



**UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE
TABASCO**

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS**



**DETERMINACIÓN SEXUAL Y DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO
GONADAL EN LARVAS DE CASTARRICA (*Mayaheros urophthalmus*)**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

ANDREA CRISTINA CARRETA ORTIZ

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

DRA. JULIA MARÍA LESHER GORDILLO

EN CODIRECCIÓN DE:

DR. WILFRIDO MIGUEL CONTRERAS SÀNCHEZ

VILLAHERMOSA, TABASCO. FEBRERO 2026

Declaración de Autoría y Originalidad

En la Ciudad de Villahermosa, Tabasco, el día 05 del mes de diciembre del año 2025, la que suscribe **Andrea Cristina Carreta Ortiz** alumna del Programa de **Biología** con número de matrícula **142G17096** adscrita a la **División Académica de Ciencias Biológicas** de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autora de la Tesis presentada para la obtención del título de **Licenciatura en Biología** y titulado **“DETERMINACIÓN SEXUAL Y DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO GONADAL EN LARVAS DE CASTARRICA (*Mayaheros urophthalmus*)”** dirigido por la **Dra. Julia María Lesher Gordillo** y el **Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez**.

DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentado de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

Villahermosa, Tabasco a 05 de diciembre 2025.



Andrea Cristina Carreta Ortiz



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**

Villahermosa, Tab., a 04 de Diciembre de 2025


ASUNTO: Autorización de Modalidad de Titulación

**C. LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFE DEL DEPTO. DE CERTIFICACIÓN Y TITULACION
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E**

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado, informo a usted, que en base al reglamento de titulación vigente en esta Universidad, ésta Dirección a mi cargo, autoriza a la **C. ANDREA CRISTINA CARRETA ORTIZ** egresada de la Lic. en **BIOLOGIA** de la División Académica de **CIENCIAS BIOLÓGICAS** la opción de titularse bajo la modalidad de Tesis denominado: **"DETERMINACIÓN SEXUAL Y DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO GONADAL EN LARVAS DE CASTARRICA (*Mayaheros urophthalmus*)"**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para saludarle afectuosamente.

A T E N T A M E N T E


**DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente Alumno de la División Académica

C.c.p.- Interesado



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**



DICIEMBRE 04 DE 2025

**C. ANDREA CRISTINA CARRETA ORTIZ
PAS. DE LA LIC. EN BIOLOGIA
P R E S E N T E**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 111 al 113 del Cap. IV del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis denominado: **"DETERMINACIÓN SEXUAL Y DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO GONADAL EN LARVAS DE CASTARRICA (*Mayaheros urophthalmus*)"**, asesorado por Dra. Julia María Leshner Gordillo y Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez, sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por el Dr. Ulises Hernández Vidal, Dra. Wendy Arévalo Frías, Dra. Julia María Leshner Gordillo, Dra. Claudia Elena Zenteno Ruiz y Dr. Leonardo Cruz Rosado.

A T E N T A M E N T E
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE


**DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR**

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente del Alumno.
Archivo.



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2025
AÑO DE LA
Mujer
Indígena

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**

03 de diciembre de 2025

C. ANDREA CRISTINA CARRETA ORTIZ
Egresada de la Lic. en Biología

En cumplimiento de los lineamientos de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, se implementó la revisión del trabajo recepcional (Tesis), a través de la plataforma Turnitin iThenticate para evitar el plagio e incrementar la calidad en los procesos académicos y de investigación en esta División Académica. Esta revisión se realizó en correspondencia con el Código de Ética de la Universidad y el Código Institucional de Ética para la Investigación.

Por este conducto, hago de su conocimiento las observaciones, el índice de similitud y el reporte de originalidad obtenido a través de la revisión en la plataforma iThenticate de su trabajo recepcional **DETERMINACIÓN SEXUAL Y DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO GONADAL EN LARVAS DE CASTARRICA (*Mayaheros urophthalmus*)**.

Se incluyó citas, se excluyó bibliografía y se estableció el umbral de exclusión de coincidencias pequeñas a 16 palabras.

RESULTADO DE SIMILITUD	3 %
	59 páginas y 12083 palabras

Finalmente, se le solicita a la **C. ANDREA CRISTINA CARRETA ORTIZ**, integrar en la versión final del trabajo recepcional, este oficio y el informe de originalidad con el porcentaje de similitud de Turnitin iThenticate.

Sin otro particular al cual referirme, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"


DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.c.p. Dra. Julia María Leshher Gordillo. Directora de tesis
C.c.p. Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez. Codirector de tesis
C.c.p. Archivo

ANDREA CRISTINA CARRETA ORTIZ

DETERMINACIÓN SEXUAL Y DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO GONADAL EN LARVAS DE CASTARRICA (Mayaheros urophthal...

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::3117:535868208

Fecha de entrega

3 dic 2025, 11:02 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

3 dic 2025, 11:37 a.m. GMT-6

Nombre del archivo

ANDREA CRISTINA CARRETA ORTIZ_TR Tesis.pdf

Tamaño del archivo

1.7 MB

59 páginas

12.083 palabras

64.159 caracteres

3% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...




Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Coincidencias menores (menos de 16 palabras)
- ▶ Abstract
- ▶ Trabajos entregados

Exclusiones



- ▶ N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 3%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad




N.º de alertas de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
90 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.
-  **Texto oculto**
36 caracteres sospechosos en N.º de páginas
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Fuentes principales

- 3%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Fuentes principales

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	Internet	cicese.repositorioinstitucional.mx	<1%
2	Internet	docplayer.es	<1%
3	Internet	www.hos.ufl.edu	<1%
4	Internet	www.researchgate.net	<1%
5	Internet	slideplayer.es	<1%
6	Internet	www.scielo.org.co	<1%
7	Internet	ri.ujat.mx	<1%
8	Internet	www.colibri.udelar.edu.uy	<1%

Carta de Cesión de Derechos

Villahermosa, Tabasco a 05 de diciembre 2025.

Por medio de la presente manifiesto haber colaborado como AUTORA en la producción, creación y/o realización de la obra denominada **“DETERMINACIÓN SEXUAL Y DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO GONADAL EN LARVAS DE CASTARRICA (*Mayaheros urophthalmus*)”** Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un período de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

COLABORADORES

Andrea Cristina Carreta Ortiz _____

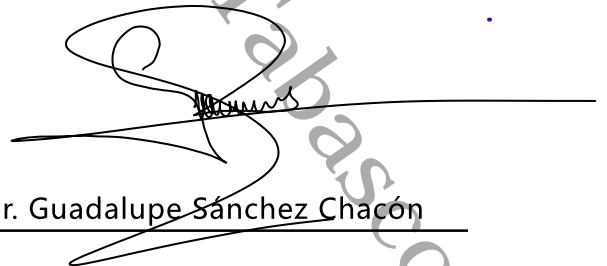
Dra. Julia María Lesher Gordillo _____

Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez _____

TESTIGOS



Ing. Leidy Sánchez Velazquez



Secr. Guadalupe Sánchez Chacón

AGRADECIMIENTOS

- ✎ Agradezco profundamente a mis directores de tesis la doctora Julia Maria Lesher Gordillo y al doctor Wilfrido Miguel Contreras Sanchez que en base a su extenso conocimiento y sabiduría me brindaron las bases, él apoyó y la solvencia para realizar este trabajo de investigación.
- ✎ A mi familia por su apoyo incondicional, por confiar en mis capacidades y por siempre motivarme a continuar con mis sueños y mis metas, a mi tío quien me enseñado a ser una persona trabajadora y responsable, a mi mami quien me educo durante 28 años y que me hizo la mujer que soy hoy en día y que donde quiera que este este logro es por ella, a mi mamá quien se ha convertido en un gran apoyo emocional, a mi pareja que desde el inicio de mi carrera me enseñó a ser perseverante y luchar por alcanzar mis metas. También agradezco a Canelita y Max quienes me motivan día a día y me dan una razón para despertar cada mañana y seguir luchando por las cosas que me gustan.
- ✎ Agradezco a los amigos y colegas que me fui encontrando durante la realización de este proyecto y que hoy en día siguen presentes en mi vida mostrándome su apoyo incondicional y que con su conocimiento me guiaron en cada una de mis dudas e inquietudes.
- ✎ Quiero agradecer también profundamente al doctor Ulises Hernández Vidal y a la Maestra Arlette Amalia Hernandez Franyuti quienes han sido mis mentores y motivación para mi enfoque de estudio.
- ✎ Agradezco haber tenido acceso al laboratorio de acuicultura tropical y formar parte del equipo de biología y manejo de organismos acuáticos en donde se me brindo las herramientas y los espacios necesarios dentro de las instalaciones para la realización de este estudio.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	10
RESUMEN	18
ABSTRAC	19
PALABRAS CLAVE	20
INTRODUCCIÓN	21
ANTECEDENTES	23
Área de distribución de la especie:	23
Mecanismos de determinación sexual en vertebrados:	23
Determinación y diferenciación sexual	26
Diferenciación sexual	26
Determinación sexual en peces:	27
Función del gen <i>Dmrt1</i> durante el periodo de determinación y diferenciación sexual	29
Función de los genes <i>Cyp19a</i> y <i>Cyp19b</i> durante el periodo de determinación y diferenciación sexual	29
Importancia de la mojarra Castarrica	29
JUSTIFICACIÓN	32
OBJETIVOS	34
General	34
Particulares	34
MATERIALES Y MÉTODOS	35
Obtención de larvas	35
Expresión genética	40
Extracción de ARN.	40
Digestión con DNAsa y proteinasa K.	40
Electroforesis de ARN en gel desnaturalizante	40

Retrotranscripción de ARN (RT-PCR).....	40
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	41
Técnica histológica para la observación de la diferenciación gonadal por periodos. ...	41
RESULTADOS	42
DESARROLLO TEMPRANO Y DIFERENCIACIÓN SEXUAL	42
10 días de eclosión.....	42
20 días de eclosión.....	43
30 días de eclosión.....	45
40 días de eclosión.....	46
50 días de eclosión.....	47
60 días de eclosión.....	48
70 días de eclosión.....	49
80 días de eclosión.....	50
90 días de eclosión.....	51
100 días de eclosión.....	53
ANÁLISIS MOLECULAR	58
Análisis de la integridad y calidad de las muestras.....	58
Expresión de <i>Cyp19a</i>	59
Expresión de <i>Cyp19b</i>	59
Expresión de <i>Dmrt1</i>	60
DISCUSIÓN	63
Determinación sexual.....	63
Expresión de <i>Cyp19</i>	63
Expresión de <i>dmrt1</i>	64
Diferenciación sexual.....	65
CONCLUSIONES	67
LITERATURA CITADA	68

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales genes que participan en el proceso de determinación y diferenciación sexual en peces..... 30

Tabla 2. Proceso de gonadogénesis por estadio muestreado.....55

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Proceso de esteroidogénesis a partir de la síntesis del colesterol (solo esteroides sexuales).....	25
Figura 2. Mecanismos de determinación sexual más estudiados en peces.....	28
Figura 3. Croquis del Laboratorio de Acuicultura Tropical, de la División Académica de Ciencias biológicas.....	35
Figura 4. Tren de deshidratación.....	36
Figura 5. Representación gráfica de los planos corporales del organismo.....	37
Figura 6. Referencia para la toma de datos morfo métricos.....	37
Figura 7. Representaciones de las secciones de nivel de corte transversal en organismos que van desde los 50 hasta los 100 DDE.....	38
figura 8. Rangos de temperatura entre los meses muestreados.....	39
Figura 9. Organismo de <i>Mayaheros urophthalmus</i> con 10 DDE.....	42
Figura 10. Corte sagital de larva de 10 días de eclosión de <i>Mayaheros urophthalmus</i>	43
Figura 11. individuo de <i>Mayaheros urophthalmus</i> los 20 DDE.....	44
Figura 12. Se muestra vista panorámica de corte sagital de la gónada indiferenciada en dos organismos diferentes de <i>Mayaheros urophthalmus</i> con 20 DDE.....	44
Figura 13. Imagen general de un organismo de <i>Mayaheros urophthalmus</i> con 30 DDE.....	45

Figura 14. Se muestra corte transversal de organismos de 30 días de eclosión de <i>Mayaheros urophthalmus</i>	45
Figura 15. Organismo de <i>Mayaheros urophthalmus</i> con 40 DDE.....	46
Figura 16. Corte transversal de un organismo de <i>Mayaheros urophthalmus</i>	46
Figura 17. Organismo de <i>Mayaheros urophthalmus</i> con 50 DDE.....	47
Figura 18. Corte transversal donde se muestra dos organismos diferentes de <i>Mayaheros urophthalmus</i>	48
Figura 19. Organismo de <i>Mayaheros urophthalmus</i> con 60 DDE.....	48
Figura 20. Corte transversal de un organismo de <i>Mayaheros urophthalmus</i> con 60 DDE.....	49
Figura 21. Organismo de <i>Mayaheros urophthalmus</i> con 70 DDE.....	49
Figura 22. Corte transversal de 70 días de eclosión de 2 organismos de <i>Mayaheros urophthalmus</i>	50
Figura 23. Organismos de <i>Mayaheros urophthalmus</i> de 80 DDE.....	50
Figura 24. Corte transversal de organismos de 80 DDE de <i>Mayaheros urophthalmus</i>	51
Figura 25. Organismo con 90 DDE de <i>Mayaheros urophthalmus</i>	51

Figura 26. Vista general de un corte transversal de un individuo de 90 días de eclosión de <i>Mayaheros urophthalmus</i>	52
Figura 27. Organismo de 100 DDE de <i>Mayaheros urophthalmus</i>	53
Figura 28. Se muestra corte transversal de organismo de <i>Mayaheros urophthalmus</i> con 100 días de eclosión.....	54
Figura 29. Análisis de la integridad de ARNm.....	58
Figura 30. Visualización de la expresión del gen <i>Cyp19a</i> y <i>Cyp19b</i> en organismos de <i>Mayaheros urophthalmus</i>	59
Figura 31. visualización del gen <i>Dmrt1</i> en organismos de <i>Mayaheros urophthalmus</i>	60
Figura 32. Relación entre la expresión de los genes <i>Cyp19a</i> (gónada)♀ y <i>Cyp19b</i> (cerebro)♀ y <i>Dmrt1</i> ♂ versus el desarrollo de la gónada en los mismos periodos de muestreo.....	61

**DETERMINACIÓN SEXUAL Y DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO GONADAL
EN LARVAS DE CASTARRICA (*Mayaheros urophthalmus*)**

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

RESUMEN

Mayaheros urophthalmus es una especie nativa del estado de Tabasco que está siendo introducida a los sistemas de cultivo acuícola para el estudio y la investigación de los aspectos reproductivos y la determinación sexual la cual puede estar asociada a factores físicos como la temperatura, químicos como el pH, cromosómico y/o genéticos como la presencia de genes maestros como *DMRT1* específico para machos y genes reguladores como los *CYP19A* y *CYP19B* indispensables durante el desarrollo sexual de hembras. La diferenciación sexual ocurre una vez establecido el sexo genotípico y es un proceso ontogénico por medio del cual una gónada indiferenciada, se desarrolla para formar un testículo u ovario. Para el presente estudio se seleccionó un lote de reproductores para aislar las puestas de larvas en canales de 200 litros y se comenzó el primer muestreo a los 10 primeros días de eclosión con un total de 10 organismos por cada muestreo, tomando cada muestra cada 10 días, hasta completar los 100 días post eclosión para el estudio de determinación sexual se analizaron a nivel molecular la presencia de los genes *CYP19a* y *CYP19b* los cuales mostraron una mayor expresión en el día 70 y el día 100 de eclosión mientras que *DMRT1* se logra visualizar durante todos los muestreos pero también muestra un alto umbral de expresión en el día 70 y 100 de eclosión. De igual manera la diferenciación sexual se observó a nivel histológico en donde el lote de animales muestreados fue fijado en formaldehído al 30%, procesados y teñidos con hematoxilina-eosina para su observación en microscopía óptica, donde los resultados muestran que las células germinales primordiales comienzan a colonizar la gónada a partir del día 30 de eclosión posterior a esto la gónada muestra cambios morfofisiológicos evidentes sin completar la diferenciación gonadal.

