Descripción Histológica y Ultraestructural del testículo de *Cynoscion nothus*.

*Barrera Escorcia Héctor, ** Sepúlveda Sánchez.Jorge, * Franco López Jonathan, y *Zamudio Arciniega Rocio*

*F.E.S U.N.A.M. Iztacala, Av. de los Barrios S/N, Apdo. P. 314 Tlalnepantla Edo. de Mex. C.P. 54090 ** Instituto de Fisiología Celular U.N.A.M.

RESUMEN

Se realizo un estudio histológico y de ultraestructura del testículo de *Cynoscion nothus* a 20 organismos de talla adulta provenientes de la fauna de acompañamiento de camarón en Alvarado, Ver. se les removieron los testículos fijándolos en glutaraldehído al 3 % o formol al 4 %, para su tratamiento en técnica histológica de rutina, o por inclusión en epon para cortes semifinos de 1.5 micras teñidos con azul de toloidina y cortes finos de 800 a 1200 ángstrom para microscopía electrónica. Los testículos son de color blanco de forma triangular alargada, al microscopio óptico revelan un testículo lobular con maduración en cistos desde la periferia hacia el centro, encontrando todos los tipos celulares característicos de la espermatogénesis en espermatocistos bien definidos. Al mismo tiempo se muestran las características morfológicas de los diferentes tipos celulares encontrados.

PALABRAS CLAVE: Cynoscion nothus, Testículo, Gametogénesis, Espermatogénesis.

ABSTRACT.

An Histological and ultrastructure study of 20 adult male testicle of *Cynoscion nothus* was performed. The fish were part of the fish by-catch from shrimp fishery off the coast of Alvarado, Veracruz in the Gulf of Mexico. The testicles were removed and fixed with 3 % glutaraldehide or 4 % formaldehyde for histological rutine, and epon inclusion was used for semifine cuts of 1.5 microns stained with toloidine blue and fine cuts of 800 to 1200 angstroms were prepared for electron microcopy .

The testicles are white, long and with a triangular shape, in the optic microscopy they reveal a lobular testicle with mature cists from the periphery to the central part of the gonad, All cellular characteristics of spermatogenesis were found in well defined spermatocists. Morphological characteristics of the different cell types are also presented.

KEY WORDS: Cynoscion nothus, Testículo, Gametogénesis, Espermatogénesis

INTRODUCCION

La morfología del tejido gonádico entre los peces teleosteos varia considerablemente (Jin-Chywan y Arnold, 1992) y la ultraestructura de los espermatozoides ha sido utilidad para establecer sus mecanismos y estrategias reproductivas y para relacionar a las diversas especies por medio de estudios filogenéticos (De Felice y Rash, 1969). La construcción de un modelo común como en el caso de las serpientes o mamíferos (Cochran, 1992; Fraile y cols., 1992; Mattei, 1991) no es posible para los peces, debido a la gran diversidad de estructuras espermáticas encontradas. Pero el avance

Barrera Escorcia y Col.

en los procesos de diferenciación celular, producto de la gametogénesis en estos organismos durante los últimos 20 años ha permitido dilucidar la ultraestructura de los espermatozoides y en la actualidad se en alrededor de 280 especies conocen pertenecientes a 100 familias que han sido de gran utilidad en la taxonomía de este grupo (Mattei, 1991). El proceso de la espermatogénesis implica la transformación de las espermatogonias a espermatocitos por división meiótica hasta la producción de las espermátidas llamado espermato-citogénesis y el proceso de diferenciación de las espermátidas hasta espermatozoides llamado espermiogénesis, ambos eventos tienen lugar dentro de los cistos germinales en los peces (Cárdenas y Barrera. 1998). Dentro del género Cynoscion se encuentran especies de importancia comercial como C. nebulosus, del cual ya se han realizado estudios de histología de las gónadas (Overstreet, 1983), y con los datos obtenidos se han logrado relaciones de las diferentes etapas de maduración. La ultraestructura de los gamétos depende a menudo de la línea evolutiva a la que pertenece el pez y de sus procesos de fertilización aunque poco se conoce acerca de la morfología de los tipos celulares de la gametogénesis en los scianidos.

Considerando Los aspectos mencionados, el presente trabajo se desarrolló con la finalidad de describir la morfología y ultraestructura del testículo de *Cynoscion nothus*.

MATERIAL Y METODOS

Los ejemplares utilizados correspondieron a organismos adultos de *Cynoscion nebulosus* con tallas de 23 a 25 cm, provenientes de colectas de la fauna de acompañamiento de barcos camaroneros equipados con redes tipo japonesa de pesca múltiple de 20 m. de largo, 10 m. de abertura y luz de malla de 1 1/2", efectuando lances con una duración de dos horas a una velocidad de tres millas por hora, a distancias de 3.5 millas de la costa a profundidades de 20 brazas en zonas de pesca comercial de Alvarado, Veracruz, (Franco y col., 1992).

