

CICLO TESTICULAR DEL YAMÚ, *Brycon siebenthalae* (TELEOSTEI: CHARACIDAE) EN CAUTIVERIO

TESTICULAR CYCLE OF YAMÚ *Brycon siebenthalae* (TELEOSTEI: CHARACIDAE) IN CAPTIVITY

José Alfredo Arias^{1,2}, Evoy Zaniboni-Filho³, Pablo Emilio Cruz-Casallas^{1,4}

Resumen

Con el propósito de describir los cambios macroscópicos y microscópicos de los testículos y determinar la escala de maduración gonadal, cada mes durante dos ciclos reproductivos consecutivos, diez machos adultos de yamú (*Brycon siebenthalae*), criados en cautiverio, fueron colectados y sacrificados. Los testículos son órganos de estructura y funcionamiento tubular irrestricto. La espermatogénesis es cística y se presenta en seis fases: espermatogonia primaria libre, espermatogonia secundaria, espermatocito primario, espermatocito secundario, espermátide y espermatozoide. Cada túbulo seminífero contiene múltiples cistos y cada cisto células germinativas en una misma fase de desarrollo. La escala de maduración testicular comprende cuatro estadios: inmaduro o reposo, en maduración, maduro y regresión. El mayor valor de índice gonadosomático coincide con el mayor porcentaje de la fase y estadio maduro.

Palabras clave: desarrollo espermático, escala de maduración, testículo.

Abstract

In order to describe macroscopic and microscopic changes of testicles and propose maturation scale, *Brycon siebenthalae* male bred in captivity were collected and sacrificed monthly during two reproductive cycles. Testicles are structured organs with unrestrictive tubular operation. Spermatogenesis is cystic and develops in six phases: free primary spermatogonia and secondary spermatogonia, primary spermatocyte, secondary spermatocyte, spermatid and spermatozoid. Every seminiferous tubule contains multiple cysts and every cyst contains germ cells in the same development phase. Testicular maturation scale comprises four stages: immature or resting, in maturation, mature and regression. The greater gonadosomatic index coincides with the highest percentage of the mature stage.

Key words: spermatid development, maturity scale, testicle.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de los cambios testiculares durante el ciclo reproductivo en peces reofílicos es necesario para la reproducción inducida de las especies en cautiverio. El yamú del río Orinoco (*Brycon siebenthalae*), es una especie recientemente caracterizada como de buen potencial para la producción pero con pocos estudios sobre los aspectos básicos de la biología reproductiva de los machos (Arias, 1995; Lugo, 1989; Useche *et al.*, 1993). Se ha efectuados algunos estu-

dios sobre el desarrollo de los testículos de especies de bryconídeos, tales como: Arias (2002), Romagosa (1998), Zaiden (1997, 2000), Zaniboni-Filho (1985), y Zaniboni-Filho y Resende (1988). En este trabajo se estudia la espermatogénesis bajo condiciones de cautiverio durante dos ciclos consecutivos; se reconocen y describen las diferentes fases celulares y se define la escala de desarrollo testicular considerando los diferentes tipos celulares germinativos, el índice gonadosomático y la frecuencia mensual de cada estadio de desarrollo testicular.

Recibido: octubre de 2003; aceptado para publicación: octubre de 2004.

¹ Instituto de Acuicultura (IALL), Universidad de los Llanos. A. A. 2430, Villavicencio (Meta), Colombia.

² Correo electrónico: <jarias@villavicencio.cetcol.net.co>.

³ Departamento de Acuicultura, Universidad Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Brasil. Correo electrónico: <zaniboni@cca.ufsc.br>.

⁴ Correo electrónico: <pecruz@telecom.com.co>.

METODOLOGÍA

Entre junio de 1998 y mayo de 2000 en la Estación Piscícola de la Universidad de los Llanos, **Villavicencio (Meta), Colombia** (4° 05' N y 73° 37' O), fueron mantenidos en confinamiento en dos estanques en tierra 500 ejemplares de yamú a densidad de 300 g de peso vivo/m². Los peces fueron alimentados al 3% de la biomasa una vez al día, seis días/semana, con una ración comercial para peces de 30% de proteína bruta y 3.000 kcal. g⁻¹ de energía bruta. Durante la primera semana de cada mes, diez peces fueron capturados, pesados, medidos y sacrificados (previa anestesia sumergiéndoles en una solución al 0,02% de 2-phenoxyethanol, Sigma[®], durante diez minutos). Mediante incisión abdominal fueron expuestos los testículos y evaluados macroscópicamente *in situ* considerando forma, proporción en relación con la cavidad visceral y color, siendo luego extraídos y pesados individualmente. Dos porciones de 50 mg de la región media de cada testículo fueron inmediatamente fijadas así: una en solución de Bouin durante 12 horas, luego transferida a alcohol isopropílico del 70% y sometida a tratamiento histológico de rutina para coloración de hematoxilina-eosina (HE) (Vaz-zoler, 1996). La segunda muestra en glutaraldehído al 2,5% (buffer cacodilato de sodio 0,1 M, pH 7,2) y posteriormente sometida a tratamiento rutinario para microscopía electrónica de transmisión (MET) —posfijación en tetróxido de osmio al 1%, por 2 horas a 4 °C—, deshidratación en concentraciones crecientes de etanol cada 25 minutos, inclusión resina EPON, contraste acetato de uranilo y citrato de plomo. Los exámenes de los micropreparados consideraron la presencia, aparición y modificación de estructuras celulares así como el diámetro de los túbulos seminíferos. La escala de maduración testicular se estableció conjugando los resultados histológicos con el índice gonadosomático (IGS) calculado mediante la expresión: $IGS = Pg/Pt$ (**donde**: Pg = peso de los testículos y Pt = peso total en gramos) y la frecuencia porcentual de estadios de desarrollo testicular por meses.

RESULTADOS

Los testículos son órganos simétricos, alargados, localizados dorsolateralmente en la cavidad abdominal y fijados ventrolateralmente a la vejiga natatoria mediante un mesorquio. Caudalmente se reducen y unen

en un conducto espermático que se abre al exterior por un poro genital ubicado posterior al ano. El volumen y color varían a lo largo del ciclo reproductivo, desde filiformes rosáceos-traslúcidos, hasta globosos blanco-cremosos y aparentemente lobulados durante la época de reproducción.

Externamente se encuentran revestidos por una túnica delgada de mesotélío peritoneal dentro del cual se halla una túnica albugínea que se proyecta al interior del órgano en septos que sostienen los túbulos seminíferos. Los septos de tejido conjuntivo conforman el intersticio y recubren cada túbulo conteniendo vasos sanguíneos, linfocitos, células mioideas, fibras colágenas y células intersticiales. Los túbulos seminíferos son abundantes, de diferente diámetro y están dispuestos en sentido cráneo caudal intensamente plegados sobre sí mismos. Internamente cada túbulo esta soportado por una membrana basal que sostiene las células germinativas. Las células germinativas se presentan tanto individuales (espermatogonias primarias) como en grupos de células envueltas por células císticas entrelazadas conformando el cisto (espermatogonias secundarias, espermatocitos, espermátides y espermatozoides). Cada túbulo contiene múltiples cistos y cada cisto a su vez contiene células germinativas en una misma fase de desarrollo.

