

597  
F634 a  
1977  
F. cc. y H.



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS Y HUMANIDADES  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

ALGUNOS ASPECTOS DE LA REPRODUCCION DEL CUATRO-OJOS, ANABLEPS DOWI,  
EN CONDICIONES NATURALES

Trabajo de Graduación para Optar al Grado de Licenciatura en Biología  
Presentado por:

JORGE ANTONIO FLORES CALDERON

Asesor: Dr. John R. Burns

Tribunal Examinador:

Dr. John R. Burns

Lic, Victor M. Rosales

Lic. Frederick Meinzer



Ciudad Universitaria, San Salvador, Julio de 1977

## AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer a mis padres por haber hecho posibles todos mis estudios; a mi asesor Dr. John R. Burns, que con su magnífica dirección, guía y colaboración ha hecho posible la realización de este trabajo. También agradezco a mi amigo Peter Phillips por su ayuda en la colecta de especímenes y en la transcripción a máquina del borrador de este trabajo. Además quiero agradecer al Tribunal Examinador de este trabajo, que con sus sugerencias mejoró el contenido y la redacción de este reporte.

### III

#### ABSTRACTO

Se colectaron especímenes de ambos sexos de Anableps dowi en los manglares del estero de El Tamarindo en el Golfo de Fonseca (El Salvador).

La madurez de las hembras fue alcanzada cuando éstas tenían una longitud de 15.4 cm. o más. El mayor largo corporal para hembras fue de 35.0 cm.

Los huevos de las hembras de A. dowi tuvieron una variación en su diámetro (in situ) durante el ciclo de gestación de 0.41 mm. en el estadio 0 hasta 1.59 mm. en el estadio 9. El diámetro medio de los huevos listos para ser fecundados fue de 2.07 mm. (in situ). La maduración de los huevos para la próxima camada comenzó durante los últimos estadios (8 y 9) del período de gestación. Probablemente la fertilización de los huevos de una misma camada se realiza después del nacimiento de los embriones (no existe superfecundación) y durante un tiempo relativamente largo. De los huevos que alcanzan la madurez solamente un cierto número es fertilizado, y aquellos que no se fertilizaron fueron reabsorbidos, constituyendo los cuerpos atréticos. Se observan también embriones en estado de reabsorción. Los folículos que contenían embriones no fueron expelidos del ovario al nacer el embrión, sino que fueron reabsorbidos.

Los embriones de A. dowi al nacer tienen una longitud mayor de 60.4 mm. La expansión de la parte posterior del intestino (asa) se vió por primera vez en el estadio 1, cuando el embrión midió solo 4.0 mm. de largo. El asa se mantuvo hasta el estadio 9. Los bulbos vasculares aparecieron cuando los embriones midieron 9.4 mm. de largo, y alcanzaron su diámetro máximo de 0.64 mm. cuando el embrión tuvo una longitud de 61.0 mm. El saco ventral presentó su diámetro máximo de 21.6 mm. cuando el embrión midió 61.0 mm. Los embriones siempre se encontraron dentro de sus folículos; nunca fueron encontrados en la cavidad del ovario.

A. dowi posee un par de testículos alargados. Los testículos tuvieron un arreglo del tipo acinar, es decir, que existieron sitios celulares (acinos) arreglados de la periferia de las gónadas hacia el

centro, en donde se encontró el conducto deferente ramificado en conductos eferentes muy cortos en donde son descargados los espermátóforos conteniendo espermatozoides. Se encontró que entre los sitios celulares que poseían espermatogonias secundarias existían grupos de células hipercromáticas por henatoxilina, siendo identificadas como las células intersticiales.

Se encontró que generalmente el largo corporal total de los machos maduros sobrepasaba los 14.4 cm. El mayor largo corporal encontrado para machos fue de 23.4 cm.

Se encontró que tanto hembras como machos podían ser funcionalmente derechos o izquierdos para la copulación. Las proporciones de hembras derechas y machos izquierdos, y viceversa, no fueron complementarias.

A. dowi alcanza una mayor longitud corporal que las otras dos especies del género.

## ABSTRACT

Male and female specimens of Anableps dowi were collected in the mangroves of the estuary of El Tamarindo in the Gulf of Fonseca (El Salvador).

Females were mature when they attained 15.4 cm. or more in length. The largest mature female measured 35.0 cm. In the gestation cycle of females, the eggs varied in diameter (in situ) from 0.41 mm. in stage 0, to 1.59 mm. in stage 9. The mean diameter for the eggs ready to be fertilized was 2.07 mm. (in situ). The maturation of the eggs for the next brood began during the last stages (8 and 9) of the gestation cycle. Fertilization of the eggs of a given brood probably takes place after the birth of the embryos (superfetation does not exist) and during a relatively long time period. Of the eggs which reached maturity, only a certain number were fertilized; those which were not fertilized were resorbed, forming the corpora atretica. Embryos in a state of resorption were also observed. The follicles which contained the embryos were not expelled from the ovary after the birth of the embryos, but instead resorbed. The gonopore was only open just after the birth of the embryos, and was closed during the greater part of the gestation cycle.

The embryos of A. dowi are born when they reach a length greater than 60.4 mm. The expansion of the posterior part of the intestine (loop) was first noted in stage 1, when the embryo was only 4.0 mm. in length. The loop was still present during stage 9. The vascular bulbs appeared when the embryo attained 9.4 mm. in length, and reached their maximal diameter of 0.64 mm. when the embryo was 61.0 mm. in length. The ventral sac had a maximal diameter of 21.6 mm. when the embryo was 61.0 mm. in length. The embryos were always found within their follicles, never in the ovarian cavity.

A. dowi has a pair of elongated testes. The testis was of the acinar type. In these testes one finds groups of cells (acini) arranged from the periphery toward the center, where the deferent duct branches into very short efferent ducts, into which the spermatophores containing the mature sperm are discharged. Between the acini that contained secondary spermatogonia were groups of cells hyperchromatic with hematoxylin; these cells were identified as interstitial cells.

## VI

Mature males usually had a total length greater than 14.4 cm. The greatest length found for a mature male was 23.4 cm.

It was found that males as well as females could be functionally right or left with respect to copulation. The proportion of right females and left males in the population, and vice versa, was not complementary. A. dowi attain greater lengths than the other two species of the genus.

# VII

## CONTENIDOS

	<u>Página</u>
INTRODUCCION	1
MATERIALES Y METODOS	2
RESULTADOS	3
I. <u>Henbras</u>	3
A. <u>Tamaño con madurez.</u>	3
B. <u>Ciclo de gestación.</u>	5
C. <u>Ausencia de superfetación.</u>	13
II. <u>Machos</u>	14
A. <u>Descripción de los testículos.</u>	14
B. <u>Tamaño con madurez.</u>	16
III. <u>Derechos o Izquierdos</u>	17
DISCUSION	17
LITERATURA CITADA	25
FIGURAS	27 y sig.

## INTRODUCCION

La familia Anablepidae comprende un género, Anableps, que posee tres especies, las cuales son muy similares en apariencia y en hábitos (Schwassmann, 1965). La distribución de A. anableps (que según Villa, 1971, es sinónimo de A. gronovii, y que según Garman, 1895, también es sinónimo de A. tetraophthalmus) y A. microlepis se localiza en las costas atlánticas, desde Guinea hasta el norte de Brasil. A. dowi (= A. dowei = A. dowii) se encuentra distribuido en las costas pacíficas del sur de México y Centroamérica (Schwassmann, 1965). Anableps se encuentra principalmente en aguas salobres de estuarios, aunque también asciende en los ríos (Schwassmann, 1965).

Los trabajos de Wyman (1854) y Turner (1937, 1938, 1939) demostraron que el género comprende peces realmente vivíparos. Wyman (1854) realizó observaciones en el desarrollo de una de las especies, A. gronovii. En su trabajo Wyman discutió algunos hechos que hicieron posible la viviparidad de este pez. Garman (1896) realizó estudios en donde encontró que los miembros del género Anableps, tanto machos como hembras, podían ser funcionalmente derechos o izquierdos para la copulación. Posteriormente, Turner (1938) realizó trabajos con las hembras de A. anableps. En este trabajo Turner determinó las adaptaciones del ovario y de los embriones que permitían la viviparidad de este pez, así como otros aspectos generales de la reproducción de A. anableps. En 1940, Turner realizó otro trabajo en donde estableció comparaciones entre los embriones de A. anableps y los de A. dowei, con respecto a algunas adaptaciones que muestran los embriones para la viviparidad.

Otro aspecto del género Anableps, que ha atraído la atención de los investigadores, ha sido el sistema visual presente en estos peces. Schwassmann (1965) realizó estudios en A. microlepis referentes al sistema visual. El mismo Schwassmann en 1967 realizó trabajos relacionados con la conducta orientacional de algunas poblaciones de Anableps microlepis.

En el presente trabajo se hace una ampliación de los estudios hechos por los autores que han trabajado en la reproducción

del género Anableps. Los aspectos que se tratan en este estudio son: el tamaño con madurez de las hembras; el ciclo de gestación; ausencia de superfetación; descripción de la anatomía o histología de los testículos; tamaño con madurez en los machos; determinación del porcentaje de izquierdos y derechos en la población.

#### MATERIALES Y METODOS

Se colectaron especímenes de ambos sexos de Anableps dowi en los manglares del estero de El Tamarindo en el Golfo de Fonseca (El Salvador). Los peces fueron colectados por la noche, utilizando lúmpenes y lámparas de mano. Inmediatamente después de ser colectados los peces, fueron tomados el largo corporal total, el peso corporal y anotadas ciertas características externas del pez. En seguida se procedió a disectar los peces para obtener las gónadas, anotando el aspecto visual de éstas y el porcentaje del largo de la cavidad peritoneal ocupada por ellas. Las gónadas se colocaron en el fijador de Bouin, luego en el laboratorio fueron pesadas en una balanza analítica. Además algunas veces las gónadas se pesaron antes de colocarlas en el fijador, para ver si no había cambio en su peso por acción del fijador. Los testículos fueron preparados para hacer cortes histológicos, que fueron teñidos con la técnica de hematoxilina férrica-eosina (Davenport, 1960). Algunos cortes se tificaron con la técnica de ácido periódico-reactivo de Schiff (PAS) (Humason, 1972), para ver la respuesta de las células intersticiales a esta técnica.

Los ovarios fueron disectados. Cuando habían embriones, éstos fueron estudiados bajo el microscopio estereoscópico para determinar su estadio, según su grado de desarrollo. El grado de desarrollo de los embriones se determinó teniendo como criterios el desarrollo de los ojos, la presencia o ausencia de pigmentos, la presencia o ausencia de escamas, la longitud total del embrión, la presencia y desarrollo de los bulbos vasculares, el tamaño del saco ventral, y el diámetro del folículo. Para las mediciones del saco ventral fue utilizado un vernier y se obtuvo el promedio de todos los embriones

pertenecientes a un mismo ovario. Para medir los bulbos vasculares del saco ventral, se utilizó un micrómetro ocular adaptado al microscopio estereoscópico. Se obtuvo el promedio del tamaño de los bulbos para todos los embriones encontrados en el mismo ovario. Los bulbos que se midieron fueron los cercanos a la zona de unión entre el lado ventral del embrión y la parte dorsal del saco ventral.

El diámetro de los huevos más desarrollados se tomó in situ con el microscopio estereoscópico. Para determinar el diámetro promedio de los huevos más grandes se tuvieron dos criterios: el primero fue tomando todo el grupo de huevos que mostraban un mayor grado de desarrollo y con ellos se obtuvo el promedio; en el segundo se tomaron sólo el número de huevos más desarrollados, pero en igual número al de embriones presentes en el ovario.