Microscopia óptica.

Los ejemplares de C. nothus fueron sacrificados y diseccionados en formol al 4 % las gónadas se lavaron y deshidrataron en alcoholes graduales para su posterior inclusión en parafina los cortes de aprox. 7 micras de espesor fueron teñidos en hematoxilina-Eosina y se montaron en resina sintética (Luna, 1958). Otra parte del testículo se proceso a través de la inclusión en epon para elaborar cortes semifinos como se indica en técnica de microcopía electrónica, pero los cortes semifinos de aprox. 1.5 micras de espesor fueron teñidos con azul de toloidina para microscopía de luz. Como datos complementarios, se registró el peso de la gónada y longitud de cada individuo.

Microscopía electrónica.

Fragmentos de 10 gónadas de sirvieron para la ultraestructura al microscopío electrónico de transmisión y se realizaron con muestras frescas de tejido obtenidas y fijadas inmediatamente después de salir de las redes con el fijador Glutaraldehido al 3 % amortiguado con buffer de fosfatos 0.1 M a pH 7.2 y permaneciendo así durante las siguientes 24 hrs. En frío a 4 °C., hasta su llegada al laboratorio, donde fueron lavadas en buffer de fosfatos, postfijadas en una solución de tetróxido de osmio al 2 % en buffer de fosfatos y deshidratadas en serie de alcoholes (30 a 100%) e incluidas en epon, por medio del óxido de propileno y con una mezcla de óxido de propileno-Epon (1:1), las muestras se polimerizaron a 60 °C durante 48 hrs en un horno y los cortes al ultramicrotomo con cuchilla de diamante fueron de aprox. 800 -1200 Angstroms de espesor, posteriormente, se contrastaron con Acetato de Uranilo al 2 % y citrato de Plomo al 2 % durante 30 min.(Sjostrand, 1971).

Los cortes de parafina y semifinos se analizaron en un microscopio óptico Nikon Labophot 2 equipado con un exposímetro Nikon automático HFX-DX y los cortes finos en un microscopio electrónico Jeol mod. 100 B y fotografiados a las magnificaciones que se indican en los resultados.

RESULTADOS

Morfología del testículo.

Los ejemplares muestran testículos pares de color blanco de forma sacular. con un grado de madurez similar, el desarrollo del proceso de la espermatogénesis ocurre de manera simultáneamente en ambos testículos en el maduro. pez principalmente en la parte anterior y central, con la formación de lóbulos compactos que muestran se perpendiculares a la túnica albugínea y paralelos entre sí en la parte de la periferia, en su interior se localizan los cistos rodeados por una membrana basal separados por tejido conectivo exterior y con células de Leydig que son células secretoras de hormonas esteroides, en la parte interna de la membrana basal se encuentran algunas células de Sertoli que corresponden a las células nutricias durante la espermatogénesis, el resto de las células pertenecientes al linaje gamético se muestran en las fotografías de microcopia óptica y electrónica.

Microscopía óptica.

En la Fig. 1, 2, 3 y 4 se observan desde la parte externa, la túnica albugínea, los tipos celulares característicos en el testículo: Las espermatogonias, los espermatocitos de primero y segundo orden, las espermátidas y los espermatozoides, en los cistos bajo las técnicas de microscopía óptica que se indican en los pies de cada figura.

Ultraestructura.

En la Figuras 5, 6 y 7 se muestra la ultraestructura de los espermatocitos primarios, espermátidas en fase terminal con la cromátina granular en el núcleo y la formación de la pieza media con algunas mitocondrias y el axonema con 9+2 pares de microtúbulos y algunos espermatozoides en la luz de los ductos.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El proceso de la espermatogénesis en Cynoscion nothus presenta un patrón de desarrollo similar al de C. nebulosus (Overstreet, 1983; Brown-Peterson y col., 1988) las espermatogonias se localizaron en la parte terminal de los lóbulos, como en otras especies de peces, se han descrito 2 tipos de espermatogonias, unas de ellas se encargan de incrementar y renovar la cantidad de células a través del procesos mitótico y otras de iniciar el proceso meiótico para transformarse en espermatocitos primarios, las características de éstas células y de los espermatocitos secundarios no presentan grandes variaciones respecto a otras especies de scianidos, los puntos electrodensos de material nuclear pudieran representar los cambios asociados de las protaminas con los ácidos nucleicos y las histónas (De Felice y Rash, 1969) lo cual tendría que ser corroborado por estudios de inmunofluorescencia con anticuerpos específicos (Jin-Chywan y Arnold, 1992).

