



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

**CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRONÓMICAS Y
VETERINARIAS**

TESIS:

**DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO GONADAL DE Yuriria alta (Jordan, 1880)
(Cypriniformes: Cyprinidae), EN CONDICIONES DE CAUTIVERIO**

QUE PRESENTA

BIÓL. ÁNGELA ARAUJO GARCÍA

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS VETERINARIAS**

TUTOR

DR. JOSÉ LUIS ARREDONDO FIGUEROA

COMITÉ TUTORAL

DRA. MARÍA CONSOLACIÓN MARTÍNEZ SALDAÑA

DR. JOSÉ DE JESÚS LUNA RUÍZ

DRA. IRENE DE LOS ANGELES BARRIGA SOSA

Jesús María, Ags. Abril del 2016



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

OFICIO NO. CCA-D-111500-080-16

DRA. GUADALUPE RUÍZ CUÉLLAR
DIRECTORA GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
PRESENTE.

Por medio del presente me permito comunicarle a usted que la tesis titulada "Descripción del desarrollo gonadal de *Yuriria alta* (Jordan, 1880)(Cypriniformes: Cyprinidae), en condiciones de cautiverio", de la alumna ÁNGELA ARAUJO GARCÍA, egresada de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, respeta las normas y lineamientos establecidos institucionalmente para su elaboración y su autor cuenta con el voto aprobatorio de su tutor y comité tutorial.

Sin más por el momento aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Jesús María, Aguascalientes., 22 de Febrero del 2016.

"Se Lumen Proferre"



M. en C. GABRIEL ERNESTO PALLÁS GUZMÁN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

c.c.p. Jefa del Departamento del Control Escolar
c.c.p. Sección de Certificados y Títulos
c.c.p. Secretario Técnico
c.c.p. Estudiante
c.c.p. Archivo



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

M. EN C. GABRIEL ERNESTO PALLAS GUZMÁN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PRESENTE.

Por este conducto tengo a bien informarle que **ÁNGELA ARAUJO GARCÍA** estudiante de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias ha cumplido de manera satisfactoria el proceso de redacción, revisión y correcciones de su tesis titulada "**Descripción del desarrollo gonadal de *Yuriria alta* (Jordan, 1880) (Cypriniformes: Cyprinidae), en condiciones de cautiverio**".

Por lo anterior no tengo inconveniente en otorgar mi **VOTO APROBATORIO** para la impresión del documento y continuar con el proceso de titulación y programación del examen de grado.

ATENTAMENTE

Jesús María, Aguascalientes, México a 29 de marzo de 2016


Dr. José Luis Arredondo Figueroa
Tutor



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

M. EN C. GABRIEL ERNESTO PALLAS GUZMÁN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

Por este conducto tengo a bien informarle que **ÁNGELA ARAUJO GARCÍA** estudiante de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias ha cumplido de manera satisfactoria el proceso de redacción, revisión y correcciones de su tesis titulada **“Descripción del desarrollo gonadal de *Yuriria alta* (Jordan, 1880) (Cypriniformes: Cyprinidae), en condiciones de cautiverio”**.

Por lo anterior no tengo inconveniente en otorgar mi **VOTO APROBATORIO** para la impresión del documento y continuar con el proceso de titulación y programación del examen de grado.

ATENTAMENTE

Jesús María, Aguascalientes, México a 29 de marzo de 2016

Dra. María Consolación Martínez Saldaña
Integrante del Comité Tutorial



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

M. EN C. GABRIEL ERNESTO PALLAS GUZMÁN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

Por este conducto tengo a bien informarle que **ÁNGELA ARAUJO GARCÍA** estudiante de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias ha cumplido de manera satisfactoria el proceso de redacción, revisión y correcciones de su tesis titulada "**Descripción del desarrollo gonadal de *Yuriria alta* (Jordan, 1880) (Cypriniformes: Cyprinidae), en condiciones de cautiverio**".

Por lo anterior no tengo inconveniente en otorgar mi **VOTO APROBATORIO** para la impresión del documento y continuar con el proceso de titulación y programación del examen de grado.

ATENTAMENTE

Jesús María, Aguascalientes, México a 29 de marzo de 2016



Dr. José de Jesús Luna Ruiz
Integrante del Comité Tutorial



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA-IZTAPALAPA


México, D.F., a 22 de Marzo de 2016.

M. EN C. GABRIEL ERNESTO PALLAS GUZMÁN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PRESENTE.

Por este conducto tengo a bien informarle que **ÁNGELA ARAUJO GARCÍA** estudiante de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias ha cumplido de manera satisfactoria el proceso de redacción, revisión y correcciones de su tesis titulada "**Descripción del desarrollo gonadal de *Yuriria alta* (Jordan, 1880) (Cypriniformes: Cyprinidae), en condiciones de cautiverio**".

Por lo anterior no tengo inconveniente en otorgar mi **VOTO APROBATORIO** para la impresión del documento y continuar con el proceso de titulación y programación del examen de grado.

ATENTAMENTE


Dra. Irene de los Ángeles Barriga Sosa

Integrante del Comité Tutorial

AGREDECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes por el apoyo de transporte para la colecta de peces.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONAyT) con la beca otorgada con el número 591229.

A los tutores Dr. José Luis Arredondo Figueroa, la Dra. Ma. Consolación Martínez Saldaña, el Dr. José de Jesús Luna Ruiz y la Dra. Irene de los Ángeles Barriga Sosa por todo su apoyo, motivación y confianza incondicional que me brindaron para poder llevar a cabo el proyecto de investigación.

Al Dr. Javier Ventura Juárez por su apoyo en el uso del equipo para poder realizar la parte morfométrica del proyecto.

Al M.V.Z. José Martín López Díaz de León por su aportación y apoyo en el uso del ultrasonido como alternativa para identificar el sexo del pez sin necesidad de la intervención quirúrgica.

Al técnico Albert del Refugio Muñoz Mena por su apoyo en el laboratorio y salidas al campo para la colecta de peces.

DEDICATORIAS

A mis familias Araujo García y Silva Santos que siempre me ofrecieron su apoyo y comprensión incondicional para lograr un éxito más en mi vida.

A mi amado esposo por su motivación, apoyo, esfuerzo, consejos y trabajo que me ha brindado durante este tiempo.



ÍNDICE

ÍNDICE.....	1
RELACIÓN DE TABLAS.....	6
RELACIÓN DE FIGURAS.....	7
ACRÓNIMOS.....	10
RESUMEN.....	13
ABSTRACT.....	15
1. INTRODUCCIÓN.....	17
2. MARCO TEÓRICO.....	19
2.1 Ictiofauna Mexicana.....	19
2.2 Ictiofauna del estado de Aguascalientes.....	20
2.3 Cyprínidos.....	20
2.4 Género <i>Yuriria</i>.....	21
<i>2.4.1 Yuriria alta.....</i>	<i>21</i>
2.5 Reproducción.....	22
2.6 Características morfológicas externas.....	23
2.7 Características morfológicas internas.....	24
<i>2.7.1 Los ovarios.....</i>	<i>24</i>
<i>2.7.2 Proceso de ovogénesis.....</i>	<i>25</i>
<i>a) Proliferación de las ovogonias.....</i>	<i>25</i>
<i>b) Cromatina-núcleo.....</i>	<i>26</i>
<i>c) Crecimiento primario o pre-vitelogénesis.....</i>	<i>26</i>

d) <i>Crecimiento secundario o vitelogénesis</i>	28
e) <i>Maduración ovárica</i>	30
2.8 Intervención de la vitelogenina durante la ovogénesis	32
2.9 Foliculogénesis	32
2.10 Atresia	34
2.11 Tipos de reproducción	35
2.12 Los testículos	36
2.12.1 <i>Espermatogénesis</i>	38
a) <i>Espermatogonias primarias</i>	40
b) <i>Espermatogonias secundarias</i>	40
c) <i>Espermatocitos primarios</i>	41
d) <i>Espermatocitos secundarios</i>	42
e) <i>Espermátidas</i>	42
2.13 Formación y estructura del espermatozoide	43
2.14 Histología	43
2.15 Factores exógenos y endógenos que intervienen en la reproducción	44
2.15.1 <i>Principales factores exógenos en la reproducción</i>	44
2.15.2 <i>Papel de los factores exógenos en la reproducción</i>	45
3. ANTECEDENTES	46
3.1 Adaptación a medios de cultivo	46
3.2 Reproducción	46
3.2.1 <i>Características morfológicas</i>	46

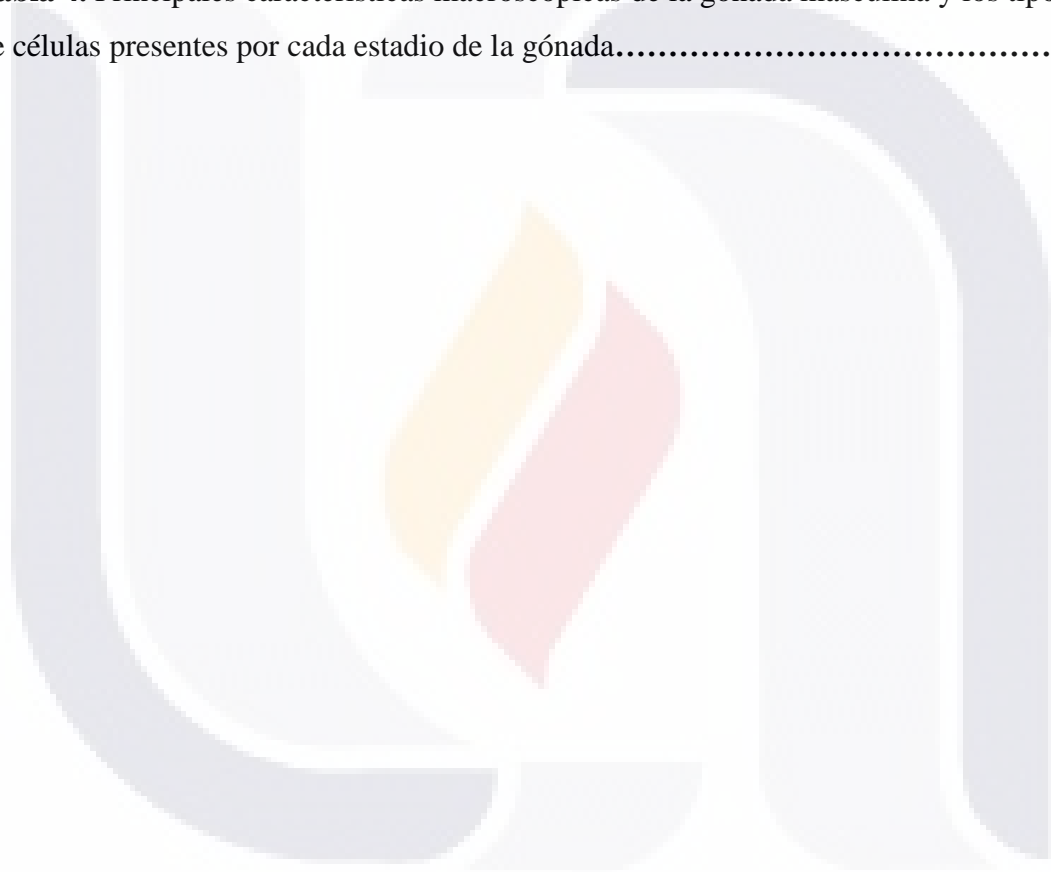
3.2.2 Desarrollo gonadal y su análisis histológico.....	47
3.2.3 Morfometría histológica gonadal.....	52
3.3 Factores exógenos.....	54
3.3.1 Fotoperiodo y temperatura.....	54
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	58
5. JUSTIFICACIÓN.....	59
6. HIPÓTESIS.....	60
7. OBJETIVOS.....	61
8. MATERIALES Y MÉTODOS.....	62
8.1 Área de estudio.....	62
8.2 Método de colecta y registro de parámetros fisicoquímicos del agua.....	62
8.3 Manejo de los ejemplares en el laboratorio.....	63
8.4 Biométricos y toma de muestras.....	65
8.5 Descripción macroscópica de la gónada.....	65
8.6 Descripción microscópica de la gónada.....	66
8.6.1 Histología.....	66
8.6.2 Clasificación de estadios y biométricos.....	67
8.7 Análisis estadístico.....	69
9. RESULTADOS.....	70
9.1 Acondicionamiento de la especie.....	70
9.1.1 Condiciones de colecta.....	70
9.1.2 Cultivo de los organismos silvestres.....	70

a) <i>Temperatura</i>	70
b) <i>Fotoperiodo</i>	71
c) <i>Oxígeno disuelto</i>	71
d) <i>pH</i>	71
e) <i>Otros parámetros</i>	71
9.2 Anestesia	72
9.3 Identificación del sexo	72
9.4 Características cualitativas macroscópicas de las hembras	74
9.4.1 <i>Descripción de los estadios</i>	74
a) <i>Estadio I</i>	74
b) <i>Estadio II</i>	75
c) <i>Estadio III</i>	76
d) <i>Estadio IV</i>	76
e) <i>Estadio V</i>	77
9.5 Características cualitativas microscópicas de las hembras	78
9.5.1 <i>Descripción de los estadios</i>	78
a) <i>Estadio I</i>	78
b) <i>Estadio II</i>	78
c) <i>Estadio III</i>	79
d) <i>Estadio IV</i>	80
e) <i>Estadio V</i>	81
f) <i>Estadio VI</i>	82

9.6 Descripción cualitativa macroscópica de los machos.....	84
<i>9.6.1 Estadio inmaduro.....</i>	84
<i>9.6.2 Estadio maduro.....</i>	85
9.7 Características cualitativas microscópicas de los machos.....	85
<i>9.7.1 Estadio inmaduro.....</i>	87
<i>9.7.2 Estadio maduro.....</i>	88
9.8 Caracterización cuantitativa macroscópica y microscópica en hembras.....	89
9.9 Tablas integrativas macro y microscópicas de ambos sexos.....	93
10. DISCUSIÓN.....	98
10.1 Acondicionamiento de la especie.....	98
10.2 Características cualitativas macroscópicas en hembras.....	99
10.3 Características cualitativas microscópicas en hembras.....	99
10.4 Características cualitativas macroscópicas en machos.....	104
10.5 Características cualitativas microscópicas en machos.....	105
10.6 Análisis cuantitativo macro microscópico de hembras.....	108
10.7 Tabla integrativa macroscópica y microscópica para ambos sexos.....	110
11. CONCLUSIONES.....	111
12. BIBLIOGRAFÍA.....	114

RELACIÓN DE TABLAS

Tabla 1. Área y número de muestra determinadas para cada estadio.....	68
Tabla 2. Registro de los parámetros de calidad del agua y las coordenadas de los sitios de colecta.....	70
Tabla 3. Características macroscópicas de la gónada, diámetros de los ovocitos, estadios de desarrollo de la gónada y de los ovocitos.....	93
Tabla 4. Principales características macroscópicas de la gónada masculina y los tipos de células presentes por cada estadio de la gónada.....	96



RELACIÓN DE FIGURAS

Figura 1. Provincias ictiofaunísticas presentes en México.....	19
Figura 2. Ejemplar adulto de <i>Yuriria alta</i>.....	22
Figura 3. Distribución de las Ovogonias.....	26
Figura 4. Ovocito en estadio Pre-Vitelogénico.....	28
Figura 5. Diferenciación esquemática entre un ovocito y la formación del folículo ovárico.....	28
Figura 6. Vesículas vitelinas y alveolos corticales.....	29
Figura 7. Ovocito vitelogénico.....	30
Figura 8. Gotas lipídicas del ovocito.....	31
Figura 9. Células foliculares en la pre-vitelogénesis, vitelogénesis y maduración en la vitelogénesis.....	33
Figura 10. Unión de los procesos de pre-vitelogénesis, vitelogénesis, foliculogénesis y ovogénesis.....	33
Figura 11. Disrupción nuclear.....	34
Figura 12. Disrupción de las células de la granulosa, el vitelo y las células de la teca.....	35
Figura 13. Tipos de testículo.....	38
Figura 14. Espermatogénesis completa con ilustración histológica y gráfica.....	39
Figura 15. Espermatogonias, espermatocitos y sus componentes.....	41
Figura 16. Condensación de la cromatina.....	41
Figura 17. Espermatocitos en fase a espermátida.....	42
Figura 18. Maduración de las espermátidas.....	43
Figura 19. Ubicación geográfica de la zona de muestreo.....	62
Figura 20. Estanque de los ejemplares de <i>Y. alta</i>.....	64
Figura 21. Sección de las gónadas.....	67
Figura 22. Toma de muestras por áreas.....	68
Figura 23. Temperaturas promedio registradas.....	71
Figura 24. Identificación de la hembra por ultrasonido.....	73
Figura 25. Identificación del macho por ultrasonido.....	73

Figura 26. Estadio I, vista macroscópica.....	75
Figura 27. Estadio II, vista macroscópica.....	75
Figura 28. Estadio III, vista macroscópica.....	76
Figura 29. Estadio IV, vista macroscópica.....	77
Figura 30. Estadio V, vista macroscópica.....	77
Figura 31. Ovogonias.....	78
Figura 32. Ovocitos primarios.....	79
Figura 33. Células foliculares del ovocito primario.....	79
Figura 34. Alveolos corticales del ovocito secundario.....	80
Figura 35. Capa granulosa del ovocito secundario.....	80
Figura 36. Gránulos y vesícula germinal, estadio IV.....	81
Figura 37. Células foliculares del estadio IV.....	81
Figura 38. Accesorios intracelulares del ovocito en estadio V.....	82
Figura 39. Células foliculares del estadio V.....	82
Figura 40. Ovocito maduro.....	83
Figura 41. Célula foliculares del ovocito maduro.....	83
Figura 42. Micrópilo en un ovocito maduro.....	83
Figura 43. Ovocito Atrésico.....	83
Figura 44. Testículo inmaduro.....	84
Figura 45. Testículo maduro.....	85
Figura 46. Lóbulos y ducto espermático del testículo.....	86
Figura 47. Ductos Espermáticos.....	86
Figura 48. Unión del ducto espermático al ducto urinario.....	87
Figura 49. Vista microscópica panorámica general de la gónada y tipos de células presentes en estadio inmaduro el testículo.....	88
Figura 50. Vista panorámica general de la gónada y tipos de células presentes en estadio maduro del testículo.....	88
Figura 51. Correlación de los parámetros.....	90
Figura 52. Distribución de frecuencia de ovocitos.....	92
Figura 53. Ilustración comparativa entre los estadios de la gónada en hembras	

y los tipos de ovocitos que se encuentran en ella..... 95
Figura 54. Ilustración comparativa entre los estadios de la gónada eh machos
y los tipos de células que se encuentran en ella..... 97



ACRÓNIMOS

Atresia: Degradación del ovocito por fagocitosis.

Células de Leydig: Células que se encuentran en la periferia de los lóbulos y que son las encargadas de producir testosterona para poder llevar a cabo la maduración del ovocito.

Células de Sertoli: Células que se encuentran dentro de los lóbulos y que son las encargadas de producir testosterona para llevar a cabo la maduración del testículo.

Citoquinesis: División de la célula en la anafase tardía.

Cromatina núcleo: Fase del ovocito donde se lleva a cabo el arresto meiótico en el diploteno de la profase.

Desove: Es el acto de verter los ovocitos y espermatozoides al medio.

Ducto espermático: Componente tubular conectado a los lóbulos del testículo para poder liberar los espermatozoides en época reproductiva.

Endémico: Ejemplar que solo puede ser encontrado en cierta área determinada del mundo.

Espermátida: Célula producto de la segunda división meiótica cuyo núcleo es alargado.

Espermatocito: Célula que se encuentra participando en la espermatogénesis y que lleva a cabo la meiosis.

Espermatogénesis: Proliferación de células germinales masculinas a partir de la división mitótica de las espermatogonias y posteriores divisiones meióticas.

Espermatogonia: Es la célula madre especializada en diferenciarse por mitosis para dar lugar a un espermatocito y posteriormente futuro espermatozoide.

Espermiogénesis: Comprende al proceso por el cual las espermátidas sufren una compleja serie de transformaciones celulares para formar espermátidas maduras, alargadas con cabeza y cola que luego serán liberadas hacia la luz del túbulo.

Fecundidad: Es la capacidad reproductiva de un organismo, basada en la tasa de producción de huevos en especies ovíparas.

Folículo: Elemento en forma de bolsa en la cual el ovocito es almacenado hasta su maduración y su liberación.

Foliculogénesis: Es el proceso en el que un folículo primordial reclutado crece y se desarrolla en un folículo especializado con el potencial para ser fertilizado.

Fotoperiodo: Cambios de iluminación (luz/oscuridad) en intervalos de tiempo que permiten llevar a cabo la reproducción sexual del organismo.

Gameto: Células sexuales haploides que participan en la reproducción sexual. Los gametos de los machos son los espermatozoides y los gametos de las hembras son los ovocitos.

Ictiofauna: Término utilizado normalmente en el ámbito pesquero y que hace referencia al conjunto de especies de peces que existen en una determinada región biogeográfica.

Meiosis: Es un proceso de división presente en las células germinales que genera gametos femeninos y masculinos haploides a partir de células diploides ($2n$), que experimentarán dos divisiones celulares sucesivas con la finalidad de generar cuatro células haploides.

Micrópilo: Orificio de la cubierta del óvulo de los ovocitos por el cual penetra el espermatozoide.

Mitosis: Es el proceso mediante el cual se divide el núcleo de la célula madre, originándose dos núcleos hijos que tendrán el mismo número y clase de cromosomas que el núcleo materno.

Ovíparo: Organismo que presenta fecundación externa.

Ovocito: Célula producto de la fase de meiótica de la ovogonia.

Ovogénesis: Proceso de maduración de las células sexuales femeninas.

Ovogonia: Célula diploide que resulta de la división mitótica de las células germinales.

Proliferación mitótica: División de la célula por mitosis.

Proliferación ovogonial: Proceso de mitosis y crecimiento de la célula.

Teleósteo: Peces que muestran esqueleto osificado.

Tubérculos nupciales: Pequeñas excrescencias córneas que se vuelven conspicuas antes de la temporada de desove bajo la influencia de secreciones hormonales.

Túnica albugínea: Cápsula de tejido conectivo y músculo liso que envuelve a cada ovario.

Vesícula germinal: Hace referencia al núcleo cuando éste crece durante la fase de ovocito primario.

Vitelo: Reservas del ovocito formadas de lipoproteínas y fosfoproteínas, derivadas principalmente de la vitelogenina.

Vitelogénesis: Periodo de crecimiento del ovocito durante el cual las proteínas de origen extra-ovárico son acumuladas en el ovocito.

Vitelogeninas: Proteínas producidas como futuras proteínas de reserva del vitelo.

Vivíparo: Organismo que presenta fecundación interna.



RESUMEN

Yuriria alta es una carpa nativa del sistema hidrológico Lerma-Chapala-Santiago, y en el estado de Aguascalientes, México, esta carpa se localiza en la micro-cuenca del Río Viejo Agua Zarca en el Municipio de San José de Gracia, que corre desde la parte alta de la Sierra Fría y descarga en la Presa Presidente Calles. Aunque no es una especie comercial, se ha observado que presenta potencial acuícola, ya que bajo condiciones de cultivo se observó que la especie alcanza hasta 25 cm de talla y un peso superior a los 100 g. Para conservar o producir una especie nativa es necesario conocer su historia de vida, entonces, el objetivo del presente estudio fue describir el desarrollo gonadal de esta especie bajo cultivo en condiciones controladas de fotoperiodo y temperatura. Durante 2014, se colectaron ejemplares reproductores silvestres en la micro-cuenca del Río Viejo Agua Zarca y se trasladaron a la Unidad Acuícola del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, donde fueron sometidos a cuarentena. Posteriormente, se colocaron en un estanque circular de 3,500 L con recirculación continua y se adaptó un sistema de fotoperiodo y temperatura para promover el desarrollo gonadal. Los principales parámetros de la calidad del agua (oxígeno disuelto, temperatura, pH, etc.) fueron registrados diariamente, y cada 15 días durante cuatro meses se realizó la captura de cinco hembras y cinco machos en el estanque para la extracción de sus gónadas. En cada captura se tomaron los parámetros biométricos de los ejemplares y sus gónadas. Se realizaron análisis macroscópicos e histológicos de los diferentes estadios gonadales presentes en hembras y machos. Además, se midieron los diámetros de los ovocitos por cada estadio y por cada ejemplar. Se obtuvieron las estadísticas básicas para los diferentes estadios de machos y hembras y sus respectivas gónadas. Se incluyó un análisis de correlación de Pearson para estudiar la relación entre las variables biométricas de las hembras y sus gónadas para diferentes estadios. Finalmente, se elaboraron tablas comparativas entre las observaciones macroscópicas y microscópicas de ambos sexos. Los resultados indicaron que *Y. alta* se adapta satisfactoriamente a las condiciones de cultivo. El fotoperiodo de 14 h luz y 10 de oscuridad en combinación con la temperatura media de 19°C permitió el desarrollo gonadal de ambos sexos en tan sólo 60 días. El estudio macroscópico reveló que

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

las hembras presentan un ovario de tipo cistovárico con cinco diferentes estadios. En el caso de los machos, se reconocieron solo dos estadios, el inmaduro y el maduro. Por su parte, el estudio histológico mostró seis estadios del ovocito durante todo el desarrollo gonadal. El diámetro de los ovocitos varió de 51 a 1,000 μ . En los estadios IV y V se observó la aparición de las micro-vellosidades, lo que permitió agrupar a esta especie con aquellas que presentan huevos adherentes. La aparición de micrópilo en el estadio VI indicó la finalización de la vitelogénesis. Se observó que el testículo en machos es de tipo lobular y los ductos espermáticos se dividen en dos partes: ductos testiculares principales y ductos espermáticos. El análisis de correlación de Pearson demostró que se presentó una elevada correlación entre el Peso total del pez y el Peso de las gónadas ($R^2 = 0.8140$) y el análisis de frecuencia de los ovocitos en cada estadio permitió reconocer que la especie es sincrónica por grupos con un solo desove por año. Las tablas comparativas de las características macro y microscópicas resultaron ser valiosas, para poder diferenciar el desarrollo gonadal tanto de machos como hembras. Los resultados de esta investigación, indicaron que *Y. alta* puede adaptarse adecuadamente a las condiciones de cautiverio, lo que permite su adecuada reproducción y realizar estudios sobre la biología reproductiva de la especie.

Palabras clave: Biología reproductiva, desarrollo gonadal, *Yuriria alta*, características macroscópicas de las gónadas, histología de las gónadas, correlaciones, frecuencia de ovocitos; tablas comparativas.

ABSTRACT

Yuriria alta is a native carp of the Lerma-Chapala-Santiago hydrological system, and in the State of Aguascalientes, Mexico, this carp is located in the micro-basin of Rio Viejo Agua Zarca in the municipality of San Jose de Gracia, which runs from the top of Sierra Fria to the President Calles Dam. Even when *Y. alta* is not a commercial species, it has been observed that this native carp has good potential for aquaculture purposes because it reaches up to 25 cm in length and more than 100 g of weight under rearing conditions. To preserve or produce a native species it is necessary to know its life cycle, then the aim of this study was to describe the gonadal development of this species under cultivation and controlled conditions of photoperiod and temperature. During 2014, wild broodstock specimens were collected in the micro-basin of Rio Viejo Agua Zarca and moved to the Aquaculture Unit of the Center for Agricultural Sciences at the Universidad Autonoma de Aguascalientes, where they were quarantined. The collected specimens were placed in a 3,500 L circular pond with continuous recirculation plus adapted photoperiod and temperature in order to induce gonadal development. The main parameters of water quality (dissolved oxygen, temperature, pH, etc.) were recorded daily, and every 15 days during four month, the capture of five females and five males from the pond was conducted for gonadal extraction. The biometric parameters of gonads were taken for each specimen at each capture. Macroscopic and histological analysis for different gonadal stages was performed in females and males. In addition, the diameters of oocytes per each stage and for each specimen were measured. Basic statistics for the various stages of males and females and their gonads were obtained. Pearson correlation analysis was conducted to analyze the relationship between body biometric variables of females and their gonads at different stages. Finally, comparative tables of macroscopic and microscopic characteristics were settled for males and females. The results indicated that *Y. alta* was successfully adapted to the controlled growing conditions. A 14 h light and 10 h dark photoperiod per day in combination with and average temperature of 19°C allowed the gonadal development of females and males in 60 days only. The macroscopic study reveals that females have a cistovaric ovarian type with five different stages. In males, two stages were recognized: immature and mature. On the other hand, the histology study showed six

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

oocyte stages over the whole gonadal development. The oocyte diameter ranged from 51 to 1 000 μ . The microvilli were observed in stages IV and V, which allowed assigning this species to those having adherent eggs. The appearance of micropyl in stage VI indicates the completion of vitellogenesis. It was observed that the testis in males is lobular, and the sperm ducts are divided into two parts: main testicular ducts and spermatic ducts. The Pearson correlation analysis of females indicated a higher correlation between total fish weight and gonadal weight ($R^2 = 0.8140$) and the frequency analysis of the oocytes for each stage, allow recognize that is a synchronic species per group with only one spawn for year. The comparative tables of macro and microscopic characters from both sexes, can be useful for identify the different stages of the gonadal development The results obtained in this investigation indicated that *Y. alta* can be easily adapted to culture conditions, and obtain an adequate reproduction for realize more studies about their reproductive biology.

Keywords: Reproductive biology, gonadal development, *Yuriria alta*, gonad macroscopic, gonad histology, body-gonad correlations, oocytes frequency, comparative tables.

1. INTRODUCCION

México es reconocido por ser un país mega-diverso debido a la amplia variedad de especies animales y vegetales que se encuentran distribuidas tanto en el territorio nacional (2.5 millones de km²), así, como en la franja costera y la Zona Económica Exclusiva (3.0 millones de km²). Dentro de esta biodiversidad, destacan los peces que constituyen el grupo de vertebrados con mayor riqueza de especies, ya que en la actualidad se conocen un total de 2,763 especies en el país, que representan aproximadamente el 9.8% del total de los peces conocidos en el mundo (Espinosa-Pérez, 2014).

Para lograr conservar esta amplia diversidad ictiológica, es necesario realizar estudios sobre la historia de vida de los organismos, así como proponer medidas eficientes y efectivas para su bio-conservación (Castro-Aguirre y Balart, 1993). Parte de los estudios más importantes para conocer la historia de vida de los peces se encuentra el conocimiento de sus mecanismos de reproducción.

Entre los peces Teleósteos, se encuentran aquellos que habitan las aguas epicontinentales tanto en los sistemas lénticos (lagos, lagunas y embalses) como en los lóticos (arroyos y ríos) presentes en la República Mexicana. Los miembros de la familia *Cyprinidae*, son considerados como uno de los grupos más importantes de peces de aguas continentales debido a su impacto ecológico y comercial. El ejemplo más común es la carpa común (*Cyprinus carpio*). Los Cyprínidos ocupan el segundo lugar en las pesquerías de aguas continentales con una producción de 26,500 toneladas reportadas en el año 2009 (SAGARPA-CONAPESCA, 2009). No obstante, además de las especies comerciales, dentro de esta familia existen especies nativas como el género *Yuriria* que juegan un papel importante en los ecosistemas acuáticos y que incluso pueden demostrar una importancia de carácter económico.

En el estado de Aguascalientes, existe un Cyprínido nativo, conocido como carpa plateada (*Yuriria alta*), que está presente en el Río Viejo Agua Zarca, ubicado en el Municipio de San José de Gracia (INEGI, 1993). Esta especie se ha reportado en los afluentes de los ríos Lerma y Santiago, en los estados de Zacatecas, Jalisco, Aguascalientes, Guanajuato, Michoacán y México (Miller y col., 2009). La carpa nativa puede alcanzar un

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

peso y una longitud máxima de 300 g y 29 cm respectivamente, lo que la hace atractiva como una especie para ser utilizada en la acuicultura.

Para conservar y reproducir una especie nativa con potencial acuícola, es necesario conocer su biología. Uno de los estudios que más frecuentemente se realizan es la reproducción, que se define como el proceso biológico por el que las especies logran perpetuarse, y en combinación con los cambios genéticos logran adaptarse a su ecosistema (Lagler y col., 1990). Es por ello, que dependiendo del ecosistema donde se encuentre y la especie de pez que se trate, suele mostrarse una amplia gama de modelos de reproducción (Jalabert, 2005). La reproducción a su vez va guiada por el desarrollo gonadal, ya que es un indicador de la misma, se lleva a cabo cuando el desarrollo de las gónadas está completo y posteriormente se da paso al desove (Díaz y Neira, 2005).

Una de las ciencias que ha permitido realizar un análisis más preciso sobre el desarrollo gonadal es la Histología, que permite apreciar el desarrollo a nivel microscópico de los órganos y tejidos (Young y col., 2014). En la actualidad, es una herramienta utilizada para proveer información sobre el desarrollo gonadal y los procesos fisiológicos que interactúan entre sí (Valdebenito y col., 2011).

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Ictiofauna Mexicana.

En México existe una rica fauna de peces epicontinentales, que incluye a más de 500 especies descritas. Su amplia diversidad se debe a la topografía sumamente variada del territorio nacional, una historia geológica larga y compleja, al prolongado aislamiento de la gran meseta tropical-subtropical, conocida como la Mesa Central de México, que incluye a la ictiofauna altamente endémica del río Lerma-Chapala-Santiago, y al sistema fluvial más grande de América Central, el río Grijalva-Usumacinta de México y Guatemala, totalmente tropical y con una ictiofauna de alto endemismo (Miller, 1988).

La diversidad fisiográfica y climática de México, combinada con el aislamiento de las cuencas y los manantiales disjuntos en las zonas áridas, han inducido a altos niveles de endemismo local y regional. Cuando el endemismo es marcado, con biotas integradas en alta proporción por especies y géneros autóctonos, puede reconocerse una “provincia faunística” que es caracterizada por asociaciones de especies con hábitos ecológicos y geográficos similares. Actualmente, se reconocen ocho provincias ictiofaunísticas: a) Río Bravo (Mesa del Norte), b) Cuencas de la vertiente del Pacífico noroeste, c) Baja California peninsular, d) Complejo de los ríos Tamesí-Pánuco, e) Mesa Central, f) Río Balsas, g) Provincia Chiapas- Nicaragüense y h) Provincia Usumacinta (**Figura 1**).



Figura 1. Provincias ictiofaunísticas presentes en México (Miller y col., 2009).

Al oeste y sur del complejo del río Pánuco, yace la Meseta Central Mexicana, que actualmente es drenada por el vasto sistema hidrológico Lerma–Chapala-Santiago. La ictiofauna de la Meseta Central comprende un total de 78 especies agrupadas en 26 géneros y nueve familias, donde los Cyprínidos como *Algansea* y *Yuriria* presentan una amplia distribución (West, 1964).

2.2 Ictiofauna del estado de Aguascalientes.

Rojas-Pinedo (1999), menciona que la fauna de peces continentales de Aguascalientes no es conspicua en su diversidad y muestra un bajo grado de endemismo. En 1980, se reportan en el estado 23 especies entre nativas e introducidas; en 1996, solo se reconocen 18 especies, y para 1999 desaparecen el 50%. Las causas de esta pérdida de diversidad endémica han sido atribuidas a diversas causas, entre ellas se mencionan la disminución de la cantidad y calidad del agua, la pérdida y el deterioro de hábitat y la adición de especies exóticas introducidas. Actualmente, no se ha realizado un estudio a fondo para corroborar estas aseveraciones.

Martínez-Martínez y Rojas-Pinedo (1996), estudian la biodiversidad ictiofaunística nativa del Estado de Aguascalientes. Donde registran 19 especies, de ellas seis eran endémicas.

2.3 Cyprínidos.

Son considerados como uno de los grupos más importante de los Teleósteos de las aguas continentales (Orban y Wu, 2008). La familia es de las más grandes y diversas con más de 2,000 especies que muestran una gran variedad de adaptaciones especiales. Estos peces forman parte del orden de los Cypriniformes y se encuentran ampliamente distribuidos en el Norte de América, Eurasia y África. No obstante, también se encuentran distribuidos de manera no natural en el Sur de América, Madagascar y Australia, debido a la introducción por parte del hombre. La diversidad de las especies de los Cyprínidos es mayor en la República Popular China y en el sureste de Asia en comparación con la que existe en el norte de América y África (Billard, 1999). El representante más popular de ellos es la carpa común (*Cyprinus carpio*), que es la especie más conocida y cultivada en varias partes del mundo (Orban y Wu, 2008).