De algunos ovarios fueron tomadas muestras para preparar cortes histológicos, que fueron colocadas en el fijador de Bouin y teñidas con la técnica de hematoxilina férrica-eosina, y estudiados los cortes en un microscopio compuesto. Igual se hizo con una serie de huevos de diversos tamaños.

Con los datos del peso de las gónadas de ambos sexos y el peso corporal se calculó el índice gonosomático (I.G.S.):

$$\text{I.G.S.} = \frac{(\text{Peso de las gónadas})}{(\text{Peso corporal})} \times 100).$$

## RESULTADOS

### I. Henbras

#### A. Tamaño con madurez.

La madurez en las hembras fue alcanzada cuando éstas tenían una longitud alrededor de los 15.4 cm. Las hembras que poseyeron una longitud total menor de 15.4 cm. fueron inmaduras. Externamente, las hembras inmaduras poseyeron su pigmentación lateral continua y no poseyeron pigmentos rojos en las aletas anal y pélvicas.

Histológicamente, en las hembras estudiadas con un largo corporal total entre 11.8 y 14.8 cm., el ovario tuvo la composición que sigue (Fig. 1). Externamente lo cubrió un epitelio plano simple.

En seguida se encontró tejido muscular liso. Después de la capa muscular se encontró el estroma, constituido por tejido conectivo laxo. En el estroma se encontraron vasos sanguíneos y espacios tisulares. Recubriendo la luz del ovario se encontró un epitelio que fue principalmente columnar simple. Inmediatamente junto al epitelio habían muchos oocitos jóvenes, constituidos por una sola célula con un núcleo muy grande. Algunos oocitos más viejos empezaron a profundizar en el estroma y se rodearon de células foliculares planas, organizándose alrededor de éstas una cápsula de tejido conectivo. Los oocitos más desarrollados encontrados en estos ovarios inmaduros estaban rodeados de células foliculares cúbicas o columnares bajas. Estos oocitos tenían en su citoplasma una matriz granular en la que se notaron vacuolas; la cápsula de tejido conectivo alrededor de las células foliculares fue aquí más gruesa. En estos oocitos más desarrollados de los ovarios inmaduros, fue posible ver como, al profundizar el oocito en el estroma ovárico, ha arrastrado una invaginación del epitelio de la cavidad ovárica, formando un tubo que se queda en contacto con las células foliculares (Fig. 1). Este tubo es al que se refiere Turner (1938) con el nombre de "delle". Estos oocitos más desarrollados alcanzaron un diámetro promedio de 0.11 mm. (rango 0.09 - 0.24). El índice gonosomático de las hembras que estaban en este estado varió de 0.03 a 0.05.

En la colección de hembras que sirvió para este estudio, las que eran sexualmente maduras siempre tuvieron una longitud corporal total de 15.4 cm. o más. Externamente estas hembras presentaron pigmentos rojos en las aletas anal y pélvicas y la pigmentación lateral dejaba de ser continua, formando interrupciones en forma de placas que algunas veces tomaban tonos de color amarillo. El ovario de estas hembras siempre ocupó más del 20% de la cavidad peritoneal. Los valores para el I.G.S. de estas hembras siempre sobrepasaron el valor de 0.08, y variaron con el estadio del ciclo de gestación. Los oocitos más desarrollados de estos ovarios (estadios 1 y 9) ya estaban rodeados de una gruesa cápsula de tejido conectivo bien vascularizada (Fig. 2). El "delle", así como la mayoría del epitelio de la cavidad del ovario, se encontraron impregnados con espermatozoides (Fig. 2). El diámetro promedio de estos oocitos fue

de 0.30 mm. (rango 0.19 - 0.33). Estos oocitos se encontraron llenos de vacuolas y el núcleo poseía pocos nucléolos.

Una hembra con una longitud corporal de 15.4 cm. presentó embriones en el estadio 1, pero generalmente las hembras que oscilaron entre los 15.4 y 17.0 cm. sólo poseían huevos listos para ser fecundados. El criterio para determinar ésto fue que aunque se encontraron espermatozoides en el interior del "delle", no existió un espacio folicular que indicara la fertilización. En estos ovarios se encontraron, en algunas ocasiones, cuerpos atréticos.

#### B. Ciclo de gestación.

Estadio 0. Este estadio comprende a hembras con el ovario inmaduro. El ovario aquí llegó a ocupar un 20% de la cavidad peritoneal. El aspecto visual de estos ovarios fue de color blanco transparente. En los oocitos más jóvenes encontrados (diámetro hasta 0.03 mm.), el núcleo, que fue acromático, ocupó la mayor parte de la célula, correspondiendo al citoplasma sólo una pequeña porción (Fig. 1). La capa de células foliculares no se había formado todavía, aunque fue posible ver algunas células foliculares aisladas alrededor del citoplasma del oocito. En los oocitos con un diámetro de 0.02 mm. se vió en el citoplasma unas pocas vacuolas. En los oocitos con un diámetro más cercano a 0.03 mm. se vió una mayor cantidad de vacuolas en el citoplasma. También se encontraron en este estadio oocitos que habían incrementado su diámetro promedio hasta 0.07 mm. (rango 0.05 - 0.09). En estos oocitos ya se observó la capa de células foliculares, que poseían una forma plana. Alrededor de las células foliculares se había empezado a organizar una cápsula de tejido conectivo que midió aproximadamente unas 9.5 micras de grosor. Los oocitos más desarrollados encontrados en este estadio variaron su diámetro de 0.09 - 0.24 mm. En estos oocitos el núcleo ya fue cromático, siendo un tanto eosinófilo. Las células foliculares mostraron una transición de la forma plana, que habían mostrado, hasta una forma cúbica o columnar baja (Fig. 3). La cantidad de vacuolas en el citoplasma fue más abundante. La cápsula de tejido conectivo aquí varió de 9.5 a 15.9 micras de grosor. En estos oocitos fue posible ver que ya había comenzado la formación del "delle" (Fig. 1).

Con el microscopio estereoscópico se midió el tamaño in situ de los

ocitos más desarrollados descritos arriba y su diámetro promedio fue de 0.41 mm. (rango 0.23 - 0.66). Los valores de los ocitos medidos in situ probablemente incluyen las siguientes estructuras: ocito, células foliculares, y cápsula de tejido conectivo. En los ovarios de este estadio no se encontró la presencia de cuerpos atréticos.

Estadio 1. Al estadio 1 corresponden hembras cuyo ovario ocupó de 20 hasta 40% de la cavidad peritoneal. El color de estos ovarios fue blanco rosado y poseían dos lóbulos, en donde el lóbulo derecho fue más desarrollado que el izquierdo. En este estadio están comprendidos ovarios que poseyeron huevos listos para ser fecundados, huevos que ya habían sido fecundados, y embriones con un grado de desarrollo hasta al de blástula. Los huevos listos para ser fecundados tenían generalmente un diámetro promedio de 0.30 mm. (rango 0.19 - 0.33). El grosor de la cápsula de tejido conectivo de estos huevos llegó a medir hasta 260 micras. Las células foliculares de estos huevos varían, ya que en algunos las células eran columnares y formaron una capa definida, pero en otros las células foliculares se vieron bien picnóticas y no constituyeron una capa definida, sino que se vieron varios estratos de núcleos. En el estroma circundante a la cápsula de tejido conectivo que rodeó a las células foliculares, se vieron células libres cuyos núcleos tenían una forma alargada. Algunas de estas células estaban ya penetrando en la cápsula de tejido conectivo, cuyas células eran más o menos esféricas con un núcleo también esférico. En el interior de estos huevos habían yema y vacuolas. En el interior del "delle" y en todo el epitelio de la cavidad ovárica se encontraron espermatozoides (Fig. 2).

Los huevos que recientemente habían sido fecundados tuvieron un diámetro promedio de 0.52 mm. El huevo se separó de las células foliculares, que tenían el aspecto de estar degenerando (Fig. 4). Con esta separación del huevo se formó un espacio entre el huevo y las células foliculares. La cápsula de tejido conectivo tuvo un grosor que osciló entre 0.29 a 0.31 mm. La cápsula de tejido conectivo fue muy vascularizada y estaba siendo invadida por las células libres de forma aniboides procedentes del estroma.

Los embriones que estaban en una etapa de desarrollo de blástula

tuvieron un diámetro promedio de 0.59 mm. (rango 0.36 - 0.78) (Fig. 5). La cápsula de tejido conectivo tuvo un grosor entre 0.31 a 0.34 mm. El espacio folicular aquí fue mayor que en los huevos recién fecundados. La blástula consistió en una masa de células sobre un acúmulo de yema. Se notó un mayor número de células de forma amiboide invadiendo la cápsula de tejido conectivo.

Los huevos in situ listos para ser fecundados tuvieron un diámetro promedio de 2.07 mm., pero el rango varió de 1.60 a 2.79 mm. En hembras que ya habían desovado, generalmente se encontraron huevos listos para ser fecundados, ya fecundados o embriones en estadio de blástula. El gonoporo de estas hembras fue un poco hundido y se encontraba abierto. Cuando se estaba disectando a estas hembras, salió semen del gonoporo. En las hembras "vírgenes" que se encontraban en este estadio, que nunca habían desovado, el gonoporo siempre fue cerrado.

En muchos de los ovarios que se encontraban en estadio 1, se encontraron cuerpos atréticos (Fig. 6), folículos viejos (Fig. 7) y embriones reabsorbidos (Fig. 8). Las células foliculares de los cuerpos atréticos se vieron degenerando y la cápsula de tejido conectivo se vió invadiendo al huevo.

Estadio 2. Los ovarios de las hembras que corresponden a este estadio ocuparon de 23 a 33% de la cavidad peritoneal. El color del ovario fue rosado si la hembra estaba en su primer ciclo de gestación, y si la hembra ya había tenido una camada anterior, el ovario presentó un color blanco y las paredes ováricas fueron gruesas. El gonoporo estuvo cerrado y la zona fue bastante hundida. En una camada dada los embriones pudieron variar bastante en su grado de desarrollo. Los datos dieron evidencia de que no todos los huevos alcanzaron su máximo desarrollo al mismo tiempo, lo que indica que fueron fecundados en un rango de tiempo más o menos largo. El largo de estos embriones osciló de 2.7 a 4.0 mm., con un promedio de 3.5 mm. El diámetro del saco ventral tuvo un promedio de 2.3 mm. (rango 2.1 - 2.6). Dentro del saco ventral del embrión, se encontró que la parte posterior del tubo digestivo formó una expansión en forma de asa que ocupó aproximadamente un cuarto del espacio del saco ventral (Fig. 9,A). También se encontraron el corazón y un gran vaso sanguíneo que iba a

insertarse al lado ventral del saco ventral del embrión, ramificándose al insertarse en el saco. El saco ventral estaba irrigado por una vasta red de vasos sanguíneos, que se disponían como líneas que iban extendiéndose dorsalmente y paralelos entre si. En los embriones en donde ya estaban visibles los ojos, éstos no se habían dividido en dos porciones. En el cuerpo de los embriones no se observó la presencia de ningún cromatóforo, por lo que el embrión fue de color blanco. Las escamas no estaban presentes en ninguna región del cuerpo. De las aletas, solamente la caudal y la pectoral fueron visibles; las aletas anal y dorsal no estaban formadas aún. En algunas hembras que poseían embriones en este estadio, fueron encontrados embriones con un grado menor de desarrollo que el descrito. Algunos de estos embriones menos desarrollados se veían anormales; unos de estos embriones cuyo largo fue de 1.2 mm. no tenían ojos, sino que solo había una zona pigmentada deforme.