ABSTRACT

Mayaheros urophthalmus is a native species of the state of Tabasco that is being introduced into aquaculture farming systems for the study and research of reproductive aspects and sex determination. Sex determination may be associated with physical factors like temperature, chemical factors like pH, chromosomal factors, and/or genetic factors like the presence of master genes such as DMRT1 (specific for males) and regulatory genes such as CYP19A and CYP19B (essential during female sexual development). Sexual differentiation occurs once the genotypic sex is established and is an ontogenetic process by which an undifferentiated gonad develops to form either a testis or an ovary.

For the present study, a batch of broodstock was selected to isolate larval clutches in 200-liter troughs. The first sampling began at 10 days post-hatching (dph), with a total of 10 organisms per sample, taken every 10 days, until completing 100 dph.

For the study of sex determination, the presence of the genes CYP19A and CYP19B was analyzed at the molecular level. They showed higher expression on 70 dph and 100 dph, while DMRT1 was visible during all samplings but also showed a high expression threshold on 70 dph and 100 dph.

In addition, sexual differentiation was observed at the histological level, where the sampled batch of animals was fixed in Bouin's solution, processed, and stained with hematoxylin-eosin for observation under light microscopy. The results show that the primordial germ cells begin to colonize the gonad starting from 30 dph. Subsequently, the gonad shows evident morphophysiological changes without completing gonadal differentiation.

PALABRAS CLAVE

- **CGP:** células germinales primordiales
- **DDE:** días después de la eclosión
- **LT:** longitud total
- **LP:** longitud patrón
- **DETERMINACIÓN SEXUAL:** se refiere a como el sexo de un individuo llega a ser definido y este ocurre durante la fecundación.
- **DIFERENCIACIÓN SEXUAL:** proceso ontogénico por medio del cual una gónada indiferenciada, se desarrolla para formar un testículo o un ovario.

México

INTRODUCCIÓN

El cíclido *Mayaheros urophthalmus* (mojarra castarrica) se distribuye desde el sureste de México, en la porción media del Estado de Veracruz, norte de Oaxaca, Tabasco, Campeche, Yucatán, los ríos de Quintana Roo, hasta Centroamérica abarcando Belice, Guatemala, Honduras y Nicaragua, esto según Miller (1976) citado por (Álvarez, Márquez, Ramírez, & Jesús, 2013).

Es una especie de importancia comercial para el estado de Tabasco y es explotada en la pesca artesanal (Martínez-Palacios & Ross, 1992). Esta especie es monógama, sin un aparente dimorfismo sexual; sin embargo, los machos suelen ser más grandes y pronunciados que las hembras. Su reproducción es prolongada entre los meses de marzo y octubre abarcando la época de secas y lluvias, con una pauta aproximada de 26 días en cada desove y un promedio de 6,615 huevos por cada puesta, además presenta cuidado biparental de huevos, larvas y alevines siendo incubadores de sustrato. La especie mantiene una reproducción precoz iniciando su ciclo reproductivo con una talla de aproximadamente 12 cm y su actividad reproductiva está regulada por los patrones de temperatura (Barrientos-Medina, 2003). A pesar de existir información sobre los factores que intervienen en la regulación de su ciclo reproductivo, a la fecha se desconoce el genoma que se expresa durante el proceso de determinación sexual y los eventos moleculares de su diferenciación gonadal, así como los cambios morfológicos que se presentan durante la diferenciación sexual.

En general los procesos que están involucrados durante el desarrollo y el establecimiento del sexo están integrados en 3 distintas etapas que se llevan a cabo en tiempos y espacios de manera particular: 1) determinación, 2) diferenciación y 3) manifestación (Salame-Mendez & Villalpando-Fierro, 1998). En la primera se lleva a cabo el establecimiento del sexo genético a partir de la fertilización, En la segunda se expresa el genoma que dirige la morfogénesis (formación de los caracteres morfológicos a partir de la señalización y expresión de genes) y diferenciación del primordio gonadal en testículos u ovarios y por último la presencia de todos esos factores se ve expresado en el desarrollo de los genitales internos y externos (Salame-Mendez & Villalpando-Fierro, 1998). El principal objetivo de este estudio es determinar la expresión de los genes determinantes del sexo como el *Dmrt1*, el *Cyp19a* y *Cyp19b* que pudieran estar participando, expresándose e interactuando en la

etapa de determinación y diferenciación sexual de la mojarra castarrica durante las etapas de crecimiento larval hasta tener un adulto completamente diferenciado.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

ANTECEDENTES

Área de distribución de la especie:

Mayaheros urophthalmus es un pez conocido localmente como mojarra castarrica o cíclido maya. Es una especie nativa de la vertiente del río Usumacinta y se distribuye de manera natural desde el sur de México (Tabasco, Veracruz, Chiapas, la península de Yucatán y Oaxaca) hasta, Belice, Guatemala, Honduras y Nicaragua (Miller, 1976). Sin embargo, la especie ha sido introducida a ecosistemas de Florida, USA, Singapur y Tailandia donde se le ha considerado una especie invasora (Fernández-Pérez, 2024). Estas introducciones están relacionadas con su comercio como especie de ornato.

Mecanismos de determinación sexual en vertebrados:

Un mecanismo de determinación sexual es un sistema biológico que determina el desarrollo de las características sexuales de un organismo (Wootton & Smith, 2014). Existen distintos tipos de determinación sexual y varían según el vertebrado del cual estemos hablando. Así, puede haber especies donde, su determinación sexual está dada por factores ambientales como la temperatura, como en el caso de algunos reptiles como los cocodrilos o las tortugas (Salame-méndez, 1998). Otro mecanismo de determinación sexual es el de las aves en el cual se ven involucrados cromosomas sexuales, ZZ en el caso de los machos y ZW en las hembras (Dubiec & Zagalaska-Neubauer, 2006). De igual manera la determinación sexual en los mamíferos se ve influenciada por la presencia de cromosomas sexuales y el sexo queda establecido durante la fertilización, en este caso la hembra presenta un par de cromosomas sexuales XX y en el caso de los machos un par XY (Raymond *et.al*, 1999).

Los peces, son el grupo de vertebrados más diverso (Nelson, Wilson, & Grande, 2016) y son organismos que además presentan distintos tipos de mecanismos para la determinación sexual (Wootton & Smith, 2014). Uno de los mecanismos de determinación sexual que presentan los peces es la ambiental, en donde los cambios o patrones de temperatura o pH son los que establecen el sexo genético de algunas especies de peces (Devlin & Nagaham, 2002). También existen especies hermafroditas en donde la determinación sexual en algún

periodo de su vida va a depender de la relación sociales dentro del grupo (Munday, Caley, & Jones, 1998).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

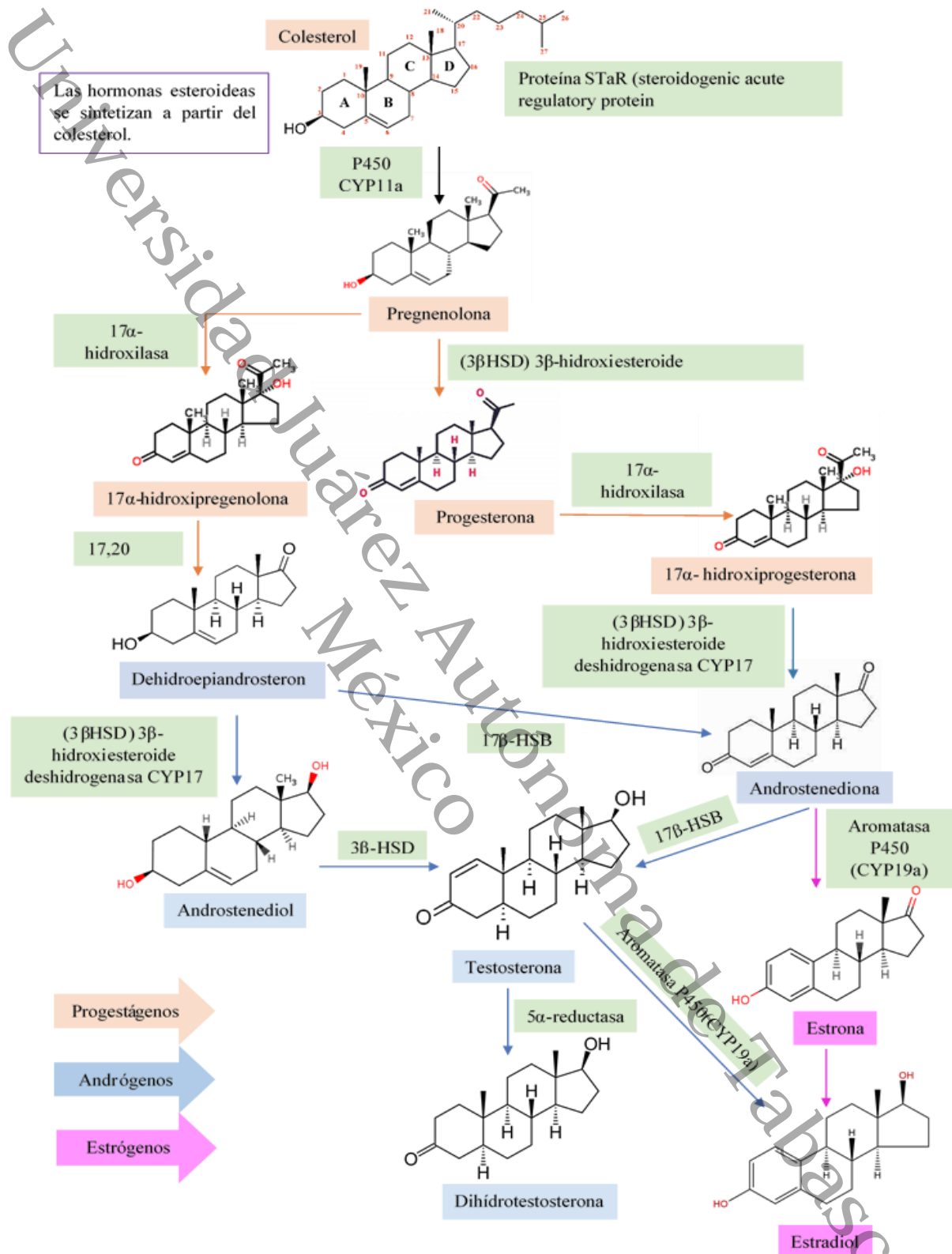


Figura 1. Proceso de esteroidogénesis a partir de la síntesis del colesterol (solo esteroides sexuales) (Andrew. A & Walter L, 2014)

Determinación y diferenciación sexual

La **determinación sexual** se refiere a como el sexo de un individuo llega a ser definido, la determinación sexual puede ocurrir por mecanismos genéticos (GSI por sus siglas en inglés genetic sex determination), y por factores externos ambientales como la temperatura (Lasalle, 2016). Los organismos que presentan este tipo de determinación ambiental generalmente no poseen cromosomas sexuales, y han desarrollado otro tipo de estrategias que dependen de las condiciones de su entorno para la determinación del sexo de su prole (Redondo, 2016). Por otro lado, el proceso de **diferenciación sexual** conlleva una serie de eventos bioquímicos y moleculares que darán lugar a la formación de una gónada femenina o masculina. Una gónada antes de ser diferenciada tiene la característica de ser bipotencial (es decir a partir de un esbozo común: tejido germinal o somático dependiendo de los factores de diferenciación se formará un ovario o un testículo), y todo este proceso se da por la acción conjunta de genes (Brenan & Capel, 2004).

Diferenciación sexual

La diferenciación sexual es un proceso ontogénico por medio del cual una gónada indiferenciada, se desarrolla para formar un testículo o un ovario (Piferrer & Guiguen, 2008). Este proceso implica distintos eventos bioquímicos y moleculares, en primer lugar, durante el periodo de determinación sexual se desarrolla el primordio gonadal que tiene la característica de ser toti-potencial (Joy & Chaube, 2015). Durante la diferenciación sexual se desarrollan gónadas bipotenciales en las que se encuentran las células germinales primordiales (CGP) Las CGPs tienen un origen extragonadal, y llegan a colonizar la gónada bipotencial durante la fase de diferenciación, las CGP pasan por tres fases distintas: en la primera, *fase de separación* las CGP abandonan el intestino posterior y entran en el mesénquima del mesenterio dorsal, en la segunda, *fase de migración* las CGP usan movimientos ameboides para moverse entre las células mesenquimales del mesenterio dorsal y viajar hacia las crestas genitales y finalmente en la *fase de colonización* las CGP se establecen en la cresta genital y proliferan para formar una gónada masculina o femenina completamente madura (Fujimoto, Miyayama, & Fuyuta, 1977).

En los peces teleósteos el desarrollo gonadal también está asociado al del sistema renal, las gónadas derivan de un solo primordio gonadal y se desarrollan a partir del epitelio peritoneal (Nakamura M. , Kobayashi, Xiao-Tian, & Nagahama, 1998).

Determinación sexual en peces:

La **determinación sexual** es una serie de procesos morfo fisiológicos que desarrollan el primordio gonadal totipotencial de los peces (Joy & Chaube, 2015). Los peces teleósteos son organismos muy diversos y plásticos en la forma en la que el sexo es determinado y expresado, incluso a causa de la gran diversidad de especies, los denominados genes maestros los cuales dan inicio y regulan la cascada genética de determinación del sexo, no están del todo conservados en los peces teleósteos (Volff, Kondo, & Scharl, 2003). En algunos de estos genes se han observado variaciones entre especies del mismo género, por ejemplo; *dmY* es el gen maestro determinante del sexo en el pez medaka (*Oryzias latipes*) el cual se expresa exclusivamente en machos y solo se encuentra en el cromosoma Y, en *O. luzonensis* el gen maestro es *gsdfY* (*gonadal soma derived growth factor on the Y chromosome*) (Takehana *et.al*, 2014) y en *O. dancena* el gen determinante es *sox3Y* mientras que en los salmónidos únicamente, se ha conservado el gen determinante del sexo *sdY* (Myosho *et al.*, 2012).

En algunas especies de peces gonocóricas (sexos separados) la determinación sexual es genética (DSG) presentándose un juego de cromosomas denominados cromosomas sexuales, que suelen ser diferentes para cada sexo (sistemas XX-XY o ZW-ZZ, para hembra-macho) como se muestra en la figura 2 (Carrillo, 2009). La determinación sexual también suele estar influenciada por los cambios de temperatura en otras muchas especies, como es el caso del pejerrey del atlántico el cual posee los genes *cyp11a1* y *cyp11b1* que son termo-sensibles y a bajas temperaturas (17°C) hay una mayor proporción de hembras mientras que a temperaturas altas (29°C) habrá una mayor proporción de machos, la cascada molecular que está presente en la determinación testicular del pejerrey involucra los genes (*Amh*, *Dmrt1* y *Sox9*) asociados a las células de Sertoli y los asociados a las células de Leydig (*Nr5a1* y *Sf1*) (Samoza & Fernandino, 2012). En un estudio de secuenciación y expresión del gen *dmrt1* se demostró que en el pez sapo (*Halobatrachus didactylus*) la expresión de este gen es significativa para el mantenimiento y el establecimiento del sexo genético, la formación del

testículo y la regulación de la espermatogénesis (Úbeda-Manzanaro, Ortiz-Delgado, Merlo, Rebordinos, & Sarasquete, 2012), y durante el periodo de diferenciación la inhibición o supresión de los genes de aromatasa (*Cyp19a1a*, *Cyp 11*) dará lugar a la formación testicular, esta actividad no solo se ve en peces sino también en anfibios y su presencia se da también a nivel cerebral (Comalleau *et al.*, 2015).

