

ESTUDIO PRELIMINAR DE LA RELACIÓN DEL TAMAÑO CORPORAL Y LA MADURACIÓN TESTICULAR DE *Xiphophorus hellerii* (HECKEL, 1948)

PRELIMINARY STUDY OF THE RELATIONSHIP BETWEEN BODY SIZE AND TESTICULAR MATURATION OF *Xiphophorus hellerii* (HECKEL, 1948)

Fecha de recepción: 18 de abril de 2010

Fecha de aceptación: 24 de noviembre de 2010

Einy Yiseth Arevalo Rivera¹

Ingrid Maritza Gómez Pérez¹

Edwin Gómez Ramírez²

Daniel Rodríguez Caicedo^{3,4}

Hernan Hurtado Giraldo^{3,4}

1 Bióloga. Egresada del Programa de Biología Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad Militar Nueva Granada.

2 Biólogo. Especialista en Acuicultura Continental. Asistente de Investigación, Grupo de Ictiología, Programa de Biología Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad Militar Nueva Granada.

3 Docente. Programa de Biología Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad Militar Nueva Granada.

4 Autor para correspondencia: hernan.hurtado@unimilitar.edu.co

RESUMEN

El pez cola de espada (*Xiphophorus hellerii*) es un Poecilido de gran importancia económica en el mercado acuarista siendo los machos los más atractivos. Este estudio plantea definir la relación entre el tamaño corporal y la maduración testicular, con el fin de establecer la talla en la que los machos de *X. hellerii* poseen gónadas histológicamente aptas para la reproducción. Se utilizaron 21 ejemplares machos de *X. hellerii*, los cuales se agruparon en tres rangos de tamaño (Rango I de 2-3 cm, Rango II de 3.1-5 cm, Rango III de 5.1-8 cm), para cada grupo se tomaron siete individuos, con el fin de establecer variaciones en el desarrollo testicular en los diferentes grupos. Los peces se anestesiaron con MS-222 (0.5g/L) y se sacrificaron por sección medular. A cada pez se le registró el peso corporal, el peso de las gónadas, longitud total, longitud estándar, longitud de la espada y características fenotípicas como coloración y forma de la espada. Las gónadas fueron fijadas en formaldehído al 4% a 4°C durante 5 días, y luego se realizó el procesamiento para inclusión en parafina. Se realizaron cortes seriados de 5 µm de espesor y se tiñeron con la técnica H&E. Para el estudio morfométrico se estableció el número de cistos en la gónada que contenían células de la línea germinal masculina en diferentes estadios de madurez (I, II, III, IV y V) en tres niveles de la gónada (anterior, medio y posterior) y en los tres rangos de tamaño (Rango I, II y III). Se realizaron análisis de factores, regresión múltiple y análisis de correlación con el fin de evaluar si existían o no relaciones entre las variables evaluadas con los rangos de tamaño. Esta investigación permitió definir que la maduración testicular es independiente del rango de tamaño,

pues en individuos de rango de tamaño I se encontraron cistos con células en estadio V de maduración. Las gónadas presentan cistos con células en diferentes estadios de maduración en todos los niveles, ubicándose los cistos con células más maduras generalmente en la parte central de la gónada y aquellos con células más inmaduras hacia la periferia de la misma.

Palabras clave: *Xiphophorus hellerii*, pez cola de espada, maduración gonadal, cistos, morfometría.

ABSTRACT

The swordtail fish is an economically important Poeciliae in the hobbyist market being the males the most attractive. The aim of this study was to determine if there was a relationship between body size and testicular maturation, in order to establish the size at which males of *X. hellerii* have gonads histologically viable for reproduction. In this study was used 21 males of *X. hellerii*, which were grouped into three size ranges (range I 2-3 cm, Range II 3.1-5 cm and Range III 5.1-8 cm), for each group seven individuals were selected in order to establish the testicular development in the different groups. The fish were anesthetized with MS-222 (0.5 g/L) and sacrificed by spinal section. Each fish was recorded body weight, gonad weight, total length, standard length, length of the sword and phenotypic characteristics such as color and shape of the sword. The gonads were fixed in 4% formaldehyde at 4 °C for 5 days and processed for paraffin embedding. Serial cuts of 5 µm thick and stained with H&E technique. For the morphometric study was established the number of cysts in the gonad containing male germinal cells in different stages of maturity (I, II, III, IV

and V) at three levels of the gonad (anterior, medial and posterior) and three size ranges (range I, II and III). Factor analysis, multiple regressions and correlation analysis to assess if there were or not relationships between the variables evaluated in the size ranges were performed. This research allowed defining that testicular maturation is independent of the size range, because was commonly found cists with cell at stage V of maturity in the size range I. The gonads have cells in different stages of maturity at all levels, locating usually more mature cysts in the central part of the gonad and the most immature to the periphery of it.

Key words: *Xiphophorus hellerii*, swordtail fish, testicular maturity, cysts, morphometry.