Los huevos in situ más desarrollados encontrados en los ovarios de las hembras que correspondían a este estadio, y medidos en base al grupo de huevos más grandes, tuvieron un diámetro promedio de 0.94 mm. (rango 0.70-1.22). En base al número de embriones, el diámetro promedio de los huevos in situ fue de 1.21 mm. (rango 0.75-2.13).

En la pared interna de estos ovarios se encontraron manchas de color café que al hacer cortes histológicos resultaron ser tanto cuerpos atréticos y embriones reabsorbidos, como folículos viejos en proceso de reabsorción. En el epitelio de la cavidad interna del ovario se encontraron espermatozoides.

Estadio 3. Los ovarios de este estadio no han experimentado mayor aumento, ya que ocuparon aproximadamente un 25% de la cavidad peritoneal. El color del ovario de las hembras que estaban en su primer ciclo de gestación fue de color rosado; en las hembras que no fue su primer ciclo de gestación, el ovario era blanco y de paredes gruesas. El gonoporo siempre estuvo cerrado. Los embriones alcanzaron un largo promedio de 6.9 mm. (rango 6.5-8.0). El asa de la parte posterior del tubo digestivo ocupó más o menos un tercio de la cavidad del saco ventral. Los vasos sanguíneos del saco ventral aún no se encontraron organizados en bulbos. Los ojos siguieron sin dividirse en dos porciones (Fig. 9,C). Los cromátóforos empezaron a hacerse presentes en la parte dorsal de la

cabeza del embrión, pero estaban bien escasos. Las escamas aún no se hicieron presentes. La aleta anal apenas empezó a hacerse visible, la aleta dorsal siguió sin formarse aún.

El grupo de huevos más desarrollados in situ tenía un diámetro promedio de 0.67 mm. (rango 0.61-0.71). En base al número de embriones de la camada presente, los huevos tuvieron un diámetro promedio de 0.86 mm. (rango 0.61-1.11). En los ovarios correspondientes a este estadio, también se encontraron cuerpos atréticos y folículos viejos que estaban siendo reabsorbidos.

Estadio 4. Los ovarios que estaban en este estadio ocuparon de 33 a 40% de la cavidad peritoneal. El color de los ovarios fue rosado transparente. El gonoporo siempre estuvo cerrado. En este estadio los embriones alcanzaron un largo corporal total promedio de 9.2 mm. (rango 9.1-11.0). El saco ventral tuvo un diámetro aproximado de 8.2 mm. (rango 7.9-8.5). El folículo que contenía a estos embriones tuvo un diámetro promedio de 11.2 mm. (rango 11.0-11.8). El asa del tubo digestivo ocupó aquí más o menos un medio de la cavidad del saco ventral. Los vasos sanguíneos del saco ventral empezaron a organizarse en bulbos; éstos empezaron a aparecer a cada cierto intervalo en los vasos sanguíneos. Los bulbos alcanzaron un diámetro promedio de 0.19 mm. (rango 0.13-0.25). Habían algunas regiones ventrales del saco ventral en donde todavía no se formaron los bulbos. La pigmentación fue más abundante que en el estadio anterior, ya que se notó desde la parte dorsal de la cabeza, extendiéndose hasta los opérculos. Algunos cromatóforos llegaron hasta la parte dorsal del cuerpo, siendo muy escasos en esta zona. Las escamas aún no se hicieron presentes. La aleta anal fue ahora más visible; la aleta dorsal apenas empezó a distinguirse.

El grupo de huevos in situ más desarrollados tuvo un diámetro promedio de 0.94 mm. (rango 0.74-1.14); con base al criterio del número de embriones presentes en la camada los huevos poseyeron un diámetro promedio de 1.00 mm. (rango 0.75-1.45).

Estadio 5. Los ovarios de las hembras que correspondían a este estadio ocuparon de un 33 a 50% de la cavidad peritoneal. El color de las gónadas fue de un color morado transparente; a través de las que fue posible ver los embriones. El gonoporo siempre estuvo cerrado y la zona del gonoporo hundida. El largo promedio de estos embriones fue de 12.8 mm. (rango

11.6-14.0). El saco ventral incrementó su diámetro medio hasta 8.7 mm. (rango 8.5-9.0). El folículo presentó un diámetro promedio de 11.9 mm. (rango 10.9-12.2). El asa del tubo digestivo se incrementó, ya que ahora ocupó aproximadamente dos tercios del espacio del saco ventral. Los bulbos del saco ventral tenían un diámetro medio de 0.23 mm. (rango 0.18-0.28) y tendían a ser más elevados o cilíndricos. En la parte dorsal del saco ventral los bulbos fueron más grandes y más separados unos de otros a lo largo del vaso sanguíneo (Fig. 9,A); los bulbos de la parte ventral estuvieron más apretados por estar más cerca unos de otros (Fig. 9,B). El ojo comenzó a dividirse en dos regiones. El iris comenzó a dividir la pupila en una región superior y otra inferior. La pigmentación del cuerpo siguió avanzando, ya que aquí los cromatóforos se extendieron dorsalmente hasta la región de la cola; lateralmente los cromatóforos eran escasos. Las escamas no se observaron en ninguna región del embrión. Todas las vísceras se vieron más desarrolladas. Todas las aletas fueron distinguibles, pero la aleta dorsal estuvo poco desarrollada.

El grupo de huevos más desarrollados in situ encontrados en éstos tuvo un diámetro promedio de 0.92 mm. (rango 0.71-1.58). En base al número de embriones presentes, los huevos más desarrollados in situ tuvieron un diámetro promedio de 1.05 mm. (rango 0.78-1.76).

En la pared interna del ovario de estas hembras se encontraron manchas de color café, que correspondieron a cuerpos atróxicos.

Estadio 6. Los ovarios que correspondían a este estadio ocuparon de 33 a 50% de la cavidad peritoneal. El color fue morado transparente y los embriones se veían a través de la pared del ovario. El gonoporo siempre estuvo cerrado y la zona un poco hundida. Los embriones en este estadio tuvieron una longitud corporal promedio de 16.1 mm. (rango 14.0-18.5). El saco ventral aumentó su diámetro promedio hasta 9.1 mm. (rango 8.7-9.9). El folículo que contuvo a cada embrión alcanzó un diámetro promedio de 14.2 mm. (rango 13.0-17.0). El asa del tubo digestivo siguió ocupando las dos terceras partes de la cavidad del saco ventral. Los bulbos del saco ventral ahora midieron 0.40 mm. de diámetro. Tanto los bulbos de la región dorsal como los de la región ventral del saco ventral fueron los más grandes. Los bulbos de la región media se vieron más pequeños y más apretados. La pupila del ojo continuó su estrangulamiento

para dividirse en dos regiones (Fig. 9,D). La pigmentación dorsal se extendió hasta la cola. Los cromatóforos se encontraron algo separados unos de otros, especialmente a los lados del embrión. Las escamas aún no se hicieron presentes. Ahora todas las aletas fueron bien visibles.

El grupo de huevos más desarrollados in situ encontrados en estos ovarios tuvo un diámetro promedio de 0.80 mm. (rango 0.28-0.98). En base al número de embriones presentes en la camada, los huevos más grandes in situ tuvieron un diámetro medio de 0.95 mm. (rango 0.30-1.53). En la pared interna de estos ovarios, se encontraron las manchas de color café.

Estadio 7. Los ovarios de las hembras que pertenecían a este estadio ocuparon de 40-80% de la cavidad peritoneal. El color de los ovarios fue morado transparente; a través de la pared del ovario eran visibles los embriones. El gonoporo estuvo cerrado. Los embriones aquí alcanzaron un largo corporal promedio de 28.0 mm. (rango 20.4-33.7) y el saco ventral aumentó su diámetro medio hasta 11.7 mm. (rango 7.5-14.3). Los folículos alcanzaron un diámetro promedio de 17.8 mm. (rango 14.9-22.7). En estos embriones el asa del tubo digestivo ocupó casi toda la cavidad del saco ventral. Los bulbos del saco ventral se encontraron más desarrollados, siempre los bulbos más grandes se encontraron en la región dorsal del saco ventral, cerca de la región de unión con la parte ventral del embrión. Los bulbos tuvieron un diámetro promedio de 0.45 mm. (rango 0.39-0.49). Las vísceras también se encontraron más desarrolladas. La pigmentación siguió extendiéndose por todo el cuerpo, pero los cromatóforos eran bastante separados unos de otros, principalmente en los lados del embrión. Los cromatóforos empezaron a hacerse presentes en las aletas. Los ojos continuaron su estrangulamiento, pero aún no se encontraron totalmente divididos en dos porciones (Fig. 9,E). Las escamas comenzaron a aparecer, pero solamente en la parte dorsal de la cabeza. Las aletas todas eran más desarrolladas.

El grupo de huevos más desarrollados in situ en este estadio tuvo un diámetro promedio de 0.80 mm. (rango 0.52-1.39). En base al número de embriones presentes, el diámetro promedio de los huevos in situ fue de 1.00 mm. (rango 0.66-1.76). En la pared interna de los ovarios que tenían embriones en este estadio, se encontraron las manchas de color café.

Estadio 8. Los ovarios que correspondían a este estadio ocuparon

de 40 hasta un 100% de la cavidad peritoneal y poseían un color morado transparente. Los embriones eran visibles a través del ovario. El gonoporo estuvo cerrado, pero se notó en la mayoría que la zona del gonoporo y el ano era un tanto abultada. Los embriones correspondientes a este estadio alcanzaron un largo corporal de 45.3 mm. (rango 31.0-56.5). El saco ventral tuvo un diámetro medio de 17.4 mm. (rango 14.8-19.7). Los folículos que contenían a los embriones correspondientes a este estadio alcanzaron un diámetro promedio de 22.2 mm. (rango 20.0-26.0). El asa del tubo digestivo alcanzó un gran desarrollo; ocupó la mayoría de la cavidad del saco ventral. Los bulbos aquí alcanzaron un diámetro medio de 0.55 mm. (rango 0.46-0.62). La pigmentación de los embriones fue completa. La pupila de los ojos se encontró totalmente dividida en una región superior y en otra inferior (Fig. 9,F). Las escamas se encontraron presentes en todo el cuerpo.

En estos ovarios, el grupo de huevos más desarrollados in situ alcanzó un diámetro promedio de 1.05 mm. (rango 0.59-1.59). Cuando los huevos in situ se midieron en base al número de embriones presentes en la camada, éstos alcanzaron un diámetro promedio de 1.12 mm. (rango 0.62-1.80). En la pared interna de estos ovarios siempre se encontraron las manchas de color café.

Estadio 9. Los ovarios pertenecientes a este estadio ocuparon de 66 a 100% de la cavidad peritoneal. El color de los ovarios fue morado transparente. El gonoporo siempre estuvo cerrado, pero la zona que comprendía el ano y el gonoporo siempre estuvo abultada. En este estadio los embriones alcanzaron un largo corporal promedio de 60.4 mm. (rango 58.3-63.5). El diámetro del saco ventral fue de 19.9 mm. (rango 15.7-21.7). Los folículos en este estadio alcanzaron un diámetro promedio de 40.0 mm. (rango 37.0-41.0). El asa del tubo digestivo fue más desarrollada. En el aspecto exterior estos embriones lucieron más o menos similares a los embriones del estadio 8, pero las dimensiones del saco ventral, largo del embrión y diámetro de los bulbos todavía siguieron incrementándose. Los bulbos vasculares alcanzaron un diámetro promedio de 0.62 mm. (rango 0.47-0.74).