Existen otras especies en las que, aunque su determinación sexual es establecida a nivel genético la temperatura se puede sobre poner ante esta, por ejemplo; en un estudio liderado por el Instituto de Ciencias del Mar de Barcelona en 2011 en larvas de lubina que fueron expuestas a distintas temperaturas (normales y altas) durante su primera semana de vida, se demostró que las altas temperaturas inducen la metilación del ADN promotor del gen *Cyp19a*. Este gen es indispensable para la formación de la enzima citocromo P450 aromatasa, dicha enzima es la encargada de convertir los andrógenos (como la testosterona) en estrógenos (como el estradiol) así que la expresión de esta enzima es crítica para la reproducción y muy importante durante el proceso de diferenciación sexual en peces y en la mayoría de los vertebrados (Trant J., Gavasso, Ackers, Chung, & Place, 2001).

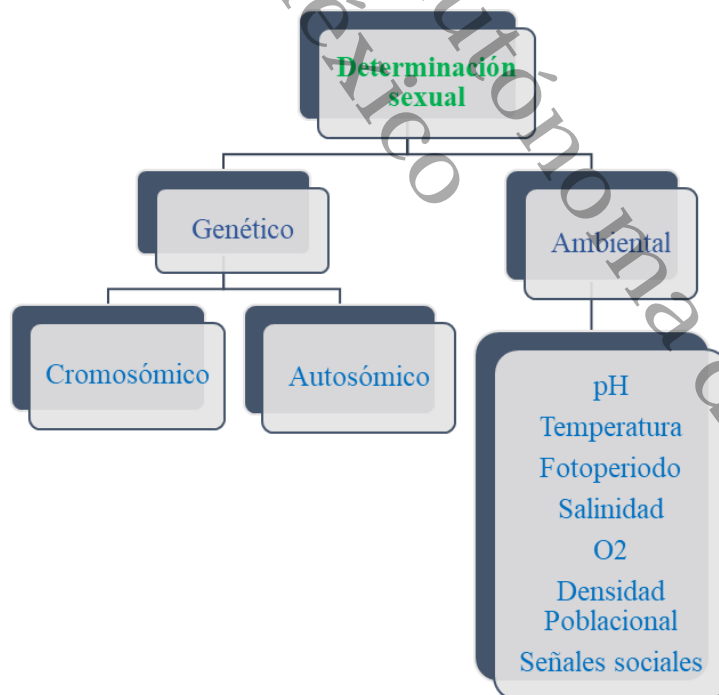


Figura 2. Mecanismos de determinación sexual más estudiados en peces.

Función del gen *Dmrt1* durante el periodo de determinación y diferenciación sexual

El gen *Dmrt1* (Doublesex and Mab3 Related Transcription Factor 1) es uno de los genes reguladores del desarrollo sexual en vertebrados y tiene un factor de transcripción que posee un dominio DM, que es motivo de unión al DNA (Erdman & Burtis, 1993)

Función de los genes *Cyp19a* y *Cyp19b* durante el periodo de determinación y diferenciación sexual

Cyp19a es indispensable para la formación de la enzima citocromo P450 aromatasa, la expresión de esta enzima es crítica para la reproducción y muy importante durante el proceso de diferenciación sexual en peces (Trant J. , Gavasso, Ackers, Chung, & Place, 2001).

Importancia de la mojarra Castarrica

En el estado de Tabasco la mojarra castarrica es una especie importante en la producción acuícola y como especie de consumo a nivel local. Debido a la alta demanda para el consumo este organismo está siendo explotado poniendo en riesgo su supervivencia. Sin embargo; actualmente esta especie se ha destinado al cultivo el cual tiene como prioridad dos principales objetivos: la producción de crías para la repoblación de cuerpos de agua explotados por la actividad pesquera y el cultivo semi-intensivo destinado a la producción para el consumo.

A pesar de su importancia económica en la región, poco se ha descrito la biología reproductiva de la especie y la información sobre los procesos de determinación y diferenciación son aún desconocidos. Por esta razón, el presente estudio pretende describir a nivel histológico los procesos esenciales de la diferenciación sexual de la mojarra castarrica y determinar la presencia de genes clave en los procesos de la determinación y la diferenciación sexual.

Tabla 1. Principales genes que participan en el proceso de determinación y diferenciación sexual en peces.

	Especie	Gen	Función
Hembra ♀	<i>Oreochromis niloticus</i>	Cyp19 Codifica la aromatasa, una enzima esteroidogénica responsable de biotransformar la T en estradiol	Cyp19a Se expresa con regularidad en el ovario en las primeras etapas de desarrollo por lo que es importante para la feminización
			Cyp19b Se expresa en el cerebro y también está relacionada con mecanismos de neuroplasticidad y neurogénesis
	<i>Oreochromis niloticus</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i> <i>Dicentrarchus labrax</i>	Foxl2	podría desempeñar un papel importante en la esteroidogénesis y en el crecimiento y la maduración del ovario
	<i>Oreochromis niloticus</i> <i>Danio rerio</i> <i>Oryzias sp.</i>	Figla	Es específico de células germinales y está asociado con el desarrollo y la diferenciación ovárica en los vertebrados
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Shbgb	Presente durante la diferenciación gonadal y diferenciación ovárica
	<i>Oncorhynchus mykiss</i> <i>Danio rerio</i>	StAR	regula el tiempo y la tasa de esteroidogénesis
	Macho ♂	<i>D. labrax, D. rerio, O. latipes, pejerrey</i> <i>Odontesthes microlepidotus</i>	Amhy
<i>D. labrax, D. rerio, O. latipes, pejerrey</i> <i>Odontesthes microlepidotus</i>		Amhr2 (receptor de hormona antimülleriana tipo 2)	se expresa en células somáticas que rodean a las células germinales y sdY
<i>D. labrax, D. rerio, O. latipes, pejerrey</i> <i>Odontesthes microlepidotus</i>		Gsdf	Indispensable durante la diferenciación sexual
<i>Oncorhynchus mykiss</i>		StAR	regula el tiempo y la tasa de esteroidogénesis

	<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>Dmrt1</i>		Está estrechamente relacionado con el inicio del proceso de determinación sexual (Gen maestro determinante del sexo)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	<i>Sox9</i>	<i>Sox9a</i>	se expresa en las células de Sertoli y células epiteliales del conducto deferente durante la diferenciación gonadal.
			<i>Sox9b</i>	
	<i>Oreochromis niloticus</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i> <i>Dicentrarchus labrax</i> <i>Danio rerio</i>	<i>Amh</i>		Este gen se expresa exclusivamente en las gónadas y su función es la diferenciación normal de las estructuras reproductivas

Esta información fue tomada de: Enríquez-Valencia, CE, Prieto-Mojica, CA, & Gómez-Balanta, FZ (2022). Regulación genética de la determinación sexual y diferenciación gonadal en peces teleósteos. *Entramado*, 18 (1), e7607. <https://doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.1.7607>

JUSTIFICACIÓN

En el estado de Tabasco la mojarra castarrica es una especie importante en la producción acuícola y como especie de consumo a nivel local. Debido a la alta demanda para el consumo este organismo está siendo explotado poniendo en riesgo su supervivencia. Sin embargo; actualmente esta especie se ha destinado al cultivo el cual tiene como prioridad dos principales objetivos: la producción de crías para la repoblación de cuerpos de agua explotados por la actividad pesquera y el cultivo semiintensivo destinado a la producción para el consumo.

A pesar de su importancia económica en la región, poco se ha descrito la biología reproductiva de la especie y la información sobre los procesos de determinación y diferenciación son aún desconocidos. Por esta razón, el presente estudio pretende describir a nivel histológico los procesos esenciales de la diferenciación sexual de la mojarra castarrica y determinar la presencia de genes clave en los procesos de la determinación y la diferenciación sexual. Es innegable la importancia que tiene el conocer los aspectos relacionados con el desarrollo temprano de una especie por la simple necesidad de describir las especies que conforman nuestro entorno inmediato. Sin embargo, es aún más importante si esta información puede ser empleada en la implementación de biotecnologías que permitan la preservación de especies sobreexplotadas y con fuertes presiones sobre sus ambientes como es el caso de la mojarra castarrica.

El conocimiento de los procesos involucrados durante la ontogenia como lo es la determinación sexual y los genes que la regulan puede revelar información relevante sobre el desarrollo de fenotipos de interés para el ser humano. Es bien sabido que, en algunas especies, el dimorfismo sexual viene acompañado de diferencias importantes en el crecimiento y tamaño final de hembras y machos. En el caso de la castarrica, los machos aparentemente presentan mayores tallas y posiblemente mayores tasas de crecimiento. Por esta razón, el poder identificar la presencia de genes como los *Cyp19a* y *Cyp19b* que se encargan del establecimiento, el mantenimiento y la maduración sexual en las hembras y el gen *Dmrt1* que regula la espermatogénesis y el desarrollo sexual en machos, así como los momentos del desarrollo en los que esto ocurre puede derivar en información de alto valor de aplicación. Conocer estos aspectos permite que los organismos derivados de un sistema

de producción sean viables para el cultivo selectivo de uno de los sexos, o también puede fortalecer el repoblamiento de los cuerpos de agua donde se lleva a cabo la explotación pesquera y puedan cumplir con su función dentro del ecosistema, reintegrándose de manera correcta a la cadena trófica y continuar su consumo sin poner a la especie en riesgo de desaparecer.

HIPÓTESIS

- Los genes *dmrt1* y *Cyp19a* influyen en la determinación sexual de la mojarra castarrica (*Mayaheros urophthalmus*).
- La diferenciación gonadal de la mojarra castarrica (*Mayaheros urophthalmus*) inicia inmediatamente después de la eclosión de los huevos.

OBJETIVOS

General

Caracterizar el proceso de diferenciación sexual en *Mayaheros urophthalmus* mediante la descripción histológica de los cambios morfológicos de las gónadas y el análisis temporal de la expresión de genes clave (*CYP19A*, *CYP19B* y *DMRT1*) de la mojarra castarrica *Mayaheros urophthalmus*.

Particulares

1. Identificar a nivel histológico los periodos de gónada indiferenciada, en diferenciación ovárica y diferenciación testicular.
2. Determinar la presencia de los genes *Cyp19a* y *Cyp19b* que se expresan en gónada y cerebro en hembras respectivamente.
3. Determinar la presencia del gen *Dmrt1* que se expresa en machos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de larvas

Las larvas de castarrica se obtuvieron de un lote perteneciente al Laboratorio de Acuicultura Tropical de la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco ubicado en el municipio de Centro, Tabasco. Sobre la carretera Villahermosa-Cárdenas entronque con Bosques de Saloya.

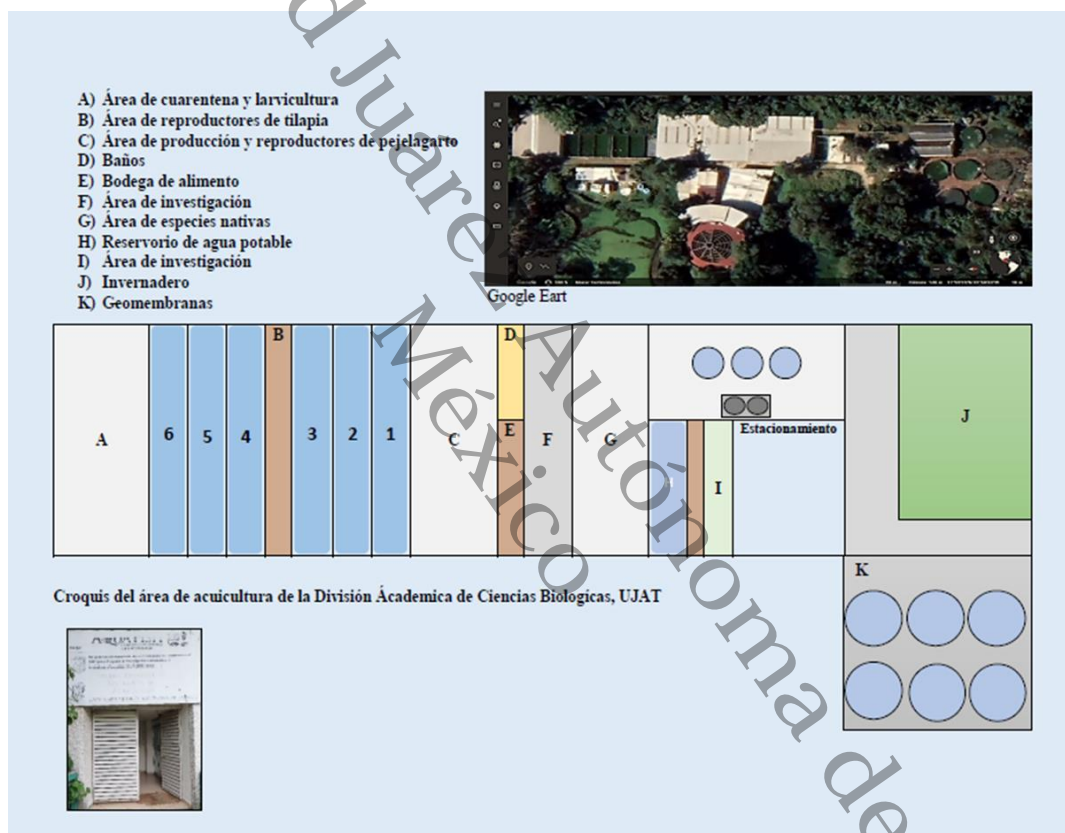


Figura 3. Croquis del Laboratorio de Acuicultura Tropical, de la División Académica de Ciencias Biológicas; extensión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT).

Los organismos fueron sembrados en una tina de 80 L en el área de larvicultura (A) y posteriormente fueron colectados y registrándose la temperatura durante el tiempo que duró el muestreo.

La primera colecta de los organismos se llevó a cabo tras 10 días después de la eclosión y se tomaron 10 organismos por colecta durante 10 colectas, en intervalos de 10 días hasta el día 100 después de la eclosión. El procesamiento de las muestras se llevó a cabo apegado a los lineamientos éticos de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

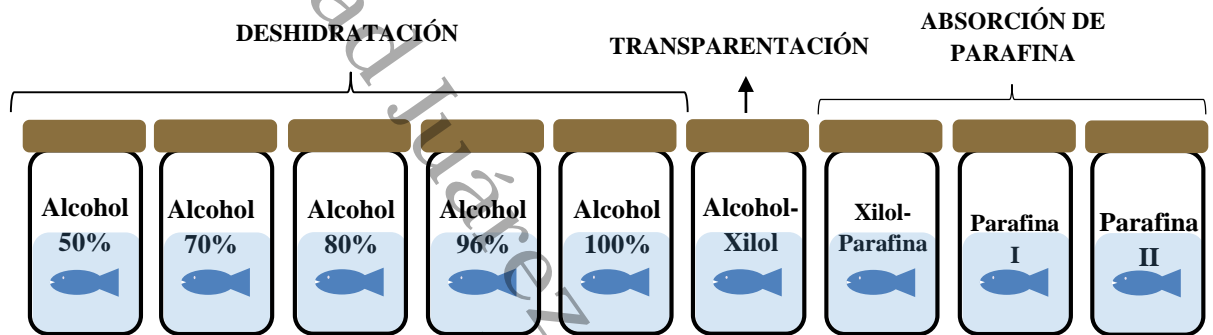


Figura 4. Tren de deshidratación. El tiempo en cada alcohol es ajustado según el tamaño de la muestra.

Para describir el proceso de gonadogénesis se procesaron 10 organismos por muestreo, para identificar la posición de la gónada en organismos de 10 a 100 DDE (Días después de la Eclosión) se realizaron cortes en plano transversal y sagital (Fig. 4).