INTRODUCCIÓN

Generalidades

El pez cola de espada (*Xiphophorus hellerii*) pertenece al orden de los ciprinodontiformes, los cuales se encuentran distribuidos en las aguas dulces de climas templados o tropicales desde el sur de los Estados Unidos pasando por América Central, hasta el norte de Argentina en cuerpos de agua no superiores a los 2000 metros sobre el nivel del mar (Axelrod & Gordon, 1997). *X. hellerii* se encuentra dentro de la familia poeciliidae, la cual es proveniente de América Central (México, Honduras) (Tamuru et al., 2001). Esta especie se caracteriza por presentar ojos relativamente grandes, con la boca supraterritorial, una línea dorsal muy marcada, una única aleta dorsal con los radios generalmente blandos. Los ejemplares adultos de esta especie llegan a medir 10 cm. en los machos y unos 12 cm. para el caso de las hembras (Axelrod & Gordon, 1997; Tamuru, et al. 2001). El tipo silvestre de *X. hellerii* es un pez

de color verdoso azulado, con una línea roja muy marcada en los laterales y la espada amarilla bordeada de negro, aunque en este momento hay gran cantidad de variedades en el mercado que muestran una extensa gama de colores las cuales han sido obtenidas por medio de cruces con otras especies afines como *Xiphophorus maculatus*, *Xiphophorus variatus*, y *Poecilia sphenops* (Wischnath, 1993; Nilsson, 1999). *X. hellerii* presenta dimorfismo sexual, los machos son más pequeños que las hembras, su coloración es más llamativa con colores vivos y brillantes, lo que juega un papel esencial en el momento del cortejo a las hembras (Lou et al. 2005) aunque los hace presa más fácil para los predadores. Las hembras presentan colores más oscuros y su cuerpo es más redondeado; cuando están grávidas en la parte ventral posterior del cuerpo presentan una mancha de color negro denominada punto de gravidez (Wischnath, 1993). Los machos tienen una prolongación de los radios inferiores en la aleta caudal, formando una especie de espada. Al llegar a la madurez sexual desarrollan un órgano copulador flexible denominado gonopodio (Tamuru, et al. 2001). Este órgano se forma por la modificación de los radios 3°, 4° y 5° de la aleta anal, los cuales se unen y fusionan para formar un canal que permita el paso de los paquetes espermáticos hacia el oviducto de las hembras en el momento de la copulación (McGovern et al. 2003). Al extremo del gonopodio se forman unas pequeñas estructuras en forma de ganchos que permiten anclarse a la hembra durante la copulación. Es una especie polígama, donde el cortejo es una parte esencial en el momento de la reproducción (Lou et al. 2005), los machos nadan cerca de la hembra mostrando su vistosa coloración, luego de seleccionar el macho, este se acerca a la hembra e

inserta el gonopodio en la abertura genital, depositando el espermátforo que es un paquete de varios cistos de color blanquecino que contiene entre 3000 y 5000 espermatozoides (McGovern et al. 2003). Los huevos son fecundados internamente y permanecen dentro de la hembra hasta que tengan un alto desarrollo (Tamuru et al. 2001). Sin embargo, las hembras pueden almacenar cistos espermáticos por periodos de tiempo prolongados, lo que hace que suceda superfecundación en esta especie (Tyagi y Shukla, 2002). El periodo de gestación varía entre 20 y 30 días aproximadamente y depende de varios factores externos como lo son: temperatura, pH y dureza. Las crías nacen con un alto grado de desarrollo lo que hace que se puedan valer por si mismas, pues deben huir de sus progenitores debido a que es una especie con tendencias caníbales (Alderton, 2004). Los machos y las hembras son similares hasta la edad de un mes, donde los machos comienzan el desarrollo del gonopodio y a definir su coloración de adulto (Tamuru et al. 2001).

Importancia Comercial

Aunque la mayoría de las especies pertenecientes a la familia poecilidae son provenientes de América central, los mayores productores de estas especies son Indonesia, Filipinas, Sri Lanka, Taiwán y Tailandia, los cuales han trabajado en la modificación de estas especies creando nuevas y exóticas variedades a través de cruces y modificaciones genéticas realizados entre especies afines (Devezé et al. 2004). Estados Unidos y Singapur son los mayores importadores de poecílicos, siendo el guppy (*Poecilia reticulata*), quien ocupa el primer puesto, con una cantidad aproximada a los 4 millones de individuos, los cuales representan un valor de 341,483,000 dólares mensuales

(Chapman, 2006). En la lista de especies importadas hacia este país también se encuentran platys (*Xiphophorus maculatus*), espadas (*X. hellerii*) y mollys (*Poecilia velifera* y *Poecilia sphenops*) (Devezé et al. 2004). Las variedades con el más alto valor económico (Tamuru et al. 2001) como los son albino, de velo, cola de lira entre otros, han sido obtenidas a través de modificaciones genéticas que han dado como resultado machos con coloraciones exóticas y aletas muy llamativas (Wischnath, 1993; Axelrod y Gordon, 1997). Estas modificaciones han hecho que los machos pierdan en gran parte su capacidad de reproducirse debido a malformaciones como el alargamiento de su gonopodio, que hace que pierda su capacidad de copular y en las hembras disminuya la cantidad de peces obtenidos por parto y juveniles susceptibles con baja expectativa de vida (Tamuru et al. 2001; Mc Govern et al. 2003; Lou et al. 2005). Las especies pertenecientes a la familia poecilidae, a pesar de no ser endémicas, son cultivadas en el país en varias fincas acuícolas debido a que tienen una alta demanda por los acuarófilos nacionales. Es por esto que *X. hellerii* podría ser una alternativa de cultivo en el país debido a su potencial económico, alta demanda en el mercado internacional y fácil reproducción lo que permitiría implementar planes de cultivo que produzcan grandes cantidades de buena calidad con el fin de exportar.

