

Víctor Hugo Rodríguez Ballesteros¹; José Alberto Hernández Cruzado¹; Adriana Medina Islas¹; María Berenit Mendoza Garfias¹; Juan Alberto Balcázar Sánchez³; Raúl Ulloa Arvizu²; Patricia Ornelas-García^{1*} *patricia.ornelas.q@ib.unam.mx

¹ Colección Nacional de Peces, Departamento de Zoología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.

² Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de genética y bioestadística.

³ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de reproducción.

Introducción

Astyanax mexicanus es un pez endémico de México que presenta dos morfotipos (Figura 1), y es un grupo modelo en el estudio de la evolución regresiva. Su reproducción en cautiverio ha sido exitosa mediante la aplicación de estímulos térmicos (Figura 2). Sin embargo en México no ha sido posible llevar a cabo su reproducción en cautiverio, por lo que el objetivo principal del presente proyecto fue: Evaluar el efecto de la temperatura, el fotoperiodo y una combinación hormonal de un análogo de la hormona liberadora de gonadotropina de salmón (sGnRH α) y un inhibidor de la dopamina (Domperidona) sobre la morfología de los ovocitos y la viabilidad espermática de poblaciones de cueva y superficie de *Astyanax mexicanus*.

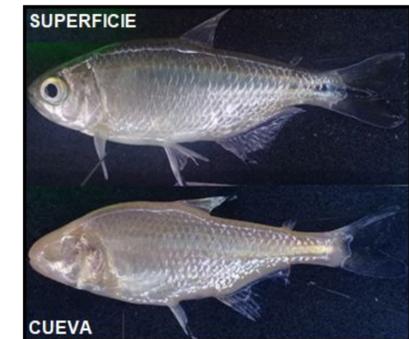


Figura 1. Morfotipos de *Astyanax mexicanus*.

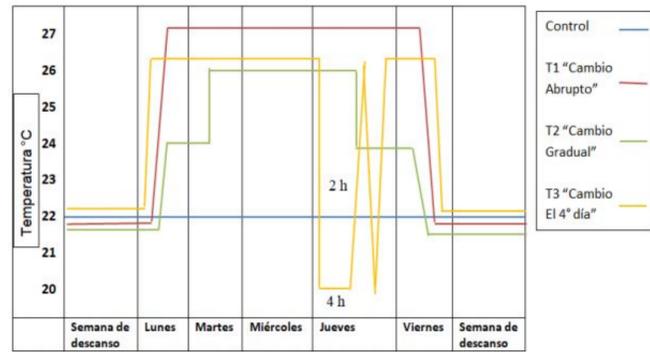


Figura 2. Cambios térmicos utilizados para la reproducción de *Astyanax mexicanus*.

Material y métodos

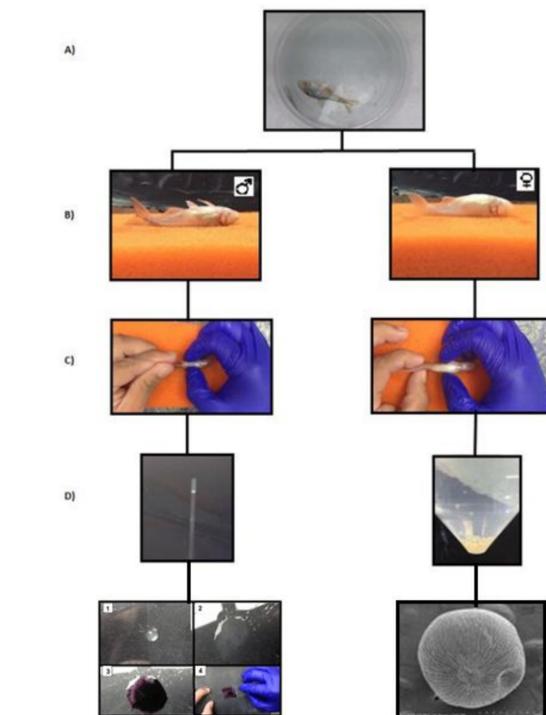
- Se establecieron 15 unidades experimentales (UE), cada una conformada de 2 machos y 1 hembra; se mantuvieron bajo 2 fotoperiodos (Tabla 1) y se aplicaron 4 tratamientos térmicos (Figura 2).
- Se obtuvieron los gametos a través del masaje abdominal (Figura 3) para realizar la evaluación espermática con la tinción de eosina-nigrosina y se tomaron fotografías en MEB de los ovocitos.