2.4 Género *Yuriria*.

En el caso particular de Norteamérica, dentro del orden de los Cypriniformes, se encuentra la familia *Cyprinidae* que está dividida en dos linajes principales: a) *Leuciscinae* y b) *Cyprinidae*. En éste último se encuentra el género *Yuriria*. De los dos linajes se conocen unos 50 géneros y casi 300 especies. Estas cifras incluyen unas 90 especies presentes en México, de las que por lo menos 45 son endémicas. En la cuenca del sistema hidrológico Lerma-Chapala-Santiago, se encuentran reportados tres géneros nativos: *Algansea*, *Neotropis* y *Yuriria* (Miller y col., 2005).

La historia de la nomenclatura del género *Yuriria* ha sido revisada por Miller (1976). Los caracteres diagnósticos del género fueron descritos por Smith y col. (1975) y Miller (1976). Los miembros de éste género son osteológicamente reconocidos por sus numerosos, largos y estrechos poros en los canales cefálicos sensoriales; el canal sensorial supra-orbital que se extiende sobre el parietal; el arco faríngeo con una sola fila de dientes robustos y cónicos, y el preopérculo con los miembros verticales y horizontales de igual longitud (Smith, 1980).

2.4.1 *Yuriria alta*

La descripción taxonómica de *Y. alta* que describe Miller y col. (2009) es la siguiente: presentan de 11 a 17 branquiespinas en la hilera exterior del primer arco branquial y en el segundo arco branquial de 10 a 13; el radio dorsal es de 19.3 al 25.9% de la longitud patrón (LP); el radio anal es largo de 14.5 al 19.3% de la LP; la longitud del pedúnculo caudal de 20 al 24.5% de la LP; las aletas son alargadas; el primer radio dorsal tan largo como la cabeza; la punta de la aleta pectoral alcanza la mitad de la base de la aleta pélvica; el origen de la aleta dorsal está más cerca del hocico que de la base de la caudal (**Figura 2**). Además, de acuerdo a Smith (1980), el arco faríngeo es grueso con extremidades anteriores y posteriores menos robustas que en *Y. elliana*.

Se distribuye en la cuenca del sistema hidrológico Lerma-Chapala-Santiago, desde la parte alta del Río Grande de Santiago, incluidos los afluentes que drenan a partes de la Mesa Central y las partes superiores del sistema del Río Ameca. Se le localiza en la mayoría de los hábitats acuáticos, desde los grandes lagos (incluyendo el Lago de Chapala)

hasta los ríos y arroyos pequeños. La presencia de la especie en los diferentes cuerpos de agua indica su elevada capacidad adaptativa a una amplia variedad de hábitats.

Cabe señalar, que se desconoce el origen tanto del género como de la especie. Los fósiles de esta especie depositados en la Colección Chapala-Zócalo de Federico Solórzano (Álvarez, 1974), indican que los huesos de los dos linajes se combinaron, sin tener en cuenta su origen, aunque no es posible determinar si los fósiles del género *Yuriria* vinieron del Lago de Chapala o del Lago de Zócalo. En el caso de *Y. alta* es común encontrarla en el Lago de Chapala (Smith, 1980).



Figura 2. Ejemplar adulto de *Yuriria alta* colectado en el Arroyo Viejo Agua Zarca, en Potrero de los López, Municipio de San José de Gracia, Aguascalientes (LT =17 cm).

2.5 Reproducción.

La reproducción es el proceso biológico por el que las especies se perpetúan y, en combinación con los cambios genéticos dan origen a modelos complejos en los mecanismos reproductivos (Lagler y col., 1990). La época de reproducción de los peces se entiende como el periodo del año en el que la especie realiza su desove natural. Es importante saber que el desarrollo completo de las gónadas es uno de los factores principales que dan paso al desove (Díaz y Neira, 2005).

La reproducción ocurre en ciclos que involucran el desarrollo de los gametos, la maduración y el desove (Coward y col., 2003). Estos ciclos son regulados por un conjunto de condiciones ambientales a las que se encuentran sometidos los peces. Estas condiciones van desde el fotoperiodo (ritmos lunares), la temperatura, la salinidad y la disponibilidad de alimento, entre otros factores. Por ejemplo, la variación del fotoperiodo permite el retraso o adelanto de puesta (Anton, 2004).

Las gónadas se dividen en testículos para el caso de los machos y ovarios para las hembras, generalmente son pareadas, aunque en ocasiones pueden fusionarse en una sola estructura. Las gónadas están suspendidas de la vejiga gaseosa por un mesenterio peritoneal, que forma una especie de saco o membrana que contiene a los ovarios o testículos. Esta membrana, propia de las gónadas es denominada túnica albugínea (Gaspar, 1995).

El fenómeno de reproducción inicia con la formación de los gametos en el interior de las gónadas (Anton, 2004). El proceso de diferenciación y crecimiento del gameto se llama gametogénesis y conduce a la formación del ovocito (ovogénesis) o espermatozoide (espermatoogénesis). Ambos gametos, masculinos y femeninos, tienen origen en las células germinales primordiales embrionarias (PGC, por sus siglas en inglés), las que migran durante el desarrollo embrionario al lugar de la formación de la gónada, el llamado epitelio germinal. Las PGC proliferan a través de las divisiones mitóticas para formar las ovogonias, para después diferenciarse en ovogonias y espermatogonias dependiendo del sexo del individuo. Con la última división mitótica, las ovogonias entran en meiosis y se convierten en ovocitos y espermatocitos, iniciando así la gametogénesis en los organismos adultos (Cabrita y col., 2009).

2.6 Características morfológicas externas.

Existen ciertos caracteres externos que permiten diferenciar a un pez macho de una hembra. Las características de la diferencia sexual, o dimorfismo sexual permiten la identificación de los sexos. Normalmente, el vientre de la hembra es más prominente que el del macho, principalmente cuando ha madurado o se encuentra próxima a desovar, debido a la cantidad de productos que contiene en su interior. Existen estructuras externas de varios machos que presentan tubérculos nupciales que les permiten distinguirse de las hembras; como por ejemplo al eperlano (*Osmerus spp.*), la mayoría de los peces de la familia *Cyprinidae* y las carpas hociconas de la familia *Catostomidae*. Estos tubérculos son pequeñas excrescencias corneas que se vuelven conspicuas precisamente antes de la temporada de la puesta o desove y desaparecen poco tiempo después, esto bajo la influencia de secreciones hormonales (Lagler y col., 1990).

2.7 Características morfológicas internas.

El estudio del desarrollo gonadal, es una pieza clave para comprender el proceso reproductivo. Además, se debe de tomar en cuenta que la gónada es el centro de todos los factores hormonales que regulan la reproducción, y que su desarrollo está fuertemente influido por el tipo de nutrición de los reproductores (Anton, 2004). La relación que existe entre las estrategias reproductivas de los peces, y las condiciones del medio ambiente donde habitan, ha permitido con el tiempo desarrollar una amplia variedad en los tipos de desarrollo de las gónadas. Esta estrategia, deriva la fecundidad y el desove característicos de cada especie (Gaspar, 1995).

2.7.1 Los ovarios.

Se presentan como un órgano alargado bilateralmente, localizado en la cavidad abdominal. Los lóbulos ováricos se encuentran rodeados por un mesovario y proyectados posteriormente a través de un par de oviductos que se conectan a la papila genital, la que se abre hacia la parte exterior del medio. Los ovarios se encuentran segmentados por pliegues del epitelio germinal que protege transversalmente al lumen ovárico y la lámina ovígera (Cabrita y col., 2009).

Estructuralmente, existen dos tipos de ovarios: 1) los de tipo gimnovárico, que no tiene una verdadera cavidad intra-ovárica, de modo que los ovocitos maduros se liberan a la cavidad peritoneal para ser capturados por el extremo del oviducto, y 2) los de tipo cistovárico, donde los ovocitos son liberados a una cavidad delimitada en el propio ovario, cavidad que se continúa con el oviducto (Hoar, 1969).

En el desarrollo ovárico se pueden establecer una serie de fases. Durante el desarrollo ovárico se produce la ovogénesis (Anton, 2004), que es el proceso de maduración de la gónada y comprende a las fases o periodos siguientes: a) la pre-vitelogénesis y b) la vitelogénesis, que en conjunto comprende desde seis hasta ocho etapas o estadios dependiendo de la especie (Gaspar, 1995). Normalmente, se reportan seis etapas o estadios que son nombrados de la siguiente manera: a) proliferación ovogonial, b) cromatina-nucléolo, c) crecimiento primario (pre-vitelogénesis), d) crecimiento secundario (vitelogénesis), e) ovocito maduro y f) ovulación (Uribe y col., 2010).

En general, en el desarrollo ovárico se pueden establecer dos fases: a) pre-vitelogénesis y b) vitelogénesis. La primera corresponde a la proliferación ovogonial, por medio de sucesivas divisiones mitóticas. Esto hace que se eleven el número de células que pueden llegar a transformarse en gametos. La segunda fase, consiste en la transformación de las ovogonias a ovocitos primarios por medio de la meiosis. Estos ovocitos primarios sufren un aumento de tamaño debido a la acumulación de reservas en su interior, que después serán utilizadas durante el desarrollo embrionario y el inicio del crecimiento de la larva. Durante el crecimiento de los ovocitos, se distingue una primera fase en la que las sustancias de reserva son sintetizadas por el propio ovocito y se acumulan en su interior. En este caso se refiere a los alveolos corticales. También se presentan sustancias de reserva que se sintetizan en el hígado, principalmente las vitelogeninas y las lipoproteínas, llegando al ovario a través del torrente sanguíneo y se internalizan en los ovocitos (Selam y Wallace, 1989; Anton, 2004). A continuación se hace una descripción de estas fases.

2.7.2 Proceso de ovogénesis.

a) Proliferación de las ovogonias.

El proceso de desarrollo comienza con las células germinales, que se encuentran en el epitelio germinal, éste a su vez se encuentra soportado por una membrana basal que lo separa del estroma subyacente. Contiene vasos sanguíneos con tejido conectivo, nervios, fibras colágenas y varios tipos de células somáticas como fibroblastos, macrófagos, linfocitos y melanocitos (Uribe y col., 2010). El epitelio germinal además de albergar a las células germinales o células madres, también se pueden observar ovogonias (McMillan, 2007; Uribe, y col., 2010). Las ovogonias son pequeñas células redondas imbuidas en el epitelio germinal del ovario (Anton, 2004; Mayer y col., 2006) y dependiendo de la especie su forma puede ser esférica u ovoide. Las ovogonias son la fuente de una población de células germinales renovadas en el ovario. Pueden estar distribuidas de manera individual o en grupos llamados nidos celulares (**Figura 3**) (Uribe y col., 2010). En la mayor parte de los Teleósteos con un ciclo reproductivo anual, el promedio de máxima profusión de divisiones mitóticas de las ovogonias suele suceder inmediatamente posterior a la finalización de las puestas (Tokarz, 1978; Anton, 2004), aunque las divisiones también

tienen lugar en las primeras fases de desarrollo ovárico, previo al inicio del periodo de puesta.

Mientras se lleva a cabo la mitosis ovogonial, se solapa la ovogénesis, iniciándose la meiosis en las ovogonias (Anton, 2004; Mayer y col., 2006) la cual se detiene en el diploteno de la profase y dar paso a la formación de los ovocitos (Selman y Wallace 1989; Wallace y Selman, 1990; Anton, 2004). Durante este proceso se han descrito puentes citoplasmáticos entre la ovogonia y los ovocitos de algunos Teleósteos, estos puentes no se observan por mucho tiempo, debido la formación de células pre-foliculares que comienzan a envolver al futuro ovocito (McMillan, 2007).

b) Cromatina-nucléolo.

Durante esta fase, la foliculogénesis avanza, las células pre-foliculares continúan rodeando progresivamente al ovocito (Uribe y col., 2010) formando el epitelio folicular (Bruslé, 1980; Begovac y Wallace, 1988; McMillan, 2007). Los pares de cromosomas homólogos toman cierta configuración “lampbrush”, así mismo se da la replicación del ADN (**Figura 3**) (McMillan, 2007).

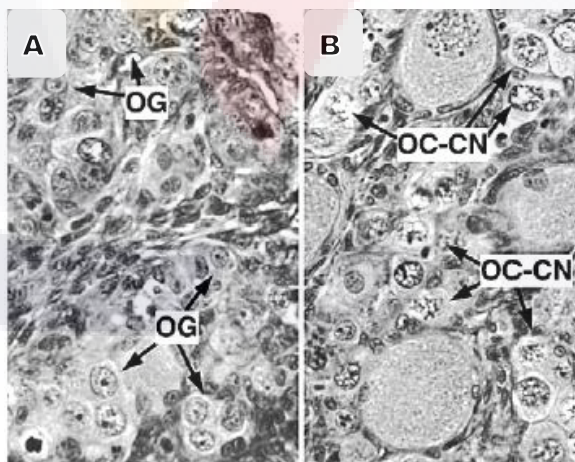


Figura 3. A. Distribución de las ovogonias (OG) formando nidos (abajo) o de manera individual (arriba). B. Ovocitos en estadio cromatina-nucléolo (OC-CN) (Miura y col., 2007).

c) Crecimiento primario o pre-vitelogénesis.

Los ovocitos primarios aumentan de tamaño debido al crecimiento citoplasmático que se produce en la síntesis interna de reservas. El núcleo de los ovocitos ahora es llamado

vesícula germinal, que se alarga en cuanto a volumen, y contiene varios nucléolos (Uribe y col., 2010), que se observan en la periferia nuclear (Gaspar, 1995). El aumento del tamaño del ovocito es debido a la formación de los cuerpos de Balbiani. Los cuerpos de Balbiani es un complejo compuesto por una población heterogénea de organelos citoplasmáticos (incluyendo mitocondria, cuerpos multi-vesiculares, retículo endoplásmico y elementos de Golgi, todos ellos formando un material fibrogranular) (**Figura 4**).

Durante este estadio se encuentra la fase alveolo cortical, donde se forman de manera gradual pequeñas gotas de lípidos y los alveolos corticales originalmente cerca de la vesícula germinal, sin embargo, posteriormente emigra a la periferia del ovoplasma. La función de los alveolos corticales es endurecer la envoltura vitelina y evitar la poliespermia (Tyler y Sumpter, 1996).

En este estadio el ovocito continúa rodeándose de las células pre-foliculares hasta formar una capa simple de células escamosas. Al final, rodean al ovocito y se vuelven células cuboides durante la progresión del crecimiento primario, que son conocidas ahora como células foliculares. Para este momento, numerosas proyecciones (micro-vellosidades) se desarrollan en la superficie del ovocito y entre las células foliculares, formando la zona pelúcida, esto con el fin de promover sitios activos de intercambio de diversos materiales entre las células (Uribe y col., 2010).

Los ovocitos se encuentran rodeados por una capa acelular externa a la membrana plasmática, que se denomina corion o envoltura vitelina. Esta envoltura terminara rodeado al ovocito primario, fase donde culmina su desarrollo (Babin y col., 2007). A su vez, se puede distinguir en su interior la zona radiata, que constituye la mayor parte de la envoltura. La zona radiata está formada por una serie de proteínas que se sintetizan en el hígado y se transportan por torrente sanguíneo hasta depositarse en el ovario (Oppen-Bernsten y col., 1992; Anton, 2004). El agrupamiento que resulta de las células foliculares acaba por formar una envoltura folicular o folículo. En él se puede distinguir una capa interna de células que se denomina granulosa y otra externa que es la teca (Guraya, 1986; Bromage y Cumaratunga, 1988; Anton, 2004). La zona pelúcida constituye la mayor parte de la envoltura y está formada por una serie de proteínas que se sintetizan en el hígado y se transportan por el torrente sanguíneo hasta depositarse en el ovario (**Figura 5**) (Oppen-Bernsten y col., 1992; Anton, 2004).

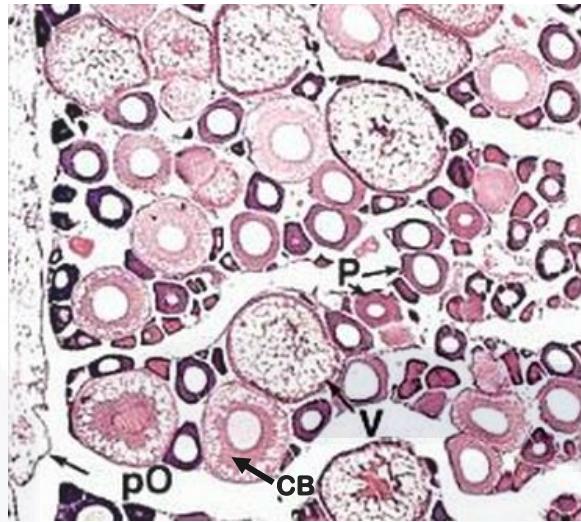


Figura 4. Ovocito en estadio pre-vitelogénico (P) de *Carassius auratus* (carpa dorada), Cuerpos de Balbiani (CB), Vitelo (V) y pared del Ovario (pO) (Flores y Uribe, 2002).

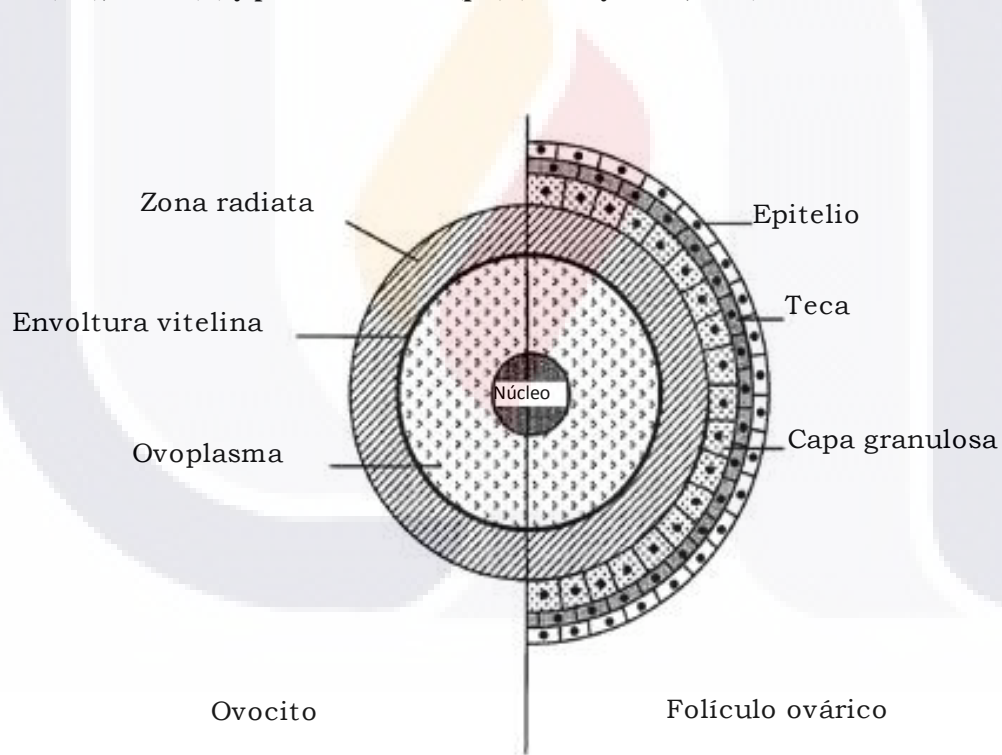


Figura 5. Diferenciación esquemática entre un ovocito y la formación del folículo ovárico (Saborido-Rey, 2008).

d) *Crecimiento secundario o vitelogénesis.*

Este estadio se caracteriza por la acumulación de vitelo que servirá de alimento para el embrión (Uribe y col., 2010). Hace referencia a la inducción y síntesis de proteínas precursoras del vitelo a nivel del hígado, así como su captación desde el torrente circulatorio y su internalización en el ovocito (Tyler, 1991; Anton, 2004). Es el fenómeno responsable de la mayor parte del crecimiento del ovocito. Durante este estadio en fase temprana, los alveolos corticales todavía se observan pero son aún más densos que en el estadio anterior, se observan acompañados de vesículas vitelinas llenando al citoplasma. Los alveolos corticales se dirigen a la periferia del ovocito (**Figura 6**) (Blazer, 2002).

En los peces ovíparos la vitelogenina es secretada en el hígado en respuesta a la estimulación de los esteroides. Este proceso está regulado por la glándula pituitaria, ya que mediante la producción de la gonadotropina pituitaria se estimula dentro del ovocito la producción de estrógeno, principalmente el estradiol-17, que viaja por el torrente sanguíneo hasta el hígado para activar la producción de vitelogenina (McMillan, 2007). Cuando la vitelogenina llega a los ovocitos en desarrollo, se internaliza por medio de receptores específicos en un proceso de endocitosis (Anton, 2004).

Las células foliculares se mantienen como una capa simple a través de la ovogénesis, durante la vitelogénesis se vuelven columnares o pseudo-estratificadas. Así mismo, suelen engrosar más que las células escamosas y las cuboides mencionadas en el crecimiento del ovocito primario (**Figura 7**) (Uribe y col., 2010).

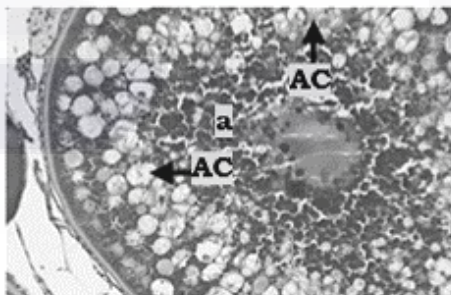


Figura 6. Vesículas vitelinas (a) y Alveolos corticales (AC) en la fase temprana de la vitelogénesis (tomada de Blazer, 2002 y modificada por Araujo-García).

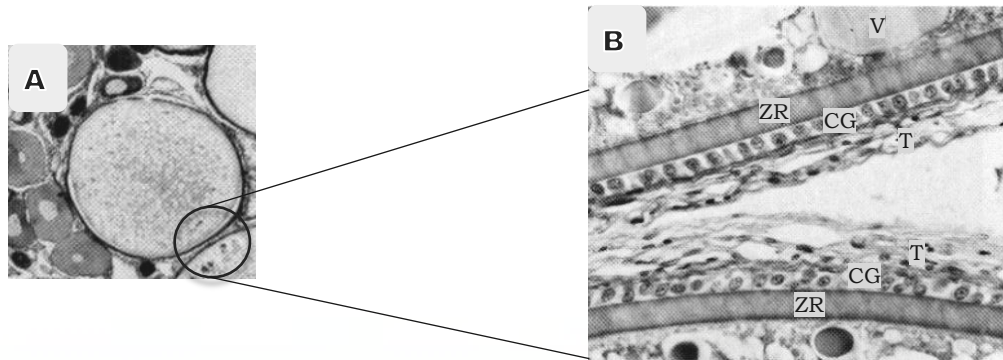


Figura 7. A. Ovocito en estadio vitelogénico. B. Células foliculares. Zona radiata (ZR), Capa granular (CG) y Teca (T). Vitelo del ovocito (V) (tomadas de Fishelson y col., 2006, modificada por Araujo-García).

e) Maduración ovárica.

Una vez que la vitelogénesis se ha completado en el ovocito, se da paso a la maduración ovárica. En esta fase se produce una migración de la vesícula germinal hacia el polo animal donde desaparece. Esto señala la finalización de la primera fase meiótica (Nagahama, 1987; Anton, 2004). La ruptura de la vesícula germinal y la mezcla de su contenido con el citoplasma permiten dividir la maduración en dos fases: maduración temprana y maduración tardía. En la maduración temprana se observa un rápido incremento en el volumen folicular debido principalmente a la hidratación, aunque la continua acumulación de macromoléculas heterosintéticas forma alrededor del 16% de este incremento. La incorporación de proteínas aparece para detener abruptamente el rompimiento de la vesícula germinal. Esto es consistente con la observación de que los ovocitos en maduración temprana continúan mostrando actividad endosítica para su superficie, mientras que esto no ocurre en la maduración tardía (McMillan, 2007).

Durante la maduración tardía se rompe la vesícula germinal y su contenido se mezcla en el resto del ovoplasma, al mismo tiempo el folículo continúa hidratándose. Los glóbulos de aceite o gotas lipídicas comienzan a colapsarse perdiendo sus atributos periféricos y se vuelven capaces de moverse libremente a través del ovocito (**Figura 8**). Antes de la ovulación los glóbulos se dirigen al polo animal brindándole la capacidad de mantenerse en la posición correcta, en caso de que el ovocito se encuentre invertido, los glóbulos migrarán al polo animal para corregir la posición (Tyler y Sumpter, 1996).

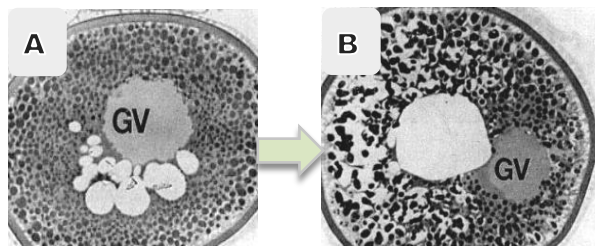


Figura 8. A. Glóbulos de aceite o gotas lipídicas colapsadas. B. Vesícula Germinal (GV) (Tomada de McMillan, 2007 y modificada por Araujo-García).

La maduración folicular es controlada por la gonadotrofina pituitaria la cual conduce un cambio en la esteriodogénesis folicular lejos de la producción del estradiol 17β , necesaria para la vitelogénesis y el crecimiento del ovocito, para la producción de la hormona inductor de madurez (MIH) requerida para la reanudación de la meiosis I. De manera general la maduración se lleva a cabo por la producción de 17α hidroxiprogesterona en la teca, que después es convertida por la capa granulosa a $17\alpha, 20\beta$ dihidroxi 4-pregnen-3-ona.

Inmediatamente antes de que se rompa la vesícula germinal, la tétrada de cromosomas puede ser detectada en la parte central de la vesícula germinal alargada. Antes de que la maduración inicie, en el citoplasma germinal se observa una gran cantidad de mitocondrias, retículo endoplásmico granular y complejos de Golgi. La ruptura de la vesícula germinal lleva a la formación del huso meiótico y dentro de tres horas, la meiosis progresa a través de la pro-metafase 1 a la metafase 1, seguido de un tiempo corto en la anafase 1, la primera división de la maduración se completa a las cuatro horas en la mayoría de los Teleósteos. El ovocito alcanza la metafase 2 alrededor de las cinco horas después de la ruptura de la vesícula germinal y el primer cuerpo polar es extruido por el polo animal. Todas las proyecciones citoplásmicas, tanto del ovocito como de las células foliculares se alejan de la zona pelúcida. La ovulación toma lugar al final de este estadio. El proceso meiótico lleva a la expulsión de segundo cuerpo polar lo que reduce el tiempo de la fertilización y la penetración del esperma (McMillan, 2007).

La maduración ovárica en peces es regulada principalmente por tres factores: a) la gonadotropina GtHII, que es equivalente a la hormona luteinizante en tetrápodos y que actúa al nivel de las células foliculares, estimulando la formación de hidroxiprogesterona, denominándose como una hormona indicadora de la maduración (MIH) en la mayor parte

de las especies de peces. Por último, al intervenir en la superficie del ovocito actúa como un factor promotor de maduración (MPF).

Cuando los ovocitos han madurado, se da paso al fenómeno de la ovulación. Al ser fertilizados, el espacio peri-vitelino es llenado con agua, y a partir de ese momento, el corión se vuelve impermeable a cualquier movimiento de agua (Nagahama, 1987; Anton, 2004).

2.8 Intervención de la vitelogenina durante la ovogénesis.

La vitelogenina (VTG) es una lipofosfoglicoproteína, sustancia precursora de las reservas de vitelo del ovocito. Se sintetiza en el hígado bajo la estimulación del estradiol (E2). Se libera al torrente sanguíneo e incorpora de manera progresiva al ovocito por medio de endocitosis, adhiriéndose a pequeños componentes (fosvitina, lipovitelina y un α -componente) aumentando las reservas del vitelo. La acumulación óptima de VTG es importante para la calidad del huevo y para la sobrevivencia de la larva debido al papel que desempeña como reserva nutricional hasta el inicio de la alimentación externa o exógena (Uribe y col., 2010).

2.9 Foliculogénesis.

Grier y col. (2009) describen que los cambios progresivos que caracterizan a la foliculogénesis comienzan en las células pre-foliculares en los nidos de células y es completada cuando las células pre-foliculares rodean al ovocito, formando un folículo. Para este momento, las células pre-foliculares se convierten en células foliculares. El folículo es abarcado por una membrana basal subsecuentemente, una delgada teca vascularizada derivada del estroma, que se desarrolla alrededor de la membrana basal. En este punto, el complejo del folículo que incluye al ovocito y las células foliculares, además de los elementos del alrededor como la membrana basal y la teca que son referidos como “complejo folicular ovárico” (Cabrita y col., 2009). Para la etapa de maduración del ovocito, las células foliculares se vuelven escamosas como en el estadio de ovocito primario aunque se observa un poco más densa debido a las capas granulosa y teca (**Figura 9 y 10**) (Uribe y col., 2010).

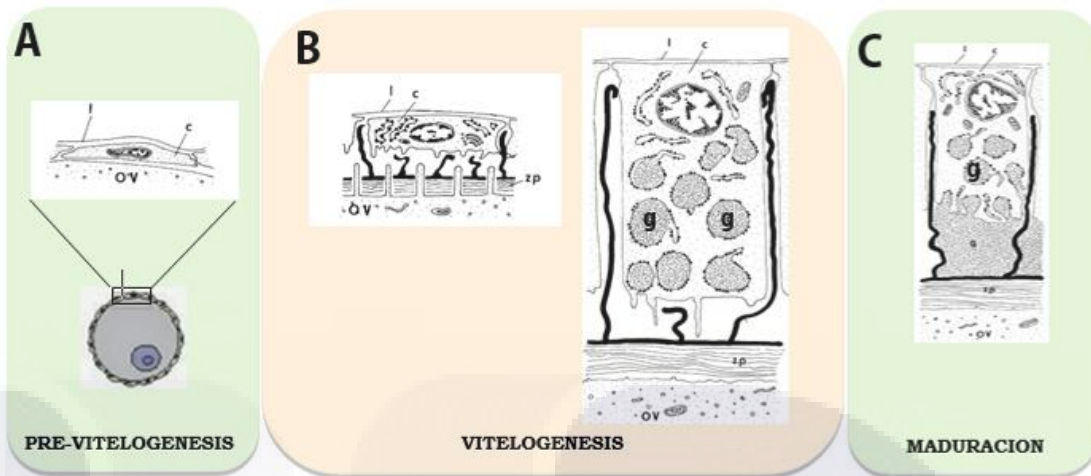


Figura 9. A. Pre-vitelogénesis con células pre-foliculares escamosas que comienzan a rodear al ovocito en desarrollo. B. Vitelogénesis con células foliculares en una capa, con forma columnar o pseudo-estratificada, más gruesas. C. Maduración en la vitelogénesis con células foliculares escamosas densas. Abreviaciones: células foliculares (c); Ovocito (ov); membrana basal del epitelio folicular (l); Zona pelúcida (zp); glicoproteínas (g) (tomada de McMillan, 2007, modificada por Araujo-García).

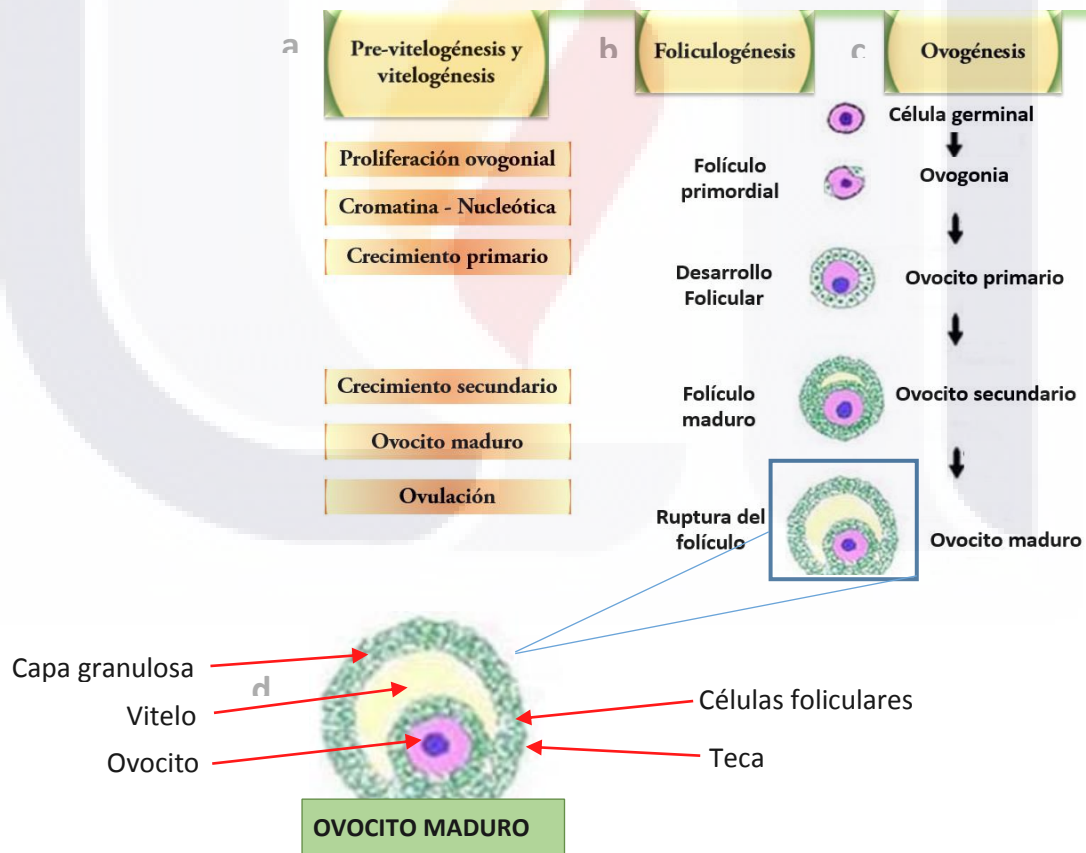


Figura 10. Unión de los procesos de pre-vitelogénesis, vitelogénesis, foliculogénesis y ovogénesis (tomada de <https://wikis.engrade.com/gametogenesisyfecundaci1> y modificada por Araujo-García).

2.10 Atresia.

Es conocida como la degradación del ovocito. Este proceso permite que los ovocitos que no lleguen a madurar se absorban por el tejido ovárico. La atresia puede presentarse en cualquier parte del desarrollo del ovocito (Bromage y Cumaranatunga, 1988; Anton, 2004). Según Blazer (2002), la atresia puede ser caracterizada por la desintegración del núcleo, ruptura de la envoltura vitelina e incremento del número y tamaño de las células foliculares (**Figura 11**). Según el grado de desarrollo alcanzado por el ovocito, su contenido de vitelo también es reabsorbido por fagocitosis desde las células de la capa granulosa y posiblemente las células de la teca (**Figura 12**) (Nagahama, 1983; Linares-Casenave y col., 2002; Valdebenito y col., 2011). Los ovocitos atrésicos son una característica común del ovario de los Teleósteos (Ball, 1960; Saidapur, 1978; Valdebenito y col., 2011), los que pueden presentarse tanto en peces de vida silvestre como en cautiverio (Leonardo y col., 2006; Valdebenito y col., 2011). Este proceso de degeneración se puede presentar particularmente bajo situaciones de estrés (Santos y col., 2008; Valdebenito y col., 2011) y condiciones ambientales adversas, especialmente en peces en condiciones de cautiverio (Ball, 1960; Linares-Casenave y col., 2002; Valdebenito y col., 2011).

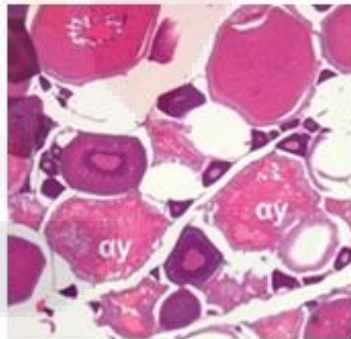


Figura 11. Disrupción nuclear, quiebre temprano de glóbulos de vitelo e hipertrofia de células de la granulosa en un ovocito maduro ($\alpha\gamma$) (Villegas-Torres, 2007).

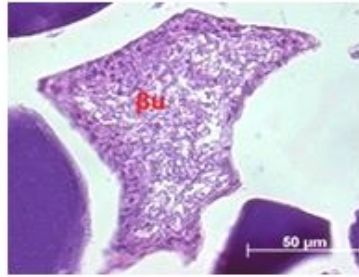


Figura 12. Las células de la granulosa migran y fagocitan el vitelo (βu). Las células de la teca no son observadas invadiendo el interior del ovocito. El corion está completamente desintegrado (Villegas-Torres, 2007).