Maduración testicular de los teleósteos

Los peces comienzan la formación de sus gametos sexuales a través de la espermatogénesis. Se han identificado durante la espermatogénesis diferentes grados de maduración de las células germinales como las *Espermatogonias*, ubicadas al interior de los lóbulos del testículo,

son células grandes con núcleos grandes y diferenciados, cuyos granos de cromatina se presentan en gran número, estas por división celular (mitosis) originan los *Espermatocitos primarios*, donde ocurre la primera división meiotica, el tamaño de la célula y la cantidad de cromatina disminuyen. Con respecto a las espermatogonias, tienen citoplasma acidófilo y núcleo basófilo ; el *espermatocito secundario* es donde se continúa la división celular, ocurriendo en este estadio la segunda división meiótica (Muñoz et al. 2005), las células se van agrupando hacia la parte intermedia del tubo seminífero, convirtiéndose en *espermátides*, son de forma redondeada, las cuales tienen un menor tamaño que los espermatocitos, cuya cromatina se colorea muy bien con hematoxilina (Yasutake, 1983; Guimarães et al. 2005; Muñoz et al. 2005; Montoya et al. 2006). Las espermátides sufren un proceso conocido como espermiogénesis, proceso por el cual se forman los *espermatozoides*, caracterizados por la organización del núcleo, el citoplasma, y el desarrollo total del flagelo, estas células se ubican en los tubos seminíferos, donde terminan su maduración. Generalmente en los teleósteos los espermatozoides presentan cabezas en forma esférica u ovalada sin acrosoma (Quagio-Grassiotto y Oliveira, 2008). Estos no poseen acrosoma debido a que en el oocito existe un poro denominado micrópilo por donde ocurre la entrada del espermatozoide durante la fecundación. Del cuello sale un flagelo central este puede medir entre 20 y 100 micras (Tabares et al. 2004; Hadi et al. 2008). Las dos funciones esenciales de los espermatozoides son la activación del oocito y la transmisión del material genético a las siguientes generaciones (Muñoz et al. 2005; Hadi et al. 2008).

Las gónadas se pueden encontrar en diferentes estadios de maduración de los peces, lo que permite saber el desarrollo testicular a través del tiempo. Estas fases de maduración se han diferenciado de la siguiente forma (Ramagosa et al, 2002):

- Fase de reposo: Los testículos tienen forma homogénea de hebra y son de color pálido. Ocupan menos del 5% de la cavidad celómica, la túnica albugínea es delgada. Los tubos seminíferos son pequeños y tienen una forma esférica, están llenos de espermatogonias, que son claramente definibles (Muñoz et al. 2002; Schulz et al. 2009).
- Fase en maduración inicial: los testículos tienden a ser más gruesos ocupando del 15% al 30% de la cavidad celómica (Montoya et al. 2006), teniendo un leve incremento de peso y volumen de los mismos (Muñoz et al. 2002). Las espermatogonias son abundantes,. Histológicamente, la mayoría de espermatogonias exhiben figuras mitóticas y entran en una fase de división (Batlouni et al. 2006).
- Fase en maduración intermedia: Los testículos llegan a ser más grandes, el incremento de peso y volumen es notorio, con respecto a los estadios anteriores (Agarwal, 1996) ocupando más del 30% de la cavidad celómica (Montoya et al. 2006). Decece el número de espermatogonias e incrementa el número de células espermatogénicas avanzadas, se encuentran un gran número de espermatocitos primarios y secundarios (Muñoz et al. 2002).
- Fase madura: Los testículos son largos y ocupan más de la mitad de la cavidad del cuerpo, se forman mayor cantidad de espermatocitos primarios y secundarios, los tubos seminíferos están más largos y están

llenos de esperma, hay un incremento en el número de espermátidas (Agarwal, 1996; Batlouni et al. 2006).

- Fase de desove: Los testículos se extienden longitudinalmente por toda la cavidad del cuerpo, la pared lobular llega a ser muy delgada, los lóbulos testiculares son completamente empacados con espermatozoides (Cala et al. 1999; Muñoz et al. 2002). Baja el número de espermátidas y espermatozoides.
- Fase de desgaste o post-desove: Decece el volumen y la talla de los testículos por la descarga de los espermatozoides, el lóbulo testicular está completamente vacío; algunos espermatozoides y espermátidas están aun presentes, pero estos son residuales y han perdido su movilidad (Cala et al. 1999).

Este trabajo buscó definir si existe alguna relación entre el tamaño corporal y la maduración de los cistos en los testículos, con el fin de determinar a partir de que talla puede considerarse un macho apto (en términos de nivel de maduración de las células de la línea germinal masculina) para la reproducción.

MATERIALES Y MÉTODOS

El proyecto se llevó a cabo en el Laboratorio de Histoembriología del Programa de Biología Aplicada de la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad Militar Nueva Granada, en el Campus Experimental de Rio Grande, Cajicá (Cundinamarca).

Los ejemplares para este proyecto se obtuvieron en la ciudad de Bogotá; en tiendas especializadas en venta de peces ornamentales. Por lo tanto no se cuenta con una información precisa acerca de su procedencia, ni la época del año

en que nacieron, razón por la cual no se tomó en cuenta la edad como parámetro en esta investigación. El procedimiento que se describe a continuación se llevó a cabo teniendo en cuenta las guías para el manejo ético de peces para la investigación (American Society of Ichthyologists and Herpetologists (ASIH), American Fisheries Society, American Institute of Fisheries Research Biologists, 1987; Report of the AVMA Panel on Eutanasia, 1993; DeTolla, et al. 1995). Se utilizaron 21 ejemplares machos de *X. helleri*, los cuales se anestesiaron con MS-222 (0.5 g/L) (Tamuru et al. 2001) y posteriormente se sacrificaron por un corte transversal en la parte anterior, seccionando la médula espinal. Los especímenes fueron pesados y medidos, registrando la longitud estandar (desde el labio superior en la cabeza hasta la base de la aleta caudal) y la longitud de la espada (desde la base de la aleta caudal hasta la terminación de la parte más larga de la aleta caudal). Se registraron las características fenotípicas de coloración y forma de la espada.