Espermatogonias primarias. Son las células germinativas de mayor tamaño. Se encuentran independientes durante todo el ciclo adosadas a la cara interna de la membrana basal, acompañadas por células císticas. Son de forma redonda a oval, el núcleo es grande heterocromático, redondo y central, conteniendo un nucleolo no siempre visible por ser excéntrico. El citoplasma se presenta granular y poco eosinófilo (figuras 1, 2 y 3). Ultraestructuralmente se muestran con un núcleo grande y redondo conteniendo cromatina dispersa y uniforme y un solo nucleolo electrodenso de contorno irregular y excéntrico. El citoplasma, de baja densidad electrónica, es abundante y contiene todas las estructuras de una célula animal, particularmente mitocondrias grandes ovaladas y asociadas como “nuages” formando el cemento mitocondrial (figura 4).

Espermatogonias secundarias. Son muy similares a las espermatogonias primarias pero de menor tamaño y menor cantidad de cemento mitocondrial. Se

organizan en grupos de dos a seis células, envueltas por las células císticas formando el cisto. El núcleo es grande con la cromatina periférica. El citoplasma es ligeramente eosinófilo contenido por una membrana celular indefinida (figuras 1 y 2).

Espermatocitos primarios. Son células císticas de menor tamaño que las espermatogonias secundarias

y en mayor número que ellas. El núcleo se presenta grande con la cromatina de manera muy variada (desde dispersa y periférica hasta condensada y central), dependiendo del estado de la profase I en que se encuentren. El nucleolo es invisible. El citoplasma se presenta escaso y de contorno indefinido. Los cistos con espermatocitos primarios son los de mayor tamaño en todo el túbulo (figuras 2 y 3). En MET el

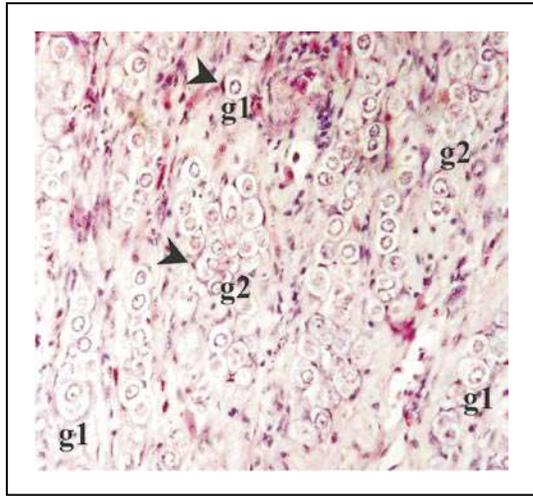


Figura 1. Fotomicrografía de corte transversal de testículo de *Brycon siebenthalae* en Estadio inmaduro. Espermatogonia primaria (g1). Espermatogonia secundaria (g2). Núcleo de célula cística (punta de flecha). HE. Objetivo: 40X

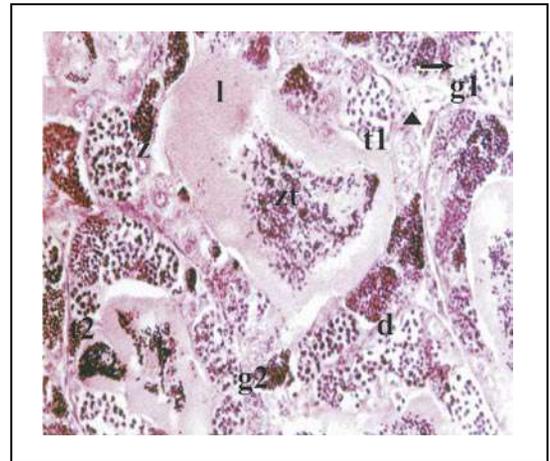


Figura 3. Fotomicrografía de corte transversal de testículo de *Brycon siebenthalae* en Estadio de maduración. Maduración avanzada, espermatogonia primaria (g1). Cisto de: espermatocitos primarios (t1), espermatocitos secundario (t2), espermatídes (d), espermatozoides (z). Espermatozoides en la luz del túbulo (zt). Núcleo de célula cística (flecha), núcleo de célula intersticial de Leydig (punta de flecha), líquido acidófilo en el lumen del túbulo seminífero (l). HE. Objetivo: 40X

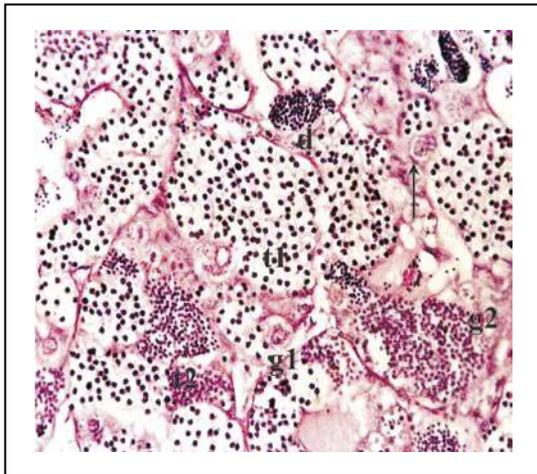


Figura 2. Fotomicrografía de corte transversal de testículo de *Brycon siebenthalae* en Estadio de maduración. Maduración inicial, espermatogonia primaria (g1), espermatogonia secundaria (g2). Cisto de: espermatocitos primarios (t1), espermatocitos secundario (t2), espermatídes (d). Núcleo de célula cística (flecha). HE. Objetivo: 40X

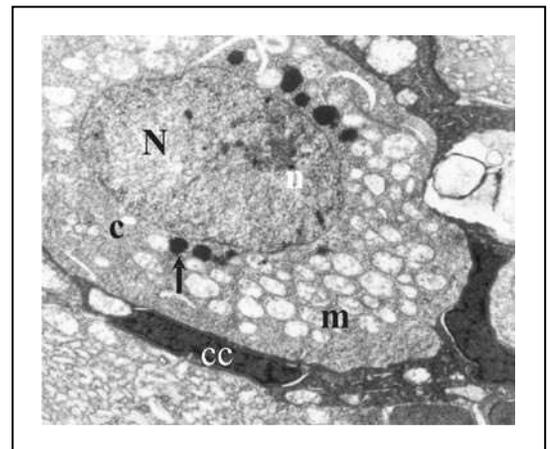


Figura 4. Electromicrofotografía (MET) de testículo de *Brycon siebenthalae*. Espermatogonia primaria, núcleo (N), nucléolo (n), citoplasma (c), mitocondrias (m), "nuages" (flecha), núcleo de célula cística (cc). X 6.610

núcleo es redondo, central y ocupa la mayor parte de la célula. Los cromosomas se muestran en diferentes estados de la meiosis. El citoplasma reducido contiene mitocondrias pequeñas (figuras 5 y 6).