El grupo de huevos más desarrollados in situ encontrados aquí tuvo un diámetro medio de 1.59 mm. (rango 1.44-1.81). En base al número de

embriones presentes, los huevos más grandes (in situ) tuvieron un diámetro promedio de 1.74 mm. (rango 1.61-2.04).

La Figura 10 resume gráficamente los cambios en longitud corporal, diámetro del saco ventral y diámetro de los bulbos vasculares, con el estadio del embrión.

### C. Ausencia de superfecundación.

Normalmente todos los embriones encontrados en un mismo ovario constituyeron una misma camada, es decir, que estuvieron en el mismo grado de desarrollo. En los estadios más tempranos del desarrollo embrionario fue posible encontrar más desarrollo desigual en los embriones. Algunas veces se encontraron estadios de blástula y huevos listos para ser fecundados en el mismo ovario. Pero conforme el desarrollo embrionario avanzaba, las diferencias en el desarrollo disminuyeron. Nunca se encontraron dos camadas de embriones en distinto grado de desarrollo en el mismo ovario.

Los huevos que constituirían la próxima camada no empezaron a desarrollarse, sino hasta en las etapas finales del desarrollo embrionario. No fue sino hasta a partir del estadio 8 cuando los huevos se desarrollaron rápidamente. En la Figura 11 puede verse gráficamente que al final del estadio 9 los huevos (in situ) habían alcanzado un diámetro promedio de 1.59 mm. (rango 1.44-1.81). En el estadio 8 los huevos tuvieron un diámetro promedio de 1.05 mm. con un amplio rango de variación de 0.59 a 1.59 mm. Otro dato interesante que muestra la Figura 11 es que en el estadio 1 se encontraron huevos con un diámetro relativamente grande. El diámetro promedio de los huevos (in situ) listos para ser fecundados fue de 2.07 mm. (rango 1.60-2.79). El número que constituirían la próxima camada generalmente fue mayor, o a lo sumo igual al número de embriones presentes en la camada.

El gonoporo no se encontró abierto, sino hasta después del desove en hembras que solo poseían folículos vacíos y huevos fecundados o listos para ser fecundados. En las hembras "vírgenes" que poseían huevos con espermatozoides en el "delle" y en el epitelio de la cavidad ovárica, no se encontró nunca que el gonoporo estuviera abierto.

Se encontraron espermatozoides en el epitelio de la cavidad del ovario en hembras que poseían embriones en los estadios 1 y 7. Los espermatozoides

estaban aún en el interior del "delle" de huevos presentes en un ovario del estadio 7. Esto parece indicar que los espermatozoides se almacenan, ya que el gonoporo estaba cerrado.

## II. Machos

### A. Descripción de los testículos.

1. Anatomía. En especímenes maduros sexualmente se localizaron en la región posterior de la cavidad peritoneal un par de testículos alargados. En machos inmaduros los testículos llegaron a ocupar hasta un 33% de la cavidad peritoneal, fueron muy delgados y de un aspecto transparente a blanco rosado. Las gónadas de los machos maduros ocuparon de 33 hasta 83% de la cavidad peritoneal, y fueron de un color blanco lechoso. En algunas ocasiones los testículos presentaron pliegues, ocasionando que la parte anterior de los testículos se doblara posteriormente. De la región dorsal posterior de cada testículo emergió un conducto espermático; estos conductos espermáticos desembocaron en una estructura común en forma de saco. Esta vesícula tuvo una conexión con la aleta anal que estuvo modificada en un gonopodio.

2. Histología. Los testículos de A. dowi fueron del mismo tipo que presenta la familia Poeciliidae (Hear, 1969). En los testículos de A. dowi el conducto espermático o vaso deferente se ramifica en cortos tubos o vasos eferentes para formar un complejo sistema de drenaje, situado en el centro del testículo (Fig. 12). En la periferia de las gónadas se localizaron sitios celulares (acinos) conteniendo las células espermátogoniales. A medida que se avanza hacia el sistema de drenaje se van encontrando los diversos estadios de la espermátogénesis (Hear, 1969) (Fig. 12).

Externamente, los testículos estuvieron cubiertos por un epitelio plano simple. Inmediatamente por debajo de éste se encontró una capa de tejido conectivo fibroso. Después de esta capa de tejido conectivo fibroso se encontraron las células espermátogoniales bases o madres (Fig. 12). Estas espermátogonias primarias fueron las más grandes y poseyeron un núcleo con un diámetro promedio de 5.9 micras (rango 5.5-7.5). Estas espermátogonias primarias originaban por mitosis a varias generaciones de espermátogonias secundarias, que iban localizando más hacia el centro del

testículo y se agrupaban en sitios de maduración (Fig. 12). Las espermatogonias secundarias tuvieron un núcleo con un diámetro promedio de 4.4 micras (rango 3.7-4.8). El núcleo de las espermatogonias secundarias se tiñó con mayor intensidad y fue posible encontrar figuras mitóticas.

Más hacia el centro del testículo se encontraron los sitios de maduración conteniendo espermatoцитos primarios. Los espermatoцитos primarios fueron distinguidos según los criterios de Turner (1919). Según estos criterios el entrecruzamiento de cromosomas (synezeisis) marca la conversión de espermatogonias secundarias hasta espermatoцитos primarios. Esta synezeisis le dió a la cromatina nuclear de los espermatoцитos primarios la forma de media luna (Fig. 12). El núcleo de los espermatoцитos primarios presentó un diámetro promedio de 2.6 micras (rango 2.6-2.7). Las células tentativamente identificadas como espermatoцитos secundarios presentaron un diámetro promedio del núcleo de 1.8 micras (rango 1.7-2.0). Las espermátides poseyeron la cromatina bien compacta, lo que hacía que el núcleo se viera más pigmentado. El diámetro promedio del núcleo de las espermátides fue de 1.5 micras (rango 1.3-1.9). Los espermatozoides se encontraron contenidos dentro de los espermátóforos, que se encontraban separados unos de otros por una fina capa de tejido conectivo (Fig. 13). La cabeza de los espermatozoides fue alargada y se encontraba orientada hacia la periferia del espermátóforo. La cola del espermatozoide se encontró ubicada hacia el centro del espermátóforo. Las dimensiones de la cabeza de los espermatozoides fueron de 2.8 a 3.5 micras de largo y de 1.2 a 1.4 micras de ancho.

Se encontró que algunos espermátóforos estaban siendo descargados en los conductos eferentes. El conducto deferente tuvo una posición central en el testículo (Fig. 14). Tanto los conductos eferentes como los deferentes poseyeron un epitelio columnar con algunas células glandulares.

Entre los acinos de maduración y preferentemente entre los acinos que contuvieron los primeros estadios de la espermatogénesis, se encontraron agrupaciones de células con el núcleo hipercondensado por hematoxilina. Los grupos de células estaban constituidos por unas 5 a 9 células. El núcleo de estas células fue esférico y su diámetro medio fue de 2.3 micras (rango 1.7-3.5) (Fig. 15). En preparaciones histológicas teñidas con PAS, estos grupos de células resultaron ser PAS-positivas. Estos grupos de células

son los únicos que podrían tomarse como equivalentes de las células intersticiales. Estos grupos de células fueron más grandes y más frecuentes de encontrar en los testículos de los machos que estaban alcanzando madurez sexual que en los machos que ya habían alcanzado la madurez sexual.

#### B. Tamaño con madurez.

Se encontró que el largo requerido para alcanzar la madurez sexual en los machos de A. dowi fue de aproximadamente 14.4 cm. En machos cuyo largo total no sobrepasaba los 12.2 cm. y cuyo índice gonosomático oscilaba de 0.01 a 0.02, nunca se encontraron estadios más avanzados de espermatogonias secundarias. En estos machos no se observaron pigmentos rojos en las aletas pélvicas. La aleta anal apenas empezaba a desarrollarse en un órgano intronitente. En estos peces las gónadas fueron como dos hilos muy delgados y de aspecto transparente.

Los machos que alcanzaron un largo corporal total de 13.6 a 14.3 cm., y que tuvieron un índice gonosomático que osciló de 0.02 a 0.05, empezaron a mostrar manifestaciones de madurez sexual. Las gónadas de estos machos ocupaban hasta un 33% de la cavidad peritoneal. En los cortes histológicos de las gónadas de estos machos, solamente se encontraron células cuyo estadio más avanzado correspondió al de espermatídes (Fig. 15). No se encontró en ellos espermatóforos conteniendo espermatozoides. En estos machos el órgano intronitente ya estaba bien desarrollado, y generalmente ya había algún pigmento rojo en las aletas pélvicas. El color de las gónadas de estos machos fue blanco rosado.

Generalmente se encontró madurez sexual solamente en los machos que alcanzaron los 14.4 cm. y más de largo corporal. El mayor largo corporal encontrado para machos maduros fue de 23.4 cm. En los machos que alcanzaron los 14.4 cm. y más de largo corporal se encontraron pigmentos rojos en las aletas pélvicas, y la aleta anal estaba completamente modificada en un órgano intronitente. El índice gonosomático de estos machos maduros osciló de 0.05 a 7.28 (el I.G.S. más grande). Las gónadas de los machos maduros ocuparon desde 33 hasta un 99% de la cavidad peritoneal; la coloración de estas gónadas fue blanco lechoso. Histológicamente se encontró que a medida que se avanzaba de la periferia hacia la luz del testículo, era posible encontrar acinos con los diferentes estadios

en la maduración de la espermatogénesis (Fig. 12). Los espermátóforos llenos de espermatozoides fueron muy abundantes hacia el centro del testículo.

Se encontró que generalmente el índice gonosomático aumentó con el aumento en el largo corporal.

### III. Derechos e Izquierdos

En un total de 126 peces (41 machos y 85 hembras) se anotó si eran funcionalmente derechos o izquierdos para la copulación. De las 85 hembras el 55.3% resultó ser derecho y 44.7% fue izquierdo. De los 41 machos 56.1% fue derecho y 43.9% izquierdo.

## DISCUSION

Las descripciones de los cambios histológicos que se dan en los ovarios de las hembras de Anableps anableps en diferentes estadios de la reproducción fueron hechas por Wyman (1854) y Turner (1938). El arreglo general de los tejidos del ovario no cambió grandamente en los primeros estadios de gestación; en el estroma se incrementó la cantidad de espacios tisulares, además se rediferenciaron las células que constituirían las vellosidades del tejido folicular (Turner, 1938). En las últimas etapas de gestación, los cambios más importantes en el ovario son: el adelgazamiento de las paredes del ovario; una reducción aparente del estroma ovárico como una consecuencia del crecimiento de embriones y folículos; una gran rediferenciación de las células del estroma, de tal manera que solo queda tejido conectivo para soportar los vasos sanguíneos; la diferenciación y crecimiento de los complejos folículos con sus vellosidades foliculares (Turner, 1938). Los cambios en el tamaño de los ovarios en las hembras maduras son debidos, fundamentalmente, no a la variación en el tamaño corporal de las hembras, sino que a los distintos estadios de la gestación. Así, se encontró que el I.G.S. de las hembras tuvo una gran correlación con el estadio de gestación, variando de 0.04 en el estadio 0, hasta 38.59 en el estadio 9.

