular en *Poeciliopsis gracilis* (Poeciliidae). En: Lozano Vilano ML, Contreras Balderas AJ, (Eds). Homenaje al Doctor Andrés Reséndez Medina, UANL México. pp 31-45.
- Uribe MC., De la Rosa-Cruz G., and García-Alarcón A. 2005.** The ovary of viviparous teleosts. some structural differences in *Goodea atripinnis* and *Ilyodon whitei* (Goodeidae) in non-gestation and gestation stages. En: Uribe MC and Grier HJ. (Eds). Viviparous Fishes. New Life Publ. FL, USA, In press.
- Wake WH. 1985.** Oviduct structure and function in non-mammalian vertebrates. Fortschr Zool 30:427-435.
- Wallace RA and Selman K. 1990.** Ultrastructural aspects of oogenesis and oocyte growth in fish and amphibians. J Elect Microscopy Tech 16:175-201.
- Wallace RA and Selman K. 1991.** Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. Amer Zool 21:325-343. Webb SA. 1998. A phylogenetic analysis of the Goodeidae (Teleostei: Cyprinodontiformes). Ph. D. Thesis. University of Michigan, Ann Arbor. USA.
- Whittier J. and Crews D. 1987.** Seasonal reproduction. Patterns and control. En: Norris DO. and Jones RE. (Eds.). Hormone and reproduction in fishes, amphibians and reptiles. Plenum, Press. New York. pp 385-396.
- Wourms JP. 1981.** Viviparity: The maternal-fetal relationship in fishes. Am Zool 21:473-515.
- Wourms JP., Grove BD. and Lombardi L. 1988.** The maternal-embryonic relationship in viviparous fishes. En: Hoar WS. and Randall DJ. (Eds.). Fish physiology. 11. The Physiology of developing fish. New York. Ac. Press. Pp 1-134.

- Wourms JP. and Lombardi L. 1992.** Reflections on the evolution of piscine viviparity. *Am Zool.* 32 (2):276-293.
- Yamamoto K. and Yamazaky Y. 1961.** Rhythm of developmental in the oocyte of the goldfish, *Carassius auratus*. *Bull Fac Fish. Hokkaido Univ.* XII. 2:93-110.
- Yáñez G. 1998.** Espermatogénesis en dos especies de peces vivíparos *Ilyodon whitei* (GOODEIDAE) y *Poeciliopsis gracilis* (POECILIIDAE) de la Cuenca del río Balsas, Morelos, México. TESIS. P.p. 37.
- Zanuy S. y Carrillo M. 1973.** Estudio histológico del ovario de la cabrilla (*Paracentris cabrilla*) (L) en relación con la ovogénesis. *Investigación Pesquera.* Vol. 37 (1):147-165.