2.11 Tipos de reproducción.

De acuerdo al desarrollo gonadal se han identificado los siguientes tipos de frecuencia reproductiva: a) desarrollo sincrónico, b) desarrollo sincrónico por grupos y c) asincrónico. En el tipo sincrónico, todos los ovocitos avanzan en sincronía a través de todas las fases gametogénicas, en la maduración final del ovocito y en la ovulación. En el ovario, se presenta solo un tipo de desarrollo de los ovocitos. Las especies desovan una sola vez en su vida (Cabrita y col., 2009), y es característico de las especies semélparas. Para las especies que presentan este tipo de desarrollo gonadal, es más fácil observar el tipo de estado de desarrollo ovárico en el que se encuentran, ya que todos los ovocitos están en el mismo estadio. De esta manera, se logra relacionar el estadio del ovocito con el tipo de desarrollo gonadal y el estadio de desarrollo ovárico (Blazer, 2002).

En el segundo tipo, existen al menos dos grupos de tamaños de ovocitos presentes al mismo tiempo, siendo normalmente el grupo más avanzado el más homogéneo. A medida que progresa el desarrollo gonadal de este último grupo se establece una distancia clara entre la distribución de tamaños de ambos grupos (Gaspar, 1995). Un grupo de ovocitos vitelogénicos es reclutado y dirigido sincrónicamente a través de las etapas posteriores de desarrollo, mientras que el resto de la población de los ovocitos permanece retenida. El grupo de ovocitos reclutados pueden someterse a la maduración, ovulación y desove. Las especies desovan una o más veces durante la temporada anual reproductiva. Este tipo de desarrollo ovárico puede dividirse en dos subgrupos de desove: “un solo lote” y “muchos lotes”. El de “un solo lote”, presenta un grupo de ovocitos que entrarán en maduración por estación y así, se producirá un solo desove por año. El grupo de “muchos lotes”, son

capaces de hacer este proceso varias veces durante las temporadas de desove, entonces, con el reclutamiento de los lotes sucesivos de ovocitos se tienen varios desoves por año (Cabrita y col., 2009).

El tercer tipo es presentado por especies que producen múltiples desoves a través de un periodo de tiempo y casi diariamente. En el ovario se presentan de manera simultánea ovocitos en todos los estados de desarrollo (Gaspar, 1995). El ovario presenta todas las clases de fases de desarrollo de ovocitos desde la vitelogénesis temprana hasta la maduración en cualquier momento del ciclo reproductivo (Cabrita y col., 2009). Este tipo de desarrollo gonadal puede contener ovocitos individuales en cuatro o más etapas de desarrollo. Algunos investigadores han representado éste tipo de desarrollo gonadal basándose en la etapa más avanzada del desarrollo (Borg y Van Veen, 1982; Blazer, 2002), otros han utilizado proporciones relativas de desarrollo etapas (Schmitt y Dethloff, 2000; Blazer, 2002) y otros cuentan los ovocitos de manera individual y calculan el porcentaje de cada etapa en la que se encuentren los ovocitos (Htun-Han, 1978; Miles-Richardson y col., 1999; Blazer, 2002).

La distribución de tallas de los ovocitos en un ovario de este tipo es continua, excepto en el momento de la puesta, en que se destacan por su tamaño los ovocitos hidratados, o bien puede presentar modas sucesivas pero sin ninguna separación entre ellas (Gaspar, 1995).

2.12 Los testículos.

Los testículos surgen como estructuras pareadas dentro de la cara dorsal de la cavidad corporal. En la mayoría de los Teleósteos, los testículos son blancos, lobulados, alargados y unidos a la pared dorsal de la cavidad del cuerpo (Coward y col., 2002). Los testículos de los Teleósteos consisten en dos compartimientos: inter-lobular (intersticial) y tubular. Dentro del compartimiento inter-lobular se encuentran las células de Leydig, vasos linfáticos, macrófagos, mastocitos, células de tejido conectivo y neuronales (Koulish y col., 2002; Schulz, 2010). Las células de Leydig participan en la producción de andrógenos como la testosterona (Schulz, 2010) y 11-keto-testosterona, que son hormonas esenciales en el ciclo reproductivo (Grier, 1981; Blazer, 2002; Uribe, 2010).

El compartimiento tubular está rodeado por una membrana basal, células mioideas peri-tubulares y epitelio. El epitelio contiene dos células solamente: células somáticas de Sertoli y células germinales, que se encuentran en diferentes estadios de desarrollo. Las células germinales pueden sobrevivir solamente si se encuentran en interacción continua con las células de Sertoli, por tanto, las células de Sertoli determinan la capacidad espermática de los testículos y al mismo tiempo son un objetivo importante de la señalización de la espermatogénesis sistema. Además, sintetizan y secretan una variedad de funciones de carácter proteico, de crecimiento, prostaglandinas, esteroides, modeladores de división celular y otros (Schulz, 2010).

Estructuralmente, los testículos de los peces Teleósteos pueden clasificarse en dos tipos: tubular y lobular. El de tipo tubular es aquel donde los testículos presentan una amplia cavidad que es donde se almacenan los espermatozoides (Billard, 1986). Son el tipo de testículos más común. Los espermatoцитos son distribuidos a lo largo de los testículos, en una estructura tubular y no se mueven durante el proceso de espermatogénesis (Rodríguez-Gutiérrez, 1992). Los espermatozoides se agrupan en paquetes llamados espermatozégmata (**Figura 13**) (Billard, 1986). Los testículos lobulares presentan lóbulos que terminan en ciegos en la periferia de los testículos, en ellos, las espermatogonias se encuentran restringidas a las puntas y los espermatoцитos y espermátidas se mueven hacia el sistema de conductos eferentes durante la espermatogénesis (**Figura 13**) (Cabrita y col., 2009).

El desarrollo testicular generalmente se basa en las proporciones relativas de espermatoцитos (primarios y secundarios), espermátidas y espermatozoides. Los cambios cíclicos en la actividad testicular se han documentado para diferentes especies peces (Henderson, 1962; Ahsan, 1966; Mackay, 1973; Bhatti y Al-Daham, 1978; Grier, 1981; Burke y Leatherland, 1984; Berlinsky y col., 1995; Sulistyó y col., 2000; Santos y col., 2001; Blazer, 2002).

El proceso que conlleva a la maduración de la gónada se denomina espermatogénesis y tiene seis estadios de desarrollo, que son: espermatogonias primarias y secundarias, espermatoцитos primarios y secundarios, espermátidas y espermatozoides (Groman, 1982; Gaspar, 1995). Antes de la iniciación de desarrollo gonadal, los testículos inmaduros tienen espermatogonias conocidas también como células espermatogonias vástago que proliferan por divisiones mitóticas, a través de un proceso de auto-renovación (Cabrita y col., 2009).

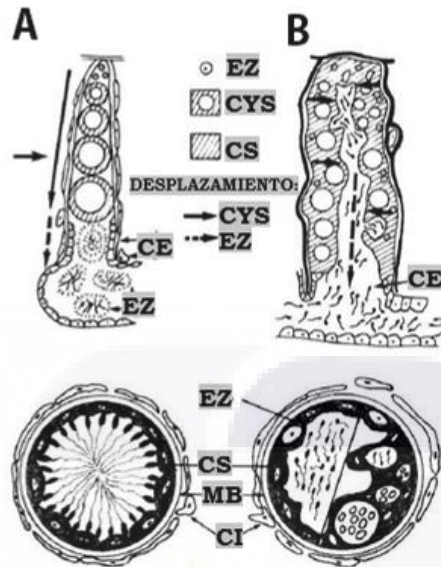


Figura 13. A. Testículo tipo tubular. Los cistos migran hacia el conducto eferente (CE). Abajo se observa el acomodo de los cistos de manera transversal. B. Testículo tipo lobular. Los cistos se observan a través del largo del lóbulo. Debajo se muestra una vista transversal del testículo. Cisto (CYS), células de Sertoli (CS), espermatozoides (EZ), membrana basal (MB), célula intersticial (CI) (Billard, 1986).

2.12. 1 Espermatogénesis.

La espermatogénesis es un proceso altamente coordinado y organizado, donde una espermatogonia diploide prolifera y se diferencia para formarse en un espermatozoide maduro (Hoar, 1969; Anton, 2004; Schulz, 2010). Las finas uniones entre las células de Sertoli dan lugar a los compartimientos en donde las células germinales se desarrollan sincrónicamente en cistos (Hoar, 1969; Anton, 2004). Las interacciones que ocurren entre las células de Sertoli y las células germinales requieren de un control hormonal endocrino: hipotálamo-hipófisis-testículos. Este procedimiento es influenciado por condiciones ambientales actuando sobre el sistema nervioso central, ajustándose y controlando el nivel de actividad durante los ciclos reproductivos (Uribe, 2010).

La presencia y abundancia relativa de los diferentes estadios de desarrollo por los que pasan las células germinales desde las espermatogonias primarias hasta espermatozoides permite determinar el estado del desarrollo testicular (**Figura 14**) (Cabrita y col., 2009).

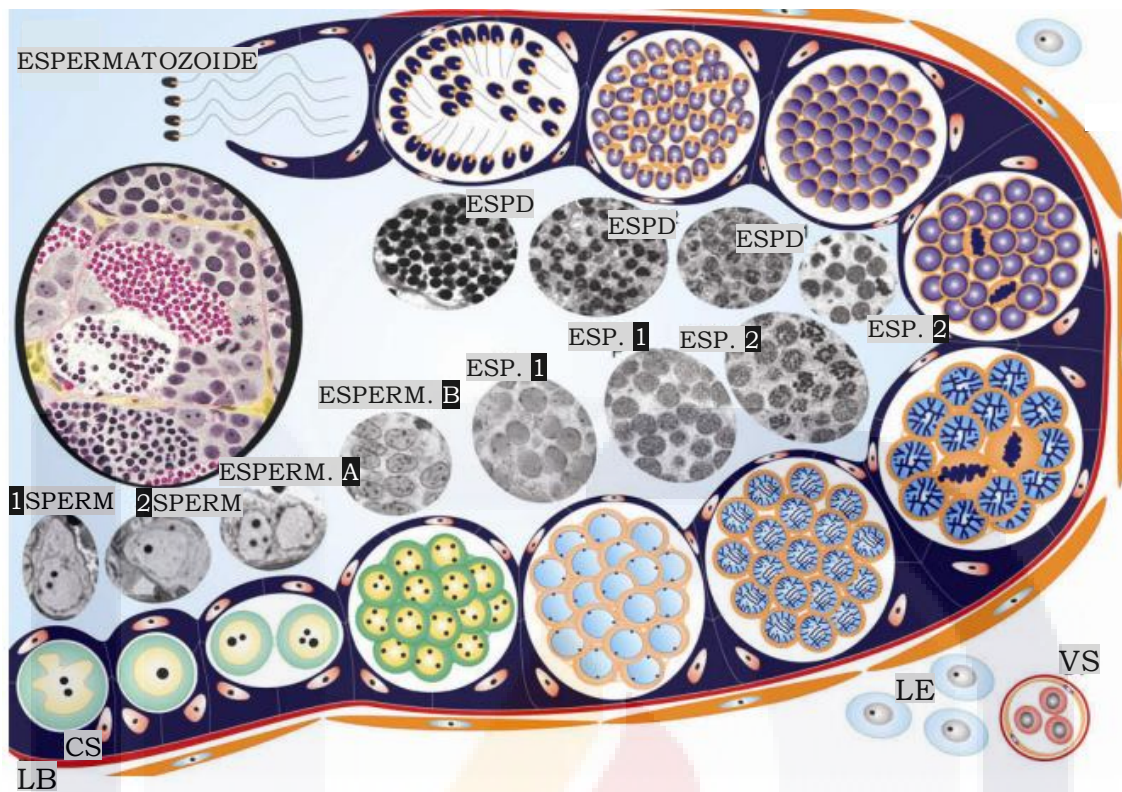


Figura 14. Espermatogénesis completa con ilustración histológica y gráfica. Lamina basal (LB), Células de Leydig (LE), Vasos sanguíneos (VS), células de Sertoli (CS). Espermatogonias indiferenciadas (1SPERM, 2SPERM), Espermatogonias primarias (ESPERM.A), Espermatogonias secundarias (ESPERM.B), Espermatoцитo primario (ESP. 1), secundario (ESP. 2), Espermátida (ESPD) y Espermatozoides (Schulz y col., 2010).

Existen dos tipos de clasificación de los testículos de los Teleósteos basados en la distribución de la espermatogonia en el compartimento germinal (Grier, 1981; Schulz, 2010). En el primero, la distribución de las espermatogonias está delimitada, las regiones se encuentran distales del compartimento germinal, cerca de la túnica albugínea se ubican las células de Sertoli rodeando a la espermatogonia aún indiferenciada. Este tipo de arreglo es característico de los Atheriniformes, Cyprinodontiformes y Beloniformes. Los cistos migran hacia los ductos espermáticos para dar paso a la espermiación. El segundo tipo, la propagación de las espermatogonias es a lo largo del compartimento germinal y los cistos no migran. Este arreglo es característico de los Cypriniformes, Characiformes y Salmoniformes (Parenti y Grier, 2004; Schulz, 2010).

a) Espermatogonias primarias.

En los machos juveniles de Teleósteos, los túbulos seminíferos no están bien definidos y existen numerosas células germinales que forman a los cistos. Las espermatogonias que se encuentran dentro de los cistos, denominadas como “células espermatogonias vástago”, son caracterizadas por la esfericidad de sus células y en un número de cinco a siete por cada cisto o nido (Gaspar, 1995; Cabrita y col., 2009). La sobrevivencia y desarrollo de cada célula vástago depende de la asociación con las células de Sertoli, que al unirse forman una unidad, donde las células de Sertoli envuelven a una sola espermatogonia, posteriormente, se da paso a la formación del espermatocito (Lior y col., 1995; Schulz, 2003). Durante esta fase las espermatogonias proliferan las divisiones mitóticas a través de un proceso de auto-renovación (Gaspar, 1995; Cabrita y col., 2009).

Durante la fase mitótica de proliferación de las espermatogonias, cada espermatogonia pasa por varios ciclos de divisiones mitóticas, que van desde cinco hasta 15 divisiones, dependiendo de la especie. Para el caso del orden de los Cypriniformes se han reportado de ocho a nueve divisiones (Miura, 1999; Ando y col., 2000; Fishelson, 2003; Nóbrega, 2003; Vilela y col., 2003; Fishelson y col., 2006; Bizzotto y Godinho, 2007; Almeida y col., 2008; Nóbrega y col., 2009). La citoquinesis es incompleta y las células hijas mantienen puentes citoplasmáticos entre ellas, permaneciendo juntas en el espermatocisto. Durante esta fase de proliferación mitótica, las espermatogonias pasan primero por una fase de tipo división lenta (espermatogonias primarias) (**Figura 15**) y después por una división rápida (espermatogonias secundarias) (Cabrita y col., 2009).

b) Espermatogonias secundarias.

Estas células se desarrollan después de la división mitótica. Se diferencian debido a los grumos de cromatina densa que se observan en sus núcleos y en la frecuente ausencia de nucléolo (Fishelson y col., 2006). Durante la fase de espermatogonia temprana, la división mitótica es lenta, sin embargo, cuando se da paso a la fase de espermatogonia secundaria la mitosis es rápida. Esta última división da lugar a los espermatocitos primarios, los cuales entran al proceso de meiosis (**Figura 15**) (Cabrita y col., 2009).

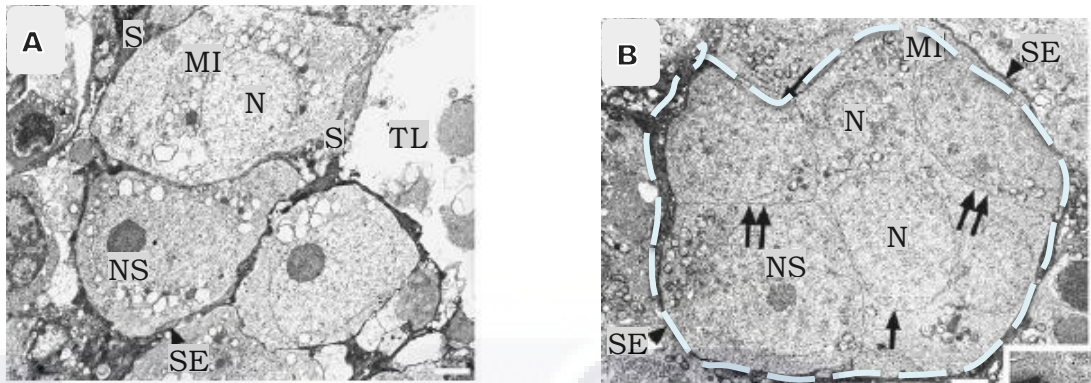


Figura 15. A. Espermatogonia primaria. B. Espermatocisto envolviendo a espermatogonias secundarias (línea punteada). Se observan componentes como: Espermatogonias (flechas) Célula de Sertoli (S), Mitocondria (MI), extensiones de las células de Sertoli (SE), Núcleo (N), Nucléolo (NS) y Lumen Tubular (TL) (Fishelson y col., 2006).

c) Espermatocitos primarios

Los espermatocitos primarios proceden a una primera división meiótica (duplicación y recombinación de la información genética del ADN), dando paso a la formación de espermatocitos secundarios (Cabrita y col., 2009). Los núcleos se observan marcados por una condensación gradual de cromatina (profase), la condensación de la cromatina que se forma es llamada como “Buques cromosómicos”. Finalmente, en la fase del paquiteno, se forman los cromosomas, se hacen evidentes por las tiras de cromatina densa (**Figura 16**). El estadio final de maduración cromosómica es en el diploteno, el cual es caracterizado también por la evidencia de cromosomas cortos y gruesos (Fishelson y col., 2006).

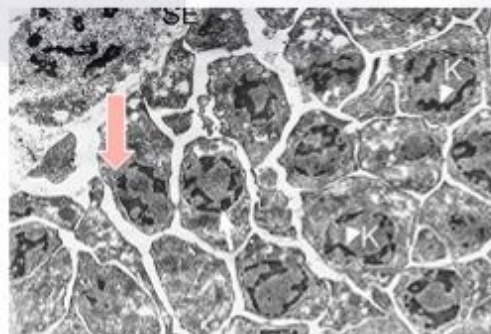


Figura 16. Condensación de la cromatina (Fishelson y col., 2006)

d) Espermatocitos secundarios.

Son caracterizados debido a la densificación de la cromatina, se observan gránulos de cromatina en la membrana del núcleo y la formación del centriolo en el citoplasma. El espermatocisto se muestra alargado mostrando el comienzo de la formación de la espermatida (**Figura 17**), y ésta a su vez, muestra un flagelo rudimentario que será la cola del espermatozoide. A través de estos desarrollos, los grupos de espermatocitos dentro del cisto permanecen interconectados con puentes citoplasmáticos (Fishelson y col., 2006). En este estadio los cistos se independizan de los espermatocitos secundarios y caen directamente al lumen tubular donde sucede una meiosis, y se transforman en espermatidas (Gaspar, 2009).

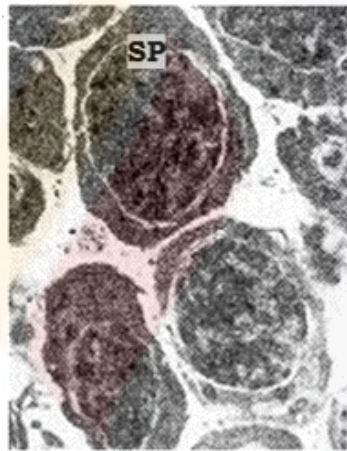


Figura 17. Espermatocitos almacenados con formación más alargada. Espermatocito secundario (SP) (Gaspar, 1995).

e) Espermatidas.

Las espermatidas se someten a un período de diferenciación final conocido como espermiogénesis, el ADN se compacta al máximo en un núcleo pequeño (Schulz y col., 2010). Las espermatidas entran en el proceso en donde se diferencian en espermatozoides flagelados. Este proceso no incluye proliferación celular, solo la transformación celular, que incluye una drástica reducción en tamaño (>80%) debido a la condensación y extrusión del núcleo del contenido citoplasmático rodeadas por las células de Sertoli (Cabrita y col., 2009). El cambio desde la espermatogonia a espermatozoide está estrictamente regulado

por un microambiente específico realizado por las células de Sertoli (**Figura 18**) (Schulz y Miura 2002; Nóbrega y col., 2009).

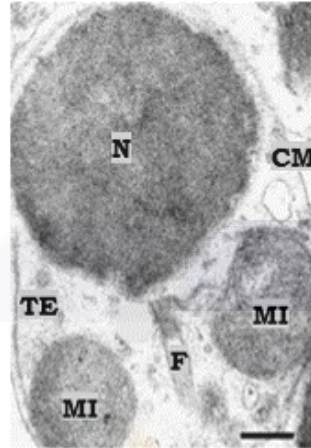


Figura 18. Maduración de las espermátidas. Núcleo (N), Membrana celular (CM), Túbulo endoplásmico (TE), Flagelo (F), Mitocondria (MI) (Fishelson y col., 2006).

2.13 Formación y estructura del espermatozoide.

Dentro del lumen, el espermatozoide pasa por un proceso de capacitación de maduración para adquirir la capacidad de fertilización. La maduración ocurre a lo largo del conducto eferente. El conducto eferente produce una alta cantidad de fluido conocido como hidratación espermática, dando paso a la formación de la lecha que es un fluido donde se suspenden los espermatozoides (Cabrita y col., 2009).

2.14 Histología.

Es el estudio de las células y tejidos. Las estructuras histológicas determinan y son determinadas por las funciones de los diferentes órganos y tejidos. La mayor herramienta de la histología es el microscopio. De la misma manera existen varios procedimientos estándares utilizados para preparar tejidos y hacerlos visibles al microscopio (Young y col., 2014). Los pasos en un protocolo en general de procesamiento histológico son los siguientes: a) fijación, o procedimiento de conservación; b) inclusión, que facilita el corte de la pieza; c) microtomía, para la obtención de los cortes suficientemente delgados para

poder observarlos a través de la luz del microscopio óptico; y d) la tinción, con la que se podrá poner en manifiesto la estructura de interés (Montuenga y col., 2009).

Los estudios histológicos proveen de información precisa del desarrollo ovárico pero son lentos y costosos debido a que involucran complejas técnicas de laboratorio (West, 1990). Sin embargo, actualmente surge el interés en el estudio de las alteraciones histológicas (histopatología), debido a que los cambios estructurales a nivel gonadal son el resultado de la integración de un gran número de procesos fisiológicos que interactúan entre sí (Valdebenito y col., 2011).

2.15 Factores exógenos y endógenos que intervienen en la reproducción.

Aunque la reproducción está relacionada con la edad y la condición fisiológica del pez, existen otros factores que intervienen durante el evento reproductivo que son los factores exógenos y los endógenos. Los primeros incluyen a la temperatura, el fotoperiodo, las características físicas y químicas del agua (la salinidad, el oxígeno disuelto, el pH, etc.), los factores sociales como la desproporción de sexos, la disponibilidad de alimento, etc. (Munro, 1990; Ocampo, 2008). Cada uno de estos factores tiene influencia sobre los factores endógenos, que son todos los cambios fisiológicos en el organismo (Ocampo, 2008), que se presentan a nivel genético u hormonal (fecundidad, desarrollo gonadal, cambio en la coloración, entre otros).

2.15.1 Principales factores exógenos en la reproducción.

Son varios los factores ambientales y fisiológicos que se encuentran participando en la maduración gonadal y desove de los peces (Bromage y col., 2001). Dentro de éstos factores se destacan dos principales que son el fotoperiodo y la temperatura (Eyeson 1983; Emit y col., 1989; El-Naggar y col., 2000). Los ciclos del fotoperiodo y la temperatura se han mostrado como factores ambientales pioneros, donde su periodicidad anual o diaria se encuentra relacionada con el inicio, termino, aceleración o desaceleración de la actividad reproductiva en peces (Pankhurst y Porter 2003; Takemura y col., 2010).

La temperatura es generalmente el factor más variable y al mismo tiempo el más controlado. Se considera como el factor ambiental influyente en la reproducción de los peces más investigado. Por otro lado, el fotoperiodo es aquel factor que puede regular los

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ejes fotoreceptores, el sistema nervioso central, el hipotálamo, la gonadotropina pituitaria, la secreción ovárica del estrógeno, la proliferación ovogonial y la formación del vitelo (Yaron y col., 1980; Hansen y col., 2001).

2.15.2 Papel de los factores exógenos en la reproducción.

Los factores exógenos como el fotoperiodo y la temperatura son los promotores de la reproducción y desarrollo gonadal, esto puede ocurrir de manera natural o en cautiverio. En ambos casos el proceso fisiológico hormonal provocado por estos dos factores es el mismo. El sistema encargado de recibir los estímulos provocados por los factores exógenos es el sistema endocrino. Éste sistema en los peces Teleósteos se basa en el eje hipotálamo-hipófisis-gónada, en donde participa el factor endógeno hormonal. Por lo tanto, hay una comunicación permanente entre el complejo cerebro/pituitaria y la periferia de las gónadas. Esta comunicación permite la actividad de los diferentes componentes del cerebro-hipófisis- gónada se sincronicen en todas las etapas del ciclo de la vida del pez (Mehdi y Mousavi, 2011).

3. ANTECEDENTES

A continuación se mencionan los antecedentes reportados para el manejo de especies tanto comerciales como nativas en cultivo para poder llevar a cabo la reproducción de las mismas. Cabe mencionar que se abarcan aspectos de adaptación de la especie, reproducción, desarrollo gonadal y los factores que dan paso al mismo.

3.1 Adaptación a medios de cultivo.

Vazquez y col. (2013) llevaron a cabo un estudio evaluativo de anestesia para *Chirostoma jordani*. Los anestésicos utilizados fueron: aceite de clavo, solución salina y solución coloidal (Pentabiocare). Las etapas de anestesia y el tiempo de recuperación de los peces se registraron durante un periodo de seis horas. Los resultados indicaron que la solución coloidal y solución salina mantuvieron a los ejemplares en un estado de sedación ligera durante un período de seis horas, con breves intervalos de recuperación. El uso de aceite de clavo determinó un estado de anestesia profunda.

3.2 Reproducción.

3.2.1 Características morfológicas.

Afonso-Dias y Silva (2008) realizan un segundo análisis sobre la clasificación macroscópica del desarrollo gonadal en el Cyprínido *Sardina pilchardus*. Aunque ya se tenía previamente una clasificación determinada por Pinto y Andreu (1957), se observó que hubo errores en dicha clasificación, la mayoría de los cuales se refería a la asignación de las Fases de los ovarios. El problema se puede resolver, sin la pérdida de cualquier información biológica significativa, mediante la combinación de la fase III y V. La especie aún sigue conservando cinco estadios de desarrollo gonadal.

Kobelkowsky (2012), menciona que para el caso de los peces Teleósteos, tanto los ovarios como los testículos son órganos típicamente pareados, suspendidos por medio de mesenterios de la cavidad visceral del techo o de la vejiga natatoria. Durante la temporada de reproducción, los ovarios son órganos grandes y de color amarillento, y pueden

representar aproximadamente del 30% al 70% del peso corporal, mientras que los testículos son los órganos blanquecinos que no alcanzan más de 12% del peso corporal.

3.2.2 Desarrollo gonadal y su análisis histológico.

Gupta (1975) realizó un estudio del desarrollo gonadal de *Cyprinus carpio*, bajo condiciones controladas, y encontró que los machos tardan seis meses en madurar y las hembras de 14 a 15 meses, cuando el 25% de ellas comienzan a desovar a esta edad. El desarrollo gonadal se describe en seis etapas basándose en los cambios histológicos, y se asignaron cuatro etapas de madurez para el macho.

Munkittrick y Leatherland (1984) reportaron el desarrollo ovárico de *Carassius auratus*, en Cambridge, Ontario, durante los meses de marzo hasta noviembre de 1981, y en abril de 1982. Realizaron un estudio histológico y el desarrollo ovárico lo clasificaron en cinco etapas, mientras que el ciclo reproductivo en cinco períodos. También se analizó el proceso de la atresia.

Parmentier y col. (1984) realizaron un análisis comparativo de los tipos de células germinales en testículos y ovarios de cuatro especies de Cyprínidos: *Barbus conchoni*, *Clarias lazera*, *Salmo gairdneri* y *Cyprinus carpio*. En este trabajo se describe que las células germinales del testículo y el ovario de otras tres especies de peces: *Barbus conehoni*, *Clarias lazera* y *Salmo gairdneri* y *Cyprinus carpio* son similares.

Billard (1986) mencionó que en los peces Teleósteos los procesos implicados en la formación de los espermatozoides y su liberación son diversos. Señala que se necesita definir el tipo de testículo (lobular o tubular) y el proceso de espermiogénesis (simple como en las carpas, complejo como en los gupis). En el caso de la manipulación ambiental, la temperatura se muestra como un factor que puede influir en la espermatogénesis en el caso de las carpas.

De Gonzo y col. (1995) realizan un análisis histológico sobre el desarrollo gonadal del testículo del Cyprínido *Leporinus obtusidens* con el fin de aportar la modalidad de reproducción, la fecundidad y la evolución de la madurez testicular de la especie, definiendo cuatro etapas de desarrollo de madurez gonadal.

Dubost y col. (1997) llevaron a cabo un estudio sobre la correlación entre la maduración de la gónada y el rendimiento del fileteado. Se registraron los parámetros

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

morfológicos y las relaciones entre el peso total y la longitud, la biomasa de filete y la biomasa de las gónadas. Con base a los resultados, se aconsejó evitar el fileteado de las hembras antes de desove.

Grier y Taylor (1998) realizaron un estudio del testículo de *Centropomus undecimalis* durante el ciclo reproductivo anual. Se determinó que *C. undecimalis* posee cinco etapas. Parte de la diferencia marcada fue la presencia del epitelio germinal continuo o discontinuo.

Cek y col. (2001) llevaron a cabo un estudio con el Cyprínido *Puntius conchonius*. El estudio determinó siete etapas de ovogénesis. Se observó que las ovogonias estaban presentes durante todo el ciclo reproductivo. El desarrollo gonadal fue de tipo sincrónico por grupos. El evento más importante observado durante las etapas del desarrollo de la ovogénesis fue la observación del vitelo cristalino. Se observó la maduración de las hembras a los 112 días después de la eclosión.

Maack y Segner (2003) investigaron la gonadogénesis mediante análisis histológicos del pez cebra, *Danio rerio*. El estudio realizado fue con la finalidad de determinar cuánto es el tiempo promedio en que la gónada puede diferenciarse, y así determinar si el organismo es macho o hembra. Se tiene conocimiento del peligro de compuestos con actividad endocrina que no permiten llevar a cabo la diferenciación de la gónada. Por lo tanto, mientras los peces permanecen como hermafroditas suelen ser más vulnerables ante estos compuestos.

Sivakumaran y col. (2003) reportan un estudio detallado de la maduración de las gónadas realizado con la carpa *Cyprinus carpio* L., existente en las aguas del Lago Victoria en Australia. Dentro de los análisis realizados, además del desarrollo gonadal, fueron la temporada de desove, la fecundidad y el diámetro de los ovocitos. De los resultados obtenidos, se estimó el tamaño del huevo a partir del diámetro de los ovocitos en la carpa de ocho secciones. El tamaño del huevo era proporcional al tamaño de la madre, pero no la edad.

Rutaisire y col. (2003) llevaron a cabo un estudio sobre la morfología macroscópica y microscópica del testículo de *Labeo victorianus*. Dentro de las características descriptivas que se mencionan son las siguientes: testículo alargados y suspendidos a ambos lados de la vejiga natatoria; un conducto espermático corriendo a lo largo de la superficie medial de cada testículo; los conductos espermáticos principales revestidos por epitelio cilíndrico

simple con el apoyo de una pared con el tejido conectivo elástico y unas pocas células del músculo liso; la túnica albugínea divide los testículos en lóbulos, que contenían a todas las células espermatozógenas; y los lóbulos liberan espermatozoides que desembocaban directamente en el conducto espermático principal.

Smith y Walker (2004) comentan que para poder definir el tipo de desarrollo ovárico de un pez es necesario el uso de herramientas, tales como inspección histológica y macroscópica para que se permita observar todas las etapas, tal y como se realizó con la carpa común (*Cyprinus carpio*) en el Rio Murray, al sur de Australia, donde reportaron que presentó siete meses de actividad reproductiva continua.

Rutaisire y Booth (2004) realizaron un estudio para investigar los cambios de ovocitos y del ovario de dos poblaciones con diferentes condiciones ambientales de *Labeo victorianus*. Describen la gónada como órganos pares situados en la cavidad peritoneal. Se identificaron ocho etapas: las ovogonias, los ovocitos cromatina-núcleo, los ovocitos perinucleares, ovocito con vitelogénesis primaria, ovocito con vitelogénesis secundaria, ovocito con vitelogénesis terciaria, folículos post-ovulatorios y ovocitos atrésicos.

Parenti y Grier (2004) realizan una revisión sobre la evolución y filogenia de la morfología de la gónada en peces Teleósteos machos. Se tomaron en cuenta características principales como el epitelio germinal para poder realizar la clasificación del tipo de testículo que presentarían las clases Actinopterygii y Sarcopterygii. Además, realizan una breve descripción de cómo es la estructura microscópica para cada tipo de testículo.

Çakıcı y Üçüncü (2007) realizan un estudio sobre el desarrollo de los ovocitos del pez cebra. Se identificaron los siguientes estadios: ovocito primario, etapa cortical alveolar, etapa vitelogénica y la maduración. Los principales criterios utilizados para determinar el desarrollo de los ovocitos fueron: la estructura del núcleo; la deposición de vitelo; y la formación de capas acelulares y celulares de ovocitos, la zona radiata, la granulosa y la teca.

Aytekin y Yüce (2008) realizaron un análisis sobre el desarrollo gonadal en pez cebra (*Danio rerio*) y observaron que los ovocitos se muestran en varias fases, determinando que muestran un desarrollo gonadal de tipo asincrónico. El desarrollo de los ovocitos de pez cebra se dividió en cuatro etapas (crecimiento primario, alveolo cortical, vitelogénicos y ovocitos maduros). Se observaron diámetros de ovocitos a variar entre 0.08

mm y 0.76 mm. Aunque se ha reportado la morfología del ovario por diferentes métodos histo-morfológicos, histo-químicos y microscopía electrónica de transmisión, en este caso se analizaron las características de ovario por microscopía óptica, y por tinción con Hematoxilina y Eosina (HE), azul de metileno y utilizando el método de Schiff-Ácido Periódico (PAS).

Heidari y col. (2009) efectúan un estudio con la especie *Rutilus frisii kutum* sobre el desarrollo de los ovocitos con especial énfasis en la estructura radiata (ZR). Los resultados mostraron que ZR no se observó en la fase de la pre-vitelogénesis. La ZR se observó como una estructura simple entre la capa folicular y la membrana del ovocito durante la etapa de alvéolo cortical. El estudio de la ultra estructura de la ZR mostró algunos canales de poros y micro-vellosidades en la etapa de vitelogénesis, con un espesor máximo ZR ($14.9 \pm 1.6 \mu$) y la longitud máxima de las micro-vellosidades extendida ($10.8 \pm 1.4 \mu$) en la etapa final de la vitelogénesis. En general, teniendo en cuenta los cambios de espesor ZR y la longitud de las micro-vellosidades, parece que juegan un papel importante en la transferencia de los materiales del vitelo del ovocito.

Mazzoni y col. (2010) realizaron la descripción de los eventos y de las células que se llevan a cabo la iniciación del desarrollo gonadal en *Cyprinus carpio*. Mediante microscopía óptica se intentó demostrar la presencia de cistos germinales en el ovario, además del desarrollo del epitelio germinal y la diferenciación ovárica. El estudio se hizo mediante muestras histológicas, se obtuvieron cortes transversales y longitudinales. Se estableció la relación entre los cistos germinales conservados durante el desarrollo de las gónadas y los nidos de las células en los ovarios de los peces adultos.

Koç (2010) describió las estructuras de la zona radiata en el pez cebra, *Danio rerio*. La estructura de la zona radiata mostró una diferencia morfológica. La estructura radiada fue vista bajo microscopía de luz en la fase de pre-vitelogénesis, pero se observó con forma de una línea delgada en la fase de vitelogénesis temprana. En las siguientes fases, mostró tendencia a volverse más gruesa.