En los ovarios en que ha ocurrido el desove, se experimenta una rápida disminución en su tamaño. Sin embargo algunos cambios que se dan en el ovario con la gestación son irreversibles, ya que al igual de lo encontrado

por Turner (1938), estos ovarios siempre fueron de paredes más gruesas que las de peces vírgenes, y de color blanco opaco.

La madurez sexual en las hembras es alcanzada cuando éstas tienen un largo corporal que oscila de 14.8 a 15.4 cm. Turner (1938) encontró que en A. anableps, las hembras alcanzan la madurez sexual con menor longitud corporal que en A. dowi, ya que encontró hembras maduras a los 12.0 cm. de largo. Las hembras con una longitud de 12.8 cm. ya estaban en gestación (Turner, 1938).

Indudablemente el "delle" es, como afirman Bailey (1933) y Turner (1938), la estructura a través de la cual los espermatozoides llegan a fertilizar al huevo, ya que el "delle" es un tubo de células epiteliales que comunica la cavidad interna del ovario con las células foliculares. Según Bailey (1933), existe en el fondo del "delle" un poro por el cual pasan los espermatozoides al huevo.

El crecimiento y desarrollo de los huevos en A. dowi es bastante similar al descrito por Lambert (1970a) para Poecilia reticulata y por Bailey (1933) para Xiphophorus helleri, ambos peces vivíparos del mismo orden como Anableps. Sin embargo hay diferencias importantes. Los huevos listos para ser fecundados en A. dowi son más pequeños que los huevos en las mismas condiciones en P. reticulata. En A. dowi los huevos son fecundados cuando tienen un diámetro promedio de 0.30 mm. (rango 0.19-0.33); en P. reticulata, en cambio, son fecundados cuando tienen un diámetro de 1.5 a 1.8 mm. Los huevos de A. dowi tienen una diferencia fundamental con los huevos de P. reticulata y X. helleri. En A. dowi, los huevos maduros no tienen mucha yema y la cápsula de tejido conectivo es más gruesa que en las dos especies arriba mencionadas. En A. dowi también se presenta un hecho que no ocurre en ningún otro género. En los huevos listos para ser fecundados, se observa que el estroma circundante a las células foliculares se diferencia en células con forma aniboide, que Turner (1938) también encontró en A. anableps, y que según él son las células que constituyen las vellosidades del tejido folicular. Las células foliculares en estos huevos listos para ser fecundados eran una capa definida de células columnares. En otros huevos se veían estas células foliculares desorganizadas y muy cromáticas. Podría ser que este hecho señale que ya ha ocurrido la fecundación del huevo, y que posterior-

mente a ésto, el huevo se separa de las células foliculares, hecho que según Bailey (1933) y Turner (1938) señala la fecundación del huevo. El aspecto picnótico de los núcleos de las células foliculares anterior a su desorganización podría ser una manifestación de su activa síntesis de esteroides, como encontró Lambert (1970b) en las células foliculares de Poecilia reticulata.

Las hembras que poseen huevos listos para ser fecundados deben tener un tiempo en el cual el gonoporo está abierto para permitir la copulación. Posiblemente éste se cierra rápidamente, pues nunca se encontraron hembras en estas etapas con el gonoporo abierto. Turner (1938) señala que los huevos son fecundados al mismo tiempo. Sin embargo en este trabajo fueron encontrados en el mismo ovario: huevos listos para ser fecundados, huevos fecundados y embriones en estadio de blástula. Este hecho indica que el tiempo de fecundación es bastante amplio. Esto explica también el hecho de haber encontrado que en los estadios de gestación, los embriones difieren un poco en su grado de desarrollo.

Turner (1938) sugiere que un número grande de huevos alcanza la madurez, pero que no todos son fertilizados, y que los huevos que no son fertilizados son reabsorbidos. Además Turner en este mismo estudio sugiere que todos los huevos fecundados se desarrollan y que originarían embriones que alcanzarán a nacer. En este trabajo se encontraron huevos que estaban siendo reabsorbidos o cuerpos atréticos<sup>1/</sup>. Pero además de estos cuerpos atréticos, se encontró que existían embriones que estaban siendo reabsorbidos, lo que indica que no todos los huevos que son fecundados nacerán, sino que algunos serán reabsorbidos. Turner (1938) también sugiere que los folículos viejos son expulsados del ovario, pero en el presente estudio se encontró que habían folículos vacíos dentro del ovario aún cuando el gonoporo ya estaba cerrado y el ovario estaba en otro ciclo de gestación. Estos folículos vacíos tenían el aspecto de estar siendo reabsorbidos. Todo esto sugiere que los folículos no son expulsados, sino que son reabsorbidos. Las manchas de color café que se encontraron en las paredes del ovario representan tanto cuerpos atréticos, embriones anormales que

<sup>1/</sup> Lambert (1970a) sugiere que se llaman cuerpos atréticos por no tener las anteriores funciones endócrinas que otros autores les atribuían.

son reabsorbidos y folículos viejos que están siendo reabsorbidos. El hecho de encontrar embriones reabsorbidos es similar a lo encontrado por Barney y Mason (1921) en Gambusia affinis.

Parece ser que los embriones de A. dowi alcanzan una mayor longitud corporal durante el período de gestación que la que alcanzan los embriones de A. anableps y A. microlepis. Turner (1940) reportó que la longitud de los embriones de A. anableps listos para nacer fue de 45 mm. y para los embriones de A. dowi fue de 55 mm. Estas longitudes fueron sobrepasadas por los embriones que sirvieron para el presente trabajo, ya que en el estadio 9, los embriones tuvieron una longitud promedio de 60.4 mm. Este estadio no representa al embrión listo para nacer, ya que el saco ventral y los bulbos vasculares no dieron indicios de haber comenzado a ser reabsorbidos, hecho que caracterizó a los estadios finales de los embriones reportados por Turner (1938, 1940). Schwassmann (1965) reporta que los embriones de A. microlepis nacen de unos 50-60 mm. de largo. Los peces más pequeños que se colectaron midieron 86.0 mm. Todo esto indica que los embriones de A. dowi tienen un mayor tamaño al nacer que los embriones de las otras dos especies del género.

Turner (1940) reportó que en A. anableps la expansión de la parte media del intestino ya se había desarrollado cuando el embrión tuvo 11 mm. Cuando el embrión tuvo 21 mm. de largo el asa del tubo digestivo llenó toda la cavidad del saco ventral. Para A. dowi Turner (1940) encontró que la expansión de la parte posterior del intestino ya había comenzado cuando el embrión tuvo 25 mm. En el presente estudio, el asa de la parte posterior del intestino se vió por primera vez en el estadio 1, cuando el embrión midió apenas 4.0 mm. de largo. Cuando el embrión alcanzó 24.1 mm., el asa del tubo digestivo ocupó casi toda la cavidad del saco ventral; el asa se mantuvo hasta el estadio 9.

Turner (1938) encontró que para A. anableps los bulbos vasculares aparecieron cuando el embrión midió 11 mm., y alcanzaron el diámetro máximo de 0.5 mm. cuando el embrión alcanzó una longitud de 30 mm. Los datos del presente trabajo mostraron que en los embriones de A. dowi, los bulbos aparecieron cuando el embrión midió 9.4 mm. de largo, y alcanzaron su diámetro medio máximo de 0.64 mm. cuando el embrión tuvo una longitud de 61.0 mm. Turner (1938) también reportó que los embriones de A. anableps

alcanzaron un máximo desarrollo del saco ventral (10 mm.) cuando el embrión tuvo 19 mm. de largo. En el presente estudio el saco ventral de los embriones de A. dowi presentó un diámetro máximo de 21.6 mm. cuando el embrión midió 61.0 mm.

Wyman (1854) reportó que encontró embriones en la cavidad del ovario de A. anableps. El describió que estos embriones ya habían reabsorbido el saco ventral y el intestino había tomado su forma definitiva. De esto Wyman concluyó que los embriones alcanzaron su estadio final en la cavidad del ovario. Pero Turner (1938) no encontró embriones en la cavidad del ovario de A. anableps, sino que siempre los encontró encerrados dentro del folículo especializado aunque los embriones ya tenían reabsorbido el saco ventral, es decir, que estaban en el mismo estadio que los embriones que encontró Wyman (1854) en la cavidad del ovario.

En la colección de peces que sirvió para este trabajo tampoco fueron encontrados embriones en la cavidad del ovario. Los embriones siempre estuvieron contenidos dentro de su folículo. Pero los embriones nunca presentaron un estadio en el cual el saco ventral hubiera sido reabsorbido.

Turner (1937) encontró que en algunos miembros de la familia Poeciliidae, se daban casos de encontrar dos camadas de embriones de diferente edad en un mismo ovario y algunos casos extremos presentaron hasta 6 camadas de embriones en diferentes edades. Esta superfetación no parece existir en A. dowi, ya que nunca se encontraron dos distintas camadas de embriones normales en el mismo ovario. La condición indispensable para que ocurra la superfetación es de que los huevos que constituirán la próxima camada sean fertilizados cuando aún no ha nacido la primera camada de embriones.

En este estudio se encontró que el diámetro promedio de los huevos (in situ) listos para ser fecundados era de 2.07 mm. (rango 1.60-2.79). También se encontró que desde el estadio 8 los huevos empiezan a tener un rápido crecimiento, de tal manera que ya en el estadio 9 hay huevos que han alcanzado el diámetro de los huevos listos para ser fecundados. Así en el estadio 9, cuando se utilizó el criterio del grupo de huevos más grandes, habían huevos (in situ) que midieron hasta 1.81 mm. y esta

medida está dentro del rango de variación del diámetro de los huevos listos para ser fecundados; igual situación ocurrió cuando los huevos se midieron en base al número de embriones presentes. En este último caso todo el rango de variación del diámetro de los huevos está dentro del rango de variación del diámetro de los huevos listos para ser fecundados. Los dos criterios que se utilizaron para obtener el diámetro de los huevos más desarrollados se determinaron en base a que algunas veces era difícil tener una demarcación definida en cuanto al diámetro de los huevos que se tomarían en cuenta. Sin embargo, casi siempre las hembras con mayor longitud corporal presentaron un mayor número de embriones. Debido a esto se optó tomar los dos criterios para tener mayor seguridad de si los huevos alcanzaban el diámetro requerido para su fertilización antes o después del nacimiento de los embriones.

Además de haber encontrado en el estadio 9 huevos con el diámetro requerido para la fertilización, algunos de estos huevos tenían espermatozoides, aparentemente normales, dentro del "delle". No obstante todos estos hechos, los huevos no parecían estar fecundados, ya que no se había formado el espacio folicular; hecho que procede después de la fertilización (Bailey, 1933; Turner, 1938). Posiblemente la fertilización (debido a que ya hay espermatozoides dentro del "delle" de estos huevos) de estos huevos está controlada de otra manera. Podría ser que el poro del que habla Bailey (1933) que está presente en el fondo del "delle", sea en último caso el que controla el acceso de los espermatozoides al huevo para que ocurra la fertilización.

El hecho de que no se encontrara abierto el gonoporo en las hembras "vírgenes" que ya poseían huevos con espermatozoides en el "delle" sugiere que el gonoporo está abierto solo durante un corto período de tiempo al alcanzar la madurez sexual. El gonoporo permanece cerrado durante todo el período de gestación, volviendo a abrirse nuevamente con el nacimiento de los embriones. Este hecho también sugiere que los espermatozoides son almacenados en el epitelio de la cavidad del ovario de *A. dowi*. Posiblemente los espermatozoides sobreviven en el ovario para fertilizar varios grupos de huevos al igual que lo encontrado para la familia Poeciliidae (Turner, 1938). Aunque esto no quita la posibilidad de que siempre sean inyectados nuevos espermatozoides al abrirse el gonoporo.