Los individuos fueron separados en tres grupos de diferente rango de talla (Rango I de 2-3 cm, Rango II de 3.1-5 cm, Rango III de 5.1-8 cm). Para cada grupo se tomaron siete individuos, con el fin de establecer variaciones en el desarrollo testicular en los diferentes grupos, realizando comparaciones entre estos.

A los especímenes se les realizó una disección para la extracción de las gónadas luego estas fueron pesadas y observadas al estereoscopio para realizar la respectiva descripción morfológica. Posteriormente estas fueron fijadas en formaldehído al 4% a 4°C durante 5 días, y luego se realizó el procesamiento de los tejidos para la obtención de cortes seriados de 5 µm de espesor utilizando un micrótopo rotatorio (MICROM HM

340E). Los cortes se tiñeron con Hematoxilina-Eosina (Muñoz *et al.* 2006; Olaya *et al.* 2007). Terminado el proceso de tinción, se realizó el montaje permanente de las láminas con Entellan®. Al obtener la totalidad de los cortes estos se contaron y se dividieron en tres niveles que corresponderían a las secciones anterior, media y posterior del testículo. En cada nivel, y con el fin de no repetir cistos en el conteo, se escogieron 5 cortes distribuidos a lo largo de cada sección. Luego los cortes se observaron a través del microscopio óptico para realizar la identificación de los tipos de cistos contenidos en cada corte. Para el análisis morfométrico, los cortes seleccionados de cada nivel, fueron digitalizados usando un microscopio óptico (ZEISS) con un adaptador cuyo aumento es de 2x para la cámara digital (CANON POWER SHOT). Luego usando el Software Scion Image PC, de libre distribución en Internet (www.scioncorp.com), se procesaron las imágenes, mejorando el contraste y eliminando el ruido, para medir el área total de cada corte, y así obtener el número de cistos por unidad de área.

Para el análisis estadístico se empleó el software R versión 2.3.1 (www.r-project.org), donde se realizaron análisis de factores, regresión múltiple y análisis de correlación con el fin de evaluar si existían o no diferencias entre las variables de tamaño, peso del pez y peso de la gónada de cada individuo y el estado de maduración de este, teniendo en cuenta factores tales como; longitud de la espada, rangos de talla y niveles de la gónada (anterior, medio y posterior). Posteriormente se ajustó el modelo que mejor representara los resultados obtenidos. Para esto se realizaron conteos de cistos que contenían espermátogonias (estadío I), espermátocitos primarios (estadío II), espermátocitos secundarios (estadío III),

espermátides (estadío IV) y espermatozoides (estadío V) en cada uno de los cortes seleccionados, en un área de 1 mm², para luego extrapolar al área completa de cada corte. Posteriormente se promediaron los cinco cortes de cada nivel en cada individuo, con lo cual se realizó un histograma del número de cistos con células en los diferentes estadios de maduración arriba descritos.

RESULTADOS

Características fenotípicas

La coloración predominante en el cuerpo de los individuos fue el color naranja, en diferentes tonalidades desde oscuras hasta pálidas. La mayoría presentó la coloración más intensa en la parte dorsal, mientras en la parte ventral los colores eran más pálidos. En la parte baja abdominal en muchos casos desde el sitio donde comienza el opérculo se presentaron puntos y manchas de color negro, característicos de este especie. Con respecto a la aleta caudal, estos presentaron un tamaño estándar ideal para la comercialización ya que las espadas eran largas, con una línea de color negro que comenzaba desde el gonopodio y finalizaba en la punta de la espada.

Morfología del testículo

Los testículos de *X. hellerii* son pareados, fusionados, con bordes irregulares en forma de sacos alargados y circulares de color blanco-rosado, rodeados por un poco cantidad de tejido adiposo (Fig. 1), localizados en la parte superior de la cavidad celómica, unidos a la vejiga natatoria en la parte anterior. Se observó un desplazamiento del testículo derecho hacia la región anterior con relación al testículo izquierdo, este último se presenta más grande. Los testículos se encuentran

rodeados por una capa delgada de tejido conectivo. Se pueden observar a través del estereoscopio óptico los tubos internos que lo componen.

Descripción histológica

En todos los testículos se encuentran cistos en todos los estadios de maduración de las células de la línea germinal masculina. Los cistos se encuentran distribuidos por todo el testículo. Dependiendo del estadio en que estos se encuentren, se ubican en distintos sitios del mismo, observando que los cistos con células en mayor estado de maduración se ubican hacia la región central del testículo y los cistos con células en menor desarrollo hacia la periferia testicular (Fig. 2).

Los datos de longitud estándar, longitud de la espada, peso total, y peso gonadal se presentan en la Tabla 1. Los registros de los conteos de cistos con células en diferentes estadios de desarrollo de la línea germinal masculina se presentan en la tabla 3.

Análisis estadístico

Se analizó el promedio de cistos encontrados por estadio de maduración de células de la línea germinal masculina, agrupados en los diferentes rangos de tamaño y niveles (Tabla 2). Se observó una mayor presencia de cistos con células en estadio V (espermatozoides). Así mismo, se encontró que no hay diferencia entre los rangos de tamaño evaluados, ni en los niveles en los que fueron divididos los testículos.