Espermatocito secundario. Los cistos con espermatocitos secundarios son muy escasos. Las células son de menor tamaño que las de los espermatocitos primarios y en número mayor. Se comportan como células transitorias resultantes de la primera meiosis que rápidamente realizan la segunda reducción cromosómica. El núcleo se presenta muy coloreado con la cromatina concentrada. El citoplasma es es-

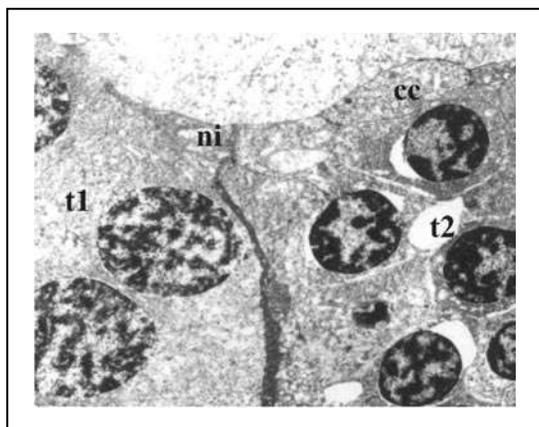


Figura 5. Electromicrofotografía (MET) de testículo de *Brycon siebenthalae*. Cisto de: espermatocito primario (t1), espermatocito secundario (t2). Célula cística (cc). Núcleo de célula intersticial. X 5.200

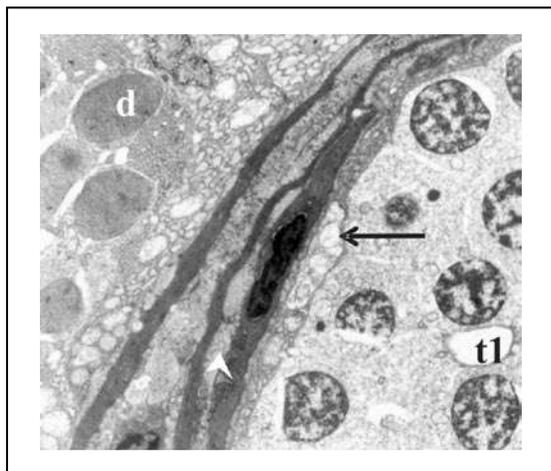


Figura 6. Electromicrofotografía (MET) de testículo de *Brycon siebenthalae*. Cisto de: espermatocito primario (t1), espermatíde (d). Célula cística (flecha). Célula intersticial de Leydig (punta de flecha). X 5.200

caso (figuras 2 y 3). En MET el núcleo se presenta grande, redondo, central y conteniendo la cromatina en apariencia de media luna localizada en los polos. El citoplasma exhibe organelos similares a los de los espermatocitos primarios (figura 5).

Espermátides. Como resultado de la segunda división meiótica, los espermatocitos secundarios se convierten en espermátides, éstas son células más pequeñas que aquellos y más abundantes en los cistos. Pasan por la espermiogénesis, la cual se inicia con células redondeadas de núcleos relativamente grandes, cromatina dispersa y citoplasma con poca afinidad por los colorantes. En estadios posteriores el núcleo y el citoplasma se reducen y la cromatina se hace cada vez más compacta (figuras 2 y 3). En MET los núcleos se observan con la cromatina en diferentes grados de densidad electrónica dependiendo de la etapa de espermiogénesis en que se encuentren (figuras 6 y 7). Simultáneo con la concentración de la cromatina se forma la fosa nuclear como una invaginación en un polo de la periferia nuclear, en ella se alojan los dos centriolos que migran hacia ella (figura 7). Desde el centriolo distal se forma el flagelo, alrededor de este se va concentrando citoplasma constituyéndose el canal citoplasmático. En las etapas más avanzadas en la base del flagelo se concentran mitocondrias voluminosas que conforman la vaina mitocondrial de la pieza intermedia (figura 7).

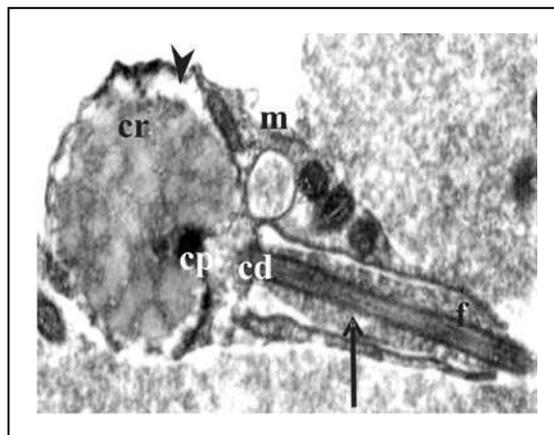


Figura 7. Electromicrofotografía (MET) de testículo de *Brycon siebenthalae*. Espermátide con cromatina en grumos (cr), citoplasma (punta de flecha), centriolo proximal (cp), centriolo distal (cd), mitocondria (m), flagelo (f), canal citoplasmático (flecha). X 14.000

Espermatozoides. Son las células de menor tamaño. Son flagelados y muy coloreados, encontrándoseles muy abundantes en el centro de los cistos, pero también por miles libres en la luz de los túbulos inmersos en un líquido acidófilo (figuras 3 y 8). En MET la cabeza espermática es el núcleo de cromatina compacta rodeado por citoplasma extremadamente escaso que no contiene estructuras citoplasmáticas, todo recubierto por la membrana celular (figura 9). La fosa nuclear contiene el complejo centriolar. No se observa acrosoma. La pieza intermedia de los espermatozoides es una estructura corta, en la parte anterior con la inserción centriolar al núcleo y en la posterior la inserción del flagelo, visualizándose alrededor dos grandes mitocondrias. El flagelo o cola es largo y responde a la estructura típica de nueve tripletas de microtúbulos rodeando un par central (figura 9).