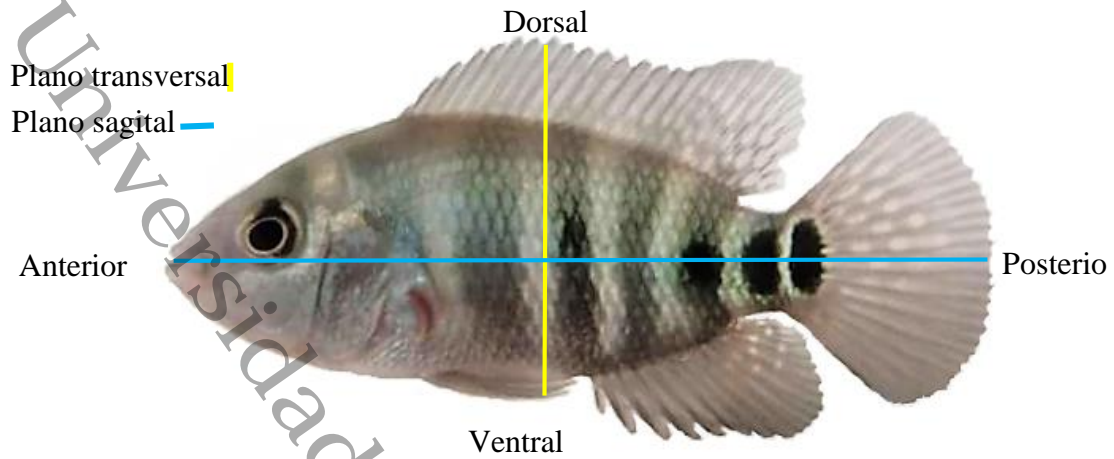


Figura 5. Representación gráfica de los planos corporales del organismo de interés. El plano transversal va de la región dorsal a la ventral y el plano sagital va de la región anterior a la posterior.

Se tomaron datos de longitud teniendo en cuenta únicamente longitud total (LT), también se tomó el peso de cada organismo por muestreo.

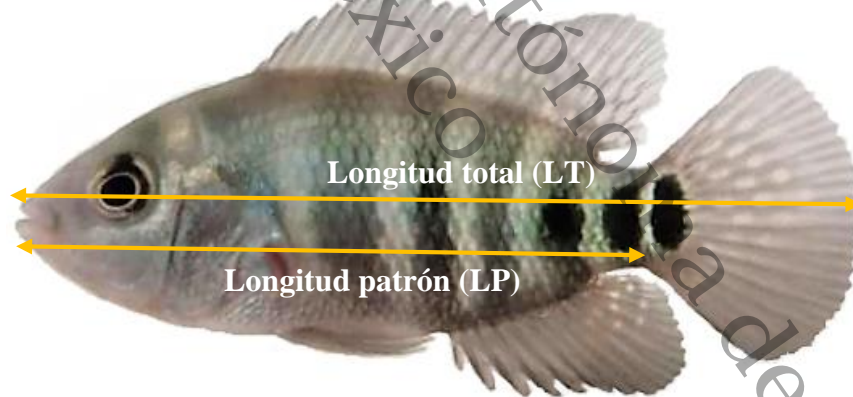


Figura 6. Referencia para la toma de datos morfo métricos. La longitud total va de la boca a la aleta caudal y la longitud patrón de la boca al inicio del pedúnculo caudal.

Los cortes sagitales se realizaron a organismos de entre los 10 y los 30 DDE y los cortes transversales se realizaron a organismos de los 40 a los 100 DDE. Para los cortes transversales se diseccionó cada organismo tomando como referencia las espinas (e) y radios (r) de la aleta dorsal (figura 2). La muestra se dividió en tres secciones: empezando por la espina numero 3 hasta la 5 (sección a), seguida de un corte a partir de la espina numero 6 a la 11 (sección b) y por último de la espina 12 hasta el radio numero 4 (sección c).

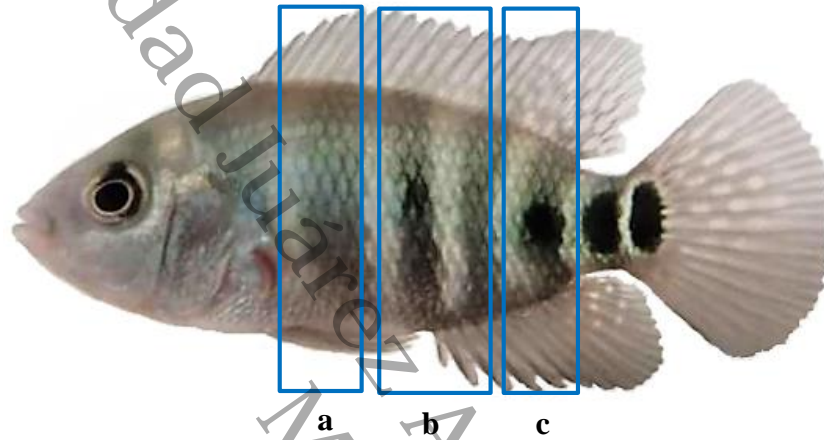


Figura 7. Representaciones de las secciones de nivel de corte transversal en organismos que van desde los 50 hasta los 100 DDE.

Durante el periodo de muestreo se tomaron algunos datos de temperatura del agua únicamente como referencia para conocer la variabilidad en los rangos de temperatura durante las colectas en las distintas tinas muestreadas.

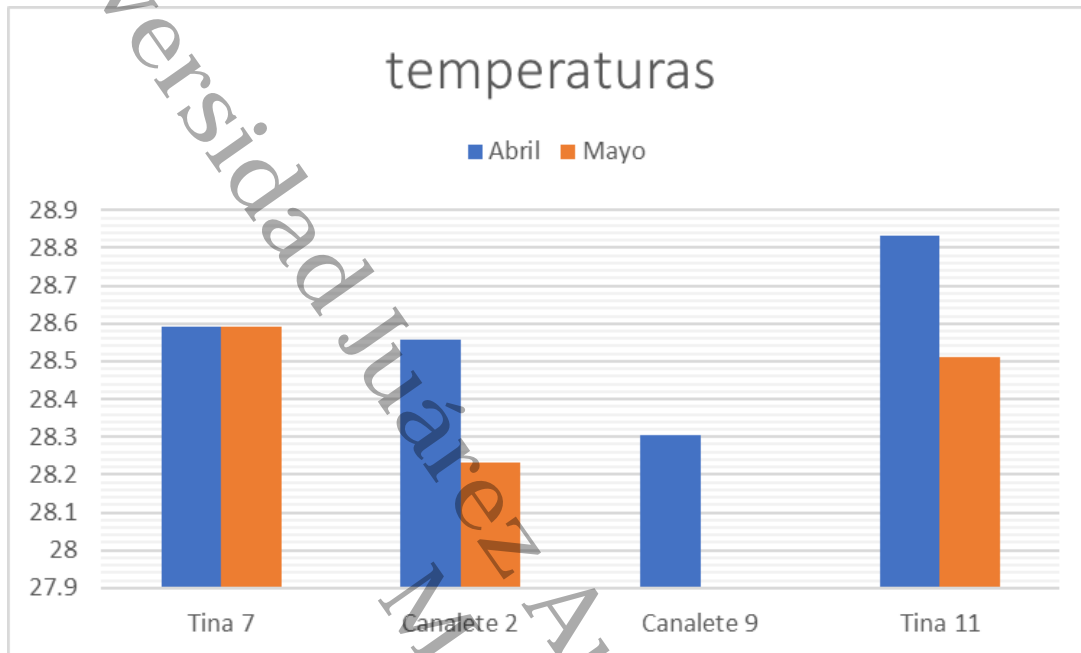


Figura 8. La siguiente figura muestra los rangos de temperatura entre los meses muestreados

Los rangos de temperatura no muestran una variabilidad significativa durante los periodos de colecta manteniendo rangos de 28°C durante los meses de abril y mayo, en el primer periodo (abril) la temperatura más baja se registra en el canaleta 9 con 28.3°C±1.7, mientras que la temperatura más alta se registra en el canaleta 11 con 28.8°C±1.7, mientras que en las tinas 7 y 2 se mantiene en 28.6°C±1.7. y durante el segundo periodo (mayo) la temperatura más alta se registra en la tina 7 con 28.6°C±1.7 y la más baja con 28.2°C±1.6 en el canaleta 2.

Expresión genética

Extracción de ARN. La extracción se realizó mediante la purificación de ARN para tejido animal con Tiocianato de Guanidina o TRizol /fenol-cloroformo, siguiendo las instrucciones del proveedor (Tri, Sigma-Aldrich Laboratories) con sus modificaciones. Se pesaron 0.2 gramos de tejido animal y se trituraron con 500 μ l de TRizol en tubos de 2.0 ml hasta tener una mezcla homogénea y se dejó reposar esta mezcla por 10 minutos a temperatura ambiente. Transcurridos 10 minutos se completó a 1 ml de TRizol con 500 μ l. Por cada ml de TRizol se agregaron 200 μ l de cloroformo. Durante el proceso de extracción se lavó dos veces el pellet resultante agregando 1 ml de etanol al 75% por cada ml de TRizol y finalmente se disolvió en 50 μ l de agua desionizada con DEPC al 0.1%.

Digestión con DNAsa y proteinasa K. Se mezcló 10 μ l de muestra de ARN con 1 μ l de DNAsa, 10 μ l de buffer de DNAsa al 1X, completando con 4 μ l de agua desionizada con DEPC al 1X, para una mezcla final de 25 μ l de muestra. Esta mezcla se dejó a 65°C por 10 minutos. Se colocó en frío inmediatamente después de finalizado este tiempo (-80°C) durante 2 horas. Concluidas las dos horas posteriormente las muestras se trataron con 10 μ l de proteinasa K (para quitar proteínas), dejando incubar a temperatura ambiente durante 24 horas.

Electroforesis de ARN en gel desnaturizante. La visualización de ARN se llevó a cabo a través de un gel desnaturizante formaldehído/agarosa al 1% (p/v) y electroforesis automática (Experion, Bio-Rad Laboratories). Para su preparación se utilizó, 17.75 ml de formaldehído al 37% (V/V), 4.93 ml de MOPS20x y 62.5 ml de agua desionizada con DEPC al 0.1%, antes de cargar el gel electroforético las muestras se desnaturizaron adicionándolas con un tampón de carga 2 μ l de agua desionizada con DEPC al 0.1%, 5 μ l de formamida, 2 μ l de formaldehído al 37% (V/V), 1 μ l de MOPS10x, 1 μ l de Bromuro de etidio (5 mg/ml) y 4 μ l de muestra de ARN. Dejando incubar a 65°C por 5 minutos.

Retrotranscripción de ARN (RT-PCR). La amplificación de las muestras de ARN obtenidas del tejido animal por cada estadio larvario se realizó agregando 50 ng de ARN en una reacción de transcripción inversa de 20 μ l, usando como cebador o primer una cola oligo-

dT (20 μ M), de acuerdo con las recomendaciones del fabricante, en un termociclador MyCycler Personal (Bio-Rad Laboratories). Las muestras se refrigeraron después de la retrotranscripción a -20°C durante 24 horas.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los primers para la reacción de PCR fueron diseñados según la recomendación de Trant, et al. (2001) y sintetizados por Applied Biosystems de México. Específicamente, se duplicaron 50 μ l de reacción conteniendo 50 pmol de cada primer, en reacciones separadas para cada isoforma del gen. Serán amplificadas en un termociclador MyCycler Personal (Bio-Rad Laboratories) usando una temperatura de alineamiento de 58°C necesarias para cada transcriptoma. Se sigue el protocolo Long-Range 2Step RT-PCR descrito por el fabricante (Qiagen Laboratories).

Técnica histológica para la observación de la diferenciación gonadal por periodos. Las muestras fueron fijadas en formol al 5% (10-40DDE) y 10 % (50-100DDE) durante 24 horas, posteriormente se lavaron con agua corriente hasta quitar el exceso de fijador. Utilizando la técnica histológica convencional (Propeth 1995); se sometieron a un proceso de deshidratación en alcohol etílico de manera gradual (etanol - OH) en concentraciones de 50%, 70%, 80%, 96% y 100% (durante 10, 15 o 30 minutos dependiendo el tamaño de la muestra). Después de la deshidratación las muestras se sumergieron en alcohol 100%-Xilol y Xilol para la transparentación de las muestras, posteriormente se impregnaron en una solución de Xilol-parafina (solución 1:1), parafina 1 y parafina 2 (Paraplast® 55 - 58°C), durante 10 a 15 minutos; dependiendo el tamaño de la muestra. Por ultimo las muestras se incluyeron en parafina Paraplast® utilizando un inclusor marca Reichert-Jun® modelo N°1. Se utilizó un microtomo de rotación de la marca Thermo Scientific modelo HM 325, para realizar cortes seriados de 5 μ m de grosor para los estadios 10, 20 y 30 DDE y de 7 μ m para los estadios 40, 50, 60 y 70 DDE. Las muestras se tiñeron con Hematoxilina-Eosina (H-E) y para la observación de las estructuras se utilizó un microscopio óptico de campo claro. Para el análisis de las laminillas seriadas se tomarán en consideración los datos morfológicos de las células epiteliales somáticas y las células germinales primordiales de la gónada en proceso de diferenciación.

RESULTADOS

DESARROLLO TEMPRANO Y DIFERENCIACIÓN SEXUAL

10 días de eclosión. Los organismos colectados en esta etapa (n=10) tuvieron una longitud total promedio (\pm DE) de 7.10 ± 0.50 mm y un peso promedio de 0.003 ± 0.0005 g (figura 4). A esta edad se observa el desarrollo de ciertas características externas como la aleta caudal y las aletas pectorales, como principales mecanismos de locomoción.



Figura 9. Organismo de *Mayaheeros urophthalmus* con 10 DDE. En esta etapa se logra observar el desarrollo de la aleta caudal y aletas pectorales.

En los primeros diez días post-eclosión no se observó presencia de gónada indiferenciada, migración de las células germinales primordiales, ni el primordio gonadal. Sin embargo, ya se observan diversas características anatómicas de la etapa inicial del organismo como la presencia de los órganos externos que le permitirán el movimiento y desplazamiento como lo son las aletas (laterales, caudal, dorsal y pectoral) y la formación de la mandíbula, también se puede observar el desarrollo del sistema digestivo como el estómago, el intestino, la formación de los arcos branquiales y sus filamentos como parte del sistema respiratorio de los organismos y el desarrollo del tejido renal.



Figura 10. Corte sagital de larva de 10 días de eclosión de *Mayaheros urophthalmus*. A) vista general 5x en donde podemos observar cerebro y parte de la vértebra a lo largo del cuerpo. B) vista general 5x observamos el desarrollo de varios órganos en formación intestino (in), vejiga natatoria (VN), estomago (Est), branquias (Br).

la manifestación de ciertas características como la aparición de las estructuras de locomoción le permiten al organismo el desplazamiento hacia la búsqueda de su propio alimento tras el inicio de una alimentación endógena después de la inminente absorción del saco vitelino, incluso le ayuda al emprendimiento de la huida y defensa en contra de algún depredador asegurando así su supervivencia. Así mismo en los organismos con 10 días de eclosión existe un avanzado desarrollo en los órganos sensoriales como la visión.

20 días de eclosión. A los 20 DDE los peces alcanzaron una longitud promedio de 7.20 ± 0.79 mm y un peso de 0.010 ± 0.020 g. en esta etapa aún no se observa ningún cambio de los rasgos físicos externos en comparación con las muestras de 10 DDE, el nivel de desarrollo sigue siendo casi igual, hay un crecimiento de la aleta caudal y las aletas pectorales, así como de la pigmentación.



Figura 11. individuo de *Mayaheros urophthalmus* los 20 DDE. Se logra ver un ligero crecimiento de la aleta caudal y pectorales.

En esta etapa se observó un par gónadas indiferenciadas cada una con forma alargada-ovalada y cuentan con una sola célula germinal primordial con gran cantidad de citoplasma y un núcleo pequeño excéntrico de afinidad basófila. Una de las características de la gónada indiferenciada es que es de naturaleza bipotencial es decir, que las células germinales que se encuentran dentro del esbozo o primordio gonadal aún no han comenzado su proceso de diferenciación celular por lo tanto pueden dar origen a un tejido u otro, en este caso, al desarrollo ovárico o testicular y el establecimiento del sexo del organismo va a depender de los mecanismos moleculares preestablecidos durante la fecundación, así como de la cascada genética para la determinación sexual.