Los resultados del estudio morfométrico y el conteo de los cistos fueron analizados estadísticamente para conocer cuál era la relación de las variables morfométricas con las variables de madurez testicular por medio del software estadístico R project. Se realizó un análisis de factores y una



Figura 1. Testículo de *X. hellerii*. 20X

prueba de regresión múltiple ($R^2 = 0.29$, $F = 17.53$, $P = < 2.2e-16$), se encontró una asociación positiva entre el rango de tamaño con las variables de peso corporal y peso del testículo. Sin embargo, no hubo relación entre el rango de tamaño con la variable número de cistos por estadio de madurez; así mismo no se presentó diferencias significativas en los rangos de tamaño, ni en los niveles del testículo (anterior, medio y posterior). También se observó que el tamaño de la espada no tiene ninguna influencia con la madurez gonadal del individuo, así como también no presenta ninguna relación con el rango de tamaño y peso corporal.

DISCUSIÓN

Las características fenotípicas en esta especie juegan un papel importante dentro de su biología reproductiva, pues de ellas dependen las oportunidades de reproducción de los machos (Lou *et al.* 2005). La coloración naranja y la línea negra que va hasta el final de la espada en la aleta caudal, fue predominante en los individuos

estudiados, estas coloraciones son las más comunes en los peces que se comercializan tanto a nivel nacional como a nivel internacional (Posada, 2006, comunicación personal), pero difieren de lo descrito para el tipo salvaje (Wischnath, 1993).

Los testículos de *X. hellerii* se encontraron ubicados en la parte superior de la cavidad celómica, conectados a la vejiga natatoria en la parte anterior del pez, como lo reportado para

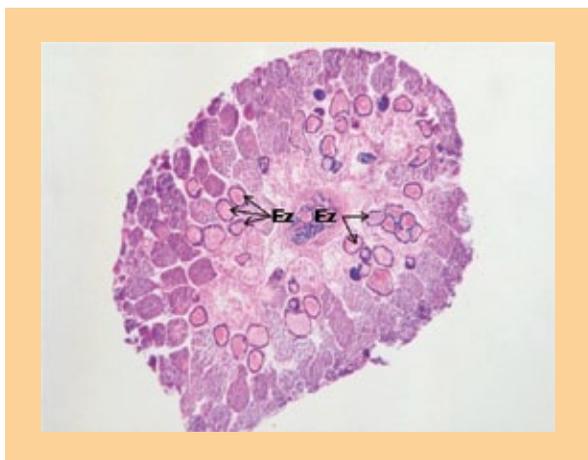


Figura 2. Corte transversal del testículo de *X. hellerii* de Rango III (5.7 cm. de longitud standard y 2.45 g de peso). Se observan cistos con espermatozoides hacia el centro del corte (Ez). H & E. 80X.

la mayoría de peces teleósteos (Valdebenito et al. 1995; Cala et al. 1999; Arellano, 2001), rodeadas de poco tejido adiposo; presentaron una coloración blanca-rosada que es característica de las gónadas maduras para varias especies incluyendo las pertenecientes a la familia poeciliidae (Paniagua y Nitzal, 1983; Agarwal, 1996; Domitrovic et al. 2003; Montoya et al. 2006). El testículo izquierdo presentaba un desplazamiento hacia la región posterior con relación al testículo derecho, el cual presentó un mayor tamaño; esta diferencia de tamaños es normal

en los peces teleósteos, y ha sido reportada en trabajos anteriores (Domitrovic et al. 2003; Guimarães et al. 2005; Montoya et al. 2006).

Los individuos evaluados presentaron cistos similares a los descritos para otros teleósteos (Agarwal, 1996; Muñoz et al. 2002; Montoya et al. 2006; Schulz et al. 2009). Como lo reportan Tabares et al. (2004) el desarrollo de células germinales en cistos es característico en varias especies de peces y se denomina espermatogénesis cística. Este tipo de espermatogénesis es presentada por las familias pertenecientes a los poecílicos, las cuales tienen fertilización interna; en los testículos de *X. hellerii* no se encuentran células germinales fuera de los cistos, pues cuando ocurre la inseminación, los machos arrojan los espermatozoides empaquetados en los cistos y al estar estos dentro del oviducto de la hembra esta produce una sustancia que permite el rompimiento del tejido externo del cisto y libera los espermatozoides (Axelrod y Gordon, 1997; Tamuru et al. 2001; Alderton, 2004; Deveze et al. 2004; Urriola et al. 2004).

En este estudio se distinguieron varios estadios histológicamente por el tamaño y el desarrollo presentado por las células que contenía cada cisto, además de las características de coloración que particularmente presentaba cada estadio y que han sido reportadas (Yasutake, 1983; Agarwal, 1996; Guimarães et al. 2005; Muñoz et al. 2005; Montoya et al. 2006). Las células germinales dentro de un mismo cisto tenían el mismo grado de desarrollo, lo que varios autores denominan como desarrollo sincrónico, y ha sido reportado para varias especies de teleósteos (Arellano, 2001; Montoya et al. 2006; Schulz et al. 2009). Dentro de los cistos maduros, los espermatozoides se encontraron posicionados con la cabeza hacia la periferia y las colas hacia el centro de los cistos pues