Los testículos de A. dowi presentaron un arreglo del tipo llamado acinar. Este arreglo de los testículos se caracteriza por que los vasos eferentes que se originan de los conductos espermáticos son muy cortos y ramificados (Hoar, 1969). Las células espermátogonias estuvieron solo en la periferia de los testículos, de tal manera que a medida que se avanzó hacia los conductos espermáticos, se encontraron los diversos estadios de maduración de la espermatogénesis. Este arreglo acinar en los testículos es característico de todos los ciprinodóntidos (Hann, 1927). El otro tipo de arreglo en los testículos de la mayoría de teleósteos estudiados es el tipo tubular que han reportado Matthews (1938) para Fundulus heteroclitus, de Vlaming (1972) para Gillichthys mirabilis, Mosser (1967) para Sebastes paucispinis, y Hyder (1969) para Tilapia sp.

Los grupos de células hipercromáticas por hematoxilina encontrados entre los sitios de maduración en los testículos de A. dowi son similares a las células intersticiales encontrados por de Vlaming (1972) en Gillichthys mirabilis y por Kallman y Schreibrnan (1973) en Xiphophorus maculatus. El hecho de que en machos que estaban alcanzando la madurez sexual se hayan encontrado con mayor facilidad las células intersticiales, y que además éstas hayan tenido un núcleo de mayor tamaño que en los machos que ya habían alcanzado la madurez indica una función endócrina para estas células en la espermatogénesis.

Wyman (1854) cita en su trabajo que Cuvier y Valenciennes (1846) encontraron en A. gronovii los caracteres sexuales externos en un macho que midió 5.7 cm. de largo. En el presente estudio solo se empezaron a notar los caracteres sexuales externos de los machos cuando éstos tuvieron una longitud corporal de 11.0 cm., mientras que de 12.2 cm. ya tenían bien visibles estos caracteres.

Parece ser que de las tres especies del género Anableps, es A. dowi la que alcanza una mayor longitud. Para las hembras maduras de A. anableps, Wyman (1854) es el que reporta la mayor longitud corporal de 25.4 cm. Schwassmann (1965) reporta que en A. microlepis las hembras adultas alcanzan hasta 25 cm. de longitud, y que los machos maduros no alcanzan más de 15 cm. En el presente estudio la mayor longitud corporal para hembras maduras de A. dowi fue de 35.0 cm. y para machos

maduros la mayor longitud corporal encontrada fue de 23.4 cm.

Garman (1895) encontró que la aleta anal de A. anableps, que está modificada en un órgano intromitente, estaba más adaptada para tener una moción hacia los lados que verticalmente. Comparando el órgano intromitente en varios machos Garman encontró que éste podía tener una moción hacia la izquierda o hacia la derecha. Las hembras por su parte también podían ser derechas o izquierdas, ya que el gonoporo estaba cubierto por una escama o forícula que abría hacia la izquierda en hembras izquierdas o hacia la derecha en hembras derechas.

En el material estudiado por Garman (1895), las tres quintas partes de los machos estudiados fueron derechos y las dos quintas partes fueron izquierdos. En las hembras él encontró que existía la misma proporción pero con los números invertidos, es decir, dos quintas partes de ellas eran derechas y las otras tres quintas partes izquierdas. Estos hechos llevaron a Garman a concluir que la copulación se realizaba cuando los peces nadan lado a lado y que la copulación se realizaba solo entre un macho derecho y una hembra izquierda, y viceversa.

En el presente trabajo también se encontró que el gonopodio de los machos estaba adaptado para tener una movilidad hacia la izquierda o hacia la derecha y que la escama que recubría el gonoporo de las hembras podría abrirse hacia la izquierda o hacia la derecha. Las proporciones, de machos izquierdos con hembras derechas y viceversa, que se encontraron en la población de peces estudiados no fueron complementarias, ya que 55.3% fueron hembras derechas y 43.9% fueron machos izquierdos, 56.1% fueron machos derechos y 44.7% fueron hembras izquierdas. Posiblemente esta falta de complementación en las proporciones se deba solo al bajo número de la muestra. Tal vez con una muestra más grande las proporciones tenderían a ser complementarias al igual de lo encontrado por Garman (1895). En todo caso, el hecho selectivo de la copulación puede tener una significación evolutiva en las poblaciones de estos peces, ya que las proporciones no complementarias de machos izquierdos con hembras derechas en una población, y viceversa, traería una menor potencialidad reproductiva en estas poblaciones que en otra población en la que las proporciones son más complementarias.

## LITERATURA CITADA

- Bailey, R. J. 1933. The ovarian cycle in the viviparous teleost Xiphophorus helleri. Biol. Bull. 64:206-225.
- Barney, R. L. y B. J. Anson. 1921. The seasonal abundance of the mosquito-destroying top-minnow, Gambusia affinis, especially in relation to fecundity. Anat. Rec. 22:317-335.
- Cuvier y Valenciennes. 1846. Hist. Nat. des Poissons. T. XVIII, p. 2-5, París.
- Davenport, H. A. 1960. Histological and Histochemical Technics. W. B. Saunders Company, Philadelphia. 401 pp.
- de Vlaming, V. L. 1972. Reproductive cycling in the estuarine gobiid fish Gillichthys mirabilis. Copeia. 1972:228-291.
- Garnan, S. 1895. Sexual rights and lefts. Amer. Nat. 29:1012-1014.
- \_\_\_\_\_. 1896. Cross fertilization and sexual rights and lefts among vertebrates. Amer. Nat. 30:232.
- Hann, H. W. 1927. The history of the germ cells of Cottus bairdii Girard. J. Morph. 43:427-497.
- Hoar, W. S. 1969. Reproduction. En W. S. Hoar y D. J. Randall (Eds.), Fish Physiology, Vol. III, pp. 1-72, Academic Press, New York.
- Humason, G. L. 1972. Animal Tissue Techniques. 3a. Edic. I. H. Freeman and Company, San Francisco. 641 pp.
- Hyder, M. 1969. Histological studies on the testis of Tilapia leucostica and other species of the genus Tilapia (Pisces:Teleostei). Trans. Amer. Microsc. Soc. 88:211-231.
- Kallman, K. D. y M. P. Schreibman. 1973. A sex-linked gene controlling gonadotrop differentiation and its significance in determining the age of sexual maturation and size of the platyfish, Xiphophorus maculatus. Gen. Comp. Endocrinol. 21:287-304.
- Larbert, J. G. D. 1970a. The ovary of the guppy, Poecilia reticulata. Atretic follicle, a corpus atreticum or a corpus luteum praeovulationis. Z. Zellforsch. 107:54-57.
- \_\_\_\_\_. 1970b. The ovary of the guppy, Poecilia reticulata. The granulosa cells as sites of steroid biosynthesis. Gen. Comp. Endocrinol. 15:464-476.
- Matthews, S. A. 1938. The seasonal cycle in the gonads of Fundulus. Biol. Bull. 75:66-71.

- Moser, H. G. 1967. Seasonal histological changes in the gonads of Sebastodes paucispinis Ayres, an ovoviviparous teleost (Family Scorpaenidae). *J. Morph.* 123:329-354.
- Schwassmann, H. O. 1967. Orientation of amazonian fishes to the equatorial sun. *En* H. Lent (Ed.), *Atas do Simposio sobre a Biota Amazonica*. Vol. III, pp. 201-220.
- \_\_\_\_\_ y L. Kruger. 1965. Experimental analysis of the visual system of the four-eyed fish Anableps microlepis. *Vision Res.* 5:269-281.
- Turner, C. L. 1919. The seasonal cycle in the spermary of the perch. *J. Morph.* 32:681-711.
- \_\_\_\_\_. 1937. Reproductive cycles and superfetation in poeciliid fishes. *Biol. Bull.* 72:145-164.
- \_\_\_\_\_. 1938. Adaptations for viviparity in embryos and ovary of Anableps anableps. *J. Morph.* 62:323-349.
- \_\_\_\_\_. 1940. Follicular pseudoplacenta and gut modifications in anablepid fishes. *J. Morph.* 67:91-101.
- Villa, J. 1971. Sinopsis de los peces de Nicaragua. Guía para la identificación de las especies de agua dulce. 3a. Edic. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Depto. de Biología.
- Wyman, J. 1854. Observations on the development of Anableps cronovii, (Cuv. and Val.). *J. Best. Soc. Nat. Hist.* 6:432-443.

Figura 1. Corte transversal por el ovario de una hembra inmadura (estadio 0) del cuatro-ojos, Anableps dowi. Se muestran la capa de músculo liso (m), el estrom (e), la luz (l), un huevo joven (h), y un "delle" (d).

Figura 2. Huevo (h) listo para ser fecundado de una hembra madura (estadio 1) de A. dowi. Se muestra el "delle" (d) conteniendo en su interior espermatozoides (z).

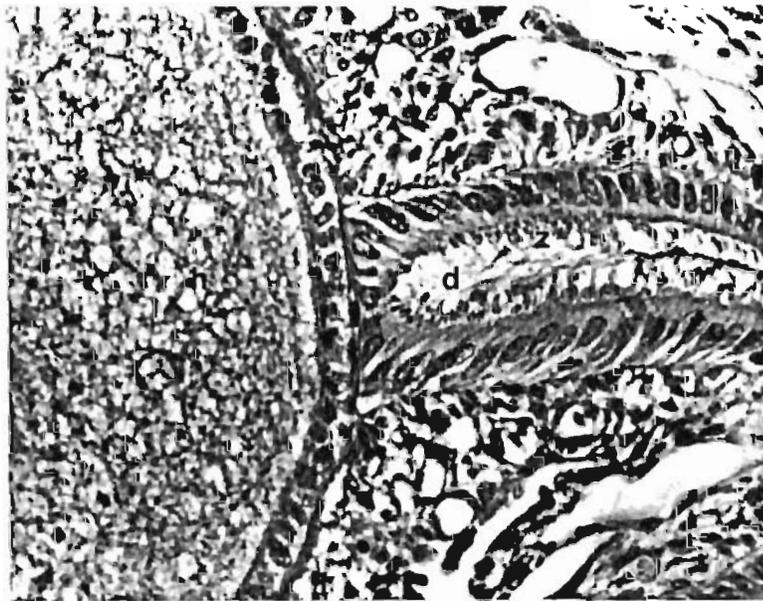


Figura 3. Dos oocitos en el ovario de una hembra de A. dowi en el estadio 0. Se muestran las células foliculares (cf).

Figura 4. Huevo fertilizado (h) de una hembra de A. dowi en el estadio 1. Se muestran las células foliculares (cf) degenerando y el espacio folicular (ef).