Shabanipour y Hossayni (2010) realizaron una investigación de la estructura de la Zona Radiata (ZR) en ovocitos de la carpa común (*Cyprinus carpio*) durante el desarrollo gonadal. Se observó que las características morfológicas de la ZR sugirieron varias importancias funcionales y ecológicas. El inicio de la aparición de la ZR fue en la etapa III,

que aumenta gradualmente en grosor hasta la etapa IV y bajó en el espesor durante la fase V.

Valdebenitoy col. (2011) reportaron el uso de la técnica histológica en la descripción del ovario de los Teleósteos. El órgano es descrito a nivel microscópico, y mencionan algunas características tales como que el ovario se encuentra envuelto por una delgada túnica albugínea de tejido conectivo laxo. En el interior, se observan laminillas ovígeras, éstas a su vez están formadas por tejido conectivo y escasas fibras musculares lisas, recubiertas por el epitelio germinal ovárico. El folículo ovárico se encuentra embebido dentro de un heterogéneo tejido de sostén, el que en su conjunto constituye el ovario.

Montchowui y col. (2012) realizaron un análisis histológico sobre el desarrollo gonadal del Cyprínido *Labeo parvus*. Se determinaron cinco etapas macroscópicas de maduración gonadal. Mediante técnicas histológicas de rutina se determinaron cinco etapas microscópicas: ovocitos nucléolo cromatina, ovocitos peri-nucleares, los ovocitos con vesículas de vitelo, ovocitos vitelogénicos y ovocitos maduros. Para el caso de los machos, se determinaron cuatro etapas de la espermatogénesis: espermatogonias, espermatocitos, espermátidas y espermatozoides. Las comparaciones de las observaciones macroscópicas e histológicas revelaron que la especie presenta un desarrollo gonadal de tipo sincrónico.

Vazirzadeh y col. (2014) mostraron la importancia del análisis histológico para observar la influencia de las hormonas sobre el desarrollo gonadal. Aunque el objetivo del estudio realizado fue estudiar la reproducción fisiológica y el cambio en las hormonas esteroides sexuales durante el desarrollo de los ovocitos con el fin de utilizar los resultados en una mejora práctica de gestión de criaderos de la carpa, se requirió realizar descripciones de lo que ocurre a nivel microscópico en las gónadas de las hembras y por ende, el uso de la histología para aportar en los resultados esperados y objetivo.

Gadekar (2014) llevó a cabo un estudio en la India de la carpa *Labeo rohita* para describir el efecto de los cambios estacionales sobre la morfología de los ovocitos. Mediante un análisis sobre el índice gonadosomático, se determinó que las temporadas de desove de *L.rohita* se llevan a cabo en julio y agosto. El estudio reveló una estrecha correspondencia entre índice gonadosomático, el diámetro de óvulos y la temperatura del agua. Se identificaron cinco estadios de los ovocitos.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Javaheri y Taghavi (2014) realizaron muestreos mensuales sobre el Cyprínido nativo *Capoeta trutta*. Los muestreos se realizaron entre julio del 2010 y junio del 2011 en el Río Shour, Irán. La finalidad del estudio fue determinar: la relación sexual, los cambios mensuales del índice gonadosomático (IGS) y la frecuencia de distribución del diámetro de los ovocitos. Parte de los resultados obtenidos revelaron que la fecundidad y el diámetro de los ovocitos aumentan con la edad del pez.

3.2.3 Morfometría histológica gonadal.

Parmentier y Timmermans (1985) realizaron un estudio con la finalidad de definir las membranas de las células germinales determinantes durante gonadogénesis tanto en machos como en hembras. Se utilizaron larvas de peces (desde las 72 h hasta dos semanas después de la fertilización), y anticuerpos exclusivos que permitieran detectar las células germinales de un posible macho o hembra. Posteriormente, se realizaron cortes transversales y longitudinales, se tiñeron con hematoxilina y eosina (H / E). Se realizaron mediciones de las células germinales para atribuir las diferencias marcadas entre gónadas de ambos sexos. Los diámetros de las células germinales y sus núcleos se midieron dentro de cada animal de la muestra.

Miranda y col. (1999) realizaron un análisis histológico y ultraestructural de las etapas que se pueden presentar en la resorción de los folículos atrésicos en peces Teleósteos, el análisis se realizó con las especies *Astyanax bimaculatus lacustris* y *Leporinus reinhardti* debido a sus diferentes estrategias reproductivas en condiciones naturales. El objetivo es establecer la duración, las posibles causas y las funciones de la atresia folicular en Teleósteos. Se compararon los diámetros de los ovocitos comúnmente registrados durante la vitelogénesis con los atrésicos. Durante la atresia, el diámetro folicular disminuyó gradualmente del 10 al 30% en la etapa inicial, del 30 al 70% en la etapa intermedia y del 70 al 80% en la etapa avanzada. La compactación se encontró por encima de 80% del tamaño inicial del folículo en la etapa final.

Tempero y col. (2006) realizaron una evaluación sobre la edad, el crecimiento y la reproducción de *Cyprinus carpio* en la región del baja de Waikato, Nueva Zelanda. Al parecer varios aspectos biológicos de la especie varían en esta zona. Dentro de los puntos tratados en la reproducción, se encuentra la medición del diámetro de los ovocitos en

estadios vitelogénicos. Se observó que las temporadas en que se registra el mayor aumento de vitelo (indicando la madurez del ovocito listo para ser desovado) se observa en los meses de septiembre y noviembre. Sin embargo, se diagnosticó un comportamiento interesante de la especie. En el mes de Septiembre la especie se presenta como sincrónica, sin embargo, en noviembre tiende a ser un poco más asincrónica.

Heidari y col. (2008) en *Rutilus frisii kutum*, determinaron mediante métodos morfométricos los cambios de grosor que se producen en la zona radiata y las micro-vellosidades durante la vitelogénesis y cuando el ovocito es fertilizado. El espesor máximo de la zona radiata ($14.9 \pm 1.6 \mu$) y la longitud máxima de las micro-vellosidades extendidas ($10.8 \pm 1.4 \mu$) se logró al final de la etapa de vitelogénica. Durante la maduración del ovario, se encontró reducción en ZR grosor y longitud de las micro-vellosidades es gradual. Durante la fertilización, la zona radiata ahora denominada como corión, se encuentra registrada con un diámetro $9.6 \pm 0.4 \mu$, con micro-vellosidades de $8.0 \pm 1.1 \mu$ de longitud. El estudio de estas estructuras es importante debido a que juegan un papel importante en la transferencia de los materiales del vitelo en el ovocito.

Wolf y col. (2008) mediante el uso de la morfometría, lograron determinar los efectos producidos a nivel gonadal de la carpa *Pimephales promelas* debido a la exposición de ciertos xenobióticos. Aunque ya se habían realizado otros estudios histopatológicos sobre el tema, la morfometría resultó ser un complemento de vital importancia, debido a que permitió determinar el volumen, aumento o disminución de las células de las gónadas tanto para los machos como para las hembras. Se realizaron conteos manuales en imágenes digitalizadas utilizando el software de análisis de imagen.

Leal y col., (2009) realizaron una evaluación de los testículos de *Danio rerio* mediante el uso de marcadores moleculares. Reportaron al menos nueve generaciones de espermatogonias. El número de células de Sertoli por lóbulo aumentó nueve veces durante el ciclo de maduración de la espermatogénesis.

Hainfellner y col. (2012) elaboraron un análisis sobre los posibles mecanismos relacionados con el mal desempeño reproductivo en *Prochilodus lineatus*. Los sistemas experimentales se realizaron en jaulas (CS) y estanques de tierra (EPS) proporcionando condiciones inadecuadas y adecuadas para los criadores. Se realizaron al azar de hembras cada dos meses: análisis biométrico ($n = 30$), sangre ($n = 5$ / muestreo) y de ovario ($n = 5$ /

muestreo). Los análisis relacionados al ovario fueron con respecto a la calidad y cantidad de vitelo que se presentó durante la fase experimental, ya que esto proporciona información sobre la calidad de ovocitos que pudiesen ser viables o no para su posterior fertilización. La cantidad de vitelo fue proporcionada mediante morfométricos realizados sobre el diámetro del ovocitos vitelogénicos, lográndose así, determinar la mejor temporada en que se debe de inducir el desarrollo gonadal.

3.3 Factores exógenos.

3.3.1 Fotoperiodo y temperatura.

De Vlaming (1975) determinó que *Notemigonus crysoleucas* requiere de fotoperiodos largos y temperaturas altas para promover el desarrollo gonadal. También las hembras pueden llevar a cabo el desove bajo estas condiciones. Se encontró que bajo fotoperiodos cortos y temperaturas cálidas, la especie puede presentar una regresión en el desarrollo gonadal. En los machos, la formación de espermatoцитos y su proliferación ocurre independientemente de los factores ambientales.

Davies y Hanyu (1986) realizaron un estudio con *Cyprinus carpio* acerca del efecto del fotoperiodo y temperatura sobre el desarrollo gonadal y desove. Se determinó que a una temperatura constante de 24°C y diferentes condiciones de fotoperiodo se induce al desove. Bajo un fotoperiodo de 12 h luz y 12 h oscuridad, la mitad de las hembras desovaron parcialmente en seis meses. En el décimo mes, dos de 14 hembras desovaron totalmente. Bajo un fotoperiodo de 16 h luz y 8 de oscuridad, 12 de 15 hembras desovaron totalmente a los tres meses. Se encontró una "fase de desove pasiva". La fase consiste en el enfriamiento del agua del tanque a 16°C.

Okuzawa y col. (1989) reportaron los resultados del efecto del fotoperiodo y temperatura al que se sometió el Cyprínido *Gnathopogon caeruleus* durante las diferentes fases de su ciclo reproductivo anual (primavera, verano, otoño e invierno). Los resultados de estos cuatro experimentos indicaron que *Gnathopogon caeruleus* exhibe una respuesta ante el fotoperiodo durante el otoño y su temporada de desove dependió de la temperatura del agua.

Seymour (1981) reportó los efectos de la temperatura, fotoperiodo y desarrollo ovárico en el sistema pituitario de la carpa (medido por el cambio en el diámetro de los

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

huevos intra-ováricos). También la ovulación y el ácido ascórbico del ovario se estudiaron en este carpín. Se observó que los fotoperiodos cortos estimulan el desarrollo ovárico pero los fotoperiodos largos eran inhibidores. El fotoperiodo parecía ejercer este efecto modificando la liberación de la gonadotropina pituitaria. La temperatura afectó el desarrollo ovárico independientemente del fotoperiodo. Las altas temperaturas se mostraron mayormente estimulantes y superaron el efecto negativo de un fotoperiodo largo. Los resultados sugirieron que la temperatura actúa a nivel de la gonadal en vez del pituitario.

Sivakumaran y col. (2003) observaron mediante un estudio realizado con la carpa *Cyprinus carpio* L. (Familia: *Cyprinidae*), existente en las aguas del Lago Victorian en Australia que las condiciones de fotoperiodo fueron de 11 a 15 h luz y 13 a 9 h de oscuridad de septiembre a abril, de mayo a agosto se reportó de 10 a 11 h luz y 13 a 14 h oscuridad. Las condiciones de temperatura variaron de 10 a 25°C. Se determinó que la especie es un desovador múltiple con el desarrollo de los ovocitos asincrónico y una temporada de desove prolongada.

Glasser y col. (2004) realizaron un estudio comparativo entre la eficacia de la temperatura y la inducción hormonal sobre el desarrollo gonadal. El estudio se realizó con la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella*. Los resultados obtenidos muestran que la inducción hormonal perjudica a las tasas de ovulación posteriores al primer desarrollo gonadal. La temperatura por su lado, presentó mayor eficiencia como inductor del desarrollo gonadal y sin efectos secundarios. Sin embargo, también mencionan que se debe de tomar en cuenta la importancia de la regulación de la temperatura durante la inducción y el desove, esto con la finalidad de asegurar una alta tasa de ovulación.

Rutaisire y Booth (2005) observaron el papel de la temperatura en el proceso reproductivo, de desove, fertilización y eclosión en el Cyprínido *Labeo victorianus*. Con base a tres experimentos en condiciones diferentes (uno en laboratorio y dos en jaulas dentro de su medio natural, Lago Victoria, Uganda), se comprobó que la temperatura óptima para lograr el éxito de reproducción y nacimiento de crías se encuentra entre las temperaturas de 24 a 27°C.

Sierra-De la Rosa (2007) mencionó los factores internos y medio ambientales que influyen en la reproducción de los peces nativos. Retoma los factores que cambian de un medio silvestre a un medio de cultivo, y que por ende, afectan la reproducción de los peces.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Sin embargo, evalúa las estrategias normalmente utilizadas para optimizar la reproducción en cautiverio. Entre las estrategias que se mencionan se encuentran: la manipulación de las variables ambientales y el suministro de hormonas exógenas.

Wang y col. (2010) realizaron un estudio con el fin de observar el control que pueden tener las variaciones del fotoperiodo y la temperatura sobre el desarrollo gonadal en los peces. Mencionan que la dirección de los cambios (la disminución o el aumento de ambos parámetros) son factores importantes que se deben considerar para mejorar u optimizar la calidad de la reproducción en la acuicultura. El estudio se realizó con tres grupos de peces. El primer grupo (salmónidos) se indujo por el aumento de fotoperiodo. El segundo grupo (pércidos, moronids y gádidos) se indujo por la disminución de la temperatura y el fotoperiodo. El tercer grupo (Cyprínidos) fue inducido ya sea por la disminución de fotoperiodo o la temperatura. Se mostró que el fotoperiodo pareciera ser más determinante sobre estos grupos que la temperatura (a excepción del grupo I). Sin embargo, esto puede ayudar a futuras investigaciones sobre el control de la reproducción de las especies de peces cultivadas.

Targońska y col. (2012) llevaron a cabo cinco experimentos para llevar a cabo la reproducción de *Carassius carassius*. Los aspectos evaluados fueron: tiempo de desove después de la manipulación, la temperatura del agua, el tipo de estimulación hormonal y los procedimientos de tratamiento hormonal. Las tasas de ovulación y las tasas de sobrevivencia más altas de los embriones se llevaron a cabo bajo temperaturas de 21°C y 25°C respectivamente.

Munz y Higgins (2013) realizaron un estudio en dos especies de Cyprínidos en el Norte de América: *Cyprinella venusta* y *Notropis volucellus*. Donde observaron que la pérdida de biodiversidad ha contribuido al cambio climático, y este a su vez, altera las condiciones de la temperatura y las horas luz de hábitats como el río Paluxy en Texas, donde se encuentran estas dos especies. Con base a ello, se observaron diferencias interanuales, donde la descarga de desoves en el 2011 fue aproximadamente 50% menos que en el año 2010 para ambas especies.

Zhu y col. (2014) reportaron un estudio realizado con el Cyprínido *Pseudorasbora parva*. En dicho estudio se investigó el efecto de siete fotoperiodos diferentes sobre el desarrollo gonadal. Los fotoperiodos utilizados (luz: oscuridad, L: O) fueron: 0O: 24O, 4L:

20O, 8L: 16O, 12L: 12O, 16L: 8O, 20L: 4O y 24L: 0O, de noviembre a enero. A lo largo del estudio, la intensidad de la luz se mantuvo a 400 lux sobre la superficie del agua. La ganancia de peso, el consumo de alimento, la tasa de crecimiento específico y la eficiencia de conversión alimenticia fueron significativamente mayores bajo los fotoperiodos largos (24L: 0O, 20L: 4O y 16L: 8O) que los incluidos en los cortos (12L: 12O, 8L: 16O, 4L: 20O, 0L: 24O).



4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La ictiofauna del estado de Aguascalientes se ha visto amenazada por diversos factores, principalmente aquellos de origen antropogénico. La introducción de peces no nativos, la destrucción del hábitat, la contaminación del agua, el cambio climático global y la escasez del agua, son algunos de los factores que agudizan el problema. Otro problema importante es la introducción especies exóticas que se realiza con un fin comercial, ya sea para consumo o bien para propósito ornamental. Sin embargo, el descuido sobre el uso de las especies exóticas ha ocasionado que se depositen en los cuerpos de agua lacustre, ya sea de manera accidental o intencional, lo que provoca el desplazamiento de las especies nativas. Cada vez las especies nativas disminuyen sus poblaciones y son relegadas a espacios que tienen altas fluctuaciones en los niveles del agua y existe una tendencia a corto plazo que limita seriamente su sobrevivencia. Por esta razón, es importante realizar estudios biológicos enfocados a en principio a conocer la historia de vida de los peces nativas y y en segunda estancia los aspectos biológicos relacionados con su reproducción. De esta manera será factible manejar a estas especies y lograr su reproducción controlada con fines de preservación y repoblación salvaguardando a las especies nativas de importancia ecológica y científica.

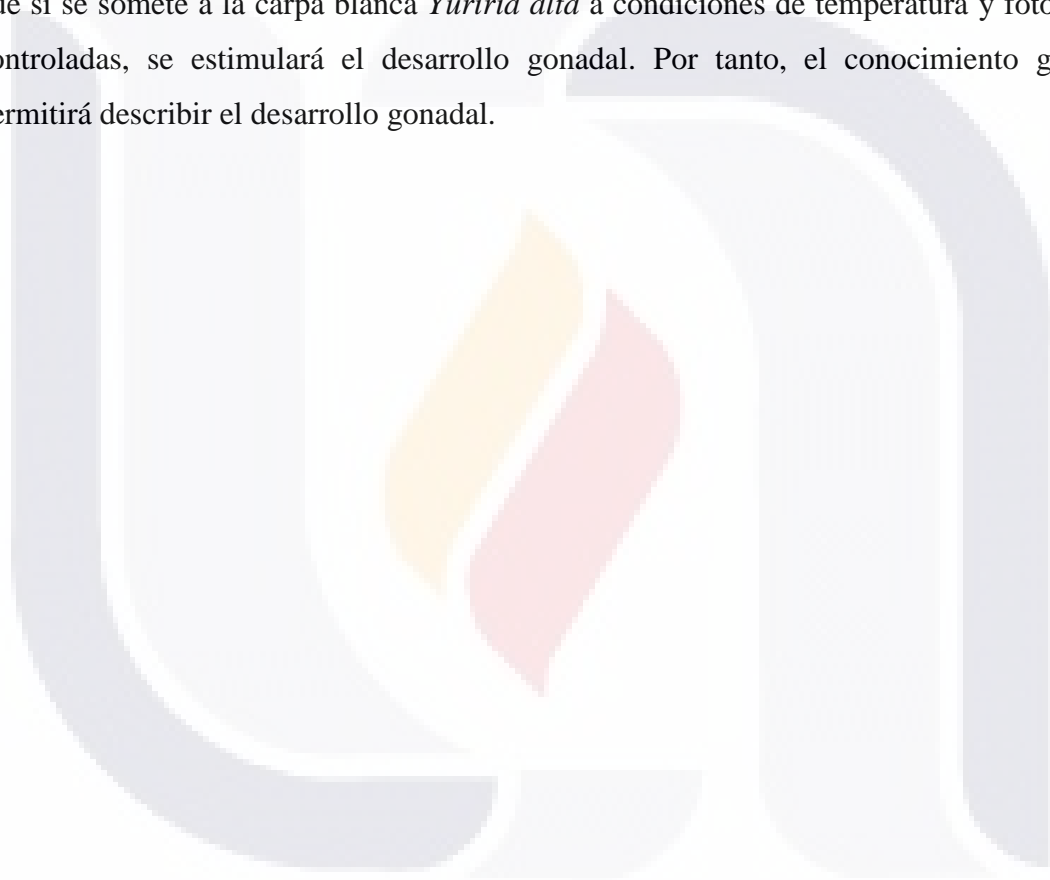
5. JUSTIFICACIÓN

Para rescatar a las especies de peces nativas, se estima que es necesario incrementar los estudios de estas especies para conocer su biología en general y sus mecanismos reproductivos, a manera de facilitar su manejo en sistemas controlados de cultivo y disponer de un germoplasma vivo que permita mantener a estas especies para propósitos de repoblación o bien de recuperación o preservación en su ambiente natural. La base del cultivo es conocer a fondo la biología de reproducción, para obtener los aionomorfos y poder contar con una población importante de organismos de buena calidad para su rescate. Además, algunas especies nativas pueden ser utilizadas comercialmente de igual manera que las introducidas, ya sea para consumo humano o bien como especies de ornato, con la misma calidad en la producción y venta en comparación con las especies introducidas.

De igual manera, trabajar con especies nativas evita la irrupción en los ecosistemas, además de que su manejo es más factible debido a la adaptación que presentan ante los factores bióticos y abióticos del Estado en comparación de las introducidas. Es por eso, que *Yuriria alta* al ser una carpa nativa del estado, pueda ser una alternativa para la pesquería del Estado, no obstante, se necesita conocer su ciclo reproductivo y su temporada de apareamiento.

6. HIPÓTESIS

Se ha observado que para las diferentes especies de Cyprínidos el desarrollo gonadal se promueve en condiciones controladas de fotoperiodo y temperatura. Bajo estas circunstancias, se han descrito parte de los ciclos reproductivos de las especies e incluso se ha podido determinar su potencial reproductivo. Por lo tanto, esto nos permite establecer que si se somete a la carpa blanca *Yuriria alta* a condiciones de temperatura y fotoperiodo controladas, se estimulará el desarrollo gonadal. Por tanto, el conocimiento generado permitirá describir el desarrollo gonadal.



7. OBJETIVOS

GENERAL.

Describir el desarrollo gonadal de hembras y machos de la carpita plateada *Yuriria alta*, bajo condiciones de cultivo con temperatura y fotoperiodo controlados.

PARTICULARES.

- a) Capturar especímenes de *Y. alta* en la micro-cuenca Arroyo Viejo Agua Zarca del Estado de Aguascalientes y adaptarlos a condiciones de cultivo con temperatura y fotoperiodo controlados.
- b) Caracterizar de manera cualitativa a nivel macroscópico el desarrollo gonadal para ambos sexos.
- c) Caracterizar de manera cualitativa a nivel microscópico el desarrollo gonadal de ambos sexos mediante el uso y aplicación de técnicas histológicas.
- d) Analizar cuantitativamente el desarrollo gonadal de ambos sexos mediante la caracterización macroscópica y microscópica.
- e) Elaborar una tabla integrativa macroscópica y microscópica del desarrollo gonadal para ambos sexos.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 Área de estudio.

Se realizaron salidas de campo durante el periodo comprendido de marzo a julio del 2014. Las colectas se llevaron a cabo en la localidad conocida como Potrero de los López, ubicada en el municipio de San José de Gracia, Aguascalientes. El sitio de colecta se encuentra dentro de la micro-cuenca de Arroyo Viejo Agua Zarca ($22^{\circ}04'46.5''N$, $102^{\circ}31'29.9''W$). Este arroyo fluye de la parte alta de la Sierra Fría y desemboca en la presa Presidente Calles (**Figura 19**).



Figura 19. Ubicación geográfica de la zona de muestreo (imagen tomada de Imágenes ©2014 DigitalGlobe, Google, INEGI y modificada por Araujo-García).

8.2 Método de colecta y registro de parámetros fisicoquímicos del agua.

En cada salida se colocaron seis nasas de 30 x 30 x 30 centímetros, con cebo que consistió en hígado de pollo. Estas artes de pesca se ubicaron en la parte más profunda de las pozas del arroyo y se dejaron por un periodo de ocho días.

En cada sitio de colecta, se tomaron datos de la temperatura ambiente, con un termómetro de cubeta, la temperatura del agua y la concentración de oxígeno disuelto expresado en mg/L y el pH con un oxímetro digital YSI 550A (Yellow Spring Instruments,

Ohio, USA). Adicionalmente, se tomaron notas acerca del sitio de muestreo y fotografías digitales mediante una cámara Nikon Coolpix P600 (Nikon, Japan).

Cada nasa fue retirada con cuidado y se colectaron los peces atrapados en ella. Se separaron los peces identificados como *Y. alta*, se colocaron en una jaba de plástico de 68 L de capacidad con agua del sitio. Se instaló una bomba de aire de pilas BP 960 (Biopro, China), para mantener el nivel de oxígeno disuelto previamente registrado en el sitio de colecta mediante el oxímetro digital. Una vez colectados los peces, se pasaron a una bolsa de plástico de 40 L con agua del sitio y se agregó oxígeno disuelto a saturación por medio de un cilindro de oxígeno de 180 L (INFRA, Aguascalientes, México), adaptado con un tubo de salida y una piedra difusora, para evitar el deceso de los organismos por anoxia.

8.3 Manejo de los ejemplares en el laboratorio.

Los peces fueron transportados a la Unidad Acuícola del Centro de Ciencias Agropecuarias (CCA) de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA) y se colocaron en cuarentena en jabas de plástico de 68 L de capacidad total, con agua libre de cloro y un filtro de cascada modelo HF 2002 (Resun, China).

Los ejemplares fueron colocados en cuarentena para tratar hongos y bacterias y se aplicó el siguiente tratamiento: a) una píldora de 3 sulfa (Grupo Acuario Lomas, D.F., México) y b) una de Furan 2 (Grupo Acuario Lomas, D.F., México) por cada 20 L de agua. Ambos medicamentos se dejaron actuar durante 48 h, y posteriormente se hizo un recambio del 50% con agua desclorada. Los ectoparásitos como *Lernaea* sp., fueron extraídos manualmente con pinzas y las heridas tratadas con yodo (Isodine). Cuando se observó algún tipo de enfermedad en la piel, se aplicó azul de metileno (2 a 3 gotas por litro, Alta Pureza Maquiladora, Distrito Federal, México) y Koryn Triple (4 a 5 gotas, dependiendo de la gravedad de la enfermedad, Laboratorios Tornel, Estado de México, México), durante los primeros siete días. Las carpas se dejaron descansar otros siete días y se repitió la dosis por otra semana.

Una vez terminada la cuarentena, los ejemplares fueron trasladados a un estanque circular de 3 m de diámetro y una profundidad de 1 m, con una capacidad máxima de 7,000 L, y se llenó a la mitad con 3,500 L de agua libre de cloro. Este estanque está ubicado en el invernadero chico del Laboratorio Acuícola Experimental del CCA-UAA. El estanque fue

habilitado con una bomba Little Giant de 1 hp para mantener un flujo constante de cuatro litros por minuto, un sistema de fotoperiodo de 14 h luz y 10 h oscuridad y temperatura arriba de los 15°C durante un periodo de cuatro meses. Además, de un temporizador mecánico Tork Modelo 403A2 (Carolina del Norte, USA), un termómetro de máximas y mínimas (Modelo 105035, México), y una cubierta de malla para evitar que los peces saltaran (**Figura 20**).



Figura 20. Aspecto del estanque en donde se colocaron los ejemplares de *Y. alta*.

Las carpas fueron alimentadas dos veces por día con inicia-harina de la marca Nutripec 5015H (Agribands Purina, Guadalajara, México) de 0.35 mm con 50% de proteína cruda y 15% de lípidos. Todos los días se registraron los siguientes parámetros: temperatura ambiente, temperatura del agua, temperatura del invernadero y oxígeno disuelto. Cada tercera semana se tomaron los parámetros de pH y dureza con un equipo Multiparámetros modelo EX C99 (Hanna Instruments, Monterrey, México). Cada mes se hicieron recambios totales del agua, utilizando agua libre de cloro tratada con Clori-Kill (Animales y Acuarofilia S. A., Estado de México, México), en una proporción de 5 mL por 110 L de agua.

Durante un periodo de cuatro meses se tomaron quincenalmente cinco ejemplares machos y cinco hembras del estanque de cultivo para tomar registros biométricos y realizar el seguimiento del desarrollo gonadal.

8.4 Biométricos y toma de muestras.

Debido a que no se observó dimorfismo sexual en los organismos durante los primeros meses y para garantizar la selección de cinco machos y cinco hembras, se realizó un ultrasonido con un Ecógrafo portátil full digital (Laptop KX 5000, D.F, México). Previo a ello, los peces se anestesiaron con aceite de clavo marca Del Roble (Aguascalientes, México) y se estandarizó del tiempo de anestesia de acuerdo a la longitud total (LT) y el peso total del pez (PT), así como la longitud de onda en la que se realizó el ultrasonido. Se midió la amplitud y ancho de la gónada con el ultrasonido para tener una mayor precisión de los datos biométricos.

Se registró el peso total húmedo, el peso eviscerado y el peso de la gónada mediante una balanza Navigator 2101 (Hoaus Corporation, USA) con una precisión de 0.01 g. Una vez que se seleccionó el organismo y el sexo, se introdujo en una solución de benzocaína al 10% para anestésiar el ejemplar hasta su muerte, esto se repitió con cada uno de los ejemplares (Blancas y col., 2008). Posteriormente, se realizaron disecciones mediante un corte desde el istmo branquial hasta el poro genital, y se procedió a la extracción de las gónadas y las vísceras. Se registraron los siguientes pesos: total del pez, del pez eviscerado, de la gónada y de las vísceras. Se midió la cobertura en ancho y longitud en cm de la gónada, así como el ancho y largo del abdomen con un vernier Surtek (Grupo Urrea, Jalisco, México) con una precisión de 0.02 mm (Gutiérrez-Rodríguez, 1992). Los datos fueron vaciados a una base de datos Excel, para su posterior análisis. Se obtuvieron fotos y descripciones macroscópicas para caracterizar cada estadio. Las muestras obtenidas de las gónadas de cada ejemplar se fijaron en formalina neutra y se colocaron en un frasco de plástico de 110 mL por 24 h. El frasco se etiquetó con la fecha, el número del individuo y el sexo del mismo.

8.5 Descripción macroscópica de la gónada.

La identificación por estadio del desarrollo gonadal en hembras se basó en las características mencionadas por Holden y Raitt (1974). Las principales características a observar con respecto a la gónada fueron: la textura, la coloración, el aspecto de los ovocitos (si son visibles), la flexibilidad, los vasos sanguíneos y el porcentaje que ocupa en la cavidad abdominal. En el caso de los machos, las características macroscópicas a

determinar fueron de acuerdo a la propuesta realizada por Rutaisire y col. (2005). Se registraron características de la gónada tales como: porcentaje de la cavidad ventral que ocupa, la reacción a la presión abdominal (positivo/negativo), flacidez de la gónada, coloración, intensidad de la venación y presencia o ausencia de estriaciones.

8.6 Descripción microscópica de la gónada.

8.6.1 Histología.

Una vez fijadas las gónadas fueron trasladadas al Laboratorio de Morfología del Centro de Ciencias Básicas de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, donde se llevaron a cabo los análisis histológicos. Las gónadas fueron procesadas mediante la técnica histológica modificada de Montchowui y col. (2012). Esta técnica consistió en lavar los tejidos gonádicos fijados con agua destilada por más de una hora, para eliminar la formalina neutra y se colocaron en un equipo Histokinet TP1020 (Leica, D.F., México) donde se deshidrataron las muestras mediante una secuencia de alcoholes ascendentes (70%, 80%, 96%, 96%, 100% y 100% durante una hora en cada uno). Posteriormente, se realizó un aclaramiento utilizando una mezcla de 1:1 de alcohol-xilol, y dos de xilol al 100% durante una hora cada uno, y por último se colocaron los tejidos durante dos horas en un baño de parafina al 100%. Las muestras que midieron más de dos centímetros aproximadamente se seccionaron en partes, para introducir las al Histokinet y lograr una infiltración exitosa de la parafina. Las gónadas fueron cortadas con un micrótopo rotatorio de tipo Minot. Se colocó una etiqueta sobre el cubo indicando el número de ejemplar. Si la gónada fue seccionada se añadió una etiqueta tanto de la sección como del ejemplar al que pertenece la muestra. Los cubos fueron guardados bajo refrigeración en bolsas de celofán a la que se le colocó el número de ejemplar, sexo y la fecha de disección para identificar las muestras al momento de la elaboración de los cortes.

Para llevar a cabo una estandarización de las técnicas histológicas a aplicar, primero se realizó un rastreo completo de la gónada para observar las áreas de interés. En seguida se efectuaron cortes transversalmente de tres gónadas de macho y tres de hembra. Una vez estandarizada la cantidad de cortes, así como el área de interés, se procedió a realizar cortes transversales en las partes inferiores y superiores y longitudinales en la parte superior (**Figura 21**). Cabe mencionar que el calibre de los cortes se ajustó al tipo de gónada que fue

procesada (de 4 a 7 μ) tanto para los machos como para las hembras; esto facilitó el proceso histológico y su análisis posterior al microscopio. Los cortes obtenidos se colocaron en baño maría para poder llevar a cabo la extensión completa del tejido a una temperatura de 40°C. Posteriormente, se colocaron en laminillas etiquetadas en la parte esmerilada. El etiquetado indicó los datos del ejemplar. Se indicó el número de laminilla, para llevar una serie continua de los cortes; el número del ejemplar, en caso de haber seccionado la gónada, se anotó la gónada con la que se está trabajando; y por último, la fecha del mes en que se realizó la disección de las gónadas.



Figura 21. A. Gónadas seccionadas para la exploración. B. Gónadas seccionadas para la descripción microscópica por estadio; 1: corte longitudinal, 2: corte transversal y 3: corte transversal.

Se analizaron un total de 2,100 muestras histológicas de manera seriada para poder realizar el monitoreo de todas y cada una de las gónadas. Dentro de las características microscópicas, se marcó el porcentaje total de la gónada analizada para poder dar mayor validez. Cabe señalar, que se analizó el grosor del corte con el que se trabajó cada gónada, debido a que la estandarización del mismo permitió mayor efectividad en el corte y en el análisis de la muestra.

Posteriormente, se realizó la tinción de las laminillas de los machos y las hembras con Hematoxilina y Eosina. Al igual que en los cortes, se estandarizaron los tiempos de tinción para cada sexo. Por último, las laminillas se montaron con resina sintética de la marca Paraplast y se observaron en un microscopio óptico marca Zeiss, modelo Primo Star.

8.6.2 Clasificación de estadios y biométricos

Con base a lo observado al microscopio óptico, se estableció el estadio de desarrollo de la gónada para las hembras mediante la determinación de las etapas de desarrollo de las

células basado en la terminología propuesta por West (1990). En el caso de los machos se utilizó la clasificación realizada por Schulz y col. (2010).

Tanto para el análisis de los morfométricos como de las características microscópicas presentes en cada muestra de las hembras, la gónada se dividió en tres áreas: apical, media y caudal. Para cada área, se tomaron 12 muestras aleatorias a diferentes alturas. Finalmente, del total de las muestras obtenidas por gónada (n= 36), se seleccionaron dos muestras por cada área: dos de la apical, dos de la media y dos de la caudal (**Figura 22**).

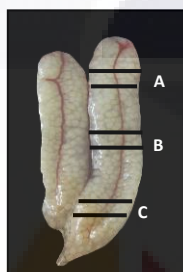


Figura 22. Toma de muestras por áreas. A. Parte apical, B. Parte media y C. Parte caudal

De las muestras histológicas obtenidas, se realizó la medición del diámetro por cada ovocito en sus diferentes estadios de acuerdo a la metodología de Biswas y col. (2007). Para el caso de los machos, se estableció una metodología similar a la presentada por Wolf y col. (2004). Para la medición del diámetro de los ovocitos, se determinó un área (μ^2) que pudiese abarcar la mayor cantidad de ovocitos presentes. A continuación, en la **Tabla 1** se presenta el número de ovocitos medidos por área de acuerdo a cada estadio.

Tabla 1. Área y número de muestra (n) determinadas para cada estadio.

n	TIPO DE OVOCITO(ESTADIO)	ÁREA DE MUESTREO (μ^2)
20	Ovogonia	10X \approx 313 618
60	Ovocito primario	10X \approx 313 618
60	Alveolo cortical	10X \approx 313 618
60	Vitelogénesis temprana	10X \approx 313 618
60	Vitelogénesis intermedia	2.5x \approx 4 620 827
60	Vitelogénesis tardía	2.5x \approx 4 620 827

8.7 Análisis estadístico.

Se realizaron estadísticas básicas con las variables biométricas obtenidas de machos y hembras y sus respectivas gónadas en diferentes estadios de desarrollo. Se incluyó un análisis de correlación entre peso y talla de las hembras y las variables biometricas de sus gonadas ya que esto podría agregar información extra al análisis sobre el desarrollo gonadal que presenta la especie. También se realizaron análisis de frecuencias de ovocitos contra su diámetro para los diferentes estadios de desarrollo gonadal. Para verificar la normalidad de los datos se utilizó la prueba de D'Agostino-Pearson. Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa Prisma versión 5.0.

Así mismo, se realizó un cuadro comparativo entre las principales características que se presentan durante el desarrollo gonadal, que permite identificar el estadio en que se encuentra la gónada tanto en machos como en hembras. El anexo de la información permite comparar e interpretar sin problemas el desarrollo gonadal en el que se encuentra la especie tanto macroscópicamente como microscópicamente. Se utilizaron los criterios manejados por Smith y Walter, (2004) y Pérez-Vega y col. (2006).