Células císticas. De origen somático, están localizadas dentro del túbulo seminífero sobre la membrana basal y envolviendo durante el ciclo de maduración a las células germinativas, excepto a las espermatogonias primarias con las que apenas se asocian. La forma celular varía desde ovoide hasta aplanada dependiendo de la fase de desarrollo de las células germinativas que recubran. El núcleo, no siempre visible, es definido y situado en la base celular con cromatina condensada en la periferia. El nucleolo imperceptible no tiene posición definida. El citoplasma es escaso y de límites imprecisos (figuras 1,

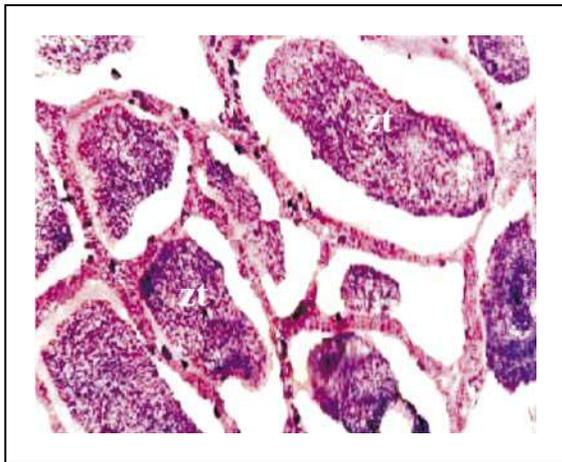


Figura 8. Fotomicrografía de corte transversal de testículo de *Brycon siebenthalae* en Estadio maduro. Espermatozoides libres en el túbulo seminífero (zt). HE. Objetivo: 10X

2 y 3). En MET las células císticas se pueden identificar por su posición y núcleo grande conteniendo cromatina condensada, el citoplasma mal definido y las prolongaciones citoplasmáticas íntimamente asociadas con las células germinativas (complejo unitivo) (figuras 4, 5 y 6).

Células intersticiales. Estas células, también somáticas, están localizadas durante todo el ciclo independientes o en pequeños grupos en el tejido conjuntivo del intersticio, en especial en las intersecciones de los túbulos seminíferos y asociadas a capilares sanguíneos. Son claramente identificables en los estadios avanzados de maduración por poseer forma ovoide con un núcleo heterocromático conspicuo y generalmente central el cual contiene un solo nucleolo. El citoplasma es escaso y poco afin a los colorantes (figura 3). Observadas en MET se muestran alargadas, con núcleo grande electrodenso, cromatina perinuclear y citoplasma con mitocondrias electrodenensas y esparcidas entre de gran número de ribosomas. El retículo endoplasmático y complejo de Golgi son abundantes (figuras 5 y 6).

Escala de maduración

Estadio inmaduro. Los testículos se presentan como órganos muy delgados, transparentes y con apariencia de hilos. Tienen una longitud menor que la mitad de la cavidad abdominal y difícilmente diferenciables de los ovarios en el mismo estadio inmaduro. Histo-

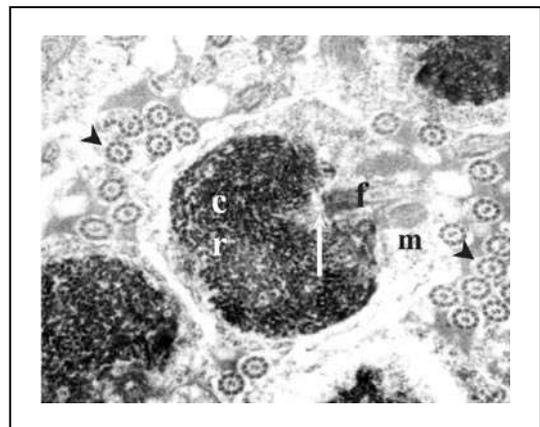


Figura 9. Electromicrofotografía (MET) de testículo de *Brycon siebenthalae*. Espermatozoide. Cromatina compactada (cr), fosa nuclear (flecha), mitocondria (m), flagelo (f). Corte transversal de flagelo detallando exolema (punta de flecha). X 21.000

lógicamente los túbulos seminíferos son indefinidos, se presentan como aglomerados de espermatogonias primarias y algunos nidos de espermatogonias secundarias, sin luz ni cistos evidentes y rodeados por el intersticio (figura 1). El estadio se presenta a todo lo largo del primer año de vida de la especie y registró un IGS de $0,03 \pm 0,006$.

Estadio de reposo. En este estadio los testículos son foliosos, angostos, transparentes, ligeramente amarillentos, suavemente festonados y con irrigación sanguínea casi invisible. Los túbulos seminíferos poco definidos son relativamente grandes ($40 \mu\text{m}$ de diámetro), sin luz evidente y tapizados por espermatogonias primarias especialmente activas y espermatogonias secundarias. El intersticio deja ver capilares pequeños. Este estadio se presentó entre julio y noviembre con un IGS de $0,02 \pm 0,005$.

Estadio en maduración. Es el estadio de más larga duración. Durante el transcurso de la maduración los testículos aumentan de tamaño de manera permanente, notándose un crecimiento asimétrico que se inicia en la región media de la gónada y continúa en la región cefálica. La región caudal aumenta su tamaño sólo hacia el final del estadio. La coloración varía desde transparente rosáceo hasta blanco lechoso, la irrigación sanguínea se hace más evidente a medida que crece el testículo, el cual termina plegándose a manera de lóbulos. Los testículos maduran en un continuo que no permite subdivisiones precisas del estadio. Sin embargo es posible distinguir un crecimiento relativamente lento entre los meses de junio a febrero con IGS de $0,05 \pm 0,01$ para el primer año y de septiembre a febrero con IGS de $0,08 \pm 0,007$ para el segundo año. La estructura histológica para los períodos antes citados muestra, en el 80% de los casos estudiados, predominancia de túbulos con diámetro medio de $50 \mu\text{m}$ y cistos conteniendo espermatogonias, espermatocitos primarios y secundarios y algunos pocos cistos con espermátides (figura 2). Entre los meses de enero a marzo los testículos crecen rápidamente. Histológicamente se observan túbulos grandes de $80 \mu\text{m}$ de diámetro o más que se anastomosan. El lumen es definido y amplio con predominio de cistos de espermátides en diferentes etapas de espermiogénesis y espermatozoides císticos o libres. Al final del estadio gran cantidad de espermatozoides se encuentran

libres en los túbulos (figura 3). Los IGS fueron de $0,08 \pm 0,02$ y $0,09 \pm 0,04$, para el primero y segundo ciclo respectivamente.

Estadio maduro. Durante este estadio los testículos alcanzan su máximo crecimiento y ocupan hasta un quinto de la cavidad abdominal. Son de color blanco cremoso y profusamente irrigados. Histológicamente los túbulos seminíferos presentan su máximo diámetro ($\leq 100 \mu\text{m}$), el lumen se anastomosa y llena de espermatozoides. Los espermatozoides libres se sumergen en un líquido acidófilo. El intersticio es apenas identificable (figura 8). Este estadio se presenta a partir de mediados del mes de enero y hasta mediados de junio; para inicios de marzo cerca del 50% de los machos se encuentran maduros, considerando sus características de emisión de semen a leve presión abdominal. El IGS fue el mayor registrado en ambos ciclos, $1,06 \pm 0,05$ y $1,09 \pm 0,03$ para el primero y segundo año, respectivamente.

Estadio de regresión. Los testículos llegan a un punto donde inician la disminución de tamaño, haciéndose paulatinamente flácidos y blanquecinos. La irrigación sanguínea disminuye y se hace superficial con claro degeneramiento de los vasos sanguíneos, los cuales muestran coágulos semejando hematomas. Histológicamente los túbulos disminuyen rápidamente el tamaño cada vez con menos espermatozoides residuales. Espermatogonias primarias pueden ser ocasionalmente identificadas. El intersticio permanece delgado. La regresión empieza a finales de mayo; sin embargo, machos en regresión tardía son hallados a finales de julio. Los IGS de los ejemplares en regresión fue de $0,07 \pm 0,004$ para el primer año y $0,15 \pm 0,03$ para el segundo.