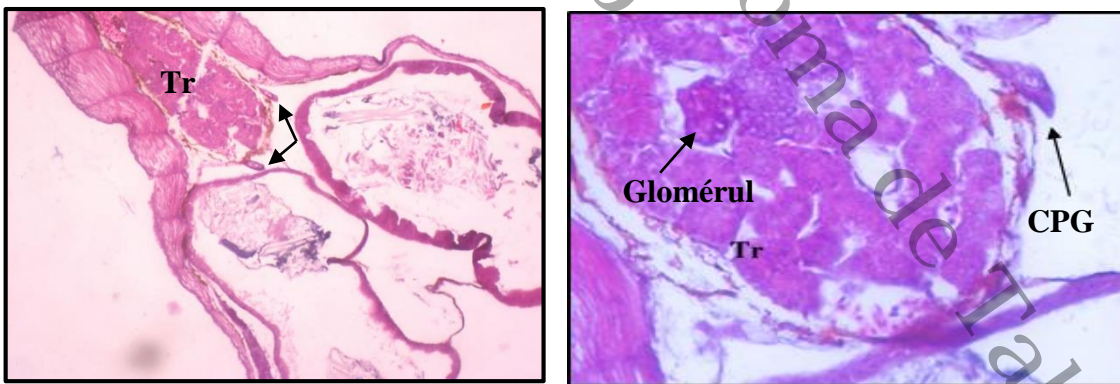


Figura 12. Se muestra vista panorámica de corte sagital de la gónada indiferenciada en dos organismos diferentes de *Mayaheros urophthalmus* con 20 DDE. **A)** se aprecia gónada indiferenciada pareada (marcada con flecha) a los costados del riñón en desarrollo. (10x). **B)** vista general de gónada indiferenciada (40x).

30 días de eclosión. Los organismos con 60 días de eclosión tienen una talla promedio de 14.0 ± 4.29 mm de longitud total (LT) y un peso de 0.034 ± 0.040 g. En esta etapa del desarrollo los individuos comienzan a presentar características más marcadas como el crecimiento de las aletas pectorales, aletas pélvicas, aleta dorsal, aleta caudal y el desarrollo de la aleta anal.



Figura 13. Imagen general de un organismo de *Mayaheros urophthalmus* con 30 DDE. se puede apreciar un desarrollo más avanzado de las características de las extremidades del organismo y la organización de las células pigmentarias.

En este periodo los organismos no tuvieron mayores cambios en el proceso de gonadogénesis, ya que, igual que en el periodo anterior se encontró gónada indiferenciada con la presencia de una CPG.

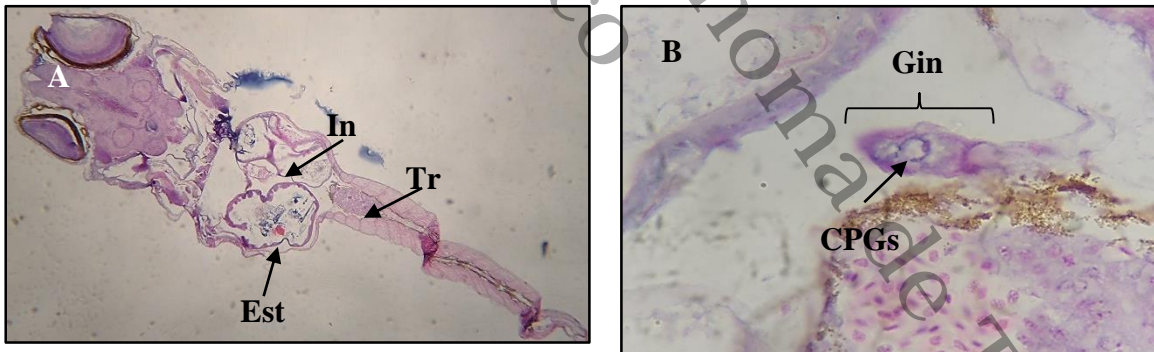


Figura 14. Se muestra corte transversal de organismos de 30 días de eclosión de *Mayaheros urophthalmus*. A) vista general (5x). B) se muestra gónada indiferenciada (Gin) a un costado del riñón en desarrollo (Tr) con presencia de una célula germinal primordial (CPGs).

40 días de eclosión. Con 40 días de eclosión los organismos colectados muestran un desarrollo y crecimiento evidente, alcanzando una longitud promedio de 12.60 ± 1.80 mm y un peso de 0.039 ± 0.013 g (figura 8). En esta edad ya se logra apreciar la formación de las aletas laterales, pectorales, dorsales, anal, caudal y la pigmentación de las bandas alrededor de su cuerpo.



Figura 15. Organismo de *Mayaheros urophthalmus* con 40 DDE. Se logra ver un notable avance en el desarrollo de las características físicas de mayaheror urophthalmus, como la formación de las bandas y la mancha ocelar al inicio de la aleta caudal.

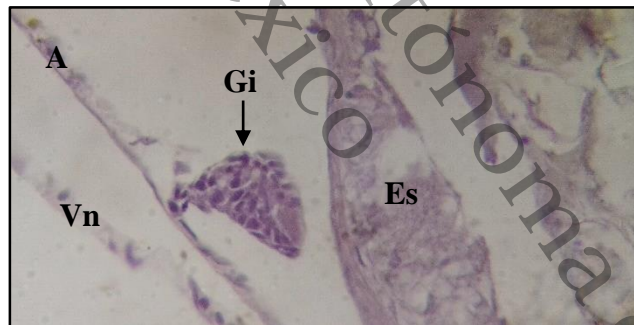


Figura 16. Corte transversal de un organismo de *Mayaheros urophthalmus* donde se muestra gónada indiferenciada (**Gi**), la vejiga natatoria (**Vn**) y el estomago (**Es**).

A partir de esta etapa de desarrollo las larvas fueron seccionadas en 3 partes iguales sin incluir la cabeza ni la aleta caudal y puestas en un proceso de descalcificación de entre 24 a 72 horas antes de la deshidratación. Dicho lo anterior los resultados que se muestran son de los organismos en los cuales se pudo encontrar gónada indiferenciada y se encontraba sobre la vejiga natatoria entre esta y el intestino, sostenida por tejido mesentérico. La observación y la identificación de las características de la gónada fue difícil en esta etapa probablemente

porque el proceso de descalcificación degrada sus características, sin embargo, se logra observar núcleos celulares teñidos de un violeta intenso característico de las CPGs.

50 días de eclosión. En esta fase del crecimiento los organismos alcanzaron tallas promedio de 11.9 ± 1.10 mm y un peso de 0.043 ± 0.011 g. los individuos de esta edad exhiben un progreso en el desarrollo de las características morfológicas del cuerpo, como la disposición de las células pigmentarias para formar las bandas alrededor del cuerpo del organismo, también se logra ver el crecimiento de las aletas y la formación del opérculo.



Figura 17. Organismo de *Mayaheros urophthalmus* con 50 DDE. Se logra apreciar mejor el desarrollo de las características físicas.

El progreso de las características histológicas de los organismos de 50 DDE nos permite observar el avance en el desarrollo de la organogénesis, y órganos como los riñones, el estómago y el intestino, se ven visiblemente diferenciados al igual que la vejiga natatoria la cual ocupa una gran parte de la cavidad celómica, en cuanto a la gónada; en esta etapa del desarrollo se encuentra en un estado indiferenciado, es decir que al igual que en el periodo de 20 y 30 días de eclosión la gónada tiene características de ser bipotencial.

En este estadio la gónada ha incrementado su tamaño y su forma suele ser alargada y ovalada hacia la región superior, al igual que ha adoptado su posición final; sobre la porción media de la cavidad celómica entre el intestino y la vejiga natatoria sostenida por el mesogonio una estructura derivada del tejido mesodérmico. También posee otras características como que las células germinales primordiales aumentaron en número y las células somáticas se logran observar rodeando la periferia de la gónada con formas irregulares y estructura aplanada.

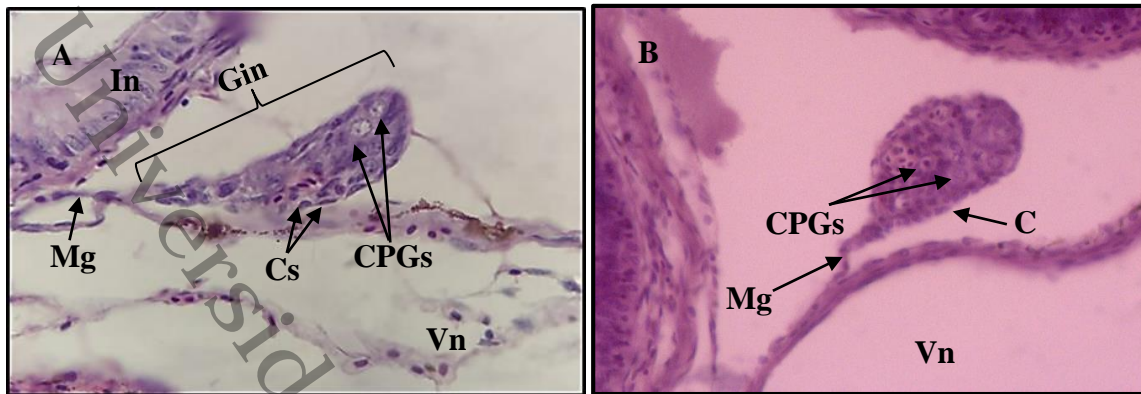


Figura 18. Corte transversal donde se muestra dos organismos diferentes de *Mayaheros urophthalmus*. **A)** Se pueden observar células germinales primordiales en proliferación (flecha) (40x). **B).** vista general (10x) donde se muestra una gónada indiferenciada (Gin) ubicada en la porción media de la cavidad celómica entre el intestino (In) y la vejiga natatoria (Vn).

60 días de eclosión. En este periodo del crecimiento los individuos muestran tallas promedio de 15.7 ± 2.6 mm y peso de 0.079 ± 0.038 g. en este momento los organismos muestran un cambio en el crecimiento de sus caracteres (figura 13).



Figura 19. Organismo de *Mayaheros urophthalmus* con 60 DDE. Se logran apreciar bandas alrededor de su cuerpo.

Para esta etapa el desarrollo de las características de la gónada fue similares al muestreo anterior de 50 DDE, aquí también se encontró presencia de gónada indiferenciada sin cambios en el número de células germinales primordiales, tampoco se logra observar diferencias en la morfofisiología de las CPGs sin embargo las células somáticas tienen una forma más esférica y se posicionan sobre la periferia de la gónada.

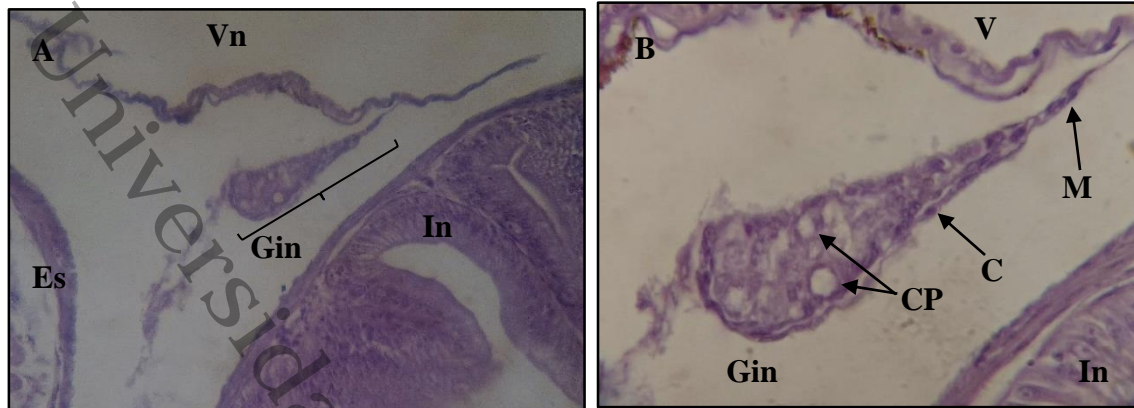


Figura 20. Corte transversal de un organismo de *Mayaheros urophthalmus* con 60 DDE. **A)** vista general 10x de la posición de la gónada ubicada entre el estómago (Es), el intestino (I) y la vejiga natatoria (Vn). **B)** gónada indiferenciada con presencia de CPGs.

70 días de eclosión. Los organismos de 70 DDE muestran tallas de entre 24.80 ± 4.58 mm y pesos de entre 0.278 ± 0.177 g. se logra observar con mayor claridad la agregación de los melanóforos encargados de la coloración de las bandas características de la especie.



Figura 21. Organismo de *Mayaheros urophthalmus* con 70 DDE. Visible separación de las siete bandas, pigmentación de la aleta lateral y anal y visibilidad del halo verdoso brillante que rodea la mancha ocelar sobre el pedúnculo caudal.

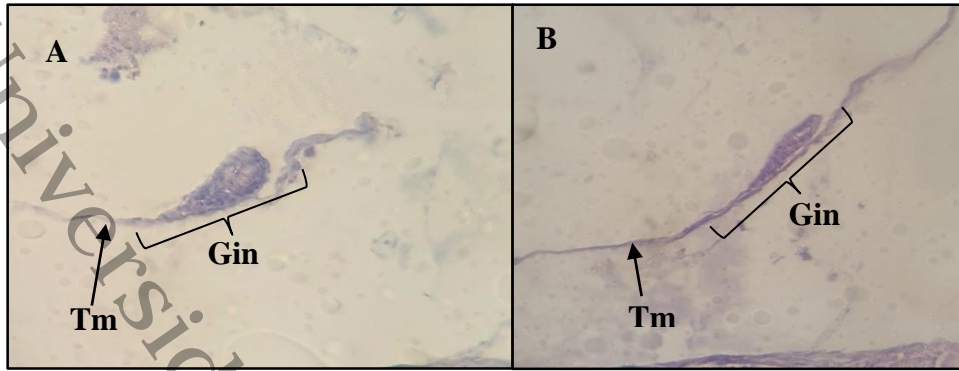


Figura 22. Corte transversal de 70 días de eclosión de 2 organismos de *Mayaheros urophthalmus*. Figura A y B muestra vista general 10 x de gónada indiferenciada sostenida por tejido mesodérmico (Tm).

En los individuos observados con 70 días de eclosión se encontró gónada en estado indiferenciado, con pocas CPGs y células somáticas sobre la periferia de la gónada, en esta etapa la gónada se encontraba suspendida en la cavidad celómica entre la vejiga natatoria y el estómago, sostenida por tejido mesodérmico, también se observa una forma alargada y ovalada hacia la porción superior.

80 días de eclosión. Los organismos en este periodo del desarrollo mostraron en promedio una talla de 24.8 ± 4.58 y un peso de 0.27 ± 0.17 . las características características de la especie comienzan a ser mucho más particulares, como la mancha ocelar, una aleta caudal redondeada, un cuerpo ligeramente achatado y una coloración grisácea tornasolada.



Figura 23. Organismos de *Mayaheros urophthalmus* de 80 DDE. Las franjas alrededor de su cuerpo comienzan a ser aún más visibles y organizadas.