9. RESULTADOS

9.1 Acondicionamiento de la especie.

9.1.1 Condiciones de colecta.

La calidad del agua del sitio de colecta de los organismos en Arroyo Viejo Agua Zarca, y registrado durante julio - octubre del 2014, presentó variaciones acordes con la temporada del año. En la **Tabla 2**, se muestran los parámetros promedio registrados durante las salidas de campo en cuatro puntos diferentes.

Tabla 2. Registro de los parámetros de calidad del agua y las coordenadas de los sitios de colecta en la micro-cuenca en 2014.

Mes	Temperatura ambiente (°C)	Temperatura del agua (°C)	Oxígeno disuelto (mg/L)	Coordenadas geográficas del sitio
Julio	25.9	22.4	10.5	22°05'05.9"N 102°30'56.6"W
Agosto	28.5	20.8	8.0	22°05'06.6"N 102°30'59.4"W 22°05'10.8"N 102°31'05.8"W
Septiembre	24.3	19.1	13.5	22°05'06.6"N 102°30'59.4"W
Octubre	26.1	18.5	6.2	22°05'06.6"N 102°30'59.4"W

9.1.2 Cultivo de los organismos silvestres.

a) Temperatura.

La temperatura promedio registrada durante los meses de enero a mayo del 2015 en el estanque de cultivo, la temperatura ambiental y la del invernadero se presentan en la **Figura 23**. La temperatura del invernadero mostró una clara influencia sobre la del estanque de cultivo, registrando seis grados promedio arriba que la del estanque. En el caso de la temperatura del medio ambiente (fuera del invernadero), presentó valores más bajos. Sin embargo, se observó que a partir del mes de febrero se registró una temperatura por encima de los 19°C, lo que provocó suficiente estimulación térmica para dar comienzo al desarrollo gonadal.

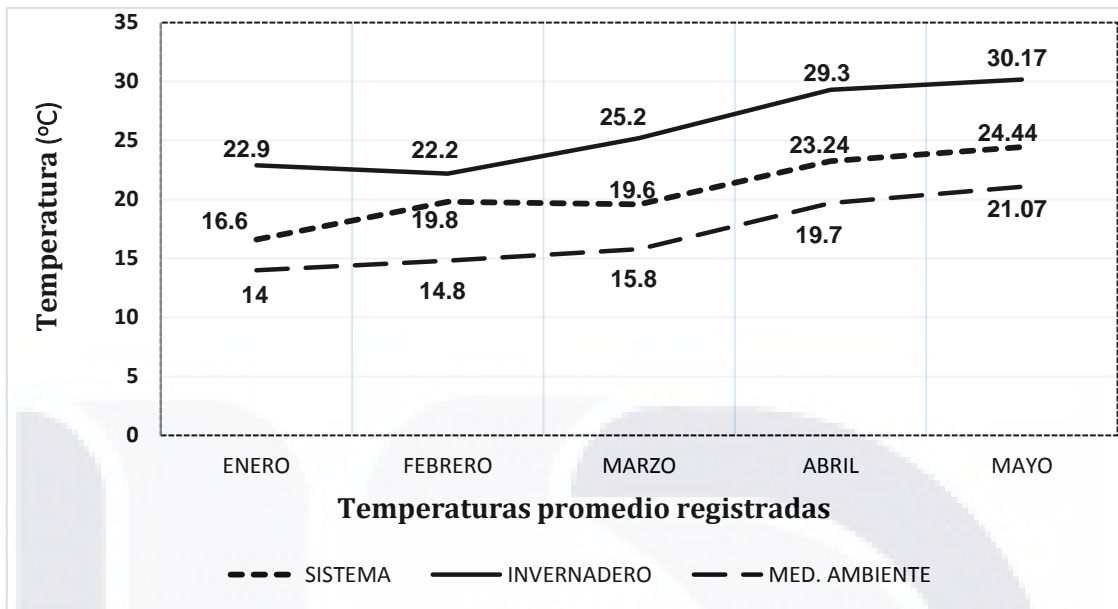


Figura 23. Temperaturas promedio registradas en el sistema de cultivo, dentro y fuera del invernadero en los meses de enero a mayo del 2015.

b) Fotoperiodo.

El desarrollo gonadal se logró promover bajo condiciones de 14 h luz y 10 h de oscuridad durante cuatro meses continuos.

c) Oxígeno disuelto.

Otro de los parámetros registrados fue el oxígeno disuelto (OD) en el estanque de cultivo. La cantidad de oxígeno disuelto se encontró dentro de los intervalos registrados en el medio natural de la especie y varió de 6.4 ± 2.0 a 7.9 ± 2.2 mg/L.

d) pH.

Se obtuvieron promedios mensuales del pH. Se observó que el pH más bajo registrado fue de 8.1 en el mes de enero y el mayor en febrero con 9.3.

e) Otros parámetros.

En el caso de la dureza total ésta se mantuvo en 50 mg/L y para el caso de la alcalinidad total varió de 180 a 240 mg/L. El espacio fue otro parámetro que determinó el bienestar y

sobrevivencia de la especie. Durante la cuarentena, en las tinas rectangulares de 60 L los peces no desarrollaron enfermedades, además de que no se tuvieron bajas.

9.2 Anestesia.

De acuerdo con las pruebas de anestesia realizadas, se determinaron dos concentraciones de aceite de clavo de acuerdo a la talla del pez. Los peces de talla grande (>20 cm) se colocaron en 3 L de agua con 30 mL aceite de clavo. Los peces de talla pequeña (<20cm) se colocaron en 3 L de agua con 20 mL de aceite de clavo.

Los tiempos de anestesia y recuperación variaron de acuerdo a las tallas. Los peces de talla grande presentaron un tiempo de anestesia de 4 a 8 min., mientras que los de talla pequeña presentan un tiempo de anestesia de 4 a 5 min. El tiempo de recuperación de los peces de talla grande fue de 12 a 15 min., mientras que en los peces de talla pequeña fue de 5 a 10 min. El tiempo máximo que los peces de ambas tallas pueden estar fuera del agua anestesiados y posteriormente recuperarse dentro del agua fue de 14 min. En el caso de la benzocaína (al 10%), se determinó que una concentración de 3mL por un L de agua es suficiente para ambas tallas.

9.3 Identificación del sexo.

Los resultados obtenidos con el equipo del ultrasonido indicaron que es posible identificar de manera fácil el sexo en los organismos de talla grande (>15 cm) en comparación con los de talla pequeña (<8cm). Además, se determinó que las hembras que presentaron los últimos estadios son más fáciles de identificar que aquellas que se encuentran en los primeros estadios. La detección de tallas pequeñas y grandes se realizó bajo la misma longitud de onda (7 Hz). En el caso de las hembras, se observaron pequeños puntos negros que corresponden a los folículos presentes en la gónada, a mayor tamaño y número de los puntos negros, se indica mayor actividad gonadal (**Figura 24**).

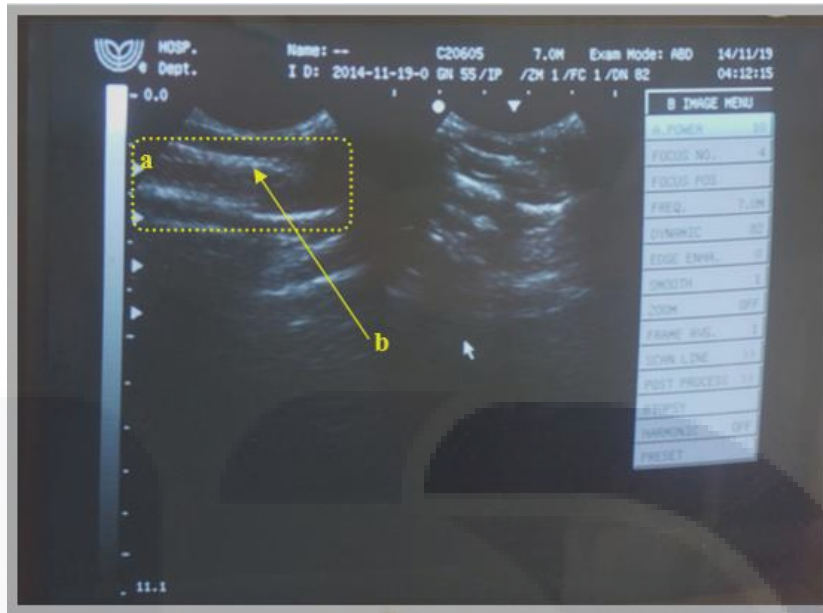


Figura 24. Identificación de hembra, vista longitudinal. (a) Identificación de la gónada. (b) Identificación de los folículos.

En el caso de los machos (Figura 25), las gónadas se observaron de una apariencia blanquecina y con pequeñas conformaciones de media luna. Al igual que en las hembras, se observó que entre mayor actividad gonadal la identificación del sexo es más fácil.

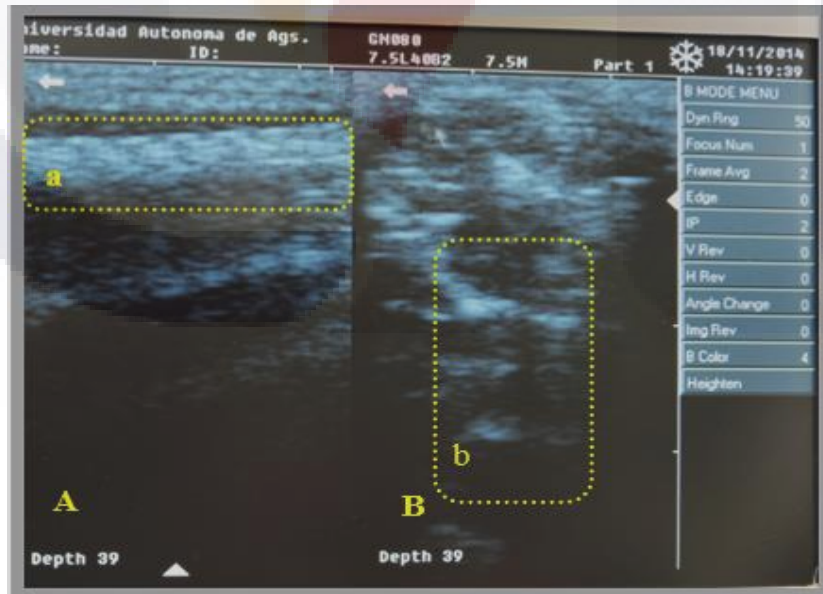


Figura 25. Identificación del macho. A Vista longitudinal. B. Vista transversal. a. y b. Identificación de la gónada.

9.4 Características cualitativas macroscópicas de las hembras.

La gónada se encuentra rodeando a la vejiga natatoria. *Y. alta* posee dos ovarios simétricos, de aspecto cilíndrico y aunque se encuentran separados, solo se fusionan hasta la última parte caudal de la gónada, llegando al poro anal. Durante el proceso del desarrollo gonadal se lograron identificar las principales características macroscópicas presentes por cada estadio. Las características más importantes con respecto a la gónada son: la textura, la coloración, aspecto de los ovocitos presentes, flexibilidad, vasos sanguíneos y porcentaje que ocupa en la cavidad abdominal.

9.4.1 Descripción de los estadios.

a) Estadio I.

En la última semana del mes de febrero se realizó el primer muestreo al inicio del sistema fotoperiodo-temperatura. El muestreo se llevó a cabo con la finalidad de poder describir los primeros estadios. Se observó que las gónadas al inicio del desarrollo, presentan tanto ovogonias como ovocitos primarios. Por lo tanto, los ejemplares en el Estadio I de la gónada, presentan ovocitos en los estadios I y II. No se encontraron gónadas que presentaran solamente ovogonias.

Las características observadas con respecto a la gónada fueron las siguientes: abarcaron del 20 al 40% de la cavidad ventral; ambos ovarios se observaron blanquecinos a semitransparentes, flexibles, la textura se mostró un aspecto liso, los vasos sanguíneos fueron ligeramente visibles. Además, se observó que la gónada se encuentra recubierta por tejido adiposo. El tejido adiposo recubre a la gónada como si fuese un saco (**Figura 26**).

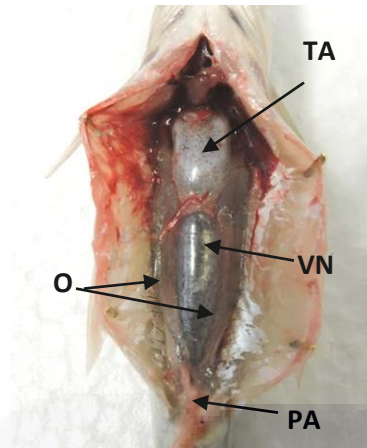


Figura 26. Posición de la gónada vista desde la parte ventral. Ovarios (O), Vejiga natatoria (VN), Tejido adiposo (TA), Poro anal (PA).

b) Estadio II.

Se observó que la gónada puede abarcar hasta el 40% de la cavidad ventral. Los ovarios se mostraron semi-rosados, poco transparentes, flexibles, textura con aspecto liso, vasos sanguíneos poco visibles. Se comenzaron a observar ovocitos de color blanquecino o semi-amarillentos. La mayoría de la distribución de los ovocitos se encontró en la parte media y apical de la gónada. Aún se observa la presencia del tejido adiposo recubriendo a la gónada (**Figura 27**).

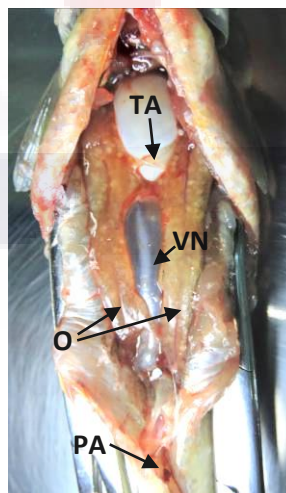


Figura 27. Posición de la gónada vista desde la parte ventral. Ovarios (O), Vejiga natatoria (VN), Tejido adiposo (TA), Poro anal (PA).

c) Estadio III.

La gónada puede abarcar entre el 50 y el 60% de la cavidad ventral. Los ovarios se mostraron menos rosados y de color blanquecino o semi-amarillento; dejaron de ser poco transparentes por la presencia de los ovocitos; son flexibles, con aspecto semi-liso; y los vasos sanguíneos comenzaron a notarse más. Se observaron claramente ovocitos de diferentes tamaños, algunos blanquecinos y otros semi-amarillos, la mayoría se localizaron en la parte media y se pudo distinguir la unión entre la gónada y el poro anal. Se distinguieron partes del ovario que no han sido ocupadas por los ovocitos. El tejido adiposo se encontró presente. Se pudo observar ovocitos entre el oviducto y el poro anal ante una constante pero ligera presión abdominal (**Figura 28**).

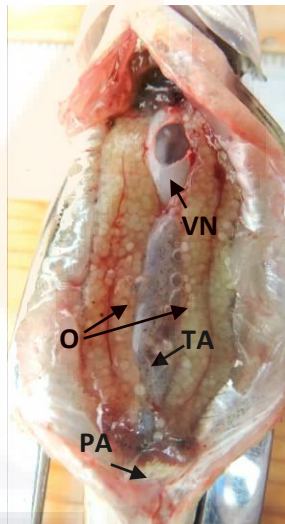


Figura 28. Posición de la gónada vista desde la parte ventral. Ovarios (O), Vejiga natatoria (VN), Tejido adiposo (TA), Poro anal (PA).

d) Estadio IV.

La gónada abarcó aproximadamente el 70% de la cavidad ventral. El color de la gónada fue gris o ligeramente amarillo. La textura de la gónada parece de aspecto semi-liso y se mostró flexible ante su manipuleo. La presencia de los ovocitos abarcó aproximadamente el 80% de la gónada. Los vasos sanguíneos se mostraron marcados. Se observó el tejido adiposo recubriendo la gónada hacia la parte dorsal (**Figura 29**).

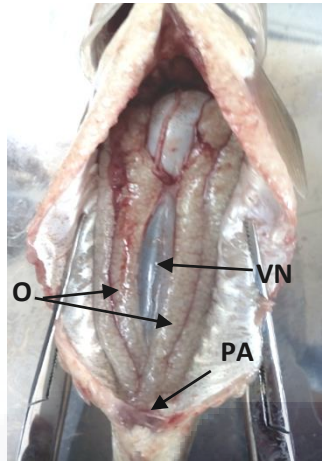


Figura 29. Posición de la gónada vista desde la parte ventral. Ovarios (O), Vejiga natatoria (VN) y Poro anal (PA).

e) Estadio V.

Las características observadas con respecto a la gónada fueron las siguientes: llega a abarcar del 80 al 90% de la cavidad ventral, la coloración es amarillenta, aunque se observó rígida y lábil ante su manipuleo, la textura es rugosa, se observó claramente la irrigación de una aorta dorsal hacia otros vasos sanguíneos que son más delgados. La gónada se encontró recubierta totalmente por tejido adiposo, sin embargo, es difícil de identificar debido a que el tamaño de la gónada es grande al grado que pareciera estirar el propio tejido adiposo. La vejiga natatoria totalmente recubierta por la gónada y sólo se hace visible hasta a extracción de la gónada. Ante la opresión ventral se apreció la expulsión de los ovocitos (**Figura 30**).

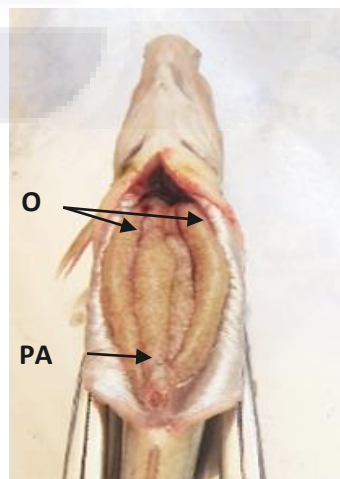


Figura 30. Ovarios (O), Poro Anal (PA).

9.5 Características cualitativas microscópicas de las hembras.

9.5.1 Descripción de los estadios.

a) Estadio I.

Se observaron nidos de ovogonias en la fase cromatina-núcleo. Los nidos de ovogonias se mostraron cercanos a las venaciones o bien en algunas partes de la periferia del ovario. Pocas veces se encontraron nidos de ovogonias entre los ovocitos primarios. Se observaron pequeñas esferas semi-transparentes aglutinadas unas con otras y pocas veces aisladas entre sí. El diámetro promedio obtenido para el estadio I (ovogonias) fue de $5 \pm 1 \mu$ (**Figura 31**).

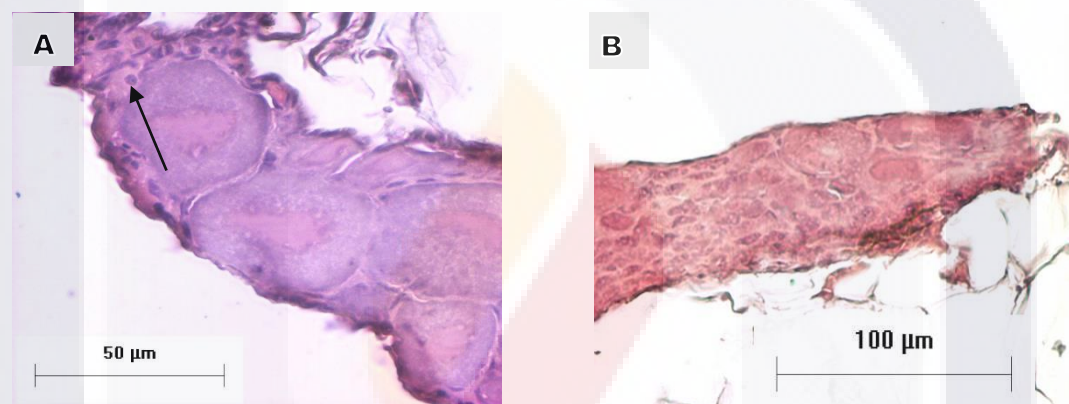


Figura 31. A. Nidos de ovogonias en la periferia de la gónada (Flecha) (40X). B. Ovogonias entre ovocitos peri-nucleares en fase cromatina- núcleo (Flechas) (20X).

b) Estadio II.

El núcleo o vesícula germinal aumentó de tamaño y se localizó centrado en la célula, con múltiples nucléolos, generalmente en su periferia (**Figura 32**). En este estadio se encontraron ovocitos primarios distribuidos a través de la gónada. Sólo se pudieron observar a los nidos de ovogonias y a los ovocitos primarios. El diámetro promedio registrado para las ovogonias se mantuvo de acuerdo a lo mencionado anteriormente. El diámetro de los ovocitos primarios fue de $93.8 \pm 10 \mu$. Cabe señalar, que se detectó otro tipo de células que se logran diferenciar de las ovogonias. Estas células son un poco más pequeñas que aquellas que se identificaron como parte del estadio II, pero la posición de los nucléolos y de los núcleos se mostraron diferentes. El núcleo se observó proyectado levemente hacia alguna de las periferias y no todos los nucléolos se encontraron pegados a

la periferia (**Figura 32**), sin embargo, se clasificaron como parte del estadio II. Se observó la presencia de células foliculares en forma de una capa delgada que parecen formar parte de la Teca y la Capa granulosa (**Figura 33**).

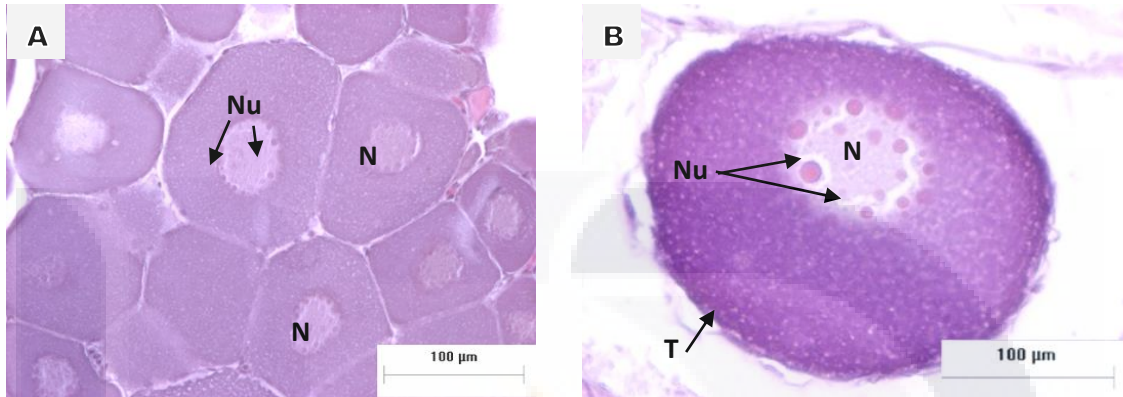


Figura 32. A. Ovocitos primarios (20X). B. Ovocito primario y sus nucleólos proyectados hacia la periferia y acomodo irregular (40X). Nucléolos (Nu), Núcleo(N) y Teca (T).

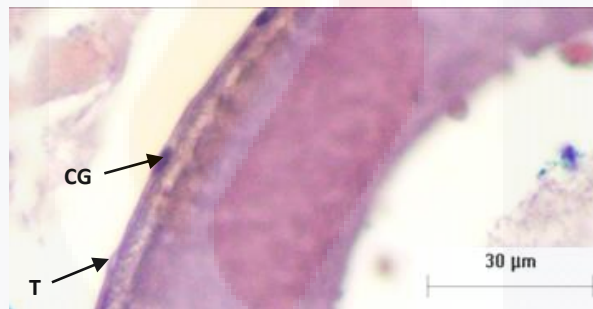


Figura 33. Presencia de células foliculares: Teca (T) y Capa granulosa (CG) (40X).

c) Estadio III.

Esta etapa se caracterizó por la aparición de los alveolos corticales en la periferia del ovocito, en el citoplasma. Los alveolos corticales aumentaron de número y tamaño para formar varias filas periféricas. Se observaron gotas lipídicas acumuladas en el citoplasma (**Figura 34**). Durante este periodo se registraron algunos ovocitos en los estadios I, II y pocos en el estadio IV. A pesar de los diferentes estadios encontrados, predominaron los estadios II y III. El diámetro promedio de los ovocitos fue de $233.9 \pm 45.8 \mu$. De igual manera se logró identificar la capa granulosa, la zona radiata y la teca (**Figura 35**).



Figura 34. Presencia de Alveolos corticales (AC) (40X).



Figura 35. Capa granulosa (CG) y Teca (T) (100X).

d) Estadio IV.

La característica de este estadio es la evidente aparición de proteínas del vitelo en forma de esferas. Es en este estadio donde se observó la presencia de gránulos lipídicos. La acumulación de estos gránulos parece indicar el comienzo de la vitelogénesis. Los gránulos, a diferencia del estadio anterior, se encontraron en una mayor cantidad, más grandes y distribuidos por todo el citoplasma. La vesícula germinal se ubicó en el centro (**Figura 36**). Además, de los ovocitos presentes del estadio IV, también se encontraron presentes ovocitos del estadio II, pocos del estadio III y estadio V. Sin embargo, predominaron los del estadio IV y II. El diámetro promedio de los ovocitos en este estadio fue de $438 \pm 73 \mu$. En este estadio se observó un aumento de las células foliculares: la teca, la capa granulosa, la zona radiata y las micro-vellosidades. Las micro-vellosidades presentaron una forma cúbica (**Figura 37**).



Figura 36. Presencia de la Teca (T), Capa granulosa (CG), Micro-vellosidades (M), Zona radiata (ZR), (100X).

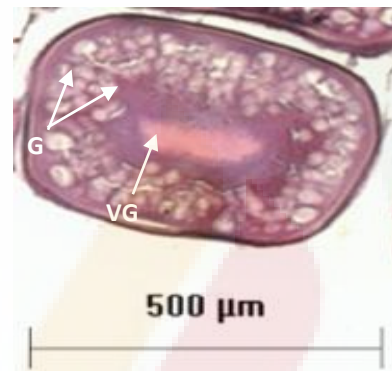


Figura 37. Presencia de gránulos en el citoplasma (G) y Vesícula germinal (VG) (40X).

e) Estadio V.

Las principales características que definieron este estadio fueron la formación de los gránulos y la aparición de las micro-vellosidades. En la periferia del ovocito se observaron algunos lipocitos. En el centro del ovocito, se localizaron gránulos de forma esférica y de color rosadas. Junto con los ovocitos de este estadio, predominaron también los ovocitos primarios (**Figura 38**). El diámetro promedio de los ovocitos en este estadio fue $792 \pm 74 \mu$. La vesícula germinal se encontró en el centro del ovocito. En el caso de las células foliculares, se distinguieron la teca, la capa granulosa, la zona radiata y las micro-vellosidades que se observaron de forma cilíndrica (**Figura 39**).

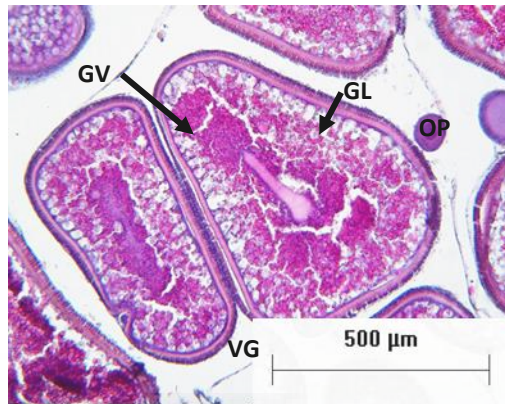


Figura 38. Gránulos lipídicos (GL), Gránulos de vitelo (GV), Vesícula germinal (VG) y Ovocito primario (OP) (40X).

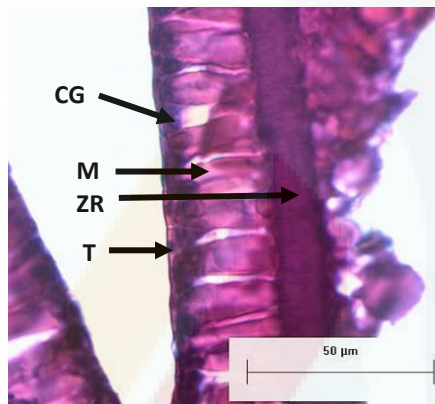


Figura 39. Presencia de la Teca (T), Capa granulosa (CG), Micro-vellosidades (M) y Zona radiata (ZR), (100X).

f) Estadio VI.

En este estadio se observó aun la presencia de los gránulos. Sin embargo, comenzaron a aparecer algunos elementos parecidos a las vacuolas en todo el citoplasma. No se pudo visualizar la vesícula germinal. En este estadio se detectaron solo dos tipos de ovocitos: ovocitos primarios y ovocitos maduros (**Figura 40**). El promedio del diámetro obtenido para los ovocitos en dicho estadio fue de $941 \pm 114 \mu$. El patrón de las células foliculares continúan presentándose igual que en el estadio anterior (**Figura 41**). Aunque se observó la presencia del micrópilo desde el estadio V, y en éste estadio se presentó de manera más conspicua (**Figura 42**). En los últimos estadios de vitelogénesis se observaron algunos folículos atrésicos (**Figura 43**).

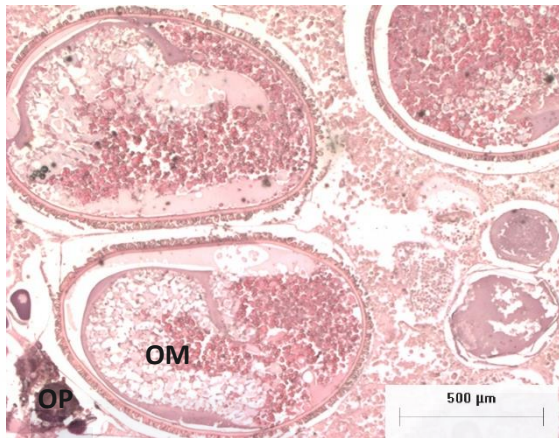


Figura 40. Ovocito maduro (OM), ovocito primario (OP) (2.5X).



Figura 41. Teca (T) y capa granulosa (CG), microvellosidades (M), zona radiata (ZR), (20X).

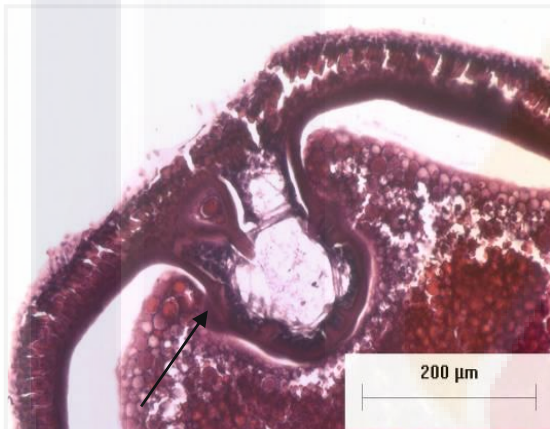


Figura 42. Micrópilo en ovocito maduro (20X).

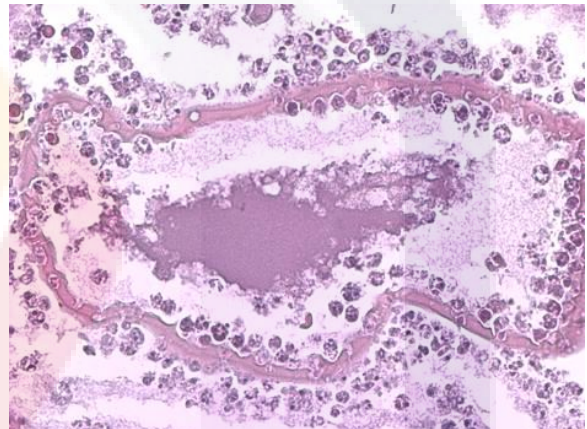


Figura 43. Ovocito atrésico (10X).

9.6 Descripción cualitativa macroscópica de los machos.

Se observaron y describieron las características histológicas presentes en las gónadas de los machos de acuerdo al estadio en que se encontraban las hembras. Mientras que las hembras se encontraban en los primeros estadios, los machos no presentaron gónadas maduras. Cuando el desarrollo gonadal de las hembras se muestreo en los últimos estadios, se detectó al mismo tiempo las gónadas maduras en los machos. Cabe señalar que también se observaron eventos de espermiación en los últimos dos muestreos. Cuando se presentaron los eventos de espermiación, se realizó una opresión ventral a la mayoría de los machos, donde algunos aun presentaban grandes cantidades de acumulación de esperma y otros no.

El desarrollo gonadal en los machos se clasifico en dos estadios: inmaduro y maduro. A continuación se mencionan las características presentadas en ambos estadios.

9.6.1 Estadio inmaduro.

Las gónadas de los machos en este estadio no presentaron expulsión de esperma ante la opresión ventral. Otras características presentadas fueron que la gónada llegó a abarcar del 15 al 30% de la cavidad abdominal, se presentó flacidez en ambos testículos, la coloración de la gónada fue desde transparente a rosada, la intensidad de la venación no se observó aún, las estriaciones fueron ausentes. Al igual que en las hembras, el tejido adiposo se mostró presente envolviendo a los testículos (**Figura 44**).

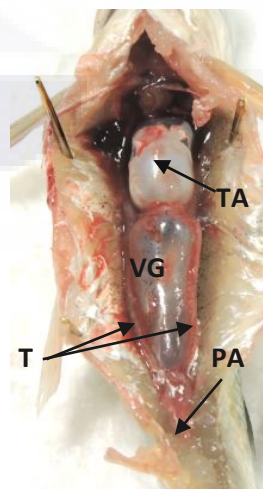


Figura 44. Testículos (T), Vejiga natatoria (VN), Tejido adiposo (TA), Poro anal (PA).

9.6.2 Estadio maduro.

En este estadio la gónada no cubrió a la vejiga natatoria, sin embargo ocupó un área considerable de la cavidad abdominal. Presentó expulsión de espermatozoides ante la opresión ventral. Se observó que el macho arroja espermatozoides ante la opresión ventral desde que la hembra se encuentra en el Estadio IV. Otras de las características presentadas fueron: la poca flacidez ante el manipuleo, la coloración blanquecina, la intensidad de la venación marcada, y las estriaciones en ambos testículos (**Figura 45**).

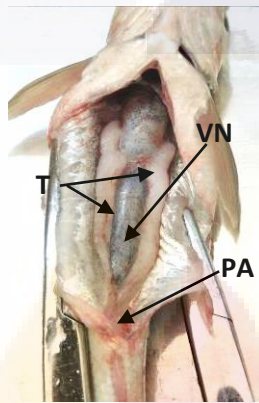


Figura 45. Testículos (T), Vejiga natatoria (VN), Poro anal (PA).

9.7 Características cualitativas microscópicas de los machos.

Se observaron dos tipos de estadios en machos: estadio inmaduro y estadio maduro. Debido a la arquitectura que presentó el testículo se clasificó como testículo tubular. En la **Figura 46** se muestra la conformación lobular donde se encontraron en maduración los diferentes estadios de las células. De igual manera, se observó la unión del lóbulo con el ducto espermático. En el monitoreo general de la gónada, se observó en la parte posterior la unión de los ductos espermáticos para formar un solo ducto (**Figura 47**). Posteriormente, se mostró la unión del ducto espermático con otro ducto, el ducto urogenital (**Figura 48**).

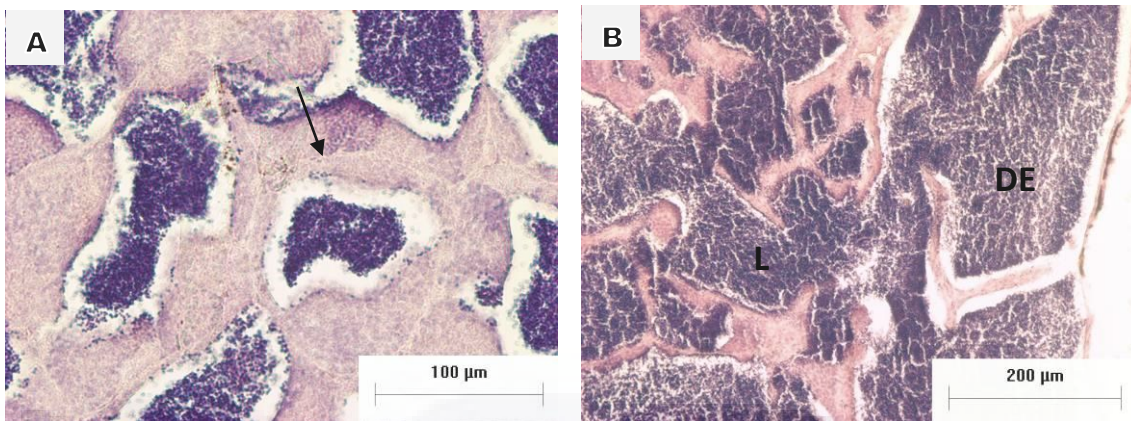


Figura 46. A. Periferia de uno de los lóbulos con espermatozoides dentro (Flecha) (20X). B. Unión de un lóbulo con el ducto espermático (20X). Ducto espermático (DE), Lóbulo (L).