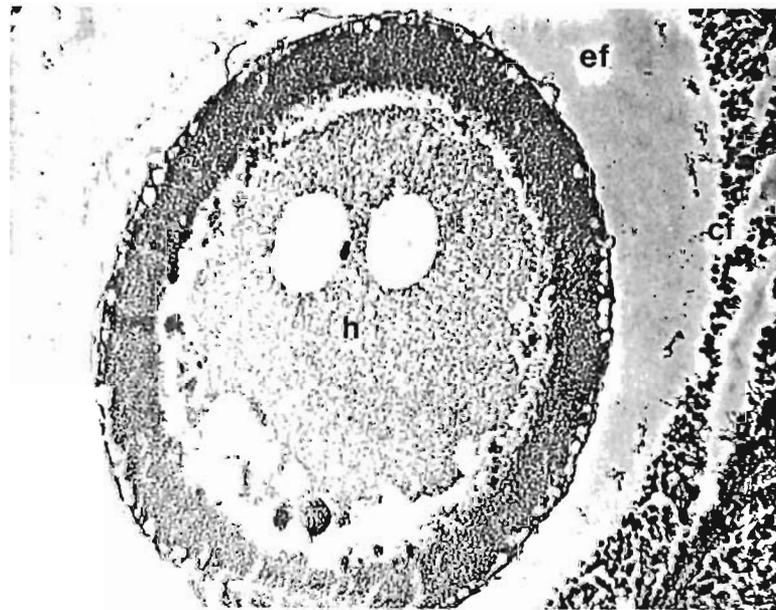


Figura 5. Embrión en la etapa de blástula (b) del ovario de una hembra de A. dowi en el estadio 1. Yema (y).

Figura 6. Corte transversal por el ovario de una hembra de A. dowi en el estadio 1. Se muestran un cuerpo atrético (c) y un huevo normal (h).

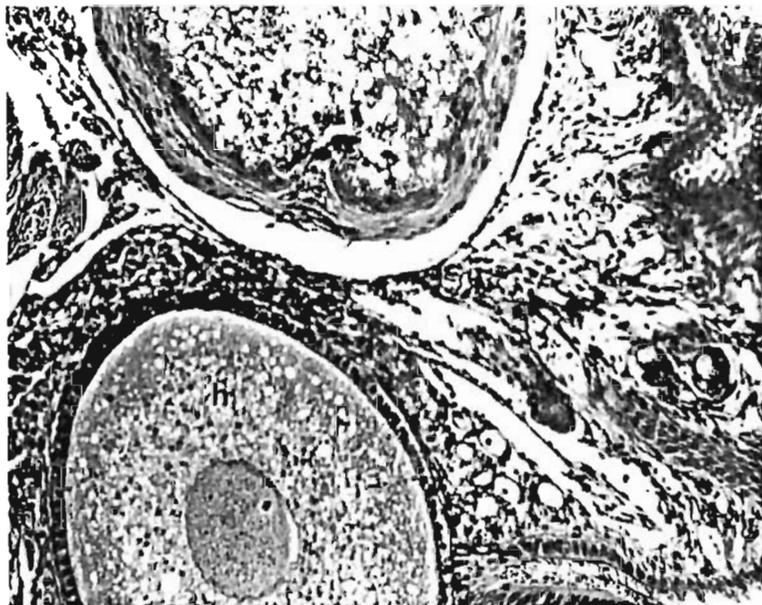
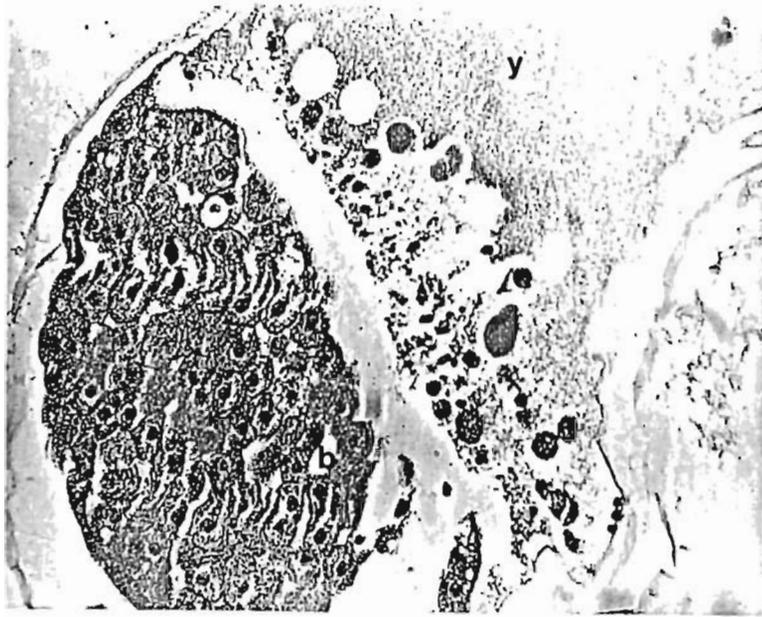


Figura 7. Folículo viejo que está siendo reabsorbido, encontrado en el ovario de una hembra de A. dowi en el estadio 6.

Figura 8. Embrión reabsorbido (en) en el ovario de una hembra de A. dowi en el estadio 1. Espacio folicular (ef).

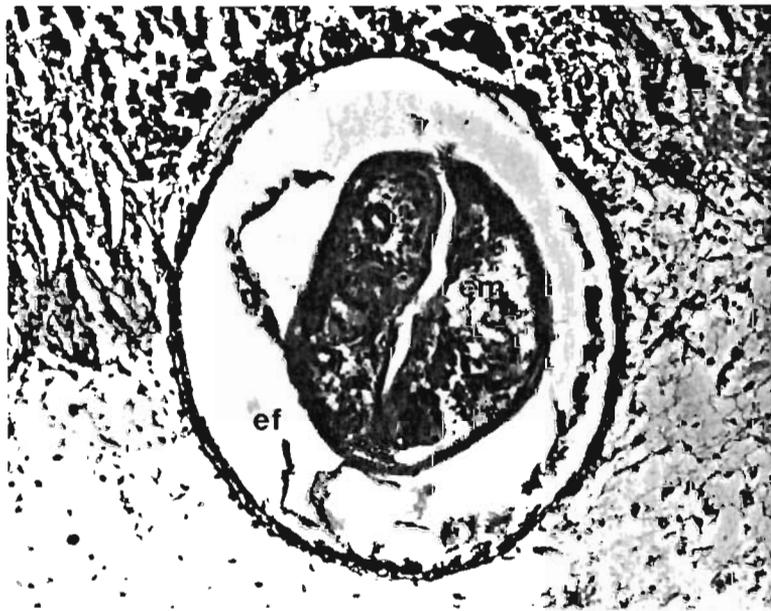
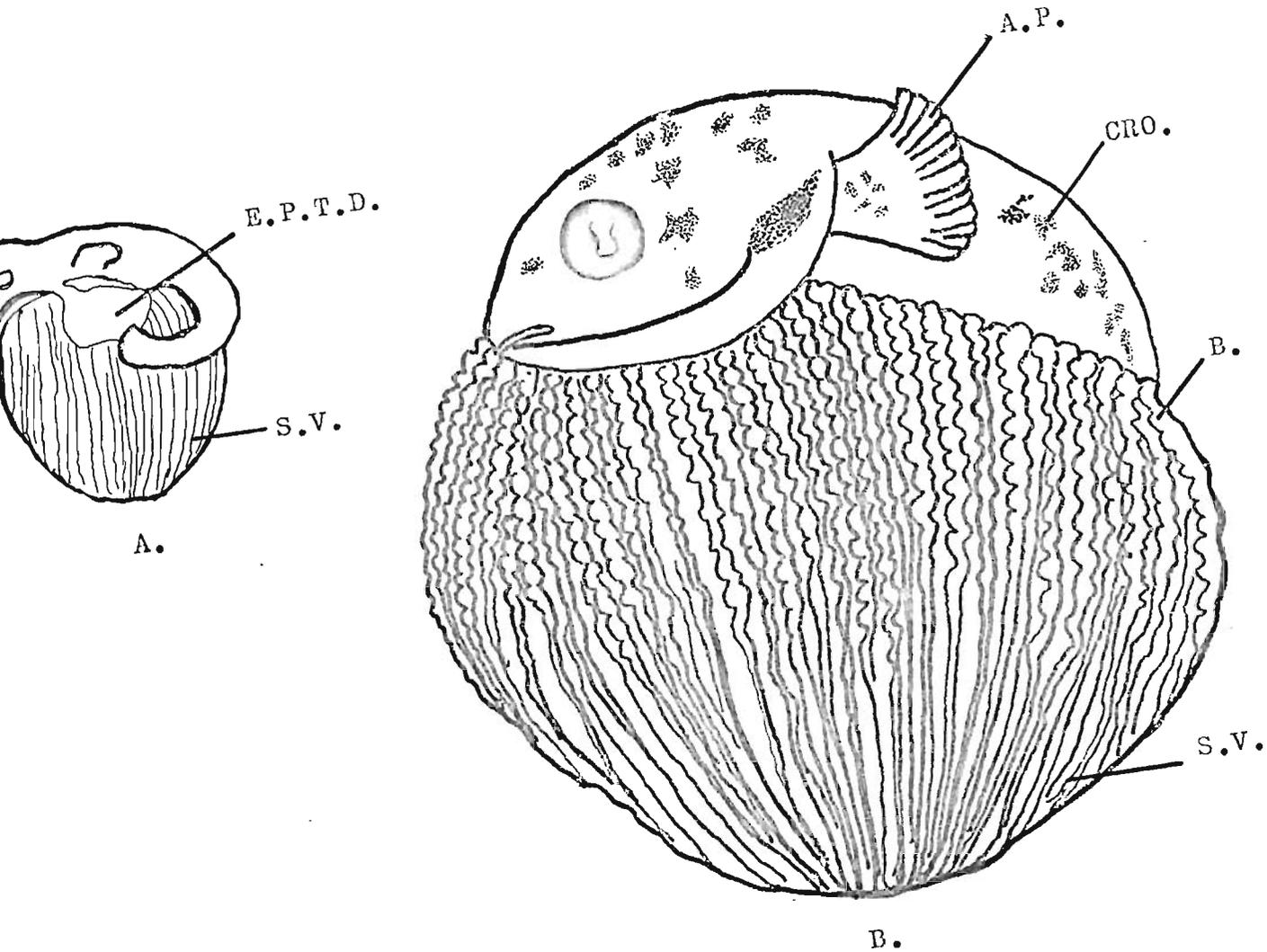


Figura 9. Dibujos mostrando dos embriones del cuatro ojos, Anableps dowi, en distintos estadios, y el desarrollo de los ojos a través de los estadios embrionarios.

- A. Embrión correspondiente a 1 estadio 2.
- B. Embrión correspondiente al estadio 5.
- C. Ojo encontrado en el estadios 2, 3 y 4
- D. Ojo encontrado en el estadio 6.
- E. Ojo encontrado en el estadio 7.
- F. Ojo encontrado en el estadio 8.

Símbolos: A.P., aleta pectoral ; B ., bulbo vascular; CRO., cromatóforo;  
E.P.T.D., extensión posterior del tubo digestivo (asa); S.V., saco ventral.



C.



D.