Población	Unidades experimentales n	Unidades experimentales por Fotoperiodo		Organismos N
		12/12h luz/oscuridad	24h Oscuridad	
Tigre	5	2	3	15
Pachón	4	2	2	12
Pichijumo	2	1	1	6
Vázquez	2	1	1	4
Rascón	2	2	0	4
Total	15	8	7	41

Tabla 1. Distribución de las unidades experimentales utilizadas de cada población en los dos fotoperiodos manejados.

- Se aplicó una combinación hormonal de sGnRH α +Domperidona a las poblaciones donde no se obtuvieron ovocitos, utilizando una dosis de 0.5 μ l/gr de peso vivo.

Figura 3. Procedimiento para recolectar gametos. A) Pez anestesiado con hielo, B) Colocación de macho o hembra en una esponja para llevar a cabo el C) masaje abdominal, D) Obtención de eyaculado y ovocitos. D-1) se coloca la gota de eyaculado en un portaobjetos, D-2) se le agrega una gota de agua del acuario del pez y se deja actuar 1 min. para que se active el espermatozoide, D-3) se agrega una gota de la tinción de vitalidad eosina-nigrosina y D-4) se realiza el frotis con la ayuda de otro portaobjetos. D) Los ovocitos se fijan en glutaraldehído al 0.625% para posteriormente realizar lavados en diferentes concentraciones de alcohol, realizar el secado a punto crítico, bañarlos en oro y poder tomar las fotografías en microscopía electrónica de barrido (MEB), D-5) fotografía en MEB del ovocito de la población de cueva de Vázquez.



Resultados

Se observó un efecto significativo ($p=0.035$) en el fotoperiodo (Figura 4), con el 38% de machos activos (reproductivos) en el fotoperiodo de 12/12 h luz/oscuridad y el 18% en el fotoperiodo de 24h oscuridad.

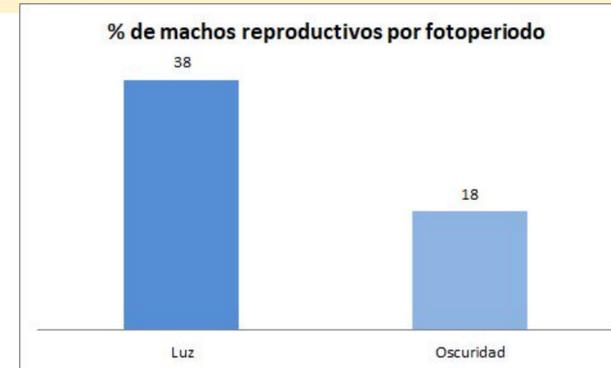


Figura 4. Porcentaje de machos activos por fotoperiodo.

Se observó el 36% de los machos reproductivos bajo el tratamiento térmico 3, el 26% bajo el tratamiento 2, el 24% bajo el tratamiento control y el 22 % bajo el tratamiento 1 (Figura 5), sin embargo no fue significativo ($p=0.769$).