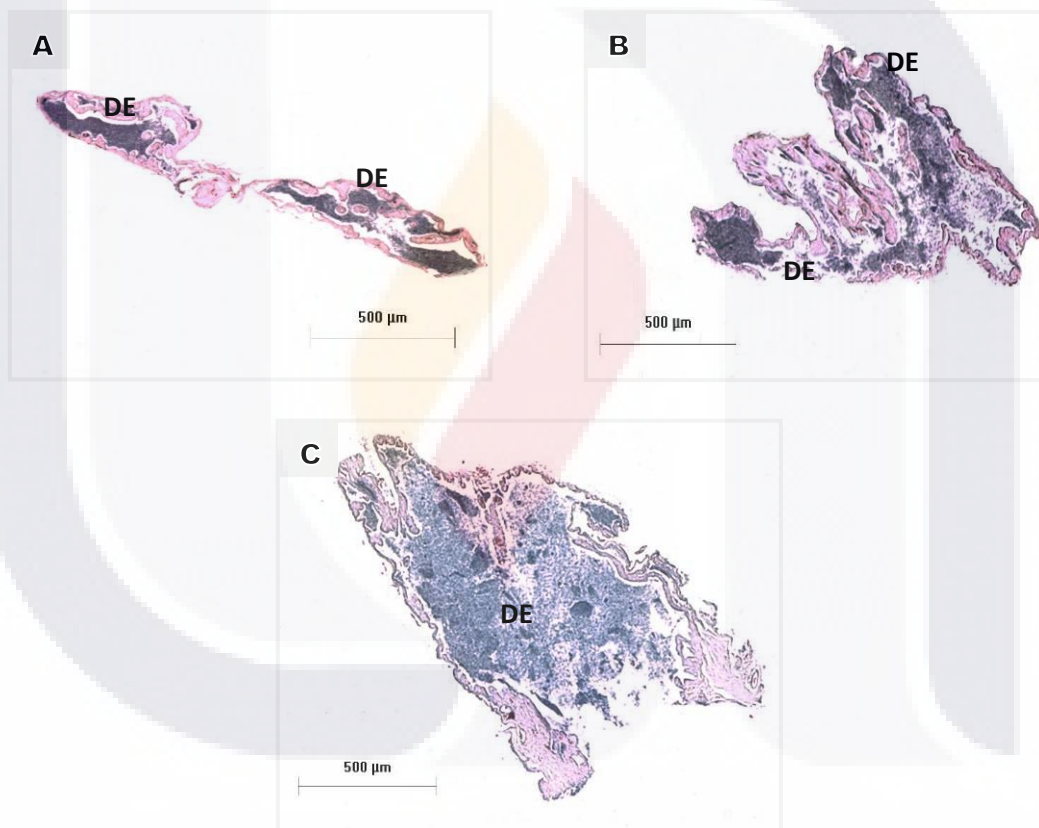


Figura 47. A.B.C. Secuencia de la unión de los dos ductos espermáticos en uno solo (2.5X). Ductos espermáticos (DE).

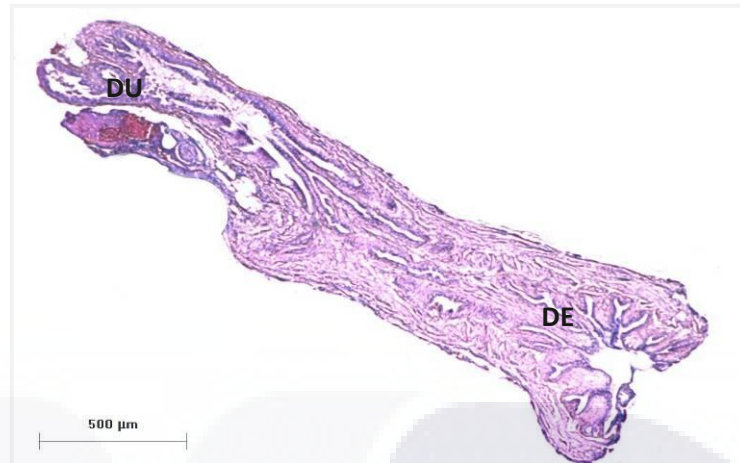
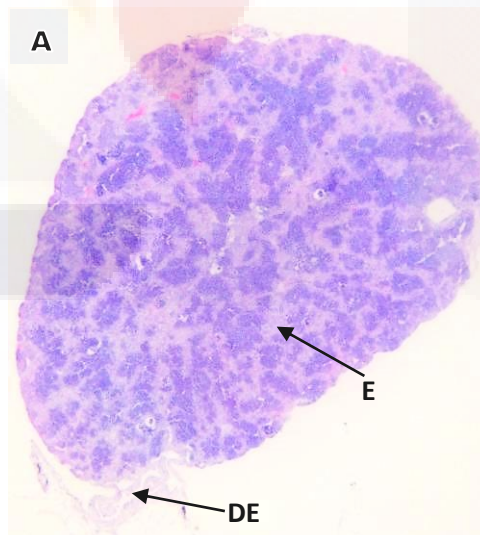


Figura 48. A. Unión del Ducto espermático (DE) al Ducto urinario (DU) (2.5X).

9.7.1 Estadío inmaduro.

Se tomaron machos al mismo tiempo que se realizó un análisis de las gónadas de las hembras antes de comenzar la inducción al desarrollo gonadal (fotoperiodo y temperatura). En la **Figura 49** se muestra una toma panorámica del testículo. Se observó que mientras que las hembras se encuentran en los primeros estadios, el macho presentó todos los estadios: espermatogonia, espermatocitos primarios, espermatocitos secundarios, espermátidas y espermatozoides, pero en más abundancia espermatogonias y espermatocitos.



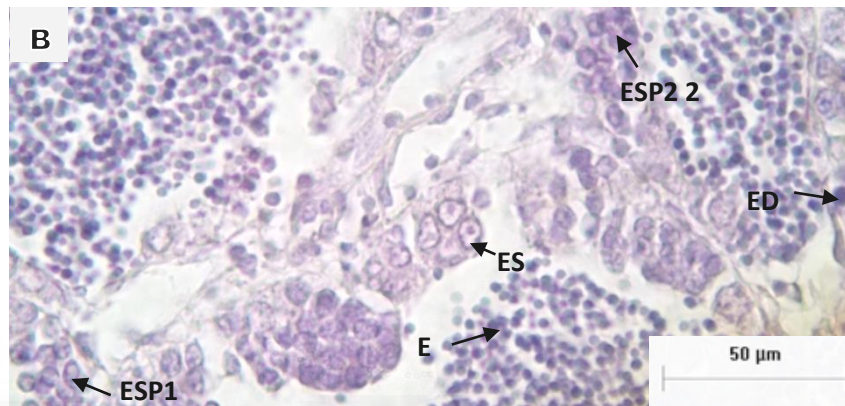


Figura 49. A. Vista panorámica general de la gónada. B. Diferentes estadios encontrados en el testículo (100X). Ducto espermático (DE), Espermatozoides (E), Espermatogonia (ES), Espermatozoide (E), Espermatocitos primarios (ESP 1), Espermatocitos secundarios (ESP 2) y Espermátida (100X).

9.7.2 Estadio maduro.

En el estadio maduro se observó que las gónadas de los machos presentaban todos los estadios, pero en mayor cantidad espermátidas y espermatozoides (**Figura 50**). Es importante señalar que la proporción de espermátidas y espermatozoides se mantuvo como la mayoría a través de toda la gónada. En la **Figura 50** se muestra una imagen panorámica del testículo en corte transversal, la distribución de los espermatozoides y espermátidas por toda la gónada. En este estadio el ducto espermático se encontró repleto de espermatozoides.

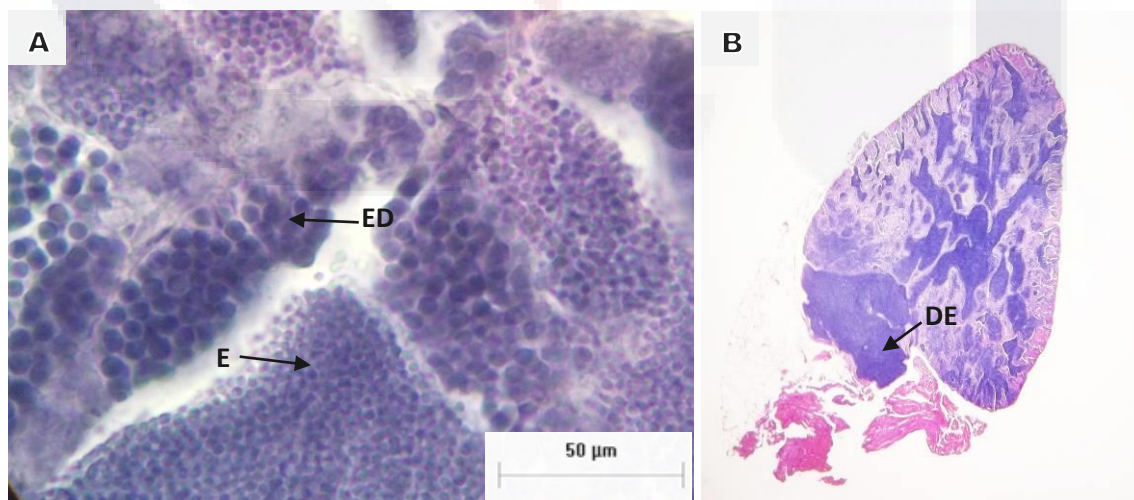


Figura 50. A. Espermatozoides (E) y Espermátida (ED) (100X). B. Vista panorámica general de la gónada. Ducto espermático (DE).

9.8 Caracterización cuantitativa macroscópica y microscópica en hembras.

En la **Figura 51** se muestran los resultados obtenidos entre la correlación de los datos. De los seis análisis de correlación solo se destacan tres de ellos: a) Peso total del pez vs. Longitud total del pez ($R^2 = 0.8140$), b) Peso total del pez vs. Peso eviscerado ($R^2 = 0.9884$) y c) Peso total del pez vs. Peso de la gónada ($R^2 = 0.7803$).



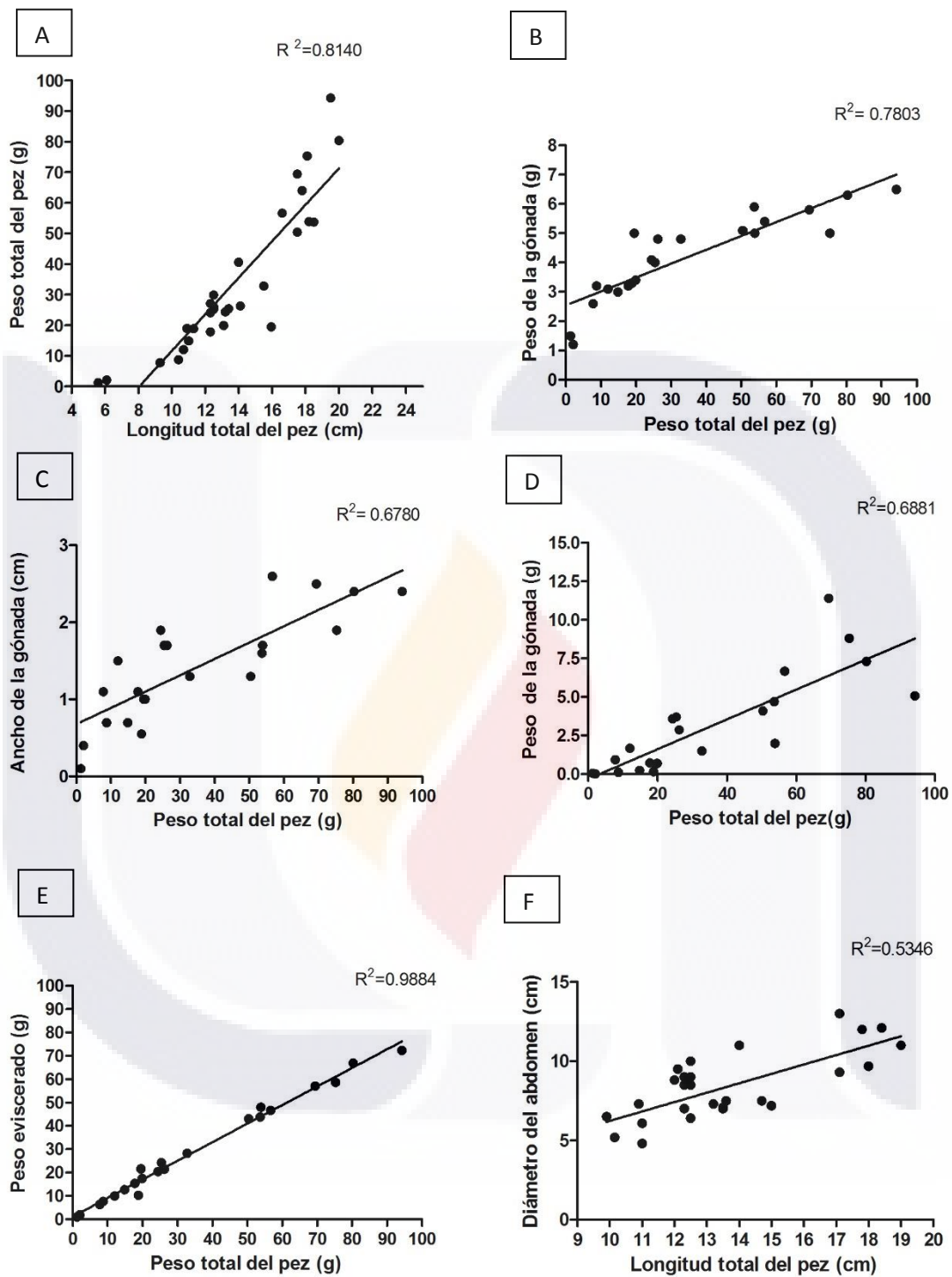


Figura 51. Correlación de los parámetros obtenidos en *Y. alta* para: A. Peso total del pez vs. Longitud total del pez, B. Peso de la gónada vs. Peso total del pez, C. Ancho de la gónada vs. Peso total del pez, D. Peso de la gónada vs. Peso total del pez, E. Peso eviscerado vs. Peso total del pez y F. Diámetro del abdomen vs. Longitud total del pez.

En la **Figura 52** se muestra la distribución de frecuencias de los diámetros de los ovocitos conforme avanzó el desarrollo gonadal. Se observó que mientras la gónada se encuentra en el estadio I, se encontraron ovocitos que presentaron un diámetro entre 50 y 150 μ . La gónada en estadio II presentó ovocitos que se encontraron entre los diámetros de 100 a 350 μ . Los ovocitos con mayor frecuencia encontrados entre este intervalo fueron los de 150 y 200 μ . En el estadio III de la gónada, se encontraron ovocitos con diámetros de 100 a 950 μ . Aunque el intervalo de frecuencia fue amplio, los ovocitos entre 450 y 550 μ se presentaron en mayor abundancia. En el estadio IV de la gónada, se observaron ovocitos que van de los 100 a las 1,000 μ . La frecuencia dentro de este intervalo reveló una mayoría de ovocitos con diámetros entre 750 y 900 μ . En el último estadio de la gónada, se registraron ovocitos de diferentes diámetros, sin embargo, se presentaron con mayor frecuencia aquellos diámetros de 950 a 1,000 μ . Además de que se encontró una distribución de frecuencia que va de ovocitos de menor a mayor diámetro, cabe mencionar que durante el desarrollo gonadal, los ovocitos con diámetros aproximadamente de 100 μ siempre estuvieron presentes como mayoría, junto con el otro tipo de ovocitos que presentaron cierto intervalo del diámetro de ovocito como mayoría.

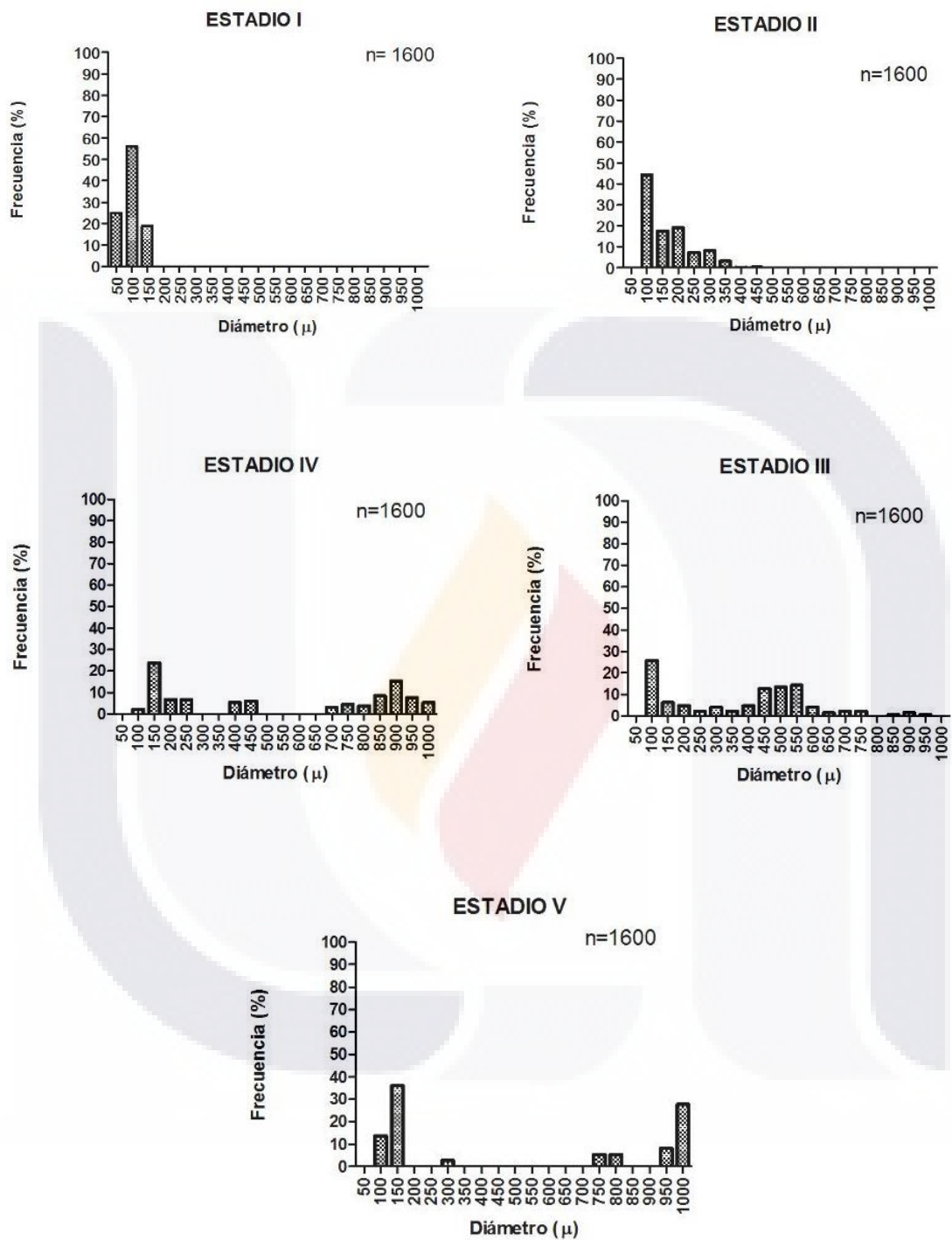


Figura 52. Distribución de frecuencia de ovocitos vs. sus diámetros observados en los distintos estadios de desarrollo de la gónada.

9.9 Tablas integrativas macroscópicas y microscópicas de hembras y machos.

Se realizó una tabla comparativa entre las principales características macro y microscópicas para determinar el progreso de desarrollo gonadal de *Y. alta* (**Tabla 3**). La finalidad de la tabla es condensar la información que se ha descrito anteriormente.

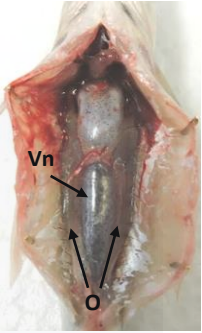
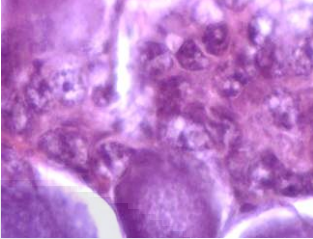
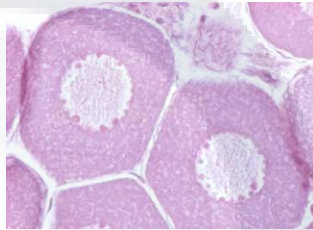
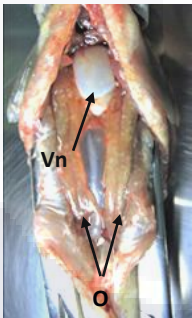
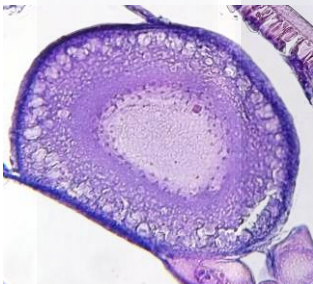
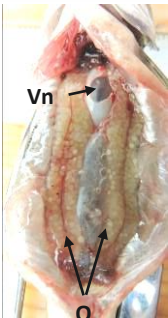

Tabla 3. Características macroscópicas de la gónada, diámetros de los ovocitos y estadios de desarrollo de la gónada y tipos de ovocitos.

Características de la gónada ^b	Diámetro de ovocito (μ)	Estadios de desarrollo ^a
Estadio I. Gónadas delgadas, rosadas, los ovocitos no se distinguen.	5 ± 1 (n = 100) 69 ± 7 (n = 300)	Estadio I: Ovogonias Estadio II: Ovocitos primarios
Estadio II. Gónadas ligeramente anchas, semi-rosadas, con algunos ovocitos visibles pequeños.	183 ± 1.9 (n = 300)	Estadio III: Alveolo cortical
Estadio III. Gónadas con ovocitos semi-amarillos, los ovocitos abarcan mayormente la gónada.	425 ± 6 (n = 300)	Estadio IV: Vitelogénesis temprana
Estadio IV. Gónadas ligeramente amarillentas, ovocitos visibles, venaciones marcadas.	742 ± 7 (n = 300)	Estadio V: Vitelogénesis intermedia
Estadio V. gónadas amarillentas, poco flexibles, lábiles ovocitos claramente visibles.	941 ± 10 (n = 300)	Estadio VI: Vitelogénesis tardía

n, tamaño de la muestra

^a De West (1990)

Posteriormente, en la **Figura 53** se complementa la información referida en la **Tabla 3**, pero de manera ilustrativa.

ESTADIO DE LA GÓNADA	TIPOS DE ESTADIOS DE OVOCITO PRESENTES EN LA GÓNADA
<p style="text-align: center;">Estadio I</p> 	<p>Estadio I Ovocitos primarios</p>  <p>Estadio II Ovocitos secundarios</p> 
<p style="text-align: center;">Estadio II</p> 	<p>Estadio III Antrios primarios</p> 
<p style="text-align: center;">Estadio III</p> 	<p>Estadio IV Vitelogénesis</p> 

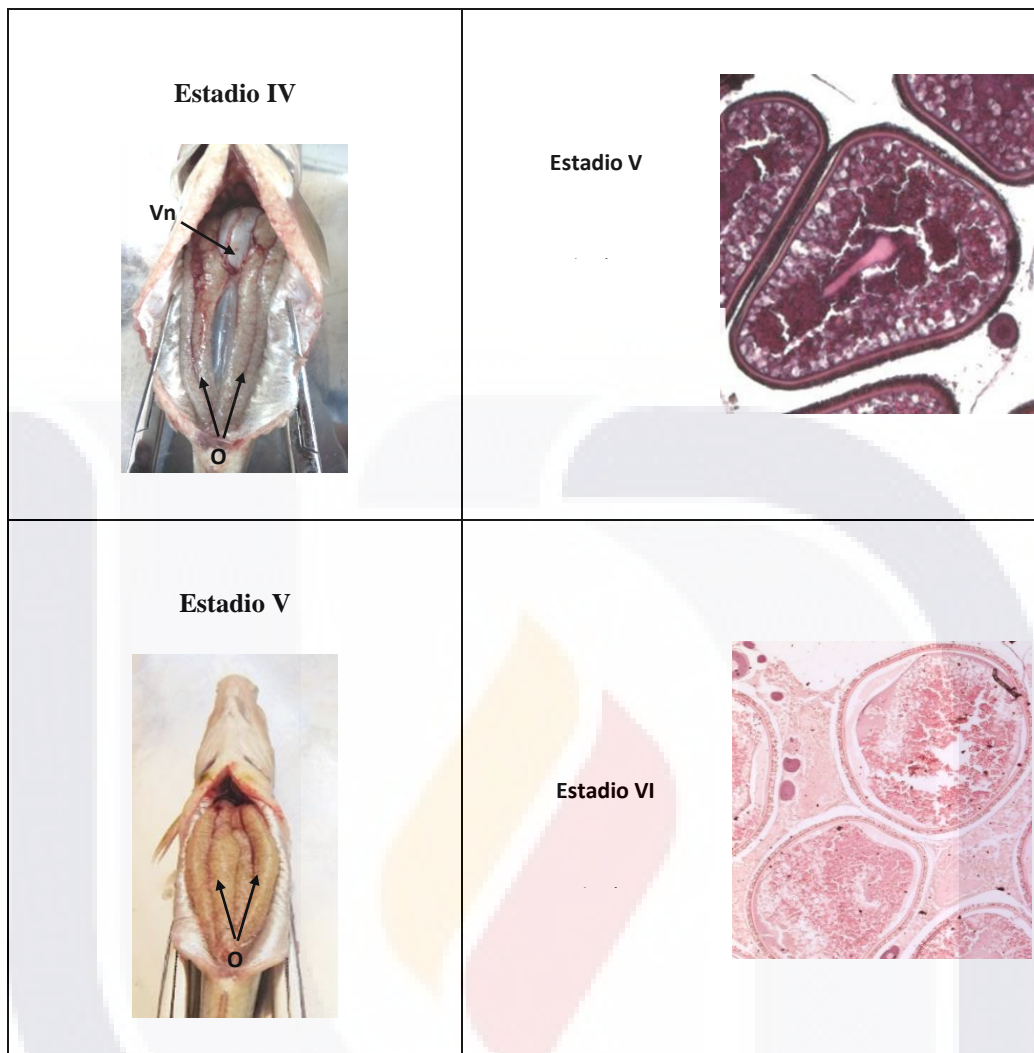


Figura 53. Ilustración comparativa entre los estadios de la gónada y los tipos de ovocitos que se encuentran en ella. O. ovarios, VG. Vejiga natatoria.

Para el caso de los machos, no se realizó la medición de los diámetros promedio de las células presentes durante el desarrollo gonadal. Sin embargo, también se evaluó e incluyó la información más relevante que permita describir macro y microscópicamente el breve desarrollo gonadal que se lleva a cabo en los machos.

En la **Tabla 4**, se resumen las características macroscópicas de la gónada y los estadios microscópicos detectados.

Tabla 4. Principales características macroscópicas de la gónada masculina y los tipos de células presentes por cada estadio de la gónada.

Características macroscópicas de la gónada ^b	Tipo de células presentes^a
Estadio inmaduro. Gónadas delgadas, rosadas y sin visibilidad de los ductos espermáticos.	***Espermatogonias ***Espermatocitos primarios ** Espermatocitos secundarios * Espermátidas * Espermatozoides
Estadio maduro. Gónadas blanquecinas, venación marcada, visibilidad de los ductos espermáticos.	* Espermatogonias ***Espermátidas ***Espermatozoides

*Escasa abundancia

**Poca abundancia

***Mayor abundancia

En la **Figura 54** se resume ambas descripciones de manera ilustrativa.

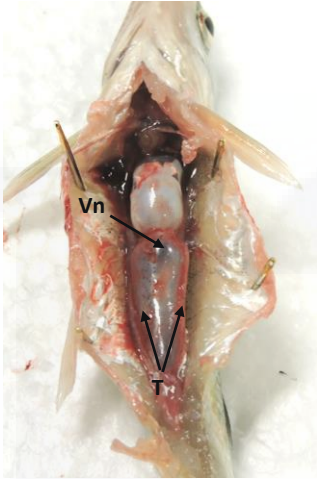




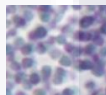
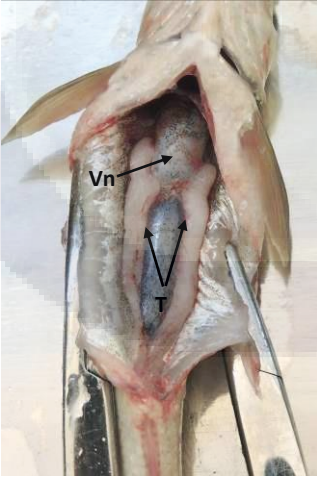


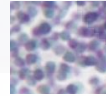
ESTADIO DE LA GÓNADA	TIPOS DE CÉLULAS PRESENTES
<p style="text-align: center;">Estadio inmaduro</p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="925 451 1088 483">Espermatogonia  <li data-bbox="925 577 1063 640">Espermatocito primario  <li data-bbox="925 703 1063 766">Espermatocito secundario  <li data-bbox="925 840 1047 871">Espermátida  <li data-bbox="925 976 1088 1008">Espermatozoide 
<p style="text-align: center;">Estadio maduro</p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="925 1186 1088 1218">Espermatogonia  <li data-bbox="925 1333 1063 1365">Espermátida  <li data-bbox="925 1470 1088 1501">Espermatozoide 

Figura 54. Tabla comparativa entre los estadios de la gónada y los tipos de células que se encuentran en ella. T. Testículos, VG. Vejiga natatoria.

10. DISCUSIÓN

10.1 Acondicionamiento de la especie.

Para conservar viva a la carpita plateada *Y. alta*, fue necesario conocer sus requerimientos biológicos básicos. Estos requerimientos pueden conocerse mediante el análisis previo de su medio ambiente (Zaniboni, 2010). Los parámetros registrados de la temperatura, el pH, el oxígeno disuelto y el espacio en el sitio de colecta, permitieron adecuar el estanque para el acondicionamiento de la especie. Atencio (2001) menciona que para garantizar el éxito de un cultivo debe de considerarse aspectos como la calidad del agua, la alimentación y la densidad de siembra. Aunque no se realizaron estudios previos sobre la dieta de *Y. alta* en condiciones naturales, la especie se mostró receptiva ante la dieta comercial implementada.

La disposición de la especie ante la dieta balanceada puede explicarse debido a la amplia variedad de artículos alimenticios que consume su género. De acuerdo a lo reportado por Salgado y col. (2007), la alimentación de los Cyprínidos en general, consta de materia vegetal y animal, principalmente de zooplancton como los copépodos y los cladóceros; las larvas de insectos; los gusanos y los moluscos. Otro de los parámetros a considerar como fundamentales para el manejo de la especie es el lugar donde se cultivan los peces después de la cuarentena. Para evitar bajas, se requirió un estanque amplio y circular que pudiese almacenar todos los ejemplares colectados. El área y forma del estanque se decidió con base a los resultados obtenidos después de las primeras dos cuarentenas. Se observó que los ejemplares después de la cuarentena en las jabas rectangulares de 60 L no presentaron enfermedades. Posteriormente, al colocarse en estanques rectangulares (92 cm x 154 cm x 250 cm) los ejemplares volvieron a presentar enfermedades como hongos y bacterias, incluso heridas en el hocico y las aletas. Tanto el espacio como el lugar de almacenamiento de los ejemplares en cultivo fueron importantes ya que se observó que la densidad del cultivo también influye en el bienestar del pez. Al colocarse los peces en el estanque circular (3 m de diámetro y una profundidad de 1 m), se observó que los peces dejaron de presentar enfermedades y heridas. Por lo que se dedujo, que los ejemplares se encontraban sanos, en un espacio amplio y circulares, ya que el nivel de carga del cultivo no se llevaba al extremo, donde el acondicionamiento y la adaptabilidad no se mostraban negativos para el pez (Llanes y col., 2011). Las

enfermedades presentadas durante la cuarentena pudiesen ser atribuidas al estrés que presentaba el pez durante la captura, traslado y aclimatación, produciendo un estado de inmunodepresión (García y col., 2002) y causando susceptibilidad a los agentes patógenos, y de seguir así, incluso podrían mostrar una posible falla en el futuro desarrollo gonadal (Rodríguez, 2012).

Para llevar a cabo el estímulo del desarrollo gonadal, se requirió de la aplicación de un fotoperiodo 14 h luz y 10 h oscuridad y una temperatura mayor a 19°C. Tanto la temperatura del agua como las horas luz y oscuridad funcionan como factores exógenos suficientes para sincronizar el inicio de la madurez de los ovocitos. Sin embargo, es necesario complementar la acción de estos estímulos, con una dieta y una calidad del agua óptimas, ya que se han observado como los principales factores que influyen en el desarrollo gonadal del pez (Coward y col., 2002).

10.2 Características cualitativas macroscópicas en hembras.

Kobelkowsky (2012) menciona que existen diferentes tipos de ovarios presentes en los peces Teleósteos de acuerdo a su posición y su relación visceral. Los ovarios presentes en los peces Teleósteos normalmente se encuentran rodeados por mesenterio y ligados a la cavidad visceral o bien a la vejiga natatoria. En el caso de *Y. alta*, la gónada se encuentra adherida a los costados de la vejiga natatoria y no a la cavidad visceral, por otro lado, el mesenterio rodea a la gónada. Koya y col. (1995) mencionan que existen dos tipos de ovarios presentes en los peces Teleósteos: los gimnovárico y los cistovárico. Las características de los ovarios observadas en *Y. alta* muestran que presentan un ovario tipo cistovárico, ya que el lumen del ovario se presenta continuo al oviducto (Gadekar, 2014). Dentro de las características utilizadas para la clasificación macroscópica por estadios, se observó que la coloración, la presencia de ovocitos y el porcentaje que cubre las gónadas de la cavidad abdominal fueron los más representativos.

10.3 Características cualitativas microscópicas en hembras.

El análisis histológico permitió determinar que *Y. alta* presenta seis estadios durante su desarrollo gonadal. Para cada estadio se observó que el tamaño del ovocito, el cambio de las células foliculares, las características de tinción y la distribución de los diferentes

estadios de ovocitos fueron los caracteres que mostraron mayor cambio. Montchowui y col. (2012) mencionan que la identificación de estos caracteres permite evaluar los diferentes estadios del desarrollo gonadal.

El desarrollo gonadal de *Y. alta* mostró un desarrollo gonadal tipo sincrónico por grupos. Lo observado en las muestras histológicas concuerda con lo definido por Nejed y col. (2004) sobre el tipo de desarrollo gonadal sincrónico por grupos. En este tipo de desarrollo se presentan dos poblaciones dominantes de ovocitos en diferentes estadios. Cabe señalar que Aytekin y Yüce (2008) comentan que los peces que presentan este desarrollo tienen un solo desove por año. Durante el periodo que *Y. alta* se mantuvo en condiciones de cautiverio, solo se ha presentado una sola ocasión en el año el desarrollo gonadal de manera general hasta el desove.

El inicio del estudio sobre el desarrollo gonadal comenzó con la identificación de las ovogonias y el epitelio germinal. La identificación del epitelio germinal permitió ubicar los nidos de ovogonias. De acuerdo a lo establecido por Parenti y Grier (2004), el epitelio germinal normalmente se encuentra relacionado con los nidos de ovogonias e incluso algunas células de crecimiento primario como los ovocito primario.

Una vez ubicados y diferenciados los nidos de las ovogonias del epitelio germinal, se identificaron el resto de los estadios establecidos (West, 1990). En el caso de las ovogonias, éstas fueron identificadas en todos los estadios. Sin embargo, al inicio del sistema fotoperiodo-temperatura, se observó que los nidos de ovogonias eran abundantes en comparación del resto de los estadios.