En la periferia del testículo de esta especie se encuentran cistos que contienen espermatogónias, espermatocitos y espermátidas en sus últimas etapas de diferenciación (espermatozoides) que son liberados hacia los ductos centrales, los espermatozoides se agrupan en racimos con las cabezas oritentadas hacia la membrana del cisto y los flagelos paralelos hacia el interior, situación que difiere de lo que ocurre en *C. nebulosus.*

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Instituto de Fisiología Celular de la UNAM se apoyo para la realización del trabajo de microscopía electrónica

LITERATURA CITADA

Brown-Peterson, N.; Thomas P. y Arnold, R.C. 1988. Reproductive Biology of the Spotted *Cynoscion nebulosus*, in South Texas. Fishery Bulletin 86(2):373-388.

Cárdenas, R.R. y Barrera, E.H. 1998. Histología y ultraestructura del testículo del charal *Chirostoma jordani* (Osteichthyes: Atherinidae). Rev. Biol. Trop. 46 (4): 943-949

Cochran, R.C. 1992. In Vivo and In Vitro Evidence for the Role of Hormones in Fish Spermatogenesis. J. Exp. Zool.261: 143-150.

De Felice, D.A. y Rash, E.M. 1969.Chronology of spermatogenesis and spermiogénesis in poecilid fishes J. Exp. Zool. 171:191-208.

Fraile, B.; Sáez, F. J.; Vicentinia, C. A.; De Miguel, M. P. y Paniagua R. 1992. The testicular cycle of *Gambusia affinis* holbrooki (Teleostei: Poeciliidae). J. Zool. Lond. 228: 115-126. Franco, J.L.; Chávez, L.R. y Bedia, S.C. 1992. Comunidades ictiofaunísticas en zonas de pesca comercial de camarón de Alvarado Veracruz. México. Memorias del III Congreso Nacional de Ictiología. Oaxtepec Mor. Noviembre de p. 67.

Jin-Chywan, Gwo y Arnold, C.R. 1992. Cryopreservation of Atlantic Croaker Spermatozoa: Evaluation of Morphological Changes. J. Exp. Zool. 264: 444-453.

Jameson, E.W. 1988 Vertebrate Reproduction. John Wiley and Sons. Inc N.Y. 43-90, 170-182 Págs..

Karacousis, Y. y Triantaphyllidis, C. 1992. Heterozygosity and morfological variability in brown trout (*Salmo trutta* L.) populations fron Greece. Zool. Anz. 228: 149-155.

Loir, M. 1990. Interstitial cells from the testis of the trout (*Oncorhynchus myskiss*) in vivo and the primary culture. Cell Tissue Res. 261: 133-144.

Luna, L.G. 1958. Manual of Hystologic staining methods of the Armed Forces Institute of pathology. 3a Ed. Mc Graw-Hill Co. N.Y. 258 p.

Mattei, X. 1991. Spermatozoon ultrastructure and its systematic implications in fishes. Can J. Zool. 69: 3038-3054.

Marte, L. C. y Lam, T. J. 1992. Hormonal changes accompanying sexual maturation in captive milkfish (*Chanos chanos* Forsskal). Fish Physiol. Biochem.10: 267-275.

Ogura, A.; Asano, T.; Nc testículo de *Cynoscion* Mochida, K. y Suzuki, O.1992. Experi Ultrastructure of lipid storage cells in the adrenal cortex and the ovary in female Rodrígu *Mastomys Praomys coucha* Vet. Pathol. evaluac 29: 253-255. gonádic

Overstreet, R.M. 1983. Aspects of the Biology of the spotted sea trout *Cynoscion nebulosus* in Mississippi Gulf research reports 1, 1-43.

Sjostrand, F.S. 1971. Electron Microscopy of cells and tissue. Academic. Press N.Y. 453 p.

Parsons, G.R. y Grier, H.J. 1992. Seasonal Changes in Shark Testicular Structure and noscion enesis. The Journal of Experimental Zoology. 261: 173-184.

Rodríguez, G.M. 1992. Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces AGT Editor S.A. 1ª Ed. México D.F 79 pp.

Watson, N.A. y Rohde, K. 1992. Ultrastructure of sperm and spermatogenesis of *Anoplodiscus cirrusspiralis* (Platyhelminthes, Monogenea, Monopisthocotylea). Ann. Parasitol. Hum. Comp. 67: 131-140.

Fecha de Recepción: 28 de Junio del 2000. Fecha de Aceptación: 11 de Agosto del 200.