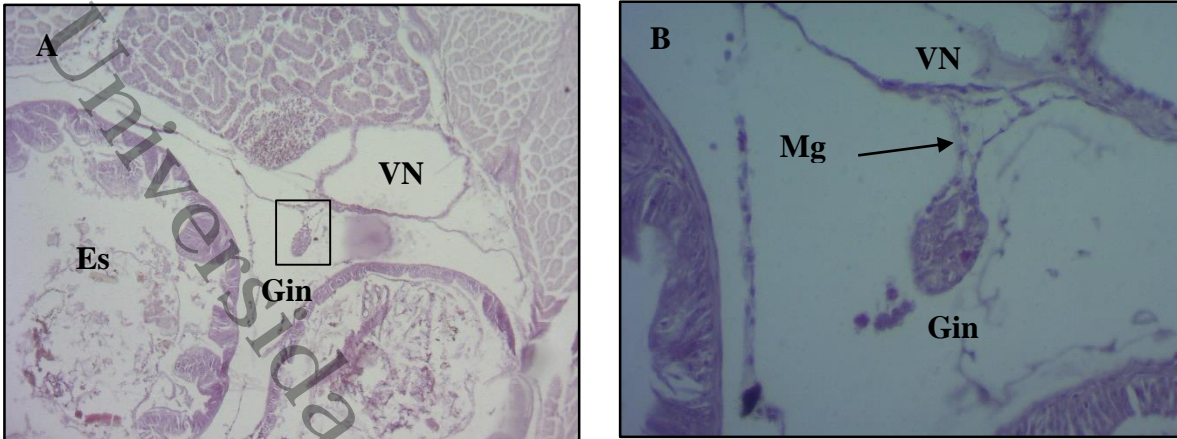


Figura 24. Corte transversal de organismos de 80 DDE de *Mayaheros urophthalmus*. A) vista general 5x de gónada indiferenciada (Gin-marcada con recuadro)

Con 80 días de eclosión se encontraron algunos individuos con gónada en estado aún indiferenciado al igual que en los muestreos anteriores podemos observar una gónada en posición media entre el intestino y el estómago sostenida por el mesogonio, proveniente del tejido mesodérmico. En este caso se observa una gónada con forma ovalada y CPGs acomodadas hacia la periferia.

90 días de eclosión. A los 90 días de eclosión los organismos alcanzaron una talla promedio de 23.6 ± 3.9 mm y un peso de 0.25 ± 0.11 mm. los organismos solo muestran un avance en el crecimiento corporal, tanto de longitud como del crecimiento de sus características morfo-fisiológicas (figura 23).



Figura 25. Organismo con 90 DDE de *Mayaheros urophthalmus*. Se logra apreciar la línea lateral.

En este penúltimo estadio de desarrollo muestreado se puede observar un par de gónadas con un notable crecimiento y forma oval alargada en la porción media entre la vejiga natatoria, el intestino y el estómago, los organismos también mostraron un avanzado desarrollo de las características celulares de la gónada, durante las observaciones se pudo identificar la presencia y proliferación de gonias en estado indiferenciado, las gonias son el estadio más inmaduro de las células germinales y se encuentran en estado de diploteno es decir, tienen una carga genética diploide (2n) y se dividen por mitosis.

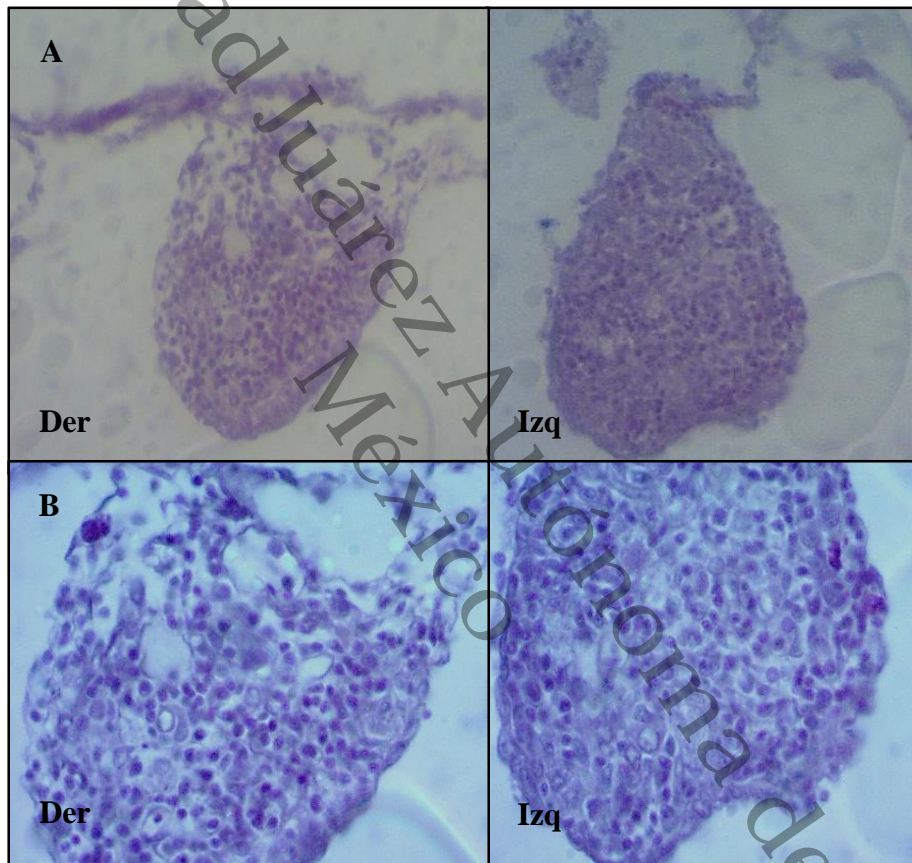


figura 26. Vista general de un corte transversal de un individuo de 90 días de eclosión de *Mayaheros urophthalmus*. **A)** vista 40x de gónada izquierda y gónada derecha sostenida por tejido mesodérmico (Mg) **B)** Vista 100x gónada izquierda y gónada derecha, se observa túnica albugínea y CPGs en proliferación.

100 días de eclosión. En esta edad, los organismos presentan un desarrollo casi total de sus estructuras externas con tallas promedio de 0.85 ± 0.38 y pesos de 35.66 ± 4.84 . El opérculo cubre totalmente las branquias, las aletas y la mandíbula se encuentran totalmente desarrolladas, las siete bandas pigmentadas son claramente visibles y la mancha ocelar característica de la especie se observa en el pedúnculo caudal, al inicio de la aleta caudal.



Figura 27. Organismo de 100 DDE de *Mayaheros urophthalmus*. Los individuos de esta edad muestran un desarrollo casi completo de todas sus características. también se logra percibir la línea lateral y 6 de las 7 bandas que rodean su cuerpo.

En este estadio podemos notar que los organismos han completado el crecimiento de la mayoría de sus estructuras externas que los hace particularmente un pez como un organismo funcional y competitivo dentro de su entorno. Sin embargo, lo que hace a un organismo cien por ciento exitoso es su capacidad reproductiva y para esto es importante el correcto desarrollo gonadal.

Finalmente, después de 100 días de crecimiento en este estadio se encontró una gónada alargada suspendida en la cavidad celómica entre el intestino y la vejiga natatoria, también se observó proliferación de CPGs al igual que en el estadio de 90 días de eclosión no se logra apreciar la formación de compartimentos intersticiales que nos pudieran indicar una diferenciación hacia un sexo o hacia otro, tampoco se logra observar la presencia de células acompañantes de sostén como lo son las células de Leydig en el caso de diferenciación testicular, ni la presencia de la cavidad ovárica en el caso del ovario.

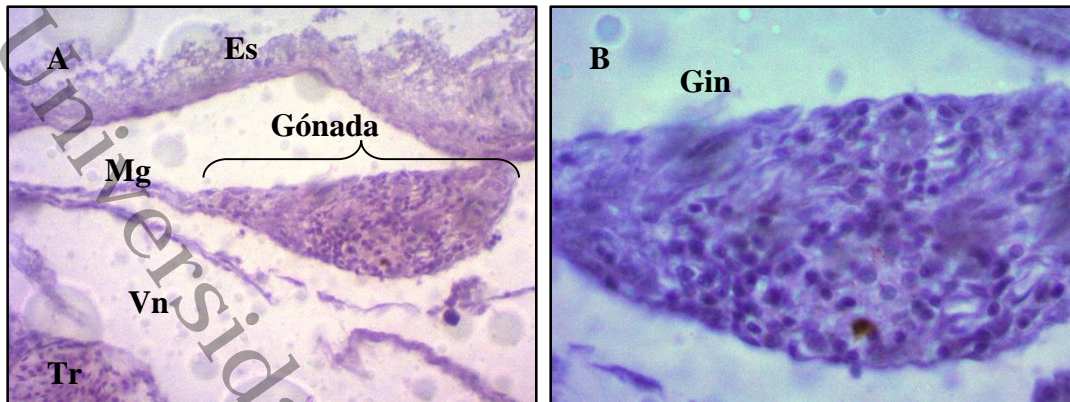
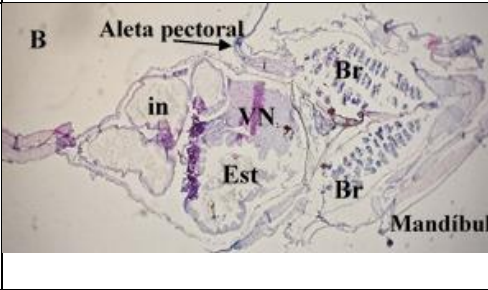

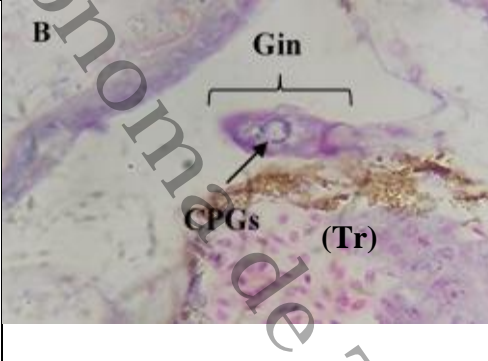

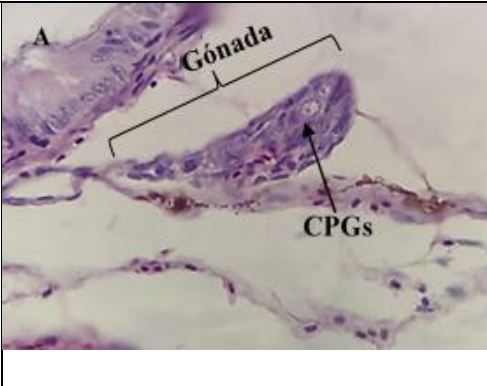
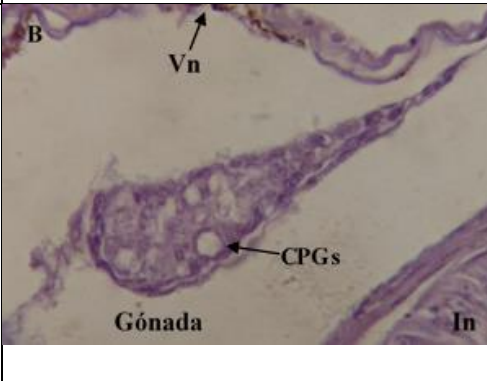

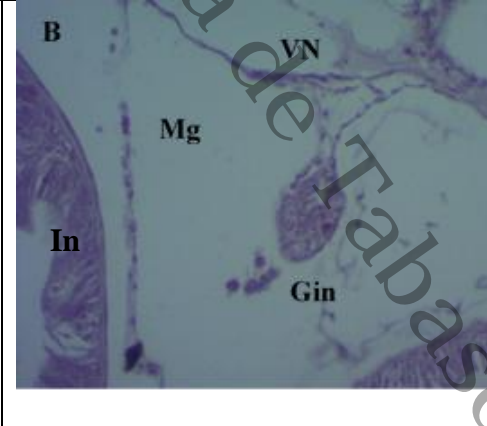


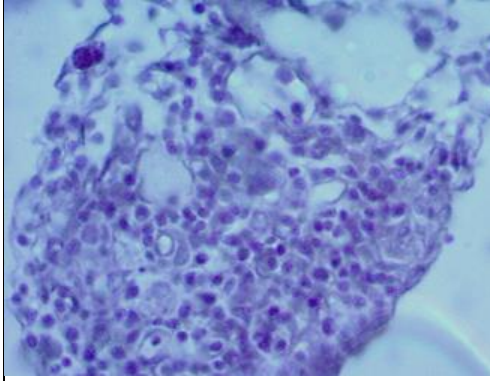
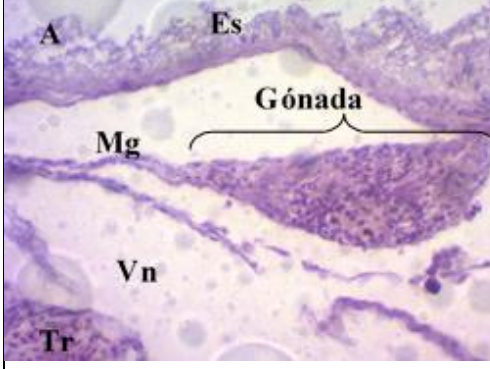
Figura 28. Se muestra corte transversal de organismo de *Mayaheros urophthalmus* con 100 días de eclosión. **A)** vista general de la posición de la gónada entre la vejiga natatoria y el estómago. **B)** vista 100x de gónada indiferenciada.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
México

Tabla 2. Proceso de gonadogénesis por estadio muestreado

DDE	Descripción	Imagen
10 DDE	No hubo ninguna característica en el desarrollo de algún tejido que pudiera indicar la presencia de gónada en algún estado de diferenciación.	
20 DDE	Se encontró gónada indiferenciada (Gi) a los costados del riñón (Tr) con la presencia de una célula germinal primordial de las células germinales primordiales.	
30 DDE	Se encontró gónada indiferenciada (Gi) a los costados del riñón (Tr) con migración de las células germinales primordiales.	
40 DDE	Gónada indiferenciada posicionada entre el intestino y la vejiga natatoria	

<p>50 DDE</p>	<p>Aquí nuevamente se pudo observar gónada indiferenciada con migración de las células germinales primordiales (CPGs).</p>	 <p>Micrograph A shows a histological section of an undifferentiated gonad (Gónada) with migrating primordial germ cells (CPGs). The labels 'Gónada' and 'CPGs' are present.</p>
<p>60 DDE</p>	<p>Se logra apreciar una gónada indiferenciada con pocas CPGs y células somáticas rodeando la periferia.</p>	 <p>Micrograph B shows an undifferentiated gonad (Gónada) with few CPGs and somatic cells (Vn) surrounding the periphery. The labels 'Gónada', 'Vn', and 'CPGs' are present.</p>
<p>70 DDE</p>	<p>El desarrollo de a gónada en los individuos de esta etapa aún se muestra indiferenciada.</p>	 <p>Micrograph A shows an undifferentiated gonad (Gin) and testis (Tm). The labels 'Gin' and 'Tm' are present.</p>
<p>80 DDE</p>	<p>Se muestra una gónada indiferenciada (Gin)</p>	 <p>Micrograph B shows an undifferentiated gonad (Gin) and other structures (Mg, VN, In). The labels 'Gin', 'Mg', 'VN', and 'In' are present.</p>

<p>90 DDE</p>	<p>A partir de esta etapa se muestra una alta proliferación de las células germinales primordiales.</p>	
<p>100 DDE</p>	<p>En este último estadio de desarrollo muestreado se logra apreciar gónada con una alta proliferación de las CPGs al igual que en el muestreo anterior.</p>	

En la tabla anterior se muestra el proceso de gonadogénesis por estadio muestreado en cortes de larvas y alevines de mojarra Castarrica (*Mayaheros urophthalmus*)

ANÁLISIS MOLECULAR

Análisis de la integridad y calidad de las muestras. Para el análisis de los genes involucrados en el proceso de determinación sexual, se procesaron organismos de tamaño completo debido a que el nivel de desarrollo de cada uno de los individuos no permite llevar a cabo una disección y aislar la gónada y el cerebro. Esto fue posible solamente a partir de las muestras de 100 días de eclosión que se dividieron en dos secciones, cabeza (a) y torso (b) para la extracción de ARN (figura). Sin embargo, la extracción de ARN que correspondía las muestras (a) que corresponde a la cabeza del organismo el peso obtenido era muy bajo por lo que se descartó del análisis, utilizando únicamente muestras completas.