Es necesario comenzar la descripción del desarrollo gonadal con las ovogonias, ya que como lo mencionan Grier y col. (2007), estas células marcan el comienzo de la foliculogénesis y la ovogénesis. Las ovogonias se observan con un núcleo altamente basófilo. La forma de la célula presenta un aspecto esferoidal. Cek y col. (2001) mencionan que la célula en este estadio se encuentra en el arresto de la fase meiótica. El arresto de la fase meiótica en las ovogonias fue visible ya que la hematoxilina revela la tinción del ADN, tiñendo las estructuras ácidas, como el núcleo de un color azul púrpúreo (Cruz-Castán y col., 2014). La célula presenta cambios en su exterior cuando se encuentra en estadio de ovogonia. Patiño y Sullivan (2002) consideran que en esta etapa cada una de las ovogonias está rodeada por una monocapa de células somáticas de la granulosa. Las células

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

somáticas se encuentran formando una monocapa fuera de la lámina basal y constituyen a la teca. Debido a que las ovogonias se encuentran aglutinadas en los nidos no se logran visualizar estas células, sin embargo, están descritas para este estadio en los peces Teleósteos (Lubzens y col., 2010).

El siguiente estadio observado se describe con las características presentadas en un ovocito peri-nuclear. La principal característica que se observa en este estadio es la presencia de los nucléolos. Los nucléolos se presentan en la periferia del núcleo. Cabe señalar, que para algunas células se observan claramente los nucléolos pero no se encuentran distribuidos precisamente en la periferia, además, de que el núcleo no se observa centrado en la célula. Estas células no se reportaron como ovogonias puesto que las características presentes están más relacionadas a las características descritas por West (1990) para un ovocito primario. Gaspar (1995) clasifica éste tipo de célula como un tipo de ovocito, que no es ovogonia, si no que representa una especie de futuro ovocito primario y que además ya ha llevado a cabo el arresto meiótico. Este tipo de célula se ha reportan incluso en algunos Teleósteos tales como *Oncorhynchus mykiss* (Grier y col., 2007), *Mystus montanus* (Arockiaraj y col., 2004) y *Siganus rivulatus* (Moharram y col., 2011). En el caso de los Cyprínidos como *Rutilus frisii kutum* (Heidari y col., 2009), *Danio rerio* (Aytekin y Yüce, 2008) y *Rutilus rutilus* (Paull y col., 2008). Para algunas especies de Cyprínidos incluso se han clasificado las células en estadio peri-nuclear en diferentes fases, según lo reportado por Rutaisire y Booth (2004) en *Labeo victorianus* que presenta tres tipos de ovocitos peri-nucleares: pre-perinuclear, peri-nuclear temprano y peri-nuclear tardío.

En el caso de las células foliculares, se observan dos capas compuestas por dos tipos de células diferentes, la teca y la granulosa. Para el caso del estadio de alveolo cortical, la zona radiata ya se observa, aunque es delgada. La teca no cambia y las células foliculares se observan cuadradas. La conformación de las células foliculares se reporta comúnmente de la misma manera para este estadio (Cabrita y col., 2008). Estos ovocitos se clasifican como alvéolos corticales debido a la ubicación inicial de los mismos en la célula. Sin embargo, aumentaran a medida que crecen primero en tamaño y número, y posteriormente disminuirán (Patiño y Sullivan, 2002). Aunque la descripción microscópica del ovocito en estadio alveolo cortical durante el desarrollo gonadal coincide entre los diferentes

Teleósteos, esto no sucede con respecto a que fase pertenece ya sea pre-vitelogénesis o vitelogénesis. En los peces Teleósteos se encuentra reportado por Gaspar (1995), Tyler y Sumpter (1996), Patiño y Sullivan (2002), Antón (2004), Gier y col. (2007) y Valdebenito y col. (2011) que el ovocito que presenta alveolos corticales se clasifica en la fase de pre-vitelogénesis. Por el contrario Lubzens y col. (2010) mencionan que este tipo de ovocitos pertenecen a la fase de vitelogénesis. En el caso de algunos Cyprínidos como *Garra rufa* (Bardakci y col., 2000), *Tinca tinca* (Pinillos-Bueno, 2006), *Danio rerio* (Aytekin y Yüce, 2008; Okuthe y col., 2014) y *Prochilodus argenteus* (Thomé y col., 2012) el estadio de alveolo cortical se clasifica como pre-vitelogénico. Por otro lado, en *Puntius conchoniis* (Cek y col., 2001), *Labeo victorianus* (Rutaisire y col., 2005), *Rutilus frisii kutum* (Heidari y col., 2009), *Barbus luteus* y *Varicorhinus trutta* (Rahemo y Al-Shatter, 2012) este estadio se clasifica en la fase de vitelogénesis.

En el caso de *Y. alta*, el estadio de alveolo cortical se clasifica dentro de la fase pre-vitelogénesis por dos razones. La primera, debido a la clasificación utilizada por West (1990), quien menciona a este estadio como pre-vitelogénico. La segunda, debido a que los alveolos corticales están formados de carbohidratos y lípidos sintetizados dentro del ovocito, que no tienen relación con el auténtico vitelo que se forma a partir de una serie de proteínas precursoras que se encuentran en el exterior del ovocito y luego viajan hacia su interior (Antón, 2004). De igual manera Jalabert (2005), menciona que el término "vitelogénesis" hace referencia a la acumulación del vitelo lipoproteico proveniente de una precursora hepática que viaja por la sangre hasta llegar al ovocito que es la vitelogenina (VTG).

La fase de vitelogénesis se divide en tres sub-estadios debido a los distintos patrones de acomodo de los gránulos. Los gránulos presentes a los estadios pertenecientes a esta fase vitelogénica pueden ser una mezcla de proteínas, azúcares, lípidos, vitaminas y minerales, que son sintetizados endógenamente y que son necesarios para el desarrollo del embrión (Hiramatsu y col., 2005). Sin embargo, Patiño y Sullivan (2002) mencionan que dentro de esta mezcla las proteínas y lípidos se encuentran como la mayoría. La evidencia de la acumulación y la organización de las proteínas se hace visible con la tinción de H/E, ya que la eosina, al ser ácida, tiñe de una tonalidad rosa a las estructuras básicas como la mayoría de las proteínas citoplasmáticas (García y col., 2006; Anzaldúa y col., 2007). En

los tres estadios de vitelogénesis descritos para *Y. alta*, los lípidos se observan en forma de espacios en blanco. La visibilidad de éstos no fue posible observar debido a la técnica histológica utilizada. Para poder observar los lípidos existen otros tipos de fijadores y colorantes recomendados como los mencionados por Eltoum y col. (2001).

Durante la fase de vitelogénica se observa un incremento del diámetro entre el estadio de alveolo cortical y el primero de los estadios de ésta fase. El aumento del diámetro se determina según Jalabert (2005) como una especie de filtrado del vitelo. Sin embargo, también menciona que la reorganización del vitelo es diferente entre las especies de peces. Cabe mencionar que las vitelogeninas que conforman al vitelo se encuentran de manera abundante en la sangre de las hembras durante la vitelogénesis (Lubzens y col., 2010). La acumulación de estas vitelogeninas explica el incremento en el torrente sanguíneo que se observa conforme avanzan los últimos tres estadios de desarrollo gonadal.

Dentro de las principales características observadas en los estadios IV y V es la aparición de las micro-vellosidades. En el estadio IV, estas micro-vellosidades se observan de aspecto cúbico y en el estadio V tienen forma cilíndrica. Aunque parecían estructuras aparentemente no ligadas a ninguna otra de las observadas en los estadios anteriores, éstas micro-vellosidades forman parte de la zona radiata. La zona radiata se encuentra compuesta por una superficie externa y una interna. La superficie interna tiene la función de protección y la superficie externa (micro-vellosidades) tiene la función de adhesión del futuro huevo al sustrato (Riehl y Patzner, 1998; Shabanipour y Hossayni, 2010). Sin embargo, también se menciona que las micro-vellosidades observadas tienen la función de realizar un intercambio de materiales orgánicos entre las células de la teca y de la granulosa con el ovocito (Srijunngam y col., 2005; Huaquín y Arratia., 2002).

Las micro-vellosidades presentadas por *Y. alta* morfológicamente son similares a las presentadas en otros Cyprínidos como *Rutilus frisii kutum* (Heidari y col., 2009) y *Danio rerio* (Koç, 2010). No obstante, aunque la estructura básica de la zona radiata y los procesos de su desarrollo pudieran ser similares entre *Y. alta* en otros Cyprínidos existe una variación considerable. La variación se encuentran ligada al tipo de hábitat en el que se desarrolla la especie (Srijunngam y col., 2005).

En el estadio VI, una de las características destacables es la aparición del micrópilo. La aparición del micrópilo indica no solo la última fase de la vitelogénesis, sino que

además, la maduración del ovocito. De acuerdo a lo reportado por Thomas y Pace (2002), la formación del micrópilo indica la terminación de la primera fase meiótica que se encontraba arrestada desde la fase pre-vitelogénica. Por su parte, Jalabert (2005) menciona que la maduración del ovocito se encuentra relacionado no solo con la aparición del micrópilo, sino que además indica la ruptura de la vesícula germinal (VG). La ruptura de la VG revela la segunda división meiótica, que permanecerá bloqueada en la metafase II hasta la fertilización.

En este estudio en los últimos muestreos biométricos, se encontraron escasos ovocitos atrésicos. Linares-Casenave y col. (2002) mencionan que la atresia se lleva a cabo en peces cultivados debido a que exhiben un acelerado crecimiento y maduración del ovocito. Por otro lado, Díaz (2010) menciona que la causa principal de la atresia es debido al estrés ambiental como podría ser el fotoperiodo o la temperatura y la nutrición. Cabe mencionar que solo una hembra presentó ovocitos atrésicos, por lo que no es representativo como para determinar que el fotoperiodo, la temperatura o la alimentación empleados durante el desarrollo gonadal, pudiesen generar estrés en los peces, y por ende, causar la atresia. Además, la atresia folicular es un evento que se presenta normalmente en el desarrollo gonadal. La atresia se determina como un proceso estratégico establecido dentro del ciclo del desarrollo gonadal, que permite un reciclaje energético bajo condiciones adversas (Valdebenito y col., 2011).

10.4 Características cualitativas macroscópicas en machos.

El tipo de testículo que presenta *Y. alta* concuerda con lo reportado para la mayoría de los peces Teleósteos. Los testículos observados en la especie son pareados y se encuentran adheridos a la parte dorsal del pez gracias al mesorquium, como lo reportaron Grier y Uribe-Aranzábal (2009). Se describe más a detalle la conformación de este tipo de testículo en Cyprínidos como *Labeo parvus* (Montchowui y col., 2012), *Labeo victorianus* (Rutaisire y col., 2005) y *Cyprinus carpio* (Smith y Walker, 2004). Además, al igual que en otros Teleósteos se observó que la gónada inactiva llega abarcar entre el 0.2 al 10% de la cavidad abdominal; los testículos son alargados, de color blanquizco o rosado. De acuerdo a lo reportado por Gaspar (1995) *Y. alta* presenta, al igual que en otros peces Teleósteos, los testículos fusionados en la parte posterior de la gónada y al mismo tiempo al poro anal.

Aunque en el estadio inmaduro no se logra observar macroscópicamente la presencia de ductos espermáticos, en los estadios maduros sí. Los ductos espermáticos son visibles normalmente cuando la gónada se encuentra más activa y madura (Gaspar, 1995). Aunque Coward y col. (2002) mencionan que en los Teleósteos se observa un ducto espermático a través de cada testículo, los ductos espermáticos en *Y. alta* se hacen más visibles macroscópicamente de la parte media del testículo hasta el poro anal.

Se observó expulsión de semen ante la opresión ventral del pez. Este fenómeno es normal que se presente en el estadio maduro de acuerdo a lo reportado por Pinillos (2006) y Brown-Peterson y col. (2011), ya que el testículo se encuentra hidratado y el esperma se eyacula, fenómeno conocido como espermiación.

10.5 Características cualitativas microscópicas en machos.

De acuerdo a la estructura microscópica observada se determinó que *Y. alta* presenta un testículo del tipo tubular. Según lo reportado por Parenti y Grier (2004) en la descripción y clasificación de los tipos de testículo en peces óseos primitivos, como los Cypriniformes, Characiformes y Salmoniformes, se considera que tienen un testículo del tipo tubular.

Al igual que en el análisis macroscópico, se observan cambios en los ductos espermáticos a través del desarrollo gonadal. Los ductos se encuentran llenos de espermatozoides en la fase madura de la gónada, contrario a la fase inmadura. Estas características histológicas nos permiten determinar microscópicamente el estadio de la gónada, tal y como se reporta para los peces Teleósteos (Sierra-De la Rosa, 2007) o en Cyprinidos como en *Leporinus obtusidens* (De Gonzo y col., 1995).

De acuerdo a lo mencionado por Kobelkowsky (2007), los testículos de los Teleósteos son compactos y recorridos por conductos testiculares o ductos espermáticos (Nobrega y col., 2009). En el análisis histológico se observó que *Y. alta* presenta estos ductos principales que recorren todo el testículo. Sin embargo, el ducto presenta diferente conformación en la parte apical y final del testículo. Esto es debido a que se ha reportado tanto para peces óseos (Lahnsteiner y col., 1994; Lahnsteiner y col., 1993; Vicentini y col., 2001) como para algunos Cyprinidos como *Leuciscus cephalus* (Walter y col., 2005), *Alburnus alburnus* y *Vimba vimba* (Lahnsteiner y col., 1994) donde los ductos

espermáticos pueden dividirse en dos partes: a) ductos testiculares principales y b) ductos espermáticos. La sección que se denomina ducto testicular principal, se ubica en la zona en que los ductos están en contacto con los túbulos seminíferos. Por otro lado, los ductos espermáticos se encuentran en la zona caudal de los testículos y no se encuentran en contacto con los túbulos seminíferos. Posteriormente, los dos ductos espermáticos se unen en un solo ducto, tal como se menciona en los resultados observados. Aunque *Y. alta* cumple con las características anteriormente mencionadas, también se observó que en la parte final caudal del testículo (ducto espermático) entra en contacto con otro tipo de ducto. Coward y col. (2002) mencionan que el ducto espermático se conduce a la parte urinaria situada en entre el recto y los ductos urinarios. Aunque de acuerdo a lo observado pareciera que el ducto espermático se une a otro ducto, esto no sucede así. Lahnsteiner y Patzner (2009) indican que los ductos espermáticos y los urinarios pasan por separado a través de una papila urogenital común. Ambos ductos se alinean por medio de un músculo del esfínter estriado. Entre estos ductos se encuentran un par de ligamentos de músculos liso.

Por otra parte, la distribución y la presencia del epitelio germinal se observa variable entre los diferentes estadios del desarrollo gonadal. En el estadio inmaduro el epitelio germinal es más abundante que en el estadio maduro. La diferente conformación del epitelio germinal es uno de los cambios que se observan para diagnosticar la maduración de la gónada durante la temporada reproductiva (Grier y Taylor, 1998; Parenti y Grier, 2004).

En la fase temprana, el epitelio germinal se distingue claramente a cualquier altura del testículo, indicando la ausencia de espermiación, por lo tanto la gónada se encuentra en un estadio inmaduro. Conforme avanza el desarrollo gonadal el epitelio germinal se hace menos visible y los lóbulos se observan cada vez más cerca de los conductos espermáticos. Aunque el epitelio germinal se observe discontinuo y los lóbulos parecieran desaparecer, esto no sucede. El epitelio germinal continúa en la periferia de los lóbulos (Brown-Peterson y col., 2002).

La identificación de los estadios se llevó a cabo al inicio del muestreo de acuerdo a lo establecido por Schulz y col. (2010). La gónada inmadura, permitió la identificación de todos los estadios. Parenti y Grier (2004) mencionan que existen tres estadios que presentan los machos de los peces Teleósteos: el temprano, el medio y el tardío. Para el estadio temprano, se distinguen mayormente las espermatogonias. En el estadio medio se observan

mayormente espermatoцитos uno y dos. En el estadio tardío, dominan las espermatogonias y los espermatozoides. Sin embargo, durante los muestreos solo se observaron dos tipos de testículos: el inmaduro con la presencia de escasas espermatogonias y espermatozoides; y el estadio maduro, las espermatogonias y los espermatozoides dominan las áreas de los lóbulos y hay una abundancia de espermatozoides en los lóbulos y los ductos espermáticos, lo que indicó la finalización de la espermatogénesis. Por lo tanto, no solo se demuestra la maduración de la gónada masculina, sino que además, el esperma se encuentra listo para llevar a cabo la fertilización (Schulz y Miura, 2002). La diferencia de la clasificación de los estadios reportados en algunos peces Teleósteos, en comparación con los obtenidos con *Y. alta* se relaciona con lo mencionado por Billard (1986) y Coward y col. (2002) quienes opinan que los eventos que se llevan a cabo en la espermatogénesis son diversos a través de las estructuras de los tipos de testículos.

La identificación de los diferentes estadios de las células es comúnmente conocida para todos los peces óseos (Brown-Peterson y col., 2011). La diferencia principal para distinguir los estadios se basa en el tamaño que alcanzan las diferentes células. Las células de mayor tamaño son las espermatogonias, posteriormente los espermatoцитos, seguido de las espermátidas y por último, los espermatozoides que fueron las más pequeñas. Esto coincide con lo reportado por Grier y Uribe (2009).

Además del tamaño, las espermatogonias son esféricas, semitransparentes y con un núcleo bien definido. Aunque normalmente para los peces Teleósteos se han reportado dos tipos de ovogonias: a) tipo A y b) tipo B (Hess y De Franca, 2008; Grier y Uribe, 2009; Brown-Peterson y col., 2011). En el análisis histológico de *Y. alta*, sólo se identifica un tipo de espermatogonia. Hess y De Franca (2008), mencionan que para realizar investigaciones sobre la clasificación de los tipos de ovogonias presentes en una misma especie, se requiere utilizar diferentes herramientas a las técnicas de rutina. En el caso de *Danio rerio*, Leal y col. (2009) mediante una técnica inmuno-histoquímica, reportan nueve tipos de espermatogonias diferentes durante la espermatogénesis, cuatro sub-clasificaciones relacionadas al tipo A y cinco sub-clasificaciones para el tipo B. En el caso de *Rutilus rutilus*, una vez identificados los tipos de espermatogonias presentes en la gónada mediante la técnica de tinción Hematoxilina/Eosina, se analizó la distribución y abundancia que estas presentan en los diferentes estadios de la gónada (Paull y col., 2008). Aunque para el caso

de *Y. alta* se podría realizar la metodología mencionada anteriormente, se tendría que identificar primero cuantos tipos de espermatogonias presenta la especie durante la espermatogénesis.

La diferencia entre la espermatogonia y el espermatocito está determinada por el tamaño y la tinción del núcleo. El espermatocito se muestra con un núcleo más enunciado debido a la actividad meiótica que presentan (Uribe y col., 2010). Dentro de los resultados obtenidos, los espermatocitos primarios se mostraron en mayor cantidad y de fácil identificación en comparación de los espermatocitos secundarios, esto es debido a que los espermatocitos secundarios se dividen rápidamente para llevar a cabo la generación de las futuras espermátidas (Grier y Uribe, 2009).

Por último, la identificación entre espermatogonia y espermatozoide se llevó a cabo en el estadio maduro de la gónada, ya que como se mencionó anteriormente, éste es el estadio donde se encuentran ambas células de manera abundante. Las espermátidas muestran un núcleo más marcado y su morfología es más esférica que el espermatozoide, éstas características son utilizadas para distinguir ambas células durante la espermatogénesis en los peces óseos (Hess y De Franca, 2008).

10.6 Análisis cuantitativo macroscópico y microscópico de hembras.

De los análisis de correlación realizados, la correlación Peso total del pez vs. Peso de la gónada fue la que mostró una mayor correlación. De acuerdo a los resultados obtenidos y lo mencionado por Calvo y Dadone (1972), entre mayor sea peso del pez, mayor será el peso de la gónada, lo que indica el avance del desarrollo gonadal.

La distribución de la frecuencia del diámetro de los ovocitos junto con la tabla comparativa de las hembras, proporcionan dos datos importantes: a) los diámetros de los ovocitos y b) el tipo de ovocito a que pertenece cada diámetro. En la distribución de las frecuencias se observan los diámetros de los ovocitos dominantes, y en el caso de la tabla comparativa, se puede relacionar con el tipo de diámetro y a qué estadio de ovocito pertenece. Ambos datos permiten establecer el tipo de desarrollo gonadal que presenta *Y. alta*. La distribución de las frecuencias de los diámetros de ovocitos muestran picos o grupos predominantes de ovocitos, revelando el tipo de desarrollo de la especie (Villamil-Moreno y Arias-Castellanos, 2011). Los resultados obtenidos muestran que para cada

gráfico, se observan siempre dos picos, lo que permite confirmar que *Y. alta* presenta un desarrollo gonadal del tipo sincrónico por grupos.

Cabe mencionar que una vez que se conoce la distribución de frecuencias del desarrollo que presenta normalmente la gónada de *Y. alta*, dicha información puede ser utilizada posteriormente para otros fines reproductivos. Ya que se pretende contribuir a la optimización sobre la reproducción de la especie bajo condiciones de cautiverio, el uso de la distribución de frecuencia podría establecer una mejora en la fertilización *in vitro* bajo tal como se realizó con el Cyprínido *Puntius tetrazona*, (Domínguez-Castañedo y col., 2014). Por otro lado, se puede hacer un diagnóstico sobre la calidad del agua del cultivo. Si el medio de cultivo en que se encuentre *Y. alta* presentara algún tipo de contaminante, la distribución de frecuencia se vería modificada, tal como lo reporta Patrigniani (2014) para *Danio rerio*.

Los diámetros obtenidos por estadio en *Y. alta* presentan similitud con los reportados en otros Cyprínidos. Incluso, presenta similitud con especies comerciales como *Cyprinus carpio* y *Danio reiro*. Los diámetro de los primeros estadios obtenidos en *Y. alta* se observaron similares a los reportados para *Danio rerio* (Aytakin y Yüce, 2008) y *Rutilus frisii kutum* (Heidari y col., 2009). Comparando los diámetros de los últimos estadios entre *Danio rerio* y *Y. alta*, ésta última presenta un mayor diámetro que el primero. En el caso *Rutilus frisii kutum* y *Y. alta*, *Y. alta* presenta un diámetro más pequeño en los comienzos de la vitelogénesis. En el caso de *Labeo parvus* (Montchowui y col., 2012) y *Y. alta* presenta un diámetro promedio mayor para todos los estadios. Sin embargo, *Labeo victorianus* que pertenece al mismo género que *L. parvus*, presenta similitud en el diámetro de todos los estadios a excepción del reportado para las ovogonias (Rutaisire y Booth, 2004). Por último, se observó que el diámetro promedio reportado para los estadios de *Cyprinus carpio* (Smith y Walker, 2004) y los encontrados en *Y. alta* son similares.

10.7 Tabla integrativa macroscópica y microscópica para ambos sexos.

La tabla comparativa y las imágenes son dos elementos que permiten entender el mecanismo del desarrollo gonadal de cada especie. No obstante, normalmente se reporta la tabla comparativa y las ilustraciones microscópicas de los tipos de estadios de ovocitos de manera independiente. Estos elementos se han reportado para algunos Cyprínidos como *Cyprinus carpio* (Smith y Walker, 2004) y *Puntius conchoni* (Cek y col., 2001). Algunas especies solo presentan uno de los dos elementos ya sea las imágenes o bien la tabla comparativa como es el caso de *Barbus luteus* y *Varicorhinus* (Rahemo y Al-Shatter, 2014), y solo se comenta las imágenes obtenidas. En otras especies como *Labeo parvus* (Montchowui y col., 2012), *Labeo victorianus* (Rutaisire y col., 2003) también es lo mismo. Sin embargo, con la finalidad de conocer mejor el desarrollo gonadal de cualquier especie es recomendable que se realice un análisis macroscópico y microscópico. La información descrita debe de estar al alcance de cualquier persona que desee conocer el desarrollo gonadal de la especie (Domínguez-Castañedo y col., 2014).

11. CONCLUSIONES

1. *Y. alta* tiene la capacidad de adaptarse a las condiciones de cautiverio. Los datos obtenidos en el presente trabajo, indicaron que el cultivo controlado de este pez, se puede realizar sin mayor problema en estanques circulares y a una densidad de 50 reproductores en 3,500 L de agua. Los parámetros de la calidad del agua registrados en la presente investigación revelaron que las condiciones de cultivo fueron similares a las que imperan en su ambiente natural. Además, esta especie aceptó bien el alimento balanceado, lo que representó una gran ventaja para su manejo controlado. Al asegurar las condiciones óptimas de calidad del agua del cultivo, una buena alimentación y el control de las enfermedades, permitió mantener una adecuada tasa de crecimiento y una baja tasa de mortalidad, y el control y uso del fotoperiodo de 14 h luz y 10 h oscuridad, con una temperatura mayor a los 19°C, aseguró el desarrollo gonadal en ambos sexos.

2. El estudio macroscópico de las gónadas de las hembras de *Y. alta* reveló que éstas se encuentran adheridas a los costados de la vejiga natatoria, rodeadas por el mesenterio y presentan un ovario de tipo cistovárico. Además, se reconocieron cinco estadios macroscópicos del desarrollo gonadal, que se identificaron de acuerdo a la coloración de las gónadas, la presencia de ovocitos y el porcentaje que cubren las gónadas en la cavidad abdominal. En el caso de los machos los testículos son tubulares, pareados, están adheridos a la parte dorsal por el mesorquium y se fusionan en la parte posterior de la gónada y al poro anal manteniendo su independencia. Su conformación es parecida a otros Cyprínidos y se determinaron dos estados del desarrollo de los testículos, el inmaduro y el maduro separados de acuerdo al color, la forma y el porcentaje que cubren éstos en la cavidad abdominal.

3. La característica cualitativa microscópica de la gónada de las hembras de *Y. alta* permitió determinar seis tipos de estadios de los ovocitos: I. Ovogonias, II. Ovocito primario, III. Alveolo cortical, IV. Vitelogénesis temprana, V. Vitelogénesis tardía y VI. Ovocitos maduros. Además, presentó un desarrollo de tipo sincrónico por grupos, con un solo desove por año. Se observó que las ovogonias están presentes en todos los estadios y son más

abundantes al principio de la foliculogénesis y la ovogénesis. Los ovocitos peri-nucleares presentaron numerosos nucléolos en la periferia del núcleo; algunas de estas células fueron diferentes y podrían ser consideradas como ovocitos primarios o bien como un estadio perinuclear en diferentes fases de desarrollo; en las células foliculares se observaron dos capas bien definidas: a) la teca y b) la granulosa. En el estadio de alveolo cortical se reconoció claramente la zona radiata que correspondió a un ovocito pre-vitelogénico; la fase de vitelogénesis se dividió en tres sub-estadios, donde los lípidos se observaron como un espacio en blanco debido a la técnica histológica utilizada. La principal característica observada en los estadios IV y V fue la aparición de las micro-vellocidades cuyo aspecto cambió de una forma cúbica a una cilíndrica; las micro-vellocidades forman parte de la zona radiata y tienen la función de protección y de adhesión del huevo al sustrato y son similares a las que presentan otros Cyprínidos, esta característica permite agrupar a esta especie en el grupo de carpas que presentan huevos adherentes. Finalmente, en el estadio VI se observó la aparición del micrópilo lo que indicó la fase final de la vitelogénesis y la maduración del ovocito.

En el caso de los machos se definió un testículo de tipo lobular y se identificaron dos estadios; uno inmaduro y otro maduro que presentan cambios en los ductos espermáticos a través del desarrollo testicular. Los testículos son compactos y recorren los conductos testiculares con una diferente conformación en la parte apical y al final del testículo. Los ductos espermáticos se dividen en dos partes, los ductos testiculares principales y los ductos espermáticos. En la parte final del testículo se conducen hacia los ductos urinarios pero pasan por separado a la papila urogenital. El epitelio germinal es más abundante en el estadio maduro y es una característica para diagnosticar la maduración de la gónada masculina durante la temporada reproductiva. Conforme avanzó el desarrollo gonadal el epitelio germinal se hizo menos visible y los lóbulos se observaron cada vez más cerca de los ductos espermáticos. La gónada inmadura se caracteriza por la presencia escasa de espermatogonias y espermatozoides y en el estadio maduro las espermatogonias y los espermatozoides dominan las áreas de los lóbulos donde hay una gran abundancia de los espermatozoides y en los ductos espermáticos, lo que indica la finalización de la espermatogénesis. En los testículos se manifestaron diferentes células con tamaños distintos. Las de mayor tamaño fueron las espermatogonias, seguidas de los espermatozoides,

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

las espermátidas y finalmente los espermatozoides que fueron los más pequeños. Otra característica particular es que solo se identificó un tipo de espermatogonia, aunque pudieran existir varios más, lo que es un trabajo pendiente de estudiar.

4. Los resultados del análisis de correlación de Pearson mostraron que en las hembras, la relación Peso total del pez vs. Peso de la gónada fue la que alcanzó el valor más alto, lo que demostró que existe una relación directa entre el peso total de las hembras y el peso de la gónada. Esta característica permite dar un seguimiento al desarrollo gonadal de las hembras a lo largo de la temporada de reproducción y calcular su estado de madurez con respecto al peso total, lo que para fines de acuicultura es importante, ya que permite un manejo más eficiente de los reproductores sin tener que sacrificar a los peces. A su vez la distribución de frecuencia del diámetro de los ovocitos permitió detectar al menos dos picos de grupos dominantes de ovocitos, reforzando que *Y. alta* presenta un desarrollo gonadal sincrónico por grupos. Dicha información es relevante sobre todo para fines reproductivos como por ejemplo, la inducción a la reproducción mediante el estímulo de la inyección de hormonas heteroplásticas sintéticas y la fertilización *in vitro*, para optimar los eventos reproductivos y lograr una mayor producción de huevos, larvas y crías, ya sea para propósitos de cultivo o bien para la repoblación.

5. Un aspecto que se considera de gran relevancia es la elaboración de tablas comparativas que agrupen tanto las descripciones macroscópicas como las microscópicas del desarrollo gonadal de ambos sexos en los peces Teleósteos. La finalidad de estas tablas es conocer mejor el desarrollo gonadal de cualquier especie, no obstante son pocos los trabajos de investigación que las presentan. En ésta investigación, se incluyeron ambas tablas para que estén al alcance de las personas que deseen conocer el desarrollo gonadal de la carpita plateada *Y. alta*. Esta información representa la integración total de la investigación de una manera visual y práctica, que será de utilidad para los trabajos a futuro de esta especie nativa que se encuentra sometida a fuertes presiones antropogénicas y ambientales.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Afonso-Dias, I., Amorim, P., y A. Silva. (2008). Problems with assigning the ovaries of sardine (*Sardina pilchardus*) to the appropriate macroscopic maturity stage. *Biodiversity Records*, 5190: 4 p.
- Ahsan, S. N. (1966). Cyclical changes in the testicular activity of the lake chub, *Couesius plumbeus* (Agassiz). *Canadian Journal of Zoology*, 44(2), 149-159.
- Almeida, F. F., Kristoffersen, C., Taranger, G. L., y R. W. Schulz. (2008). Spermatogenesis in Atlantic cod (*Gadus morhua*): a novel model of cystic germ cell development. *Biology of Reproduction*, 78(1), 27-34.
- Ando, N. O., Miura, T. A., Nader, M. A. R., Miura, C. H., y K. O. Yamauchi. (2000). A method for estimating the number of mitotic divisions in fish testes. *Fisheries Science*, 66(2), 299-303.
- Antón, J. M. N. (2004). Efecto del contenido lipídico de las dietas administradas a reproductores de lobina (*Dicentrarchus labrax* L.) sobre el proceso reproductor y sobre la calidad y composición de los huevos. Tesis Doctoral. Departamento de Fisiología de la reproducción de Teleósteos. Universidad de Valencia, España.
- Anzaldúa, S., R. Ocádiz-Tapia y J. Hernández-Espinoza. (2007). Manual de laboratorio de biología tisular. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Arockiaraj, A. J., Haniffa, M. A., Seetharaman, S., y S. Singh. (2004). Cyclic changes in gonadal maturation and histological observations of threatened freshwater catfish 'narikeliru' *Mystus montanus* (Jerdon, 1849). *Acta Ichthyologica Et Piscatoria Journal*, 34: 253-266.
- Atencio, G. V. (2001). Producción de alevinos de especies nativas. *Revista MVZ Córdoba*, 6(1), 9-14.
- Aytekin, Y., y R., Yüce. (2008). Ovary maturation stages and histological investigation of ovary of the Zebrafish (*Danio rerio*). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51(3), 513-522.
- Lyman-Gingerich, J., y F., Pelegri. (2007). Maternal factors in fish oogenesis and embryonic development. In *The Fish Oocyte*. Babin P. J., Cerda J., y E. Lubzens. (Eds.). Springer Netherland. 141-174.
- Ball, J. N. (1960). Reproduction in female bony fishes. *Symposia of the Zoological Society of London*, 1, 105-135.

- Barbour, C. D., y S., Contreras-Balderas. (1968). *Algansea monticola*, a new cyprinid fish from the Pacific Slope of central Mexico. Proceedings of the Biological Society of Washington, 81, 101-107.
- Barbour, C. D., y R. R., Miller. (1978). A revision of the Mexican cyprinid fish genus *Algansea*. Museum of Zoology, University of Michigan., Miscellaneous Publications. 155, 1-72.
- Bardakci, F., Ozanso, U., y E., Koptagel. (2000). A comparison of oogenesis under constant and fluctuating temperatures in Doctor fish, *Garra rufa* Heckel, 1843 (Teleostei: *Cyprinidae*). The World Wide Web Journal of Biology, 5(3).
- Begovac, P. C., y R. A., Wallace. (1988). Stages of oocyte development in the pipefish, *Syngnathus scovelli*. Journal of Morphology, 197(3), 353-369.
- Berlinsky, D. L., Jackson, L. F., Smith, T. I. J. y C.V., Sullivan. (1995). The annual reproductive cycle of the white bass *Morone chrysops*. Journal of the World Aquaculture Society. 26: 252-260.
- Bhatti, M. N., y N. K., Al-Daham. (1978). Annual cyclical changes in the testicular activity of a freshwater teleost, *Barbus luteus* (Heckel) from Shatt-Al-Arab, Iraq Journal of Fish Biology, 13(3), 321-326.
- Billard, R. (1986) Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. Reproduction, Nutrition and Development, 26, 877-920.
- Billard, R. (1999). The Carp: Biology and Culture. Springer-praxis series in Aquaculture y Fisheries. French National Institute for Agricultural Research. Paris. 1-7.
- Billard, R., Weil, C., Bieniarz, K., Mikolajczyk, T., Breton, B., Epler, P., y M., Bougoussa. (1992). Testicular and some hormonal changes during the first four years of life in the mirror carp, *Cyprinus carpio* L. Journal of Fish Biology, 41(3), 473-487.
- Biswas, A. K., Morita, T., Yoshizaki, G., Maita, M., y T., Takeuchi. (2005). Control of reproduction in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) by photoperiod manipulation. Aquaculture, 243(1), 229-239.
- Bizzotto P. M. y H. P., Godinho. (2007) Morphometric evaluation of the spermatogenesis in trahira *Hoplias malabaricus* (Bloch) (Characiformes, *Erythrinidae*). Revista Brasileira de Zoologia. 24(3), 541-544.
- Blazer, V. S. (2002). Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes. Fish Physiology and Biochemistry, 26(1), 85-101.

- Borg, B. (1982). Seasonal effects of photoperiod and temperature on spermatogenesis and male secondary sexual characters in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. Canadian Journal of Zoology, 60(12), 3377-3386.
- Bromage, N., y R., Cumarantunga. (1988). Egg production in the rainbow trout. In Recent advances in aquaculture. Muir, J., y R. J Roberts. (Eds.). Springer Science & Business Media. Springer Netherlands, 3, 63-138.
- Brown-Peterson, N. J., Wyanski, D. M., Saborido-Rey, F., Macewicz, B. J., y S. K., Lowerre-Barbieri. (2011). A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. Marine and Coastal Fisheries, 3(1), 52-70.
- Bruslé, S. (1980). Fine structure of early previtellogenic oocytes in Mugil (*Liza*) *Risso auratus*, 1810 (Teleostei, *Mugilidae*). Cell and Tissue Research, 207(1), 123-134.
- Burke, M. G., y J. F., Leatherland. (1984). Seasonal changes in testicular histology of brown bullheads, *Ictalurus nebulosus* Lesueur. Canadian Journal of Zoology, 62(6), 1185-1194.
- Cabrita, E., Robles, V., y P., Herráez. (2008). Methods in reproductive aquaculture: marine and freshwater species. Chemical Rubber Company Press. Taylor and Francis Group. USA. 549 p.
- Çakıcı, Ö., y S. İ., Üçüncü. (2007). Oocyte development in the zebrafish, *Danio rerio* (Teleostei: *Cyprinidae*). Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. EU, 24, 137-141.
- Calvo, J., y L. A., Dadone. (1972). Fenómenos reproductivos en el pejerrey (*Basilichtys bonaerensis*). Revista del Museo de La Plata, 11.
- Castro-Aguirre, J.L. y E.F., Balart. (1993). La ictiología en México: Pasado, presente y futuro. Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural, 44, 327-343.
- Cek, S., Bromage, N., Randall, C., y K., Rana. (2001). Oogenesis, hepatosomatic and gonadosomatic indexes, and sex ratio in rosy barb (*Puntius conchonius*). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1(2).
- Contreras-Balderas A. J. y S. Contreras-Balderas. (1989). Los peces de Aguascalientes. Lista zoogeográfica y ecológica. Publicaciones Biológicas. México. Vol 3. (1). 1-13.
- Coward, K., Bromage, N. R., Hibbitt, O., y J., Parrington. (2002). Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 12(1), 33-58.
- Cruz-Castán, R. M., Curiel-Ramírez, y C., Meiners. (2014). Modificación de los tiempos de tinción de cortes histológicos con hematoxilina-eosina para maximizar la observación de gametos femeninos de *Euthynnus alletteratus* Rafinesque, 1810 (Pisces:

Scombridae) del suroeste del Golfo de México. Métodos en Ecología y Sistemática, 9(2), 7-10.