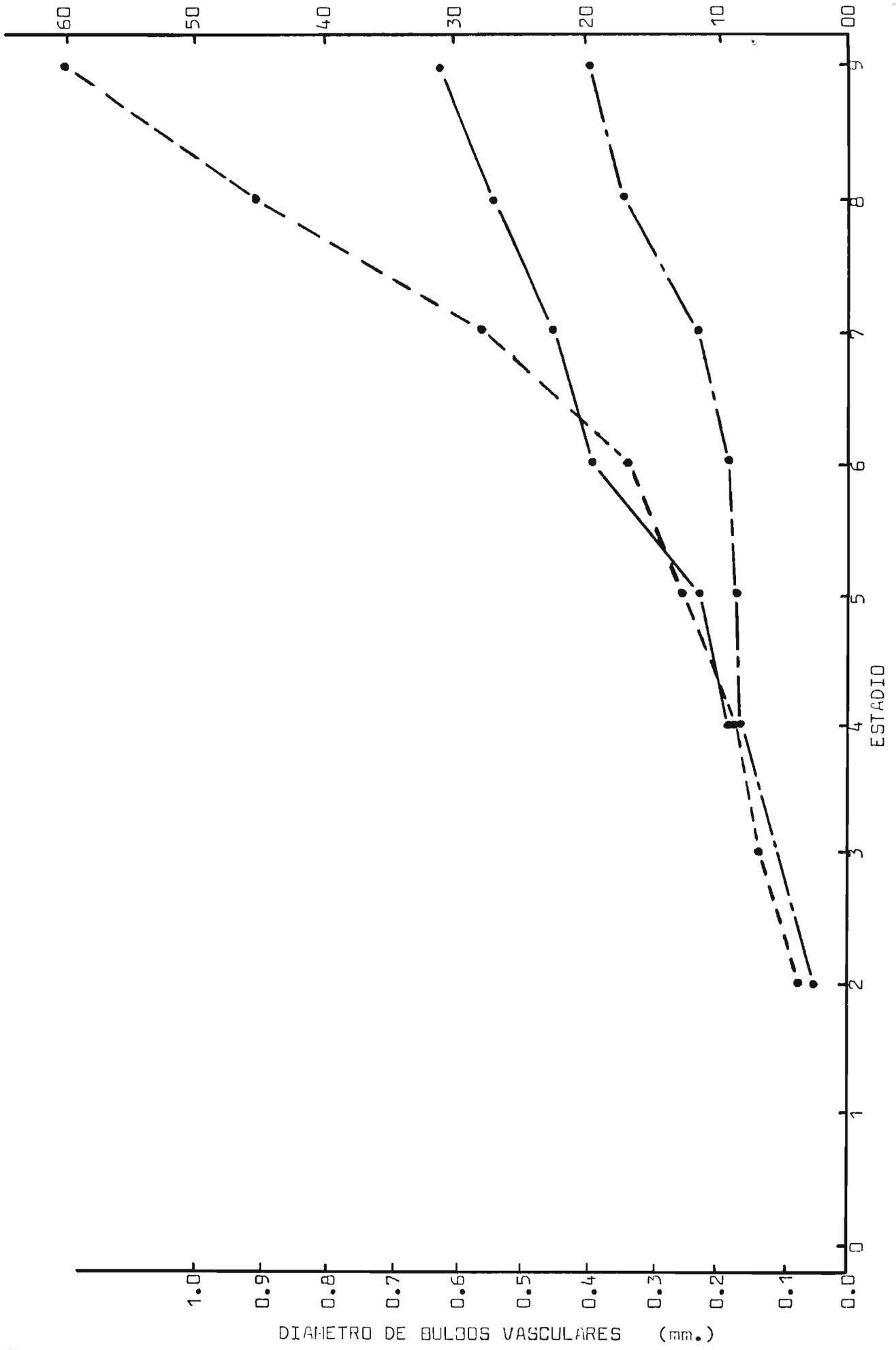
E.



F.

Figura 10. Variaciones en el diámetro de los bulbos vasculares ( ————— ), largo del embrión ( - - - - - ), y diámetro del saco ventral ( — - - - ) para cada uno de los estadios embrionarios del cuatro-ojos, Anableps dowi.

LARGO DE EMBRION Y DIAMETRO DE SACO VENTRAL (mm.)



DIAMETRO DE BULBOS VASCULARES (mm.)

Figura 11. Variación en el diámetro promedio de los huevos (in situ) encontrados en los ovarios en los distintos estadios del ciclo de gestación del cuatro-ojos, Anableps dowi. La línea sólida representa los valores basados en el número de embriones presentes; la línea interrumpida representa los valores basados en el grupo de huevos más grandes encontrados.

DIAMETRO DE HUEVOS (mm.)

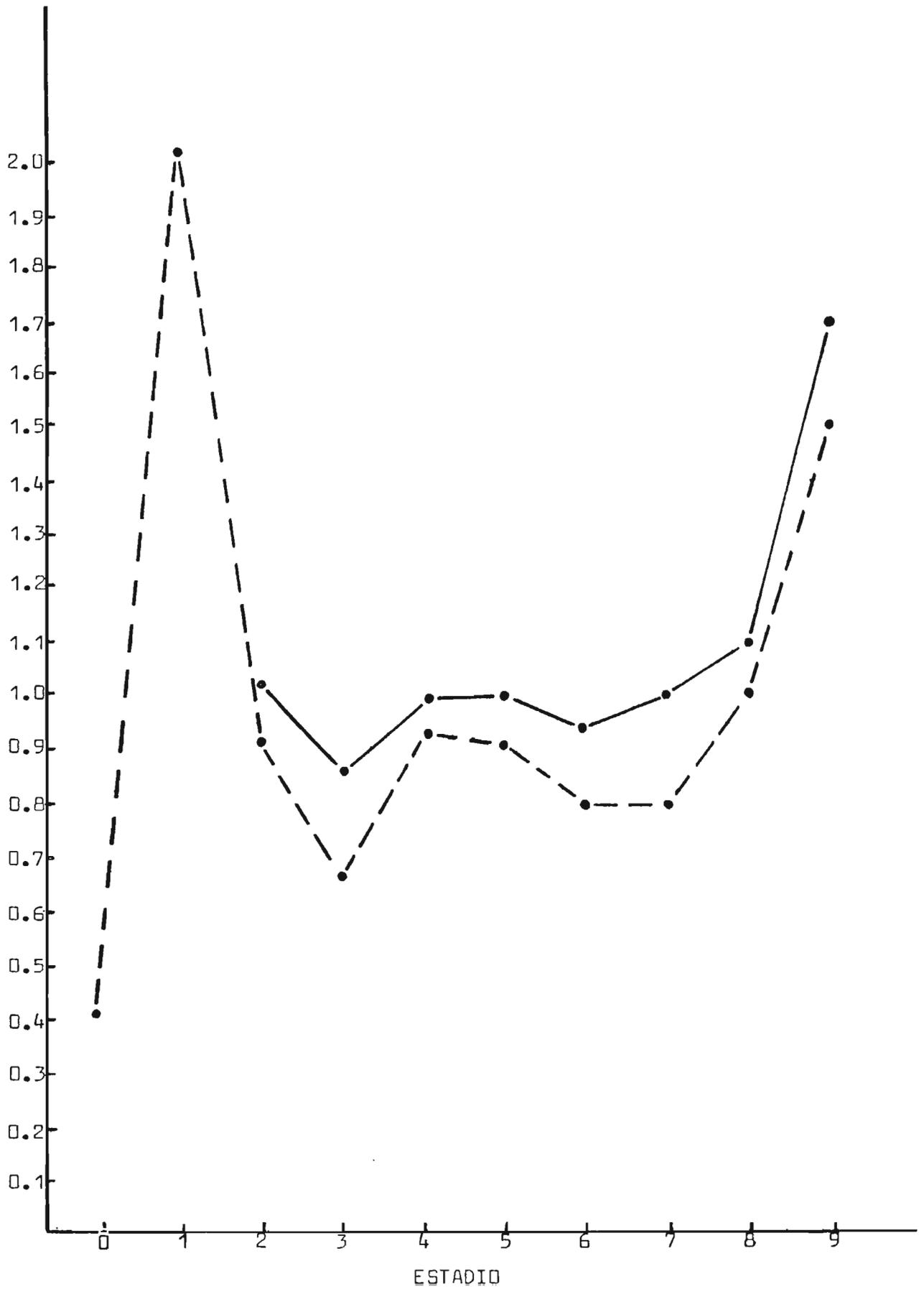


Figura 12. Corte transversal por el testículo de un macho maduro del cuatro-ojos, Anableps dowi. Se muestran el vaso eferente (ve), espermatogonias primarias (g1), espermatogonias secundarias (g2), espermatocitos (c), y espermatozoides (z).

Figura 13. Corte transversal por el testículo de un macho maduro de A. dowi. Se muestran el vaso eferente (ve) y espermatóforo (fo).

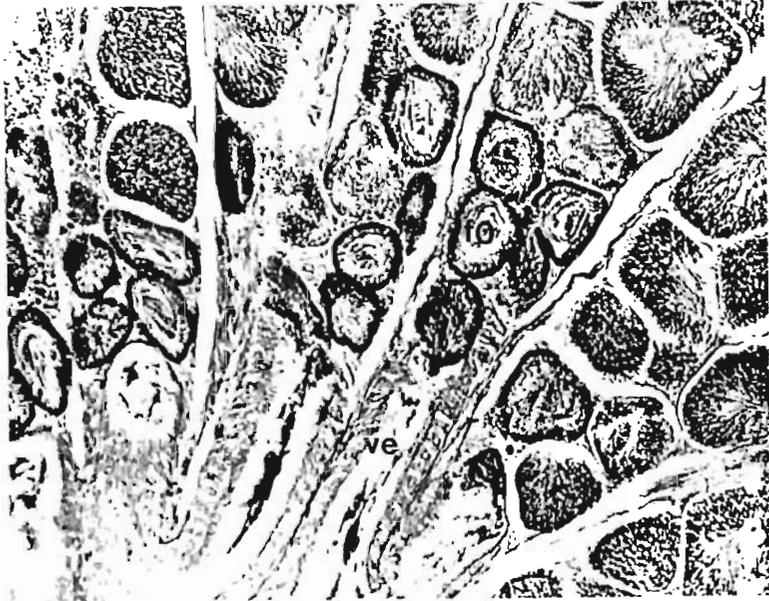
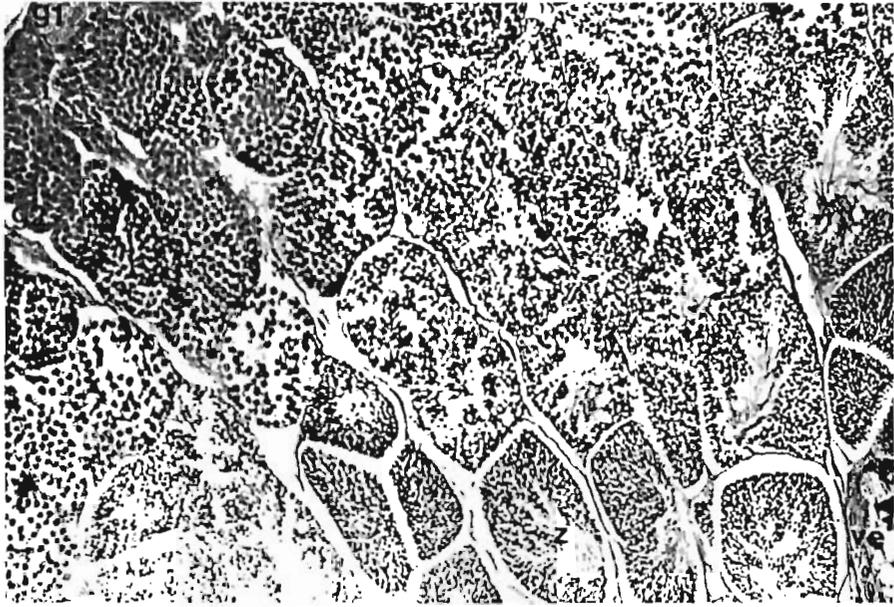


Figura 14. Corte transversal por el testículo de un macho maduro de A. dowi. Se muestra el conducto deferente (cd).

Figura 15. Corte transversal por el testículo de un macho de A. dowi alcanzando la madurez sexual. Se muestran las células intersticiales (ci).