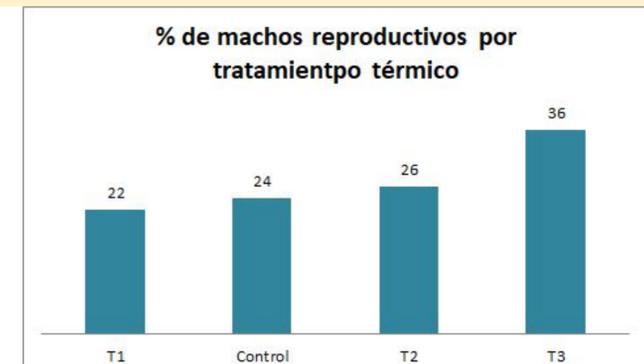


Figura 5. Porcentaje de machos activos por tratamiento térmico

Se observó que en la semana 2, las UE presentaron mayor cantidad de nitratos y nitritos; por otro lado en la semana 4 presentaron mayor cantidad de salinidad y conductividad (Figura 6)

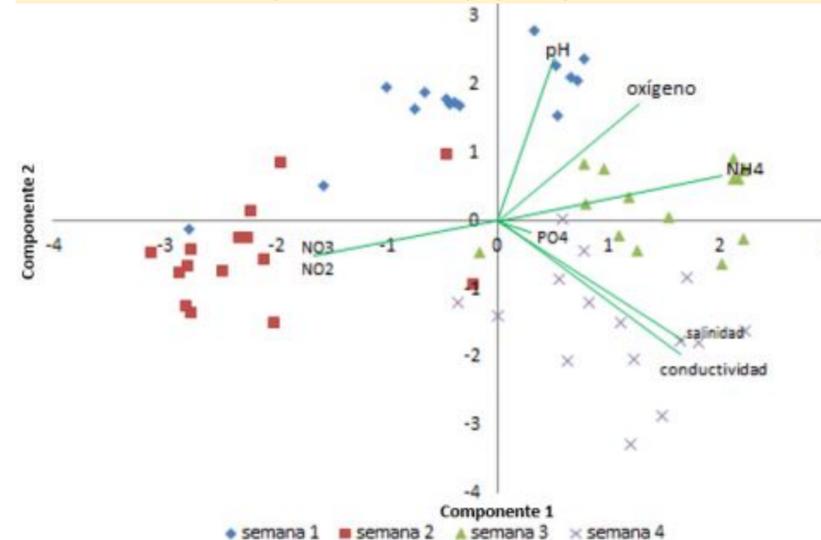


Figura 6. Análisis de componentes principales (PCA) de la calidad del agua.

En la evaluación de los ovocitos, estos se describieron de forma esférica con una superficie estriada que se hace más evidente en la zona del micrópilo, además se observó que están conformados por el ooplasma, el corion formado por poros que se cierran después de la fertilización y una membrana externa que se desprende para formar un tapón en la zona del micrópilo después de la fertilización (figura 8).



Figura 8. Cambios morfológicos después de la fertilización en un ovocito de la población de cueva de Pachón.

En la evaluación espermática (figura 7) se encontró que la población de superficie de Rascón presentó el mayor porcentaje de viabilidad con una Mediana=99.5% y la población de cueva de Vázquez presentó el mayor porcentaje de células inmaduras con una Mediana=95%, además la población de cueva de Pachón presentó la mayor área de la cabeza del espermatozoide con una Mediana=9.19 μ .

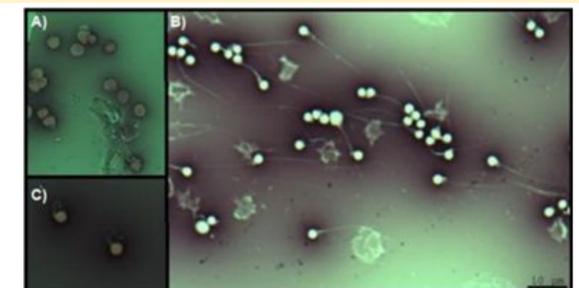


Figura 7. Tinción eosina-nigrosina. A) célula inmadura, B) espermatozoide vivo, C) espermatozoide muerto.

Finalmente se observó que en las poblaciones a las cuales se les administró la combinación hormonal, se obtuvo un mayor número de ovocitos (450-950) en comparación con las poblaciones que no se les aplicó la combinación hormonal (14-38).

Agradecimientos:

- A la beca de PAPIIT y el proyecto PAPIIT - IN212419