- Davies, P. R., y I., Hanyu. (1986). Effect of temperature and photoperiod on sexual maturation and spawning of the common carp under conditions of high temperature. *Aquaculture*, 51(3), 277-288.
- De Gonzo, G., Vera, R., Martínez, V., y M., Romero. (1995). Organización Histológica del Testículo y Fecundidad de *Leporinus Obtusidens* (Val. 1847), Pisces Cypriniformes, *Anostomatidae* del Río Juramento, Provincia de Salta. *Natura Neotropicalis*, 2(26), 1-8.
- De Vlaming, V. L. (1975). Effects of photoperiod and temperature on gonadal activity in the cyprinid teleost, *Notemigonus crysoleucas*. *Biological Bulletin*, 402-415.
- Del Villar, J. A. (1970). Peces mexicanos (claves) (No. 1). Comisión Nacional Consultiva de Pesca, Instituto Nacional de la Pesca, México.
- Delahunty, G., y V. D., Vlaming. (1980). Seasonal relationships of ovary weight, liver weight and fat stores with body weight in the goldfish, *Carassius auratus* (L.). *Journal of Fish Biology*, 16(1), 5-13.
- Díaz, M. D. L. M. G. (2000). Aplicación de técnicas histológicas para la determinación de parámetros reproductores en tres Teleósteos marinos (*Serranidae*, *Serranus*). Tesis Doctoral. Departamento de Biología Animal. Universidad de La Laguna, España.
- Díaz, N. F., y R., Neira. (2005). Biotecnología Aplicada a la Acuicultura I. Biotecnologías clásicas aplicadas a la reproducción de especies cultivadas. *Ciencia e Investigación Agraria*, 32(1), 45-59.
- Domínguez-Castañedo, O., Toledano-Olivares, Á., Martínez-Espinosa, D., y A., Ávalos-Rodríguez. (2014). Cambios morfológicos en gametos del barbo tigre *Puntius tetrazona* (Cypriniformes: *Cyprinidae*) e implementación de la fertilización in vitro. *Revista de Biología Tropical*, 62(4), 1353-1363.
- Dubost, N., Masson, G., y J. C., Moreteau. (1997). Gonad development and filleting yield of common carp *Cyprinus carpio* L. reared in ponds in Eastern France. *Journal of Applied Ichthyology*, 13(1), 15-20.
- El-Naggar, G. O., El Nady, M. A., Kamar, M. G., y A. I., Al-Kobabay. (2000). Effect of photoperiod, dietary protein and temperature on reproduction in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In *Tilapia Culture in the 21st Century. Proceedings from the Fifth International Symposium on Tilapia Aquaculture, Rio de Janeiro, Brazil*. *American Tilapia*, 26, 352-358.

- Eltoum, I., Fredenburgh, J., Myers, R. B., y W. E., Grizzle. (2001). Introduction to the theory and practice of fixation of tissues. *Journal of Histotechnology*, 24(3), 173-190.
- Emit, L., I. Etcheri, y O., Umoren. (1989). Aspects of the Reproductive Biology of *Tilapia guineensis* in Editas Pond, Nigeria. *Revue de Zoologie Africaine*, 103(2), 127-134.
- Espinosa-Pérez, H. S. (2014). Biodiversidad de peces en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 450-459.
- Eyeson, K. N. (1983). Stunting and Reproduction in Pond-reared *Sarotherodon melanotheron*. *Aquaculture*, 31, 257-267.
- Fishelson L. (2003) Comparison of testes structure, spermatogenesis, and spermatocytogenesis in young, aging, and hybrid cichlid fish (*Cichlidae*, Teleostei). *Journal of Morphology*, 256, 285-300.
- Fishelson L., Delarea y O., Gon. (2006) Testis structure, spermatogenesis, spermatocytogenesis, and sperm structure in cardinal fish (*Apogonidae*, Perciformes). *Anatomy and Embryology*, 211, 31-46.
- Flores, E. E., y M. D. C. U., Aranzába. (2002). Atlas de histología de vertebrados. Universidad Autónoma de México.
- Gadekar, G. P. (2014). Studies on the seasonal histomorphological changes in the ovary of Indian major carp, *Labeo rohita* (Ham). *The Bioscan*, 9(3), 1037-1042.
- García, J. G., Yañez, A. R., y B. G., García. (2002). Directrices generales de diseño de explotaciones de engorde de especies acuícolas en jaulas de mar. *Archivos de Zootecnia*, 51(196), 469-472.
- Gaspar G. (1995). Desarrollo gonadal y sexualidad de los peces Teleósteos. *Saber*, 7, 7-17.
- Gaspar-Dillanes. (2005). La ictiología en México un punto de vista de la Sociedad Ictiológica Mexicana A.C. (SIMAC). *Revista Digital Universitaria*. Universidad Autónoma de México, 6, 2-6.
- Glasser, F., Mikolajczyk, T., Jalabert, B., Baroiller, J. F., y B., Breton. (2004). Temperature effects along the reproductive axis during spawning induction of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *General and Comparative Endocrinology*, 136(2), 171-179.
- Gómez-Márquez, J. L., Peña-Mendoza, B., Salgado-Ugarte, I. H., Sánchez-Herrera, A. K., y L., Sastré-Baez. (2008). Reproduction of the fish *Poeciliopsis gracilis* (Cyprinodontiformes: *Poeciliidae*) in Coatetelco, a tropical shallow lake in Mexico. *Revista de Biología Tropical*, 56(4), 1801-1812.

- Grau, A., Linde, M., y A. M., Grau. (2009). Reproductive biology of the vulnerable species *Sciaena umbra* Linnaeus, 1758 (Pisces: *Sciaenidae*). *Scientia Marina*, 73(1), 67-81.
- Grier, H. J. (1981). Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. *American Zoologist*, 21(2), 345-357.
- Grier, H. J., y R. G., Taylor. (1998). Testicular maturation and regression in the common snook. *Journal of Fish Biology*, 53(3), 521-542.
- Grier, H. J., y M. C., Uribe-Aranzábal. (2009). The testis and spermatogenesis in teleosts. *Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes (agnathans and bony fishes)*, 8, 119-142.
- Grier, H. J., Uribe, M. C., y L. R., Parenti. (2007). Germinal epithelium, folliculogenesis, and postovulatory follicles in ovaries of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) (Teleostei, Protacanthopterygii, Salmoniformes). *Journal of Morphology*, 268(4), 293-310.
- Grier, H. J., Uribe-Aranzábal, M. C., y R., Patiño. (2009). The ovary, folliculogenesis, and oogenesis in teleosts. *Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes (agnathans and bony fishes)*, Science Publishers, 25-84.
- Groman, D. (1982). Histology of the striped bass. *American Fisheries Society Monograph*, 3, 116.
- Gupta, S. (1975). The development of carp gonads in warm water aquaria. *Journal of Fish Biology*, 7(6), 775-782.
- Guraya, S. S. (1986). The cell and molecular biology of fish oogenesis. Karger Medical and Scientific Publishers. Vol. 18. 214p.
- Hainfellner, P., Souza, T. G. D., Moreira, R. G., Nakaghi, L. S. O., y S. R., Batlouni. (2012). Gonadal steroids levels and vitellogenesis in the formation of oocytes in *Prochilodus lineatus* (Valenciennes) (Teleostei: Characiformes). *Neotropical Ichthyology*, 10(3), 601-612.
- Hansen T. Karlsen O. Taranger G.L. Hemre G-L. Holm J.C. y O. S., Kjesbu. (2001). Growth, gonadal development and spawning time of Atlantic cod (*Gadus morhua*) reared under different photoperiods. *Aquaculture*, 203, 51-67.
- Harvey, B. J., y W. S., Hoar. (1980). Teoría y Práctica de la reproducción inducida en los peces. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo. Ottawa, Canada, 47.

- Heidari, B., Shabanipour, N., Savari, A., Yavari, V., y N., Hosseini. (2009). The oocyte development of Kutum, *Rutilus frisii kutum*, K. with special emphasis on the zona radiata structure. *Animal Reproduction*, 6(3), 465-472.
- Henderson, N.E. (1962). The annual cycle in the testis of the eastern brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchell). *Canadian Journal of Zoology*, 40, 631-641.
- Hess, R. A., y L. R., De Franca. (2008). Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. In *Molecular mechanisms in spermatogenesis*. Yan Cheng C. (Ed). Springer Science & Business Media Springer New York. 1-15.
- Hiramatsu, N., Cheek, A. O., Sullivan, C. V., Matsubara, T., y A., Hara. (2005). Vitellogenesis and endocrine disruption. *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, 6, 431-471.
- Hoar W. (1969). *Fish Physiology Vol. III. Reproduction and growth. Bioluminescence, pigments and poisons*. Academic Press New York, 1-72.
- Holden, M. J., y D. F. S., Raitt. (1974). *Manual of fisheries science. Part 2-Methods of resource investigation and their application*. FAO Fisheries Technical Papers (FAO).
- Htun-Han, M. (1978). The reproductive biology of the dab *Limanda limanda* (L.) in the North Sea: Seasonal changes in the ovary. *Journal of Fish Biology*, 13(3), 351-359.
- Huaquín, L. G., Veliz, D., y G., Arratia. (2002). A comparative study of the ovaries and oocyte envelopes of freshwater siluroid catfishes from Chile. *Gayana (Concepción)*, 66(2), 269-274.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática INEGI. 1993. *Estudio hidrológico del estado de Aguascalientes*. Editorial INEGI. Vol. 1. México. 164 p.
- Jalabert B. (2005). Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals. *Reproduction Nutrition Development*, 45, 261-279.
- Javaheri Baboli, M., y M., Taghavi Niya. (2014). Reproduction biology of *Capoeta trutta* (Heckel, 1843) in the shour river, southwest Iran. *Croatian Journal of Fisheries*, 72(4), 150-155.
- Jensen, R. J., y C. D., Barbour. (1981). A phylogenetic reconstruction of the Mexican cyprinid fish genus *Algansea*. *Systematic Biology*, 30(1), 41-57.
- Kobelkowsky, A. (2007). Diversidad morfológica del sistema de conductos excretores de los peces Teleósteos. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 78(1), 105-116.
- Kobelkowsky, A., y A., Kobelkowsky. (2012). Morphological Diversity of the Ovaries of the Mexican Teleost Fishes. *International Journal of Morphology*, 30(4), 1353-1362.

- Koç, N. D. (2010). A study on ultrastructure of zona radiata during oocyte development of zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Fisheries Sciences*, 4(2), 144.
- Koulisch, S., Kramer, C.R., y H. J., Grier. (2002). Organization of the male gonad in a protogynous fish, *Thalassoma bifasciatum* (Teleostei: *Labridae*). *Journal of Morphology*, 254(3), 292-311.
- Lagler K., Bardach J., Miller R. R. y D. R., May Passino. (1990). *Ictiología*. AGT Editor. 489 p.
- Lahnsteiner, F., y R. A., Patzner. (2009). Male reproductive system: spermatic duct and accessory organs of the testis. *Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes (Agnathans and Bony Fishes)*, 8, 143-187.
- Lahnsteiner, F., Patzner, R. A., y T., Weismann. (1994). Testicular main ducts and spermatic ducts in some cyprinid fishes I. Morphology, fine structure and histochemistry. *Journal of Fish Biology*, 44(6), 937-951.
- Lahnsteiner, F., Patzner, R. A., y T., Welsmann. (1993). The spermatic ducts of salmonid fishes (*Salmonidae*, Teleostei). Morphology, histochemistry and composition of the secretion. *Journal of Fish Biology*, 42(1), 79-93.
- Leal, M. C., Cardoso, E. R., Nóbrega, R. H., Batlouni, S. R., Bogerd, J., França, L. R., y R. W., Schulz. (2009). Histological and stereological evaluation of zebrafish (*Danio rerio*) spermatogenesis with an emphasis on spermatogonial generations. *Biology of Reproduction*, 81(1), 177-187.
- Leclercq. Taylor J., y H. Migaud. (2010). Morphological skin colour changes in teleosts. *Fish and Fisheries*, 11(2), 159-193.
- Leonardo, A. F. G., Romagosa, E., Batlouni, S. R., y M. I., Borella. (2006). Occurrence and significance of ovarian and follicular regression in cachara *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766): a histology approach. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 58(5), 831-840.
- Linares-Casenave, J., Van Eenennaam, J. P., y S. I., Doroshov. (2002). Ultrastructural and histological observations on temperature induced follicular ovarian atresia in the white sturgeon. *Journal of Applied Ichthyology*, 18(4-6), 382-390.
- Llanes, Y., Reyes, R., Fernández, N., y N., Ortega. (2011). Acondicionamiento y manejo de un banco de reproductores de pargo criollo (*Lutjanus analis*, Cuvier, 1828). Centro de Investigaciones Pesqueras. VII Congreso Internacional de Ciencias Veterinarias. La Habana, Cuba. 4p.

- Loir, M., Sourdain, P., Mendis-Handagama, S. M., y B., Jégou. (1995). Cell-cell interactions in the testis of teleosts and elasmobranchs. *Microscopy Research and Technique*, 32(6), 533-552.
- Lubzens, E., Young, G., Bobe, J., y J., Cerdà. (2010). Oogenesis in teleosts: how fish eggs are formed. *General and Comparative Endocrinology*, 165(3), 367-389.
- Lucas Sánchez, A. (2014). Fisiología del envejecimiento en peces Teleósteos del género *Nothobranchius*. Proyecto de Investigación. Facultad de Biología. Universidad de Murcia, España.
- Maack, G., y H., Segner. (2003). Morphological development of the gonads in zebrafish. *Journal of Fish Biology*, 62(4), 895-906.
- Martínez, J., y A., Rojas. (1996). La Ictiofauna del Estado de Aguascalientes. *Investigación y Ciencia*, Universidad Autónoma de Aguascalientes, 19, 26-33.
- Mayer, I., Shackley, S. E., y J. S., Ryland. (2006). Aspects of the reproductive biology of the bass, *Dicentrarchus labrax*. L. I. An histological and histochemical study of oocyte development. *Journal of Fish Biology*, 33(4), 609-622.
- Mayol, J., Grau, A. M., Riera, F., y J., Oliver. (2000). *Llista vermella* dels peixos de les Balears. *Quaderns de Pesca*, 4, 1-126.
- Mazzoni, T. S., Grier, H. J., y I., Quagio-Grassiotto. (2010). Germline cysts and the formation of the germinal epithelium during the female gonadal morphogenesis in *Cyprinus carpio* (Teleostei: Ostariophysi: Cypriniformes). *The Anatomical Record*, 293(9), 1581-1606.
- McMillan, D. B. (2007). *Fish histology: female reproductive systems*. Western Science. Science & Business Media. Springer Netherlands. 597p.
- Mehdi, Y., y S. E., Mousavi. (2011). A review of the control of reproduction and hormonal manipulations in finfish species. *African Journal of Agricultural Research*, 6(7), 1643-1650.
- Miles-Richardson, S. R., Kramer, V. J., Fitzgerald, S. D., Render, J. A., Yamini, B., Barbee, S. J., y J. P., Giesy. (1999). Effects of waterborne exposure of 17 β -estradiol on secondary sex characteristics and gonads of fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Aquatic Toxicology*, 47(2), 129-145.
- Miller, R. R. (1968). Two new fishes of the genus *Cyprinodon* from the Cuatro Ciénegas basin, Coahuila, Mexico. *Occasional Papers of Museum of Zoology*. University of Michigan. 659: 1-15.

- Miller, R. R. (1988). Mesoamerican fishes of the Rio Usumacinta basin: composition, derivation and conservation. In Wildlife in the Everglades and Latin American Wetlands. G. H. Dalrymple (Ed). Proceedings of the 1st. Everglades National Park Symposium (1985). 9–10.
- Miller, R. R. (2005). Freshwater Fishes of Mexico. University of Chicago Press, Chicago, 490.
- Miller, R. R., Minckley, W. L., y S. M., Norris. (2009). Peces dulceacuícolas de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Consejo de Peces del Desierto. México. 559p.
- Miranda, A. C. L., Bazzoli, N., Rizzo, E., y Y., Sato. (1999). Ovarian follicular atresia in two teleost species: a histological and ultrastructural study. Tissue and Cell, 31(5), 480-488.
- Miura T. (1999) Spermatogenic cycle in fish. In: Encyclopedia of reproduction vol 4. Knobil E, Neill JD (Eds). Academic Press, San Diego, 571–578.
- Moharram, S. G., Wahbi, O. M., y Z. A., El-Greisy. (2011). Effect of polluted water from the Egyptian Eastern Mediterranean coast on reproductive, toxicological and hematological characteristics of *Siganus rivulatus*. Pakistan Journal of Biological Sciences, 14(12), 668-681.
- Montchowui, E., Compère, P., Thiry, M., Laleye, P., Philippart, J. C. P., Poncin. (2012). Histological assessment of gonad maturation in *Labeo parvus* (Teleostei: *Cyprinidae*) in Benin. African Journal of Aquatic Science, 37(2), 155-163.
- Montuenga B., Bodegas F. y R., Esteban. (2009). Procesamiento de muestras para microscopía óptica y tinciones. Técnicas en Histología y Biología Celular. Elsevier Masson. España. 373p.
- Morisawa, M., Suzuki, K., Shimizu, H., Morisawa, S., y K., Yasuda. (1983). Effects of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. Journal of Experimental Biology, 107(1), 95-103.
- Munkittrick, K. R., y J. F., Leatherland. (1984). Seasonal changes in the pituitary-gonad axis of feral goldfish, *Carassius auratus* L., from Ontario, Canada. Journal of Fish Biology, 24(1), 75-90.
- Munro, A. D., Scott, A. P., y T. J., Lam. (1990). Reproductive seasonality in teleosts: environmental influences. CRC press. United States. 261p.
- Munz, J. T., y C. L., Higgins. (2013). The influence of discharge, photoperiod, and temperature on the reproductive ecology of cyprinids in the Paluxy River, Texas. Aquatic Ecology, 47(1), 67-74.

- Nagahama, Y. (1983). The functional morphology of teleost gonads. *Fish Physiology*, 9 (Part A), 223-275.
- Nagahama, Y. (1987). 17α , 20β -Dihydroxy-4-pregnen-3-one: A Teleost Maturation Inducing Hormone. *Development, Growth and Differentiation*, 29(1), 1-12.
- Nejed, S., Petrínek, Z., Kuzir, S., y E., Srebocan. (2004). Annual oscillation of ovarian morphology in European pilchard (*Sardina pilchardus Walbaum*) in the Northern Adriatic Sea. *Veterinarski Arhiv Journal*, 74(2), 97-106.
- Nóbrega, R. H. (2003). Capacidade suporte das células de Sertoli e alterações do epitélio germinativo masculino e do tecido intersticial durante o ciclo reprodutivo de peixes neotropicais. Monograph. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Brazil.
- Nóbrega, R. H., Batlouni, S. R., y L. R., França. (2009). An overview of functional and stereological evaluation of spermatogenesis and germ cell transplantation in fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35(1), 197-206.
- Ocampo Cervantes. (2008). Factores endógenos asociados al crecimiento del oocito y el desove de *Sardinops sagax* (Jenyns, 1842) (Teleostei: *Clupeidae*). Tesis doctoral. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR). Baja California Sur, México.
- Okuthe, G. E., Hanrahan, S., y B., C, Fabian. (2014). Early gonad development in zebrafish (*Danio rerio*). *African Journal of Biotechnology*, 13, 3433-3442.
- Okuzawa, K., Furukawa, K., Aida, K., y I., Hanyu. (1989). Effects of photoperiod and temperature on gonadal maturation, and plasma steroid and gonadotropin levels in a cyprinid fish, the honmoroko *Gnathopogon caeruleus*. *General and Comparative Endocrinology*, 75(1), 139-147.
- Oppen-Berntsen, D. O., Gram-Jensen, E., y B. T., Walther. (1992). Zona radiata proteins are synthesized by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes in response to oestradiol- 17β . *Journal of Endocrinology*, 135(2), 293-302.
- Pankhurst, N. W. y M. J. R., Porter. (2003). Cold and dark or warm and light: variations on the theme of environmental control of reproduction. *Fish Physiology and Biochemistry*, 28, 385-389.
- Parenti, L. R., y H. J., Grier. (2004). Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes. *Integrative and Comparative Biology*, 44(5), 333-348.
- Parmentier, H. K., y L. P. M., Timmermans. (1985). The differentiation of germ cells and gonads during development of carp (*Cyprinus carpio L.*). A study with anti-carp

- sperm monoclonal antibodies. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 90(1), 13-32.
- Parmentier, H. K., Timmermans, L. P. M., y E., Egberts. (1984). Monoclonal antibodies against spermatozoa of the common carp (*Cyprinus carpio L.*). *Cell and Tissue Research*, 236, (1), 99-105.
- Patiño, R., y C. V., Sullivan. (2002). Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, 26(1), 57-70.
- Patrigniani de la Fuente, N. (2014). Alteraciones en el ovario de pez cebra (*Danio rerio*) tratados con dioxinas. Tesis Doctoral. Departamentos de: Anatomía, Anatomía Patológica Comparada, Farmacología, Toxicología y Medicina Legal y Forense. Universidad de Córdoba. España.
- Paull, G. C., Lange, A., Henshaw, A. C., y C. R., Tyler. (2008). Ontogeny of sexual development in the roach (*Rutilus rutilus*) and its interrelationships with growth and age. *Journal of Morphology*, 269(7), 884-895.
- Paull, G. C., Lange, A., Henshaw, A. C., y C. R., Tyler. (2008). Ontogeny of sexual development in the roach (*Rutilus rutilus*) and its interrelationships with growth and age. *Journal of Morphology*, 269(7), 884-895.
- Pérez-Vega, M. H., Uribe-Aranzabal, M. C., García-Lorenzana, M., Romero-Ramírez, M. C., y J. L., Arredondo-Figueroa. (2006). Description of the ovarian follicle growth of the neotropical cichlids *Petenia splendida* and *Parachromis managuensis* (Perciformes: *Cichlidae*). *Journal of Applied Ichthyology*, 22(6), 515-520.
- Pinillos Bueno, M. L. (2006). Esteroides sexuales en cyprínidos. Ciclo estacional, dinámica de liberación al agua, afinidad por las proteínas plasmáticas y sensibilidad olfatoria en la Tenca ("*Tinca tinca*", L.). Tesis doctoral. Departamento de Fisiología Animal. Universidad Complutense de Madrid. España.
- Prista, N., Gordo, L., Lino Costa, J., Costa, M. J., y C., Jones. (2014). Reproductive phase determination in male meagre (*Argyrosomus regius*, *Sciaenidae*): testis development and histologic corroboration of a gross anatomical scale. *Scientia Marina*, 78(1), 65-80.
- Rahemo, Z. I., y N. M., Al-Shatter. Observations on reproductive organs and tissues of two freshwater cyprinid fishes. *International Journal of Science*, 1(2), 141-146.
- Riehl, R., y R. A., Patzner. (1998). Minireview: the modes of egg attachment in teleost fishes. *Italian Journal of Zoology*, 65(1), 415-420.

- Rinchard, J., y Kestemont, P. (1996). Comparative study of reproductive biology in single and multiple spawner cyprinid fish. I. Morphological and histological features. *Journal of Fish Biology*, 49(5), 883-894.
- Rodriguez, C. H. (2012). El estrés en peces de granja. *Revista Investigación Pecuaria*, 1(1).
- Rodríguez-Gutiérrez M. (1992). Técnicas de Evaluación cuantitativa de la Madurez Gonádica en Peces. AGT Editor, México. 79 p.
- Rojas-Pinedo A. (1981). Distribución de la Ictiofauna del estado de Aguascalientes. Tesis Profesional. Centro Básico. Universidad Autónoma de Aguascalientes.
- Rutaisire, J., y A. J., Booth. (2004). A histological description of ovarian recrudescence in two *Labeo victorianus* populations. *African Journal of Aquatic Science*, 29(2), 221-228.
- Rutaisire, J., Booth, A. J., Masembe, C., Nyakaana, S., y V. B., Muwanika. (2005). Morphometric and genetic differentiation of two *Labeo victorianus* populations in Lake Victoria. *African Zoology*, 40(2), 309.
- Rutaisire, J., Muwazi, R. T., y A. J., Booth. (2003). Structure and cytology of the testes of *Labeo victorianus* (Pisces: Cyprinidae). *African Zoology*, 38(1), 119-126.
- Saborido-Rey, F. (2008). Ecología de la reproducción y potencial reproductivo en las poblaciones de peces marinos. Instituto de Investigaciones Marinas. 71p.
- Saidapur, S. K. (1978). Follicular atresia in the ovaries of nonmammalian vertebrates. *International Review of Cytology*, 54, 225-244.
- Salgado, N. A. N., Hernández, T. Y. C., Gallardo, M. C. L., y G. C., Rivero. (2009). Alimentación de carpas (Pisces, *Cyprinidae*) en el Embalse La Goleta, Estado de México. *Revista de Zoología*, (20), 7-16.
- Santos, H. B., Thomé, R. G., Arantes, F. P., Sato, Y., Bazzoli, N., y E., Rizzo. (2008). Ovarian follicular atresia is mediated by heterophagy, autophagy, and apoptosis in *Prochilodus argenteus* and *Leporinus taeniatus* (Teleostei: Characiformes). *Theriogenology*, 70(9), 1449-1460.
- Santos, J., Bazzoli, N., Rizzo, E., y G. B., Santos. (2001). Morphofunctional organization of the male reproductive system of the catfish *Iheringichthys labrosus* (Lütken, 1874) (Siluriformes: *Pimelodidae*). *Tissue and Cell*, 33(5), 533-540.
- Sarasquete S. (2012). Retos en acuicultura: diversificación y domesticación. Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía -ICMAN-CSIC. *Ruta Pesquera*, 95, 51-52.

- TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS
- Schmitt, C. J., y G. M., Dethloff. (2000). Biomonitoring of Environmental Status and Trends (BEST) Program: selected methods for monitoring chemical contaminants and their effects in aquatic ecosystems. The Biological Resources Division, 81 p.
- Schönhuth, S., Doadrio, I., y R. L., Mayden. (2006). A biogeographic perspective on the phylogeny of Mexican cyprinids (Actinopterygii, *Cyprinidae*). *Studies of North American Desert Fishes*, 1, 102-124.
- Schulz, R. W., de França, L. R., Lareyre, J. J., LeGac, F., Chiarini-Garcia, H., Nobrega, R. H., y T., Miura. (2010). Spermatogenesis in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165(3), 390-411.
- Schulz, R. W., y T., Miura. (2002). Spermatogenesis and its endocrine regulation. *Fish Physiology and Biochemistry*, 26(1), 43-56.
- Selman K. y R., Wallace. (1989). Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. *Zoological Science*, 6, 211-231.
- Seymour, E. A. (1981). The effects of powdered carp pituitary on ovarian development, ovarian ascorbic acid and ovulation in *Carassius carassius* L. exposed to various photoperiod and temperature regimes. *Journal of Fish Biology*, 19(6), 675-682.
- Shabanipour, N., y S. N., Hossayni. (2010). Histological and ultrastructural study of zona radiata in oocyte of common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus 1758). *Micron*, 41(7), 877-881.
- Sierra-De la Rosa, J. F. (2007). Técnicas para el control de maduración de especies ícticas nativas. *Revista Electrónica de Ingeniería en Producción Acuicola*, 3(3).
- Sivakumaran, K. P., Brown, P., Stoessel, D., y A., Giles. (2003). Maturation and reproductive biology of female wild carp, *Cyprinus carpio*, in Victoria, Australia. *Environmental Biology of Fishes*, 68(3), 321-332.
- Smith, B. B., y K. F., Walker. (2004). Spawning dynamics of common carp in the River Murray, South Australia, shown by macroscopic and histological staging of gonads. *Journal of Fish Biology*, 64(2), 336-354.
- Smith, M. L. (1980). The evolutionary and ecological history of the fish fauna of the río Lerma, Basin, México. Thesis Doctoral. University of Michigan, United States.
- Srijunngam, J., Kitana, N., Callard, I., y K., Wattanasirmkit. (2005). Ultrastructural changes in the ovarian follicular wall during oocyte growth in the Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* Linn. *The Natural History Journal of Chulalongkorn University*, 5(1), 21-30.

- Stoumboudi, M. T., Abraham, M., Villwock, W., Ben-Tuvia, A., Economidis, P. S., y J., Shapiro. (1992). Gonad development and somatic growth in an intergeneric cyprinid hybrid from Lake Kinneret, Israel. *Journal of Applied Ichthyology*, 8(1-4), 110-121.
- Sulistyo, I., Fontaine, P., Rinchar, J., Gardeur, J. N., Migaud, H., Capdeville, B., y P., Kestemont. (2000). Reproductive cycle and plasma levels of steroids in male Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquatic Living Resources*, 13(02), 99-106.
- Tabares Cj, Tarazona A, A., Olivera. (2005). Fisiología de la activación del espermatozoide en peces de agua dulce. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 18, 149-161.
- Takemura, A., Rahman, M. S., y Y. J., Park. (2010). External and internal controls of lunar related reproductive rhythms in fishes. *Journal of Fish Biology*, 76(1), 7-26.
- Targońska, K., Źarski, D., Müller, T., Krejszeff, S., Kozłowski, K., Demeny, F. y D., Kucharczyk. (2012). Controlled reproduction of the crucian carp *Carassius carassius* (L.) combining temperature and hormonal treatment in spawners. *Journal of Applied Ichthyology*, 28(6), 894-899.
- Tempero, G. W., Ling, N., Hicks, B. J., y M. W., Osborne, (2006). Age composition, growth, and reproduction of koi carp (*Cyprinus carpio*) in the lower Waikato region, New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 40(4), 571-583.
- Thomas, P., Zhu, Y., y M. Pace. (2002). Progesterin membrane receptors involved in the meiotic maturation of teleost oocytes: a review with some new findings. *Steroids*, 67(6), 511-517.
- Thomé, R. G., Domingos, F. F. T., Santos, H. B., Martinelli, P. M., Sato, Y., Rizzo, E., y N., Bazzoli. (2012). Apoptosis, cell proliferation and vitellogenesis during the folliculogenesis and follicular growth in teleost fish. *Tissue and Cell*, 44(1), 54-62.
- Tokarz R. (1978). Oogonial proliferation, oogenesis and folliculogenesis in no mammalian vertebrates. En: *The vertebrate ovary*, Plenum Press New York, 145-179.
- Torres-Villegas, J. R., Ochoa-Báez, R. I., Perez-Gómez, L., y G., García-Melgar. (2007). Estimaciones de atresia mayor en la temporada reproductiva 1999-2000 en la sardina monterrey (*Sardinops sagax*) en Bahía Magdalena, México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 42(3), 299-310.
- Tyler, C. R. (1991). Vitellogenesis in salmonids. *Reproductive and Physiology of Fish*, 1991, 295-302.
- Tyler, C. R., y J. P., Sumpter. (1996). Oocyte growth and development in teleosts. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 6(3), 287-318.

- Uribe A., Aguilar-Morales., De la Rosa C. García A., Campuzano C. y E., Guerrero. (2010). Ovarian Structure and embryonic Traits Associated with viviparity in Poeciliids and Goodeids. In Viviparous Fishes II. Uribe A. y Grier (Eds). New life publications. México. 211p.
- Valdebenito, I., Paiva, L., y M. Berland. (2011). Atresia folicular en peces Teleósteos: una revisión. Archivos de Medicina Veterinaria, 43(1), 11-25.
- Van Zyl, B. J., Hay, C. J., y G. J., Steyn. (1995). Some aspects of the reproduction biology of *Labeo capensis* (Smith, 1941) (Pisces, *Cyprinidae*) in relation to exploitation and extreme environmental conditions in Hardap Dam, Namibia, Southern African. Journal of Aquatic Science, 21(1-2), 88-98.
- Vazirzadeh, A., Mojazi Amiri, B., y A. Fostier. (2014). Ovarian development and related changes in steroid hormones in female wild common carp (*Cyprinus carpio carpio*), from the south eastern Caspian Sea. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 98(6), 1060-1067.
- Vázquez, G., Castro, T., Hernández, A., Castro, J., y R., De Lara. (2013). Comparación del efecto anestésico del aceite de clavo, solución salina y solución coloidal en juveniles de *Chirostoma jordani* (Woolman, 1894). Archivos de Medicina Veterinaria, 45(1), 59-66.
- Vicentini, C. A., Franceschini-Vicentini, I. B., Benetti, E. J., y A. M., Orsi. (2001). Testicular ultrastructure and morphology of the seminal pathway in *Prochilodus scrofa*. Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology, 33(3), 357-362.
- Victoria D., Landines y Sanabria. (2005). Reproducción de los peces en el trópico. Imprenta Nacional de Colombia. Instituto Colombiano de desarrollo social. Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 246 p.
- Vilela D. A. R., Silva S. G. B., Peixoto M., T., D, Godinho H. P., y L. R., Franca. (2003) Spermatogenesis in teleost: insights from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) model. Fish Physiology and Biochemical, 28, 187-190.
- Villamil-Moreno, L. P., y J. A., Arias-Castellanos. (2011). Fecundidad de *Otocinclus spectabilis*. Orinoquia, 15(1), 41-47.
- Wallace, R. A., y K., Selman. (1990). Ultrastructural aspects of oogenesis and oocyte growth in fish and amphibians. Journal of Electron Microscopy Technique, 16(3), 175-201.
- Walter, I., Tschulenk, W., Schabuss, M., Miller, I., y B., Grillitsch. (2005). Structure of the seminal pathway in the European chub, *Leuciscus cephalus* (*Cyprinidae*); Teleostei. Journal of Morphology, 263(3), 375-391.

- Wang, N., Teletchea, F., Kestemont, P., Milla, S., y P., Fontaine. (2010). Photothermal control of the reproductive cycle in temperate fishes. *Reviews in Aquaculture*, 2(4), 209-222.
- West, G. (1990). Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. *Marine and Freshwater Research*, 41(2), 199-222.
- West, R. C. (1964). Surface configuration and associated geology in Middle America. In: *Handbook of Middle American Indians vol. 1*. R. Wauchope and R. C. West (Eds). University Texas Press, Austin, Texas. 33-83.
- Wolf, J. C., Dietrich, D. R., Friederich, U., Caunter, J., y A. R., Brown. (2004). Qualitative and quantitative histomorphologic assessment of fathead minnow *Pimephales promelas* gonads as an endpoint for evaluating endocrine-active compounds: a pilot methodology study. *Toxicologic Pathology*, 32(5), 600-612.
- Yamazaki, F. y E., Donalson. (1968). The effects of partially purified salmon pituitary gonadotropin on spermatogenesis, vitelogenesis, and ovulation in hypophysectomized goldfish (*Carassius auratus*). *General and Comparative Endocrinology*, 11, 292-295.
- Yaron Z. Cocos m. y R. Salzer. (1980). Effect of temperature and photoperiod on ovarian recrudescence in cyprinid fish, *Mirogex terrae-sanctae*. *Journal of Fish Biology*, 16, 371-382.
- Young B., Woodford P. y G., O'Dowd. (2014). *Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas*. 6th. Edition. Elsevier editorial. United States of America (EUA). 435p.
- Zaniboni Filho, E. (2010). Reproducción de especies endémicas de peces. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 21(3), 467-468.
- Zhu, D., Yang, K., Gul, Y., Song, W., Zhang, X., y W., Wang. (2014). Effect of photoperiod on growth and gonadal development of juvenile Topmouth Gudgeon *Pseudorasbora parva*. *Environmental Biology of Fishes*, 97(2), 147-156.