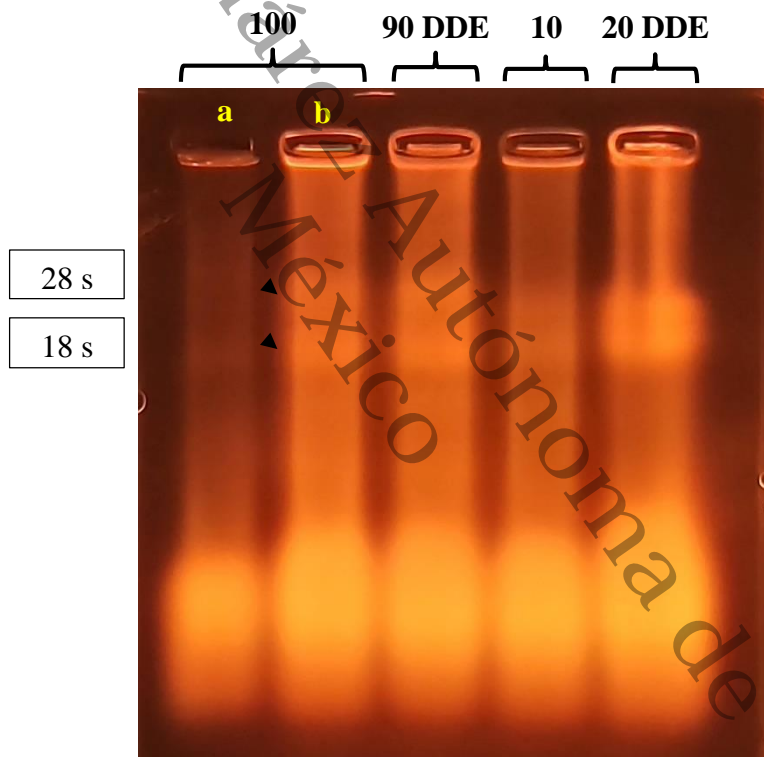


Figura 29. Análisis de la integridad de ARNm, se logran observar las subunidades ribosomales 28s y 18s en gel desnaturizante formaldehído-agarosa al 0.1%, muestras teñidas con bromuro de etidio.

La calidad del ARN obtenido fue medida en relación con los niveles de absorbancia A260/280, teniendo resultados dentro de un rango considerado óptimo para continuar con los análisis. No fue necesaria la purificación de las muestras ya que tanto la calidad como la cantidad de muestra eran los ideales para los pasos posteriores a la extracción.

Expresión de *Cyp19a*. El gen *Cyp19a* el cual codifica para la enzima aromatasa no mostró niveles de expresión entre los organismos con 10 (M1), 20 (M2), 30 (M3), 40 (M4), 50 (M5), y 60 (M6) DDE. Sin embargo, en los días 70 y 80 la expresión de dicho gen se mostró en distintos niveles de intensidad, mientras que en el día 90 no se logra observar ningún nivel de expresión; el día 100 de eclosión llega a su máximo umbral.

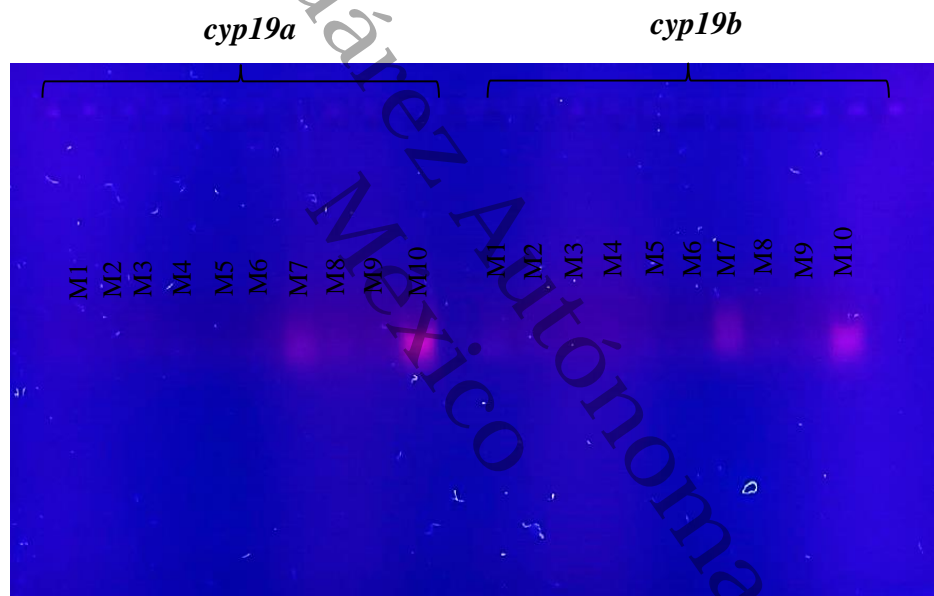


Figura 30. Visualización de la expresión del gen *Cyp19a* y *Cyp19b* en gel de agarosa al 2%, en organismos de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, y 100 DDE de *Mayaheros urophthalmus*.

Expresión de *Cyp19b*. Este gen presente a nivel cerebral a diferencia de *Cyp19a* sí muestra un nivel de expresión en el primer muestreo, en organismos con 10 DDE. Posterior a eso los muestreos con organismos de 70 y 100 DDE fueron los de mayor nivel de expresión cerebral. A diferencia de los genes *Cyp19a* y *Cyp19b* el gen *Dmrt1* involucrado en la diferenciación sexual de machos, si logra tener diferentes niveles de intensidad de expresión a partir del día 10 de eclosión (M1), teniendo un mayor nivel de expresión en los organismos de 70 DDE (M7) y llegando a su máxima expresión en el día 100 (M10) de eclosión.

Expresión de *Dmrt1*. A diferencia de los genes determinantes del sexo en hembras *Dmrt1* si tuvo expresión en todos los muestreos a diferentes niveles de intensidad, desde el día 10 hasta el día 60 y el día 80 y 90 no hubo cambio en la intensidad de expresión, pero en el muestreo 70 y 100 fue donde se observó el mayor umbral en la expresión de este gen.

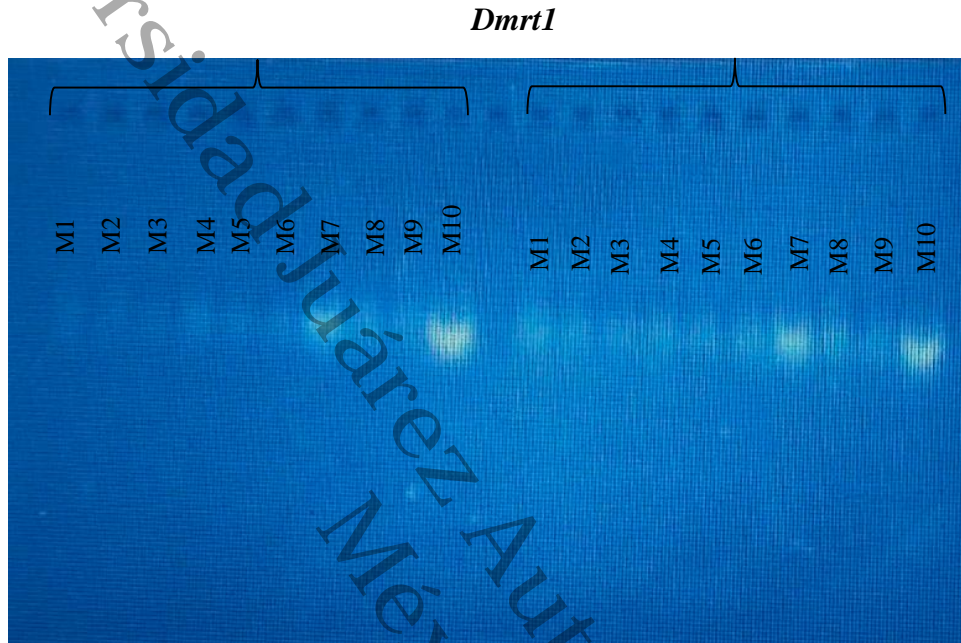


Figura 31. visualización del gen *Dmrt1* en gel de agarosa al 2% en organismos de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 DDE de *Mayaheros urophthalmus*.

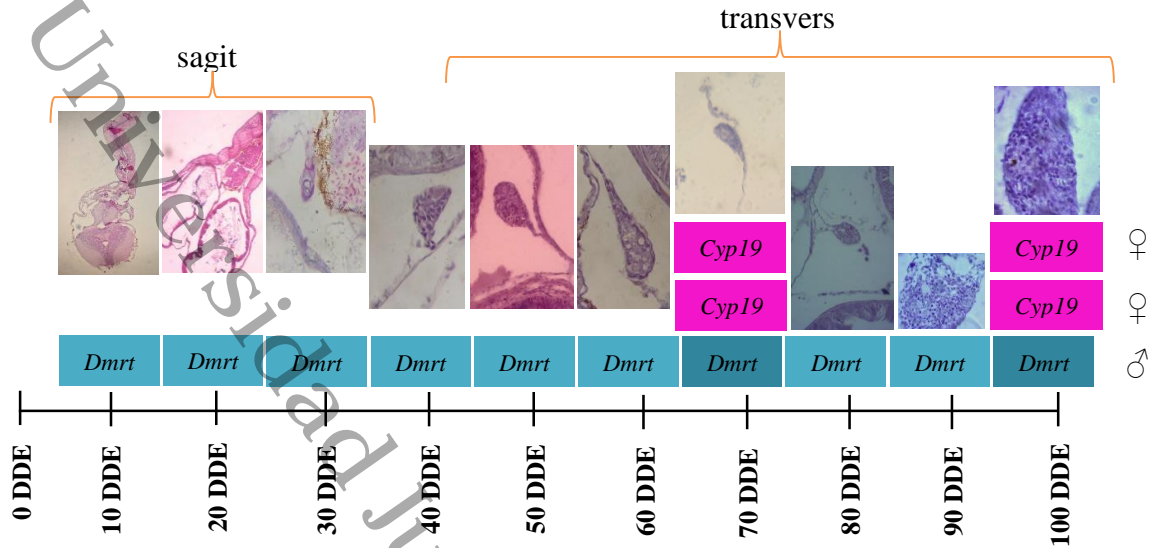


Figura 32. Relación entre la expresión de los genes *Cyp19a* (gónada)♀ y *Cyp19b* (cerebro)♀ y *Dmrt1*♂ versus el desarrollo de la gónada en los mismos periodos de muestreo.

El gen *dmrt1* responsable de la diferenciación sexual y del desarrollo de las características sexuales de la gónada en machos y también responsable de la regulación de la espermatogénesis y el mantenimiento del sexo en adultos se expresó durante todos los periodos del muestreo con diferentes niveles de intensidad en cada estadio, mientras que las dos isoformas del gen *Cyp19* que se expresan en diferentes órganos *Cyp19a* en gónada y *Cyp19b* en cerebro y que son responsables del desarrollo sexual en hembras solo tuvieron su umbral de expresión en los días 70 y 100 después de la eclosión manteniéndose ausentes en los muestreos anteriores a estos periodos aunque la forma cerebral a diferencia de la gonadal se expresó en el día 10 de muestreo.

Los organismos con 10 días de eclosión *Dmrt1* mostraron un bajo nivel de expresión y en relación con la diferenciación de la gónada durante este mismo periodo las observaciones histológicas muestran que no hay presencia de la formación del primordio gonadal, ni migración de las CPGs hacia el mismo. Posterior a esto, en los muestreos 20 y 30 días de eclosión también hubo una baja expresión del mismo gen, sin embargo, a nivel morfofisiológico se logró apreciar el primordio gonadal con una célula germinal primordial en su interior como sinónimo del inicio de la migración de las CPGs hacía la colonización del primordio gonadal para la formación de la gónada bipotencial.

En el muestreo 40 nuevamente se logra ver expresión de *dmrt1* sin embargo hay una diferencia de las características físicas de la gónada ya que en el muestreo anterior en el primordio gonadal se observa una CPG y en este se observan varias e incluso la forma de la gonada cambia a un órgano más robusto y de mayor tamaño. 50 y 60 días después de la eclosión *Dmrt1* se sigue mostrando a baja expresión y el desarrollo de las características físicas de la gónada es diferente en ambos casos ya que a pesar de haber encontrado gónada indiferenciada en todos los organismos de estos dos periodos; en la gónada de 50 días de eclosión se puede observar una mayor cantidad de CPGs que en los muestreos anteriores con presencia de núcleos céntrico y células somáticas aplanadas en la periferia de la gónada con formas irregulares, por tanto que en los organismos con 60 días de eclosión a pesar de que no hay un aumento de células germinales primordiales las células somáticas ya no presentan formas irregulares, más bien tienen forma esférica.

En los organismos con 70 días de eclosión tanto los genes *Cyp19* presente en la diferenciación ovárica en sus formas gonadal y cerebral, así como *Dmrt1* indispensable para la diferenciación testicular mostraron el mismo patrón en el nivel de expresión para ambos casos, en cuanto al desarrollo de la gónada aún presenta características de ser indiferenciada. A los 80 y 90 días después de la eclosión *Cyp19* estuvo ausente, pero *Dmrt1* si se expresó, aunque de manera mínima, la gónada física a los 80 días de eclosión no presento mayores cambios, sin embargo, en los organismos de 90 días la gónada se aprecia más gruesa y ovalada-alargada con una alta proliferación de las células germinales primordiales y células somáticas posicionadas sobre la periferia de la gónada. Finalmente, en los organismos con 100 días de eclosión tanto los genes *Cyp19* como *Dmrt1* se expresan intensamente y presentan la misma morfofisiología de desarrollo que los organismos de 90 días de eclosión. Durante esta investigación no se presentó ninguna de las características que nos hayan indicado una aparente diferenciación hacia un sexo o hacia el otro desde el día 20 de eclosión hasta el día 100 nos encontramos con gónada indiferenciada.

DISCUSIÓN

Determinación sexual.

Expresión de *Cyp19*.

Existe una gran diversificación de la cascada molecular que dirige la iniciación del mecanismo para la determinación sexual en los vertebrados (Fernandino & Hattori, Sex determination in Neotropical fish: Implications ranging from aquaculture technology to ecological assessment., 2019). Se sabe que la expresión de la aromatasa es de gran importancia durante el periodo de determinación sexual de la mayoría de los organismos, debido a que lleva a cabo la catálisis de los estrógenos (Hu, Xiao, Tian, & Meng, 2017). En peces el gen de la aromatasa (*Cyp19*) tiene dos isoformas que se manifiestan en órganos de expresión *Cyp19a* que se expresa en la gónada y *Cyp19b* que se expresa a nivel cerebral (Chiang, Yan, Guiguen, Postlethwait, & Chu Chung, 2001).