La figura 10 muestra la curva de maduración testicular, obtenida mediante el cálculo de los valores medios mensuales de los índices gonadosomáticos y las frecuencias porcentuales de estadios de desarrollo gonadal por meses.

DISCUSIÓN

Los testículos de yamú presentan un patrón morfológico y de maduración gonadal similar a la de otros teleósteos, tales como: *Geophagus brasiliensis* (Barbieri et

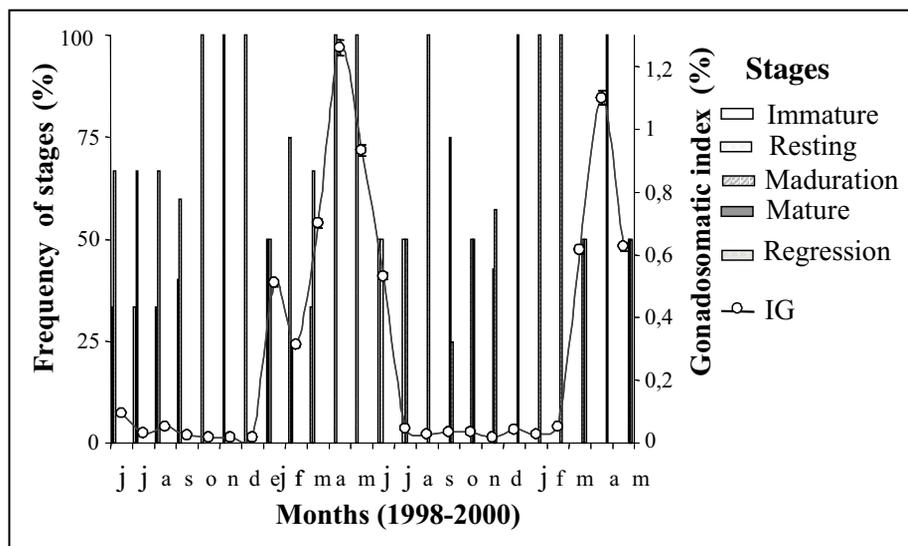


Figura 10. Valores promedio del índice gonadosomático y frecuencia en porcentaje de estadios de desarrollo testicular por meses de machos *Brycon siebenthalae*

al., 1981), *Prochilodus scrofa* (Alexandrino et al., 1985), *Plecotomus albopunctatus* (Antoniutti et al., 1985), *Astyanax bimaculatus* (Andrade et al., 1985; Valeri et al., 1987), *Cichla ocellaris* (Cruz-Landim y Cruz-Höfling, 1986), *Pseudoplatystoma corruscans* (Lopes et al., 1987), *Rhinelepis aspera* (Agostinho et al., 1987), *Parodon tortuosus* (Azevedo et al., 1988), *Piaractus brachypomus* (Arias y Vásquez, 1988), *Piaractus mesopotamicus* (Romagosa, 1991) y *Centropomus undecimalis* (Grier y Taylor, 1998). Asimismo, la estructura testicular es semejante en su organización a la de otros brycónidos *Brycon cephalus* (Romagosa, 1998; Zaniboni-Filho, 1985; Zaniboni-Filho y Resende, 1988), *Brycon hilarii* (Zaiden, 2000); *Brycon orbignyanus* (Althammer, 1999; Zaiden, 1997).

Las dos posibles formas de organización de los testículos en los teleósteos (túbulo seminífero o lóbulo seminífero) han sido un inconveniente para comparar las especies (Grier et al., 1980). En este trabajo se utiliza el término túbulo seminífero conforme lo definieron Grier y Parenti (1994), y Loir et al. (1995), dado que se trata de una estructura que contiene espermatogonias primarias independientes y permanentes a lo largo del túbulo durante todo el ciclo, constituyéndose en un testículo de tipo espermatogonial irrestricto de conformidad con la clasificación propuesta por Grier et al. (1980). Así,

se observó el proceso espermatogénico en túbulos semejante a los descritos por Barbieri et al. (1981), Cavalcanti (1994), Fraile et al. (1992), Lahnsteiner et al. (1994), Romagosa (1998) y Zaiden (2000) pero diferente a los referidos por Althammer (1999), Grier y Taylor (1998), Micale et al. (1996), Lopes et al. (1987), Rasoto (1995) y Zaiden (1997), quienes lo describieron en lóbulos. Dentro de los túbulos las diferentes fases celulares son similares a las registradas para *Brycon cephalus* (Romagosa, 1998), *Brycon hilarii* (Zaiden, 2000), *Brycon orbignyanus* (Zaiden, 1997), *Piaractus mesopotamicus* (Romagosa, 1991), *Poecilia latipina* (Grier, 1975) y *Prochilodus scrofa* (Borges-Filho, 1987). Alexandrino et al. (1985) no diferenciaron la espermatogonia primaria de la espermatogonia secundaria en la especie por ellos estudiada, en tanto que Fraile et al. (1992), Grier y Taylor (1998) y Zaiden (2000), describieron los dos tipos celulares similares a los observados en este estudio. La espermatogonia primaria fue la célula primordial y de mayor tamaño, encontrándose siempre libre pero asociada íntimamente a una o varias células císticas durante todo el ciclo espermatogénico, periférica a todo lo largo del túbulo seminífero y muy activa en los estadios de regresión y reposo, significando que es la célula precursora de cada ciclo de desarrollo espermático, similar a lo registrado por Agostinho et al. (1987), Andrade (1980), Barbieri et al. (1981), Cavalcanti (1994), Grier (1981), Narahara (1983).

Azevedo *et al.* (1988) y Cruz-Landim y Cruz-Höfling (1986) emplearon el término espermatogonia (encerrada en un cisto) para referirse a la espermatogonia secundaria, como es observado aquí, pero no precisaron sobre la espermatogonia primaria. Giamas *et al.* (1990) encontraron los dos tipos de espermatogonias semejantes en sus contenidos citoplasmáticos a los espermatoцитos y encerradas en un cisto, siendo que esta situación no fue observada en este trabajo. Tampoco se presentó ningún tipo de célula mayor y precursora de la espermatogonia primaria como lo registrado por Lopes *et al.* (1987) para *Pseudoplatystoma corruscans* y Valeri *et al.* (1987) para *Astyanax bimaculatu*. Las observaciones en MET de las espermatogonias primarias y secundarias fueron similares a las descritas por Romagosa (1998) para *Brycon cephalus* y Selman y Wallace (1986) para *Fundulus heteroclitus*.