INDIVIDUO	GRUPO DE TAMAÑO	LONG. ESTANDAR (cm.)	PESO CORPORAL (g)	PESO GONADA (g)	LONG. ESPADA (cm.)
1	2- 3 cm. Rango I	2,00	1,14	0,021	1,50
2		2,60	0,61	0,004	2,50
3		2,60	0,56	0,007	1,00
4		2,90	0,78	0,006	2,50
5		3,00	1,06	0,002	2,20
6		3,00	0,87	0,004	1,50
7		3,00	0,54	0,003	2,00
8	3.1 – 5 cm Rango II	3,40	0,78	0,007	2,50
9		3,50	1,20	0,005	2,90
10		3,60	0,98	0,005	3,00
11		3,80	1,41	0,015	3,30
12		4,40	2,01	0,111	2,00
13		4,40	1,67	0,011	0,70
14		4,50	1,59	0,012	2,10
15	5.1 - 7 cm. Rango III	5,10	2,91	0,023	3,00
16		5,30	3,03	0,014	5,00
17		5,40	2,05	0,021	1,50
18		5,70	2,45	0,003	2,60
19		5,70	2,87	0,020	3,50
20		5,70	2,72	0,014	4,00
21		6,00	2,68	0,089	4,00

Tabla 1. Datos registrados de longitud estándar y de la espada, peso corporal y de la gónada para cada individuo.

de esta manera se facilita la liberación en el momento de la emisión de esperma, lo que le permite a las hembras el almacenar los cistos durante varios meses; cosa que no ocurre en la mayoría de los teleósteos, que son de fecundación externa, donde los cistos se rompen para liberar los espermatozoides en el lumen de los tubos para que estos salgan de manera individual en la emisión de esperma (Cala et al. 1999; Valdebenito et al. 1995).

En los individuos estudiados no se presentaron las características reportadas por otros autores en cada fase de maduración testicular; por el contrario siempre mantuvieron la coloración, forma y peso en los diferentes rangos de tamaño. El peso testicular de los individuos siempre se mantuvo del 5 al 10% del peso total del pez,

lo cual coincide con falta de estacionalidad reproductiva en esta especie (Ávila, 1998), en contraste con lo descrito para especies con picos reproductivos, donde dependiendo de la época los testículos varían en color, forma y peso (Agarwal, 1996; Rodríguez et al. 2001; Tabares et al. 2004; Guimarães et al. 2005). Esta especie tiene individuos maduros a lo largo de todo el año, como una posible adaptación a condiciones ambientales inestables (Urriola, 2004).

La mayoría de los cistos que se encontraron en los testículos presentaron células en alto grado de maduración. El porcentaje de cistos con células en estadios de maduración temprana correspondió a menos del 2% de la población total presente en la gónada, mientras que los cistos

con células en en estadio V correspondían entre el 60 y 80% de la población total de cistos. Esta característica fue presentada en todos los individuos sin importar el rango de tamaño. Según lo reportado para diferentes especies pertenecientes a la familia poeciliidae, estas pueden alcanzar la madurez sexual a temprana edad, ejemplo de esto es *Poecilia reticulata* que en un corto periodo de vida entre la cuarta y quinta semana es madura gonadalmente (equivalente a 1.6 cm -1.8 cm. de longitud total). En *X. hellerii* existen reportes de madurez sexual entre las nueve y doce semanas de vida teniendo como longitud standard entre 2.5 cm a 3.0 cm (Stickney, 2000; Tamuru, 2001), la cual es equivalente al rango de tamaño I, lo que explica porque fue común encontrar gónadas en avanzado estado de maduración en este rango.

El desarrollo temprano en los machos de esta especie puede ser parte de su estrategia reproductiva pues de esto depende la posibilidad de dejar descendencia (Tyagi y Shukla, 2002). Las espadas de los machos empleados presentaron en su gran mayoría un tamaño que correspondía a la mitad o más de la longitud estándar del

cuerpo. Para el macho es importante gastar energía en la adquisición de características fenotípicas que favorezcan la selección por parte de las hembras, pues estas prefieren machos de gran tamaño, con espadas largas y coloraciones brillantes (Lou et al. 2005). En estos casos el macho disminuye la cantidad energética destinada a la producción de gametos, por lo que se encontró que los testículos maduros eran más pequeños, comparados con lo reportado para especies que utilizan una enorme cantidad de energía en la producción masiva de gametos, que se liberan de una sola vez (Summer et al. 1994).

Es posible que esta estrategia sea influenciada por el hecho que en la hembra puede ocurrir superfecundación, lo cual brinda al macho varias ventajas reproductivas como el alto desarrollo con que nacen las crías y la posibilidad que con una sola copulación pueda fecundar huevos de puestas diferentes durante varios meses. Debe tenerse en cuenta que esto también puede traer desventajas para el macho pues se ha reportado que en esta especie hay competencia espermática, donde los espermatozoides de la última copulación

GRUPO DE TAMAÑO	NIVEL	PROMEDIO DE CISTOS POR ESTADIO (POOL)				
		I	II	III	IV	V
2 – 3 cm. Rango I	Anterior	19,24 ± 11,13	48,86 ± 24,73	80,15 ± 39,00	59,90 ± 20,76	194,77 ± 99,34
	Medio	20,62 ± 7,53	40,89 ± 27,36	79,73 ± 48,24	48,72 ± 16,29	155,16 ± 59,19
	Posterior	28,01 ± 20,72	55,68 ± 32,58	95,08 ± 49,80	67,06 ± 37,83	206,89 ± 119,77
3.1 – 5 cm. Rango II	Anterior	16,91 ± 20,31	44,08 ± 33,36	59,20 ± 39,96	33,09 ± 18,80	209,92 ± 152,40
	Medio	11,81 ± 11,07	35,90 ± 15,71	51,11 ± 26,51	27,65 ± 15,31	168,39 ± 94,39
	Posterior	16,02 ± 23,29	46,77 ± 42,40	66,88 ± 38,65	32,18 ± 21,24	207,58 ± 227,98
5.1 – 7 cm. Rango III	Anterior	19,08 ± 6,62	50,71 ± 31,01	65,66 ± 15,74	37,47 ± 17,97	154,62 ± 72,27
	Medio	21,26 ± 15,93	48,88 ± 48,52	61,21 ± 40,29	43,10 ± 52,03	150,17 ± 82,26
	Posterior	18,23 ± 12,46	48,56 ± 24,64	89,39 ± 48,03	39,33 ± 25,37	128,51 ± 77,99

Tabla 2. Pool del número promedio de cistos conteniendo células de la línea germinal masculina en diferentes estadios de maduración por rango de tamaño y nivel.

tienen más ventajas de fertilización que los espermatozoides de machos de copulaciones anteriores (Lou et al. 2005). Por esto es mejor que en el momento de la copulación haya la mayor cantidad de cistos en el último estadio de maduración, pues todavía no se conoce si los cistos pueden terminar su maduración en el oviducto de la hembra.