En este trabajo se llevó a cabo el estudio de la expresión de ambas isoformas en larvas de *M. Urophthalmus* durante el periodo en el que se observa la diferenciación sexual (del día 10, hasta el día 100 post-eclosión) durante este tiempo *M. Urophthalmus* mostró grandes cambios en los niveles de expresión para cada isoforma en relación a los periodos muestreados, *Cyp19a* no se encontró presente en los primeros sesenta días, habiendo una máxima expresión de este gen a partir del día 70 de eclosión, posteriormente en el día 80 se encontró ausente nuevamente y para el día 90 se mostró una alta expresión del gen, para finalmente en el día 100 de eclosión se observa el máximo umbral de la expresión de *Cyp19a*. En cuanto a *cyp19b* se logró observar presente en el primer muestreo, en organismos de 10 días de eclosión; después de eso en los muestreos siguientes permaneció ausente, excepto en los de 70 días de eclosión en donde sí se logró ver expresión y nuevamente en los organismos con 100 días de eclosión fue en donde se mostró el nivel más alto de la expresión de la isoforma *Cyp19b*. Las variaciones en la expresión de ambas isoformas del gen *Cyp19* podría deberse precisamente a que *Cyp19a* está mayormente asociado a la diferenciación gonadal ya que se expresa principalmente en ovario, en las células de la granulosa y del folículo en donde se lleva a cabo la síntesis esteroidogénica, y la presencia de este gen nos indica una expresión fenotípica (Fernandino & Hattori 2013), de igual forma *Cyp19a* podría estar regulado por la presencia del gen *Foxl2* descrito en *O. Niloticus* a los 5 días de eclosión en

gónada indiferenciada y se determinó que este gen se une a los promotores de la aromatasa tanto gonadal como cerebral regulando así la producción de estrógenos (Crespo, Lan-Chow-Wing, Rocha, Zanuy, & Gómez, 2013). La presencia de *Cyp19b* en los organismos de 10 días de eclosión también puede estar asociada a los procesos de neurogénesis y neuroplasticidad (Diotel, y otros, 2010). Estos resultados también podrían estar relacionados con las variaciones de la temperatura en el periodo en el que se muestreo, ya que no se encontró ningún estudio con resultados similares, pero si se sabe que el gen *Cyp19a* es susceptible a los cambios de la temperatura y están sujetos a la metilación. En un estudio realizado con lubina se pudo observar este comportamiento ya que, a temperaturas altas, el nivel de expresión de *Cyp19a* se ve disminuido, teniendo como resultado poblaciones masculinizadas (Piferrer F.).

Expresión de *dmrt1*.

Dmrt1 es uno de los genes maestros determinantes del sexo más conservados de entre los vertebrados, especialmente en peces, este gen está estrechamente relacionado con el proceso de la gonadogénesis en machos, la formación del testículo y la regulación de la espermatogénesis (Banh, Domingos, Zenger, & Jerry, 2017) también se ha demostrado que *Dmrt1* se expresa en *O.niloticus* en gónada indiferenciada durante la primer semana post-eclosión (Okada, Hagihara, Yamashita, Ijiri, & Adachi, 2017).

Dicho lo anterior, los resultados de este estudio para la expresión de *Dmrt1* y en relación a los días muestreados nos indican lo siguiente, *dmrt1* muestra una expresión constante a partir del día 10 de eclosión, hasta el día 60, posterior a esto en el día 70 marca un mayor nivel de expresividad, para después en los días 80 y 90 de eclosión permanecer con un nivel bajo de expresión y finalmente en el día 100 de eclosión el nivel de expresión parece ser similar al del día 70.

La expresión de *Dmrt1* durante todos los muestreos podrían asociar la importancia de la participación de este gen durante el proceso de determinación sexual hacia la formación de la gónada morfológicamente indiferenciada, es decir, que participa activamente en el periodo de gonadogénesis y que no se limita únicamente al periodo de diferenciación testicular. Por ejemplo, en medaka *Dmrt1Y* 10 días antes de la diferenciación gonadal este gen participa en la regulación del descenso de la proliferación de las células germinales primordiales y la diferenciación somática de las células de Sertoli para dar inicio a la diferenciación testicular

(Herpin *et al.* 2007). Sin embargo, en un estudio realizado por Yoshimoto *et al.* (2006) en la especie *Xenopus tropicalis* demostró que *Dmrt1* se expresa en su totalidad en el embrión y finalmente se restringe al primordio gonadal después de la embriogénesis. Esto sugiere que *Dmrt1* podría estar involucrado en la activación de otros genes durante la determinación sexual o diferenciación gonadal.

Diferenciación sexual.

Mayaheros urophthalmus es una especie gonocórica, es decir; que como resultado del proceso de gonadogénesis se obtienen individuos con un desarrollo típicamente específicas para cada sexo y este es definitivo, desde el establecimiento y durante toda la vida del organismo (Piferrer, 2009). De acuerdo a lo anterior y a las observaciones microscópicas por cada estadio de muestreo se pudo describir algunas de las características del proceso de diferenciación sexual, que podría tener inicio con la aparición y migración de las células germinales primordiales hacia la cresta genital y el consecuente engrosamiento del primordio gonadal con la proliferación de las CPGs, dicho mecanismo ha sido descrito en otras especies de peces como *Totoaba macdonaldi* en donde se observa la aparición de las primeras CPGs a los 6 DDE abarcando lo que será el primordio gonadal para darse después el engrosamiento del mismo a los 11 DDE por el aumento en la proliferación de las células somáticas rodeando las CPGs (Paredes, 2018). En este caso no fue posible observar en *Mayaheros urophthalmus* la aparición de las células germinales primordiales ni de su migración hacia el primordio gonadal durante el día 10 de eclosión.

Las células germinales primordiales son acompañadas por las células somáticas y su función principal es de sostén (Zanuy, Carrillo, Rocha, & Molés, 2009), la identificación de las CPGs fue posible a partir del muestreo de 20 DDE con la presencia de una CGP en el primordio gonadal al igual que en el muestreo de 30 DDE en donde no hubo ningún cambio en la morfología, ni en el número de células. Particularmente las CPG son de fácil reconocimiento ya que son células de gran tamaño a diferencia de las células somáticas (Seydoux & Braun, 2006).

En los organismos de 50 y 60 DDE hubo un incremento en la aparición de las células germinales primordiales y células somáticas, como resultado de la división celular mitótica,

por otro lado, la gónada presuntiva se desarrolla hacia la cavidad celómica entre la vejiga natatoria y el intestino, sostenida por tejido mesodérmico.

Durante los periodos de 70 y 80 DDE no hubo mayores cambios en cuanto a la proliferación de las células germinales primordiales y la gónada indiferenciada mostro una morfología ovalada alargada durante estos tiempos.

A pesar de que en los muestreos anteriores no hubo diferenciación gonadal en larvas de *M. urophthalmus* en los últimos dos muestreos a los 90 y 100 días posteriores a la eclosión hubo una alta proliferación de las células germinales primordiales. Se ha observado que la alta proliferación de las células germinales primordiales y las células somáticas son un factor determinante para iniciar la diferenciación sexual (Guraya, 1994). Actualmente se ha demostrado que la diferenciación sexual ocurre primero en hembras y en algunas otras especies este proceso ocurre simultáneamente como es el caso de *Oreochromis niloticus* También se sabe que existen diferencias en la cantidad de células germinales primordiales habiendo una alta proliferación de las mismas favoreciendo en primer lugar la formación del ovario (Nakamura M. , Kobayashi, Xiao-Tian, & Nagahama, 1998), las células somáticas también juegan un papel importante en este paso ya que en hembras dichas células suelen agruparse hacia la periferia de la gónada indiferenciada en cambio en los machos se encuentran dispersas en toda la gónada indiferenciada (Devlin & Nagahama, 2002) se ha descrito que en muchas especies que las células somáticas en hembras formaran elongaciones una en dirección hacia la otra hasta fusionarse y formar una cavidad “la cavidad ovárica”. En ninguno de los muestreos anteriores resultado de este estudio se pudo observar gónada hacia la diferenciación sexual, pero, es posible que en base a lo anteriormente mencionado el proceso de diferenciación haya comenzado entre los días 90 y 100 de eclosión con una elevada proliferación de las células germinales primordiales y células somáticas.

CONCLUSIONES

- Histológicamente no se observó un proceso de diferenciación sexual en los estadios muestreados. A lo largo de los muestreos la gónada mostró cambios a nivel morfofisiológico, pero sin diferenciación sexual.
- No hubo relación entre lo observado a nivel molecular y lo observado a nivel fenotípico, es decir, que las características de las células de diferenciación gonadal no nos indican desarrollo sexual, en cambio en lo observado a nivel molecular los genes determinantes del sexo masculino se presentaron en todos los estadios mientras que los femeninos solo en 3 de ellos, particularmente a los 90 y 100 días post-eclosión.
- Los genes asociados a la determinación sexual en hembras y machos estuvieron presentes durante los muestreos lo que nos indica que tanto *dmrt1* y los genes *cyp19* son los reguladores de la cascada genética durante procesos de ontogénesis.
- En el muestreo 90 y 100 es donde se observa un mayor cambio a nivel morfofisiológico en donde tanto células somáticas como CPGs se encuentran dispersas en toda la gónada indiferenciada

LITERATURA CITADA

- álvarez, g. C., márquez, c. G., ramírez, m. C., & jesús, r. F. (2013). *Manual para el cultivo de cíclidos nativos tenguyaca (petenia splendida) y castarrica (cichlasoma urophthalmus)*. México: universidad autónoma de nuevo león.
- Banh, q. Q., domingos, j. A., zenger, k. R., & jerry, d. R. (2017). Morphological changes and regulation of the genes dmrt1 and cyp11b during the sex differentiation of barramundi (lates calcarifer bloch),. *Elsevier*, 75-84.
Doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.05.022>
- Barrientos-medina, r. C. (2003). Una sinopsis sobre el cíclido maya, 'cichlasoma' urophthalmus. *The cichlid room companion*.
- Brenan, j., & capel, b. (2004). One tissue, two fates: molecular genetic events that underlive testis versus ovary development. *Nature*, 509-21.
- Carrillo, e. M. (2009). *La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura*. Madrid: publicaciones científicas y tecnológicas de la fundación observatorio español de acuicultura.
- Chavez-lopez, r., peterson, m. S., brown-peterson, n. J., morales-gomez, a. A., & franco-lopez, j. (2005). Ecology of the mayan cichlid, cichlasoma urophthalmusgünther, in the alvarado. *Gulf and caribbean research*, 17(1), 123-131.
- Chiang, e. F.-l., yan, y.-l., guiguen, y., postlethwait, j., & chu chung, b. (2001). Two cyp19 (p450 aromatase) genes on duplicated zebrafish chromosomes are expressed in ovary or brain. *Molecular biology and evolution*, 542-550.
Doi:<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a003833>
- Comalleau, p., pellegrine, e., adrio, f., diotel, n., cano-nicolau, j., nasri, a., . . . Kah, o. (2015). Aromatase, estrogen receptors and brain development in fish and amphibians. *Elsevier*, 152-62.
- Crespo, b., lan-chow-wing, o., rocha, a., zanuy, s., & gómez, a. (2013). Foxl2 and foxl3 are two ancient paralogs that remain fully functional. *Elsevier*, 81-93.
Doi:<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.08.016>
- Devlin, r. H., & nagaham, y. (2002). Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and enviromental influences . *Elsevier sciense*, 191-364.

- Devlin, r., & nagahama, y. (2002). Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Elsevier*, 191-364.
- Diotel, n., page, y. L., mouriec, k., tong, s.-k., pellegrini, e., vaillant, c., . . . Kah, o. (2010). Aromatase in the brain of teleost fish: expression, regulation and putative functions. In: *frontiers in neuroendocrinology. Elsevier*, 172-192.
Doi:<https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2010.01.003>
- Dubiec, a., & zagalaska-neubauer, m. (2006). Molecular techniques for sex identification in birds. *Researchgate*, 4-12.
- Erdman, e. S., & burtis, c. K. (1993). The drosophila doublesex proteins share a novel zinc. *Journal*, 12, 527-535.
- Fernandino, j. I., & hattori, r. S. (2013). Sex determination in neotropical fish: implications ranging from aquaculture technology to ecological assessment. *Elsevier*, 81-93.
Doi:<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.07.002>
- Fernandino, j. I., & hattori, r. S. (2019). Sex determination in neotropical fish: implications ranging from aquaculture technology to ecological assessment,. *Elsevier*, 273, 172-183.
Doi:<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.07.002>
- Fujimoto, t., miyayama, y., & fuyuta, m. (1977). The origin, migration and fine morphology of human primordial germ cells. *Ncbi*.
- Gaspar, A. G. (1995). Desarrollo gonadal y sexualidad de peces teleosteos. *Saber*, 7(2), 7-17.
- Guraya, s. S. (1994). Desarrollo gonadal y produccion de gametos en peces. India.
- Herpin, A., Schindler, D., Kraiss, A., Hornung, U., Winkler, C., Scharl, M. (2007). Inhibition of primordial germ cell proliferation by the medaka male determining gene *Dmrt1bY*. *BMC Developmental Biology*, 7, 99-113.
- Herpin, A., Braasch, I., Kraevssling, M., Schmidt, C., Thoma, C. E., Nakamura, s., . . . Shartl, m. (2010). Transcriptional rewiring of the sex determining *dmrt1* gene duplicate by transposable elements. *Genetic* .
- Hu, q., xiao, h., tian, h., & meng, y. (2017). Identification and expression of cytochrome p450 genes in the chinese giant salamander andrias davidianus,. *Elsevier*, 62-68.
Doi:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.03.001>

- Huang, s., ye, l., & chen, h. (13 de enero de 2017). Determinación y mantenimiento del sexo: al papel de dmrt1 y foxl2. *Asian journal of andrology*, 619-624.
- Joy, k. P., & chaube, r. (2015). Vasotocin – a new player in the control of oocyte maturation and ovulation in fish. *Elsevier*, 54-63.
- Kwon, j. Y., mcandrew, b. J., & penman, d. J. (26 de junio de 2001). Cloning of brain aromatase gene and expression of brain and ovarian aromatase genes during sexual differentiation in genetic male and female nile tilapia oreochromis niloticus. *Molecular reproduction development*, 59(4), 359-370. Obtenido de <https://doi.org/10.1002/mrd.1042>
- Lasalle, g. A. (2016). Caracterización y estudio de la expresión de la aromatasa en gónadas durante el desarrollo del esturión siberiano acipenser baerii. 1-73.
- Leda, c., torres, m., & merchant, l. H. (2006). Aspectos moleculares de la determinación del sexo en tortugas. *Red de revistas científicas de américa latina, el caribe, españa y portugal*, 13(2), 176-182.
- Luna, p. . (2017). Expresión genética de la aromatasa cyp19a1a durante la reversión sexual en el cíclido joya, hemichromis guttatus. *Expresión genética de la aromatasa cyp19a1a durante la reversión sexual en el cíclido joya, hemichromis guttatus*. Ensenada, baja california, méxico.
- Maldonado, a., de la cruz, j. C., gómez, d., lópez, l., fernández, a., peña, e., & álvarez-gonzález, c. A. (s.f.). (fordecyt, ed.) Obtenido de <https://www.researchgate.net>.
- Martinez-palacios, & ross. (1992). The reproductive biology and growth of the central american cichlid cichlasoma urophthalmus (gunter). 99-109.
- Munday, p. L., caley, m. J., & jones, g. P. (1998). Gp:bi-directional sex change in a coral-dwelling goby. *Behav ecol sociobiol*, 43(6), 371-377.
- Myosho, t., otake, h., masuyama, h., matsuda, m., kuroki, y., fujiyama, a., . . . Sakaizumi, m. (2012). Tracing the emergence of a novel sex-determining gene in medaka, oryzias luzonesis . *Genetics*, 163-170.
- Nakamura, m., kobayashi, t., xiao-tian, c., & nagahama, y. (1998). Gonadal sex differentiation in teleost fish. *The journal of experimental zoology*, 362-372.
- Nakamura, m., kobayashi, t., xiao-tian, c., & nagahama, y. (1998). Gonadal sex differentiation in teleost fish . *The journal experimental zoology*, 362-372.

- Nelson, j. S., wilson, m. V., & grande, t. (2016). *Fishes of the world*. John wiley y sons.
- Nishimura, t., & tanaka, m. (2014). Gonadal development in fish. *Sexual development*, 8, 252–261.
- Okada, h., hagihara, s., yamashita, k., ijiri, s., & adachi, s. .. (2017). Expression pattern of foxl2 and dmrt1 in gonad of amur sturgeon acipenser schrenckii in relation to sex differentiation. *Elsevier*, 712-720.
Doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.020>
- Oliván, v. A. (2009). *Mecanismos de determinación sexual*. Obtenido de <http://www.unizar.es>
- Paredes, m. A. (2018). Descripción de la gonadogénesis e identificación del periodo de diferenciación sexual de totoaba macdonaldi. Ensenada, baja californía, méxico.
Recuperado el 28 