Las fases de espermatoцитos primarios y secundarios fueron similares a las detalladas para *Brycon cephalus* por Romagosa (1998) y *Brycon hilarii* por Zaiden (2000). En otros teleósteos (*Rhinelepis aspera*, Agostinho *et al.*, 1987), las dos fases de espermatoцитos no fueron reconocidas probablemente porque el espermatoцитo secundario es una fase muy corta y por lo mismo difícil de encontrar (Lahnsteiner *et al.*, 1994; Narahara, 1983). Selman y Wallace (1986), y Zaiden (2000), registraron el final de la primera meiosis e inicio de la segunda en un mismo cisto, ilustrando la rapidez del proceso. En MET se encontraron espermatoцитos primarios en todas los estadios clásicos descritos para la meiosis y similares a los descritos por Selman y Wallace (1986).

La espermiogénesis en yamú fue un proceso de transformaciones de las espermátides dentro del cisto. Se pudo observar una compactación creciente de la cromatina nuclear con reducción del citoplasma y sus organelos y la formación simultánea de la fosa nuclear, el complejo centriolar y el flagelo, semejante a como lo registraron Carrillo y Zanuy (1993), Fraile *et al.* (1992), Micale *et al.* (1996), Romagosa (1998), Zaiden (2000), y Selman y Wallace (1986). Tanto en microscopía de luz como electrónica, la condensación nuclear se produjo formando grumos, similar a lo encontrado para otras especies del género *Brycon* (Romagosa, 1998; Zaiden, 2000) y diferente a la condensación uniforme descrita para *Metynnis*

maculatus por Matos *et al.* (1993). La formación de la pieza intermedia, conteniendo pocas mitocondrias de gran tamaño, así como los diferentes movimientos y disposición final del aparato centriolar, fueron como los descritos por Romagosa (1998), Selman y Wallace (1986), y Zaiden (2000). El flagelo se forma desde la base del núcleo como en *Brycon hilarii* y *Brycon orbignyianus* (Zaiden, 1997, 2000).

Los espermatoцитos no fueron diferentes a los descritos para otros teleósteos. Se observaron incluidos en cistos y libres, una vez los cistos se rompieron y los liberaron a la luz del túbulo en un líquido acidófilo (Billard, 1983, 1992; Grier, 1981; Narahara, 1983; Romagosa, 1991; Zaiden, 1997, 2000; Zaniboni-Filho, 1985).

Las células císticas de yamú fueron similares a las descritas en los trabajos de Althammer (1999) para *Brycon orbignyianus*, Andrade (1980) para *Leporinus silvestri*, Narahara (1983) para *Rhamdia hilarii*, Romagosa (1998) para *Brycon cephalus*, Zaiden (1997) para *Brycon orbignyianus* y Zaiden (2000) para *Brycon hilarii*. Comparable a lo registrado para *Salmo gairdneri* por Billard (1983), en yamú las células císticas mueren o se degeneran terminada la espermiogénesis. Probablemente estas células producen el líquido acidófilo glicoproteico en que se sumergen los espermatoцитos una vez son liberados del cisto (Andrade *et al.*, 1985). Estudios sobre el origen de las células císticas de peces han llevado a considerarlas no homólogas con las células de Sertoli de mamíferos, motivo por el cual se les nombra en este trabajo como células císticas (Agostinho *et al.*, 1987; Billard *et al.*, 1982; Carrillo y Zanuy, 1993). Sin embargo, no cabe duda de que estas células son análogas a las células de Sertoli dadas las múltiples funciones similares que se les atribuye, tales como: la de nutrición y diferenciación de las células germinativas, la producción de hormonas esteroides y glucoproteínas protectoras y la formación de los conductos seminales (Agostinho *et al.*, 1987; Althammer, 1999; Billard, 1992; Borges-Filho, 1987; Carrillo y Zanuy, 1993; Fraile *et al.*, 1992; Gresik *et al.*, 1973; Grier y Taylor, 1998; Grier *et al.*, 1980; Guraya, 1994; Lopes *et al.*, 1987; Nagahama, 1983; Selman y Wallace, 1986).

El tejido intersticial y las células intersticiales observadas coincidieron con las descripciones efectuadas por Althammer (1999); Borges-Filho (1987); Romagosa (1991, 1998) y Zaiden (1997, 2000). Las células intersticiales fueron similares a las células de Leydig y se hallaron situadas en el tejido intersticial, aisladas o en pequeños grupos como las identificadas por Althammer (1999); Gresik *et al.* (1973); Guraya (1994) y Nagahama (1983), las cuales fueron reconocidas por Loir *et al.* (1995) y Yaron (1995) como las principales células secretoras y almacenadoras de esteroides. En este trabajo, vistas en MET, las células esteroideogénicas tuvieron el citoplasma conteniendo gran cantidad de retículo endoplasmático liso y complejo de Golgi (Agostinho *et al.*, 1987; Azevedo *et al.*, 1988; Barbieri *et al.*, 1981; Fraile *et al.*, 1992; Nagahama, 1983; Romagosa, 1991; Zaiden, 2000).

La escala de maduración testicular que se propone fue definida sobre los criterios de claridad y utilidad biológica para los procesos de cría y reproducción confinada de la especie, tal y como lo propusiera Narahara *et al.* (1988). Así, son cuatro los estadios básicos que se plantean para el ciclo anual de machos adultos. Se reconoce el estadio inmaduro, dado que el estudio se inicio desde el primer año de vida de los animales y se encontraron diferencias morfohistológicas suficientes para considerarlo como un estadio diferente al estadio de reposo, de modo contrario a Giamas *et al.* (1990). Lo anterior coincide con los trabajos de Barbieri *et al.* (1981); Borges-Filho (1987); Grier y Taylor (1998); Romagosa (1998); Yaron (1995) y Zaiden (1997, 2000). En este trabajo son reconocidos dos subestadios de maduración sobre la base de las frecuencias y tamaños celulares y los índices gonadosomáticos registrados. Algunos autores no han reconocido subestadios de maduración testicular (Alexandrino *et al.*, 1985; Romagosa, 1991), otros han reconocido dos (Grier y Taylor, 1998) y hasta cuatro subestadios (Zaiden, 1997, 2000). Se reconoce un estadio maduro similar al propuesto para otras muchas especies. El estadio de regresión descrito es semejante al reportado por Zaiden (2000) pero sin diferenciar subestadios. Agostinho *et al.* (1987) y Zaiden (2000) dividieron el estadio de regresión en tres subestadios similares a lo propuesto por Grier y Taylor (1998) pero con otra terminología. No se

describe un estadio reproducido o de posreproducción, porque en cautiverio los machos que no son estrujados para obtener el semen para las prácticas de seminación en seco, entran en regresión. El estadio reproducido fue descrito para machos capturados en el ambiente natural por Arias (1995), similar a lo hallado por Azevedo *et al.* (1988), Barbieri *et al.* (1981) y Zaniboni-Filho (1985).