Otra explicación posible para que ocurra la maduración temprana del pez se debe a que en los machos el riesgo de predación es más alto debido a las características fenotípicas que presentan (Gómez et al. 1999). Debido a que estas características son adquiridas desde edades tempranas es posible que el desarrollo sea temprano para aumentar sus posibilidades de apareamiento.

A partir de este trabajo puede concluirse que:

- Para el rango de tamaños estudiados en este trabajo, la maduración testicular es independiente del tamaño corporal en los individuos de *X. hellerii*,
- Los cistos se presentan en diferentes estadios de maduración en todas las secciones, ubicando los cistos más maduros generalmente en la parte central de la gónada y los más inmaduros hacia la periferia de la misma.
- Se encontraron cistos con células de línea germinal masculina estadio V en peces de rango I (2-3 centímetros de longitud), lo cual confirma que esta especie puede madurar desde tallas pequeñas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad Militar Nueva Granada, Facultad de Ciencias, Programa de Biología Aplicada y a la Vicerrectoría de Investigaciones sin cuyo apoyo no habría podido realizarse este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agarwal, N., 1996. Fish reproduction. APH Publishing Corporation. 1-147 p.
2. Alderton, D., 2004. Live Bearers. Bowtie press. Estados Unidos. 62-65p.
3. American Society of Ichthyologists and Herpetologists (ASIH), American Fisheries Society, American Institute of Research Biologists. 1987. Guidelines for Use of Fishes in Field Research. Lawrence, KS: ASIH.
4. American Veterinary Medical Association (AVMA). 1993. Report of the AVMA Panel on Euthanasia. J Am Vet Med Assoc 202(2):229-249.
5. Arellano, M., Rojas, A., García, F., Ceballos, B., Villarejo, M., 2001. Ciclo reproductivo del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*, en las costas de Guerrero, México. Instituto politécnico nacional. México.
6. Axelrod, H., Gordon, M., 1997. Swordtails. T.F.H. Publications. Estados Unidos.
7. Axelrod, H., Wischnath, L., 1991. Swordtails and Platys. T.F.H. Publications. Estados Unidos.
8. Batlouni SR, Romagosa E, Borella MI. 2006. The reproductive cycle of male catfish *Pseudoplatystoma fasciatum* (Teleostei, Pimelodidae) revealed by changes of the germinal epithelium An approach addressed to aquaculture. Animal Reproduction Science (96) 116–132 p.
9. Cala, P., Román, Valencia, C., 1999. Cambios cíclicos histomorfológicos en las gónadas del Bocachico, *Prochilodus magdalenae* (Pisces: Curimatidae) del río Atrato. Revista de asociación Colombiana de Ictiólogos. Colombia. 4-15p.

10. Chapman, A., 2006. Memorias XII jornada de acuicultura IALL. Estado actual y perspectivas de la acuicultura ornamental. Colombia.
11. Devezé, P., Mendiola, J., Sánchez, B., 2004. Cultivo de *Poecilia reticulata* (Pisces: Poeciliidae) en cuerpos de agua tropicales, México.
12. DeTolla, L., Srinivas, S., Whitaker, B., Andrews, C., Hecker, B., Kane, A., Reimschuessel, R. 1995. Guidelines for the Care and Use of Fish in Research. ILAR Journal Vol 37(4).
13. Domitrovic, H., 2003. Histología e Histopatología de Testículo y Ovario de *Aequidens portalegrensis* (Pisces, Cichlidae). Instituto de Ictiología del Nordeste, Facultad de Ciencias Veterinarias (UNNE). Argentina.
14. Gómez, L., Guzmán, J., Olvera, 1999. Reproducción y crecimiento de *Heterandria bimaculata* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) en la Laguna "El Rodeo", Morelos, México. Rev. Biol. Trop. 47: 581-592.
15. Guimarães, R., Dos Santos, J., Santos, G., 2005 Gonadal structure and gametogenesis of *Loricaria lentiginosa* Isbrücker (Pisces, Teleostei, Siluriformes) Estrutura gonadal e gametogênese de *Loricaria lentiginosa* Isbrücker (Pisces, Teleostei, Siluriformes). Pontificia Universidad Católica. Rev. Zool. vol. 22no.3 CuritibaJuly/Sept. Brasil.
16. Hadi, S.M., Cosson, J.J., Coward, K., Rafiee, G., 2008. Fish spermatology. Alpha Science International Ltda. Oxford, U.K. pag 240.
17. Lou, J., Sanetra, M., Scharl, M., Meyer, A., 2005. The multiply mated swordtail *Xiphophorus multilineatus* (Teleostei). In: Strong reproductive skew among males. Journal of Heredity Advance Access. Alemania.
18. McGovern, H., K. Tamaru, C. Takeshita, G. Yamamoto, M., 2003. Procedural Guide for the Artificial Insemination of Lyretail Swordtails, *Xiphophorus hellerii*. University of Hawaii. Center for Tropical and Subtropical Aquaculture Publication No. 149.
19. Montoya, A., Tabares J., Echeverri A., Arboleda L., Olivera M., 2006. Descripción anatómica e histológica de las gónadas en Sabaleta (*Brycon henni*, Eigenmann 1913). Grupo de Fisiología y Biotecnología de la Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia. Colombia.
20. Muñoz A, Caldas ML, Hurtado H. 2006. Análisis histomorfológico del sistema digestivo y glándulas anexas en alevinos de cachama blanca, *Piaractus brachypomus* (Characidae: *Piaractus*). Revista Facultad de Ciencias Básicas, 2: 137-164.
21. Muñoz, A., Criscuolo, E., Wills, G., Mojica, H., González, J., Gamboa, J., Rodríguez, J., Valverde, J., Botero, J., Landines, M., Cruz, P., Rosado, R., Velasco, Y., 2005. Reproducción de peces en el trópico. Imprenta nacional de Colombia. Bogota.
22. Muñoz, M., Sábat, M., Mallol, S., Casadevall, M., 2002. Gonadal structure and gametogenesis of trigla lyra (Pisces: Triglidae). Zoological studies 41(4):412-420 p.
23. Olaya CM, Ovalle CH, Gomez E, Rodriguez D, Caldas ML, Hurtado H. 2007. Histología y morfometría del sistema digestivo del Silurido bagre tigrillo (*Pimelodus pictus*). Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, 54: 311-323.
24. Paniagua, R., Nitzal, M., 1983. Introducción a la histología animal comparada. Ed. Labor Universitaria. España. Capitulo IX – X. 287- 333 p.
25. Posada, 2006. Comunicación personal.

26. Quagio-Grassiotto I., & Oliveira C., 2008. Sperm ultrastructure and a new type of spermiogenesis in two species of Pimelodidae, with a comparative review of sperm ultrastructure in Siluriformes (Teleostei: Ostariophys). *Zoologischer Anzeiger* (247) 55–66 p.
27. Ramagosa E, Borella MI, Narahara MY, Fenerich-Verabu B, 2002. Light and electron microscopy oogénesis in matrixa *Brycon cephalus*. *J.Submicrosc. CYtol. Pathol.* 34:425-431
28. Rodríguez, J., Daza, V., Carrillo, M., 2001. Bases fisiológicas de la reproducción de peces tropicales, p. 189-217. En: Rodríguez, H., Victoria, P., Carrillo, M., (eds.). *Fundamentos de acuicultura continental*. INPA, Bogotá. 423 p.
29. Schulz WR, de França LR, Lareyre JJ, LeGac F, Chiarini-Garcia H, Nóbrega RH, Miura T. 2009. *General and Comparative Endocrinology*, 165: 390-411.
30. Stickney, R., 2000. *Enciclopedia of aquaculture*. Wiley interscience publication. Estados Unidos. 321-324, 602-607, 760-764 p.
31. Summer, I., Travis, J., Johnson, C., 1994. Methods of female fertility advertisement and variation among males in responsiveness in the sailfin molly (*Poecilia latipinna*) Copeia 1: 27-34. En: Gómez, L., Guzmán, J., Olvera, 1999. *Reproducción y crecimiento de *Heterandria bimaculata* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) en la Laguna "El Rodeo", Morelos, México*. *Rev. Biol. Trop.* 47: 581-592.
32. Tabares, C., Tarazona A., Olivera. 2004. *Fisiología de la activación del espermatozoide en peces de agua dulce*. Corporación Biogénesis, Universidad de Antioquia. Colombia.
33. Tamuru, C., Cole, B., Bailey, R., Brown, C., Ako, H., 2001. *A Manual for Commercial Production of the Swordtail, *Xiphophorus hellerii**. University of Hawaii Sea Grant Extension Service School of Ocean Earth Science and Technology. Hawaii.
34. Tyagi, R., Shukla, A., 2002. *Development of fishes*. Anmol publications PVT.LTD. India. Capítulos VII-VIII-IX.
35. Urriola, H., Cabrera, J., Protti, M., (2004) *Fecundidad, fertilidad e índice gonadosomático de *Poecilia reticulata* (Pisces: Poeciliidae) en Heredia, Costa Rica*. Laboratorio de Recursos Naturales y Vida Silvestre. Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional. Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 52(4): 000-000.
36. Valdebenito, I., Peredo, S., González, K., Sobrazo, C., 1995. *Ciclo reproductivo anual del "huaiquil o roncador" (*micropogonias furnieri* desmarest, 1823 sin. *micropogon manni* moreno, 1970) (Pisces: Sciaenidae) del lago Budi*. Universidad Católica de Temuco. Fac. de Acuicultura y Cs. Veterinarias. Chile.
37. Yasutake, W., 1983. *Microscopic anatomy of salmonids: An atlas*. Library of congress cataloging in publication data. USA.

CONSULTA VIRTUAL

38. Ávila A. (1998, Noviembre) *Reproducción de peces vivíparos*. Consultada el 20 de Abril del 2006, de <http://www.perros-purasangre.com.mx/pps11/afondo.html>
39. Nilsson, K., 1999. *Xiphophorus hellerii*. Obtenida el 23 de septiembre del 2005, <http://www.fishbase.org/Collaborator/CollaboratorSummary.cfm?ID=400>
40. Wischnath, L., (1993). *Xiphophorus hellerii*. Consultada el 10 de Junio de 2005, <http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.cfm?ID=3231&genusname=Xiphophorus&speciesname=hellerii>.