El índice gonadosomático, como para otras especies de peces dulceacuícolas, reflejó los cambios de los testículos durante el ciclo, pudiéndose inferir sobre las condiciones reproductivas de los machos por meses. La figura 10 permite observar como los machos inician la maduración de manera asincrónica hacia el mes de junio llegando al estadio maduro a partir del mes de enero. Los máximos valores de IGS fueron registrados para el mes de abril, coincidiendo con el estadio de máximo desarrollo gonadal y producción de espermatozoides y cuando la totalidad de ellos se encontraron maduros. El proceso de degeneramiento testicular comenzó en mayo y continuó con el estadio de reposo e inicio del siguiente ciclo como lo precisaron para otras especies Azevedo *et al.* (1988), Barbieri *et al.* (1981), Cavalcanti (1994), Fraile *et al.* (1992), Guraya (1994), Narahara *et al.* (1988), Romagosa (1991) y Zaniboni-Filho (1985). Arias (1995), Grier y Taylor (1998), Romagosa (1998) y Zaiden (1997, 2000), encontraron relaciones similares a las halladas en este trabajo entre el IGS y los estadios de desarrollo testicular de las especies por ellos estudiadas. En cautiverio, la población de machos de yamú mostró un aumento del período del estadio maduro, el cual duró hasta seis meses, situación diferente a la reportada para ejemplares en el ambiente natural, que solo permanecen maduros durante tres meses (Arias, 1995) similar a lo precisado por Zaniboni-Filho (1985) para *Brycon cephalus*.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de los Llanos y su Instituto de Acuicultura (IALL) y al Fondo Colombiano de Investigaciones Científicas y Proyectos Especiales Francisco José de Caldas (Colciencias), por el soporte financiero ofrecido para la realización de este estudio. Igualmente agradecen a los profesores y colegas Elizabeth Aya Baquero, Sandra Clemencia

Pardo Carrasco, Víctor Julio Atencio García, Walter Vásquez Torres, Pedro René Eslava Mocha, Sandra Liliana Parada Guevara, Claudia Milena Rodríguez Sierra y Adriana Patricia Muñoz Ramírez por su colaboración permanente y valiosas sugerencias durante el período de estudio y a los profesionales, técnicos y estudiantes Marcela Modesto Iregui, Edna

Constanza Erazo, Julián Alberto García Tisnes, Mauricio Medina y Carlos Izaquita por su apoyo para la realización del trabajo de campo y laboratorio. Especial agradecimiento a la profesora Gloria Patricia Barrera por el procesamiento y colaboración en la lectura e interpretación de la microscopía electrónica de transmisión (MET).

REFERENCIAS

- Agostinho AA, Barbieri MC, Agostinho CS, Barbieri C.** 1987. Biología reproductiva de *Rhinelepis aspera* (AGAZZIS, 1829) (TELEOSTEI: LORICARIIDAE) no rio Paranapanema. I. Estructura dos testículos e escala de maturidade. *Rev Bras Biol* 47(3):309-317.
- Alexandrino AC, Phan MT, Pineiro EFG.** 1985. Caracterização macroscópica e microscópica das gônadas do curimatá, *Prochilodus scrofa* (Steindachner, 1881), durante o ciclo reproductivo. *Bol Zool Univ S Paulo* 9:159-175.
- Althammer BB.** 1999. Avaliações ultraestruturais das células do intertício e císticas do testículo da piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849) (PISCES: CHARACIDAE), durante o ciclo sexual. Dissertação de Mestrado. CAUNESP-UNESP, Jaboticabal, Brasil.
- Andrade RD.** 1980. Variação cíclica anual de espermatogênese em *Leporinus silvestris* (Boulenger, 1902) Peixe, Teleosteo. Dissertação de Mestrado. UFMG, Belo Horizonte, Brasil.
- Andrade RD, Ribeiro SP, Godinho HP, Castro EFT.** 1985. Ciclo reproductivo anual de lambaris (*Astyanax bimaculatus* L., 1758) em viveiros. *Arq Bras Med Vet Zootec* 37(5):435-447.
- Antoniutti DM, Ranzani-Paiva MJT, Godinho HM, Paiva P.** 1985. Morfologia das gônadas, escala de maturidade e factor de condição de *Plecostomus albopunctatus* Regan, 1908 (OSTEICHTHYES: LORICARIIDAE) do rio Jaguarí (SP). *Bol Inst Pesca* 12(4):87-103.
- Arias CJA.** 2002. Biología reproductiva del yamú *Brycon siebenthalae* (PISCES: CHARACIDAE) en cautiverio. Tesis de Doctorado. Univ. del Valle, Cali, Colombia
- Arias CJA.** 1995. Contribución al conocimiento biológico de los peces de los Llanos, yamú (*Brycon siebenthalae*) y sapuara (*Semaprochilodus laticeps* cf.), con fines de cultivo. Informe Final. Unillanos-Colciencias, Villavicencio, Colombia.
- Arias CJA, Vázquez TW.** 1988. Ampliación del conocimiento biológico de *Colossoma* sp. (Characidae), en ambientes naturales de la cuenca del río Meta. Informe Final. Unillanos-Colciencias, Villavicencio, Colombia.
- Azevedo C, Barbieri MC, Barbieri G.** 1988. Ciclo reproductivo de *Parodon tortuosus* (Eigenmann y Norris, 1900) do rio Passa-Cinco, Ipeúna-SP. I. Estádios de maturação dos testículos. Época de reprodução. *Rev Bras Biol* 48(3):565-569.
- Barbieri MC, Barbieri G, Marins MA.** 1981. Sobre a anatomia e histologia de testículo de *Geophagus brasiliensis* (Quoy y Gaimard, 1824) na Represa do Lobo, Estado de São Paulo. *Rev Brasil Biol* 41(1):169-173.
- Billard R.** 1983. Spermiogenesis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). An ultra-structural study. *Cel Tissue Res* 233:265-284.
- Billard R.** 1992. Reproduction in rainbow trout: sex differentiation dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gametes. *Aquaculture* 100:263-298.
- Billard R, Fostier A, Weil C, Breton B.** 1982. The endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. *Can J Fish Aquat Sci* 39:65-79.
- Borges-Filho OF.** 1987. Caracterização dos estádios de maturação e correlação com avaliações histoquímico-enzimáticas e ultraestruturais das células endócrinas testiculares, durante o ciclo reproductivo do *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881. Tese de Doutorado. Inst. de Biociências/USP, São Paulo, Brasil.
- Carrillo M, Zanuy S.** 1993. Fisiología de la reproducción de los teleosteos. En: Castelló OF (ed.). *Acuicultura Marina, Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Univ. de Barcelona, España, pp. 123-166.
- Cavalcanti DG.** 1994. Reprodução do cascudo cinza *Liposarcus anisitsi* (Holmberg, 1893) (Loricariidae, Siliriformes): Histologia de Gônadas e Factores Abióticos. Dissertação de Mestrado. CAUNESP-UNESP, Jaboticabal, Brasil.
- Cruz-Landim C, Cruz-Höfling MA.** 1986. Aspectos da espermatogênese de tucunaré, *Cichla ocellaris* Schneider, 1801 (TELEOSTEI: CICHLIDAE). *Acta Amazonica* 16/17:65-72.
- Fraile B, Sáez FJ, Santos M, Vicentini CA, De Miguel MP, Paniagua R.** 1992. The testicular cycle of *Gambusia affinis holbrooki* (TELEOSTEI: POECILIIDAE). *J Zool* 228:115-126.
- Giamas MTD, Alexandrino AC, Arana S, Vermulin-Junior H.** 1990. Modificações histológicas das gônadas de manjuba *Anchoviella lepidentostolen* (Fowler, 1911) (OSTEICHTHYES, ENGRAULIDAE), durante o ciclo reproductivo. *Braz J Vet Anim Sci* 27(1):25-32.
- Grier HJ.** 1975. Aspects of germinal cyst and sperm development in *Poecilia latipinna* (TELEOSTEI: POECILIIDAE). *J Morphol* 146:229-250.
- Grier HJ.** 1981. Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. *Am Zool* 21:345-357.
- Grier HJ, Linton JR, Leatherland JF, Vlaming VL.** 1980. Structural evidence of two different testicular types in teleost fishes. *Am J Anat* 159:331-345.
- Grier HJ, Parienti LR.** 1994. Reproductive biology and systematics of phallostethid fishes as revealed by gonad structure. *Environ Biol Fish* 41:287-299.
- Grier HJ, Taylor RG.** 1998. Testicular maturation and regression in the common snook. *J Fish Biol* 53:521-542.
- Gresik EW, Quirk JG, Hamilton JB.** 1973. Fine structure of the Sertoli cell of the testis of the teleost *Oryzias latipes*. *Gen Comp Endocrinol* 21:341-352.
- Guraya SS.** 1994. Gonadal Development and Production of Gametes in Fish. *Proc Indian Nat Sci Acad B60* 1:15-32.
- Lahnsteiner F, Patzner RA, Weismann TT.** 1994. Testicular main ducts and spermatic ducts in some cyprinid fishes I. Morphology, fine structure and histochemistry. *J Fish Biol* 44:937-951.
- Loir M, Sourdaine P, Mendis-Handagama SM, Jegou B.** 1995. Cell-cell interactions in the testis of teleosts and elasmobranchs. *Microsc Res Tech* 32(6):533-552.

- Lopes RA, Lopes OV, Paula CV, Dos Santos HSL, Nuti-Sobrinho A.** 1987. On the reproduction of brazilian fishes, IX. Spermatogenesis of the surubim *Pseudoplatystoma corruscans* Agassiz, 1829 (PISCES: PIMELODIIDAE). *Ars Vet* 3(1):17-22.
- Lugo LM.** 1989. Determinación de hábitos alimenticios, madurez sexual y desove en tres especies ícticas de la cuenca del río Tomo, Vichada y consideraciones para el mantenimiento de padrotes. Informe Final. Unillanos-Colciencias-Coinco Villavicencio, Colombia.
- Matos E, Matos P, Oliveira E, Azevedo C.** 1993. Ultraestrutura do espermatozóide do pacu, *Metynnis maculatus* Kner, 1860 (PISCES, TELEOSTEI) do rio Amazonas. *Rev Bras Cien Morfol* 10(1):7-10.
- Micale V, Perdichizzi F, Basciano G.** 1996. Aspects of the reproductive biology of the sharpnout seabream *Diplodus puntazzo* (Cetti, 1777). I. Gametogenesis and gonadal cycle in captivity during the third year of life. *Aquaculture* 140:281-291.
- Nagahama Y.** 1983. The functional morphology of teleost gonads. *En: Hoar WS, Randall DJ, Donaldson EM (eds.). Fish Physiology.* Acad. Press, NY, Vol IX(A) pp. 223-275.
- Narahara MY.** 1983. Estrutura da população e reprodução de *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840), (Osteichthyes: Siluriformes: Pimelodidae). Tese de Doutorado. Inst. de Biociências/USP, São Paulo, Brasil.
- Narahara MY, Basile-Martins, MA, Godinho H, Navarro CM.** 1988. Escala de maturidade, época de reprodução e influência de fatores abióticos sobre o desenvolvimento gonadal de *Rhamdia hilarii*. (Valenciennes, 1840). *Bol Inst Pesca* 15(2):201-211.
- Rasoto MB.** 1995. Male reproductive apparatus of some blenniodei (PISCES: TELEOSTEI). *Copeia* 4:907-914.
- Romagosa E.** 1991. Mudanças morfológicas (microscopia de luz e eletrônica) das gônadas de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) durante o ciclo reprodutivo e em condições de confinamento. Dissertação de Mestrado. UNESP Rio Claro, Brasil.
- Romagosa E.** 1998. Desenvolvimento gonadal (morfologia; ultra estrutura) e indução da reprodução do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em cativeiro Vale do Ribeira, São Paulo. Tese de Doutorado. USC, São Carlos, Brasil.
- Selman K, Wallace R. A.** 1986. Gametogenesis in *Fundulus heteroclitus*. *Am Zool* 26:173-192.
- Useche CP, Hurtado RH, Cala P.** 1993. Sobre la ecología de *Brycon siebenthalae* y *Milossoma duriventris* (PISCES: CHARACIDAE) en el río Cafre, Orinoquia. *Caldasia* 17:341-352.
- Valeri MGP, Lopes RA, Dos Santos HSL, Castagnolli N.** 1987. On the reproduction of brazilian fish. XXI. Spermatogenesis of the tambiu *Astyanax bimaculatus* Reinhard, 1874 (PISCES: CHARACIDAE). *Ars Vet* 3(2):157-163.
- Vazzoler AEA.** 1996. *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática.* Nupelia, Maringá-Brasil.
- Zaiden FS.** 1997. Estrutura testicular da piracanjuba *Brycon orbignianus* (Valenciennes, 1849) (PISCES: CHARACIDAE), nos vários estádios do ciclo sexual. Dissertação de Mestrado. CAUNESP-UNESP, Jaboticabal, Brasil.
- Zaiden FS.** 2000. Morfologia gonadal e metabolismo energético da piraputanga *Brycon hilarii* (Cuvier e Valenciennes, 1849) (PISCES: CHARACIDAE), em cativeiro, durante o ciclo reprodutivo anual. Tese de Doutorado. CAUNESP-UNESP, Jaboticabal, Brasil.
- Zaniboni-Filho E.** 1985. Biologia da reprodução do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (TELEOSTEI: CHARACIDAE). Dissertação de Mestrado. INPA/FUA, Manaus, Brasil.
- Zaniboni-Filho E, Resende EK.** 1988. Anatomia de gônadas, escala de maturidade e tipo de desova do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther 1869) (TELEOSTEI: CHARACIDAE). *Rev Bras Biol* 48(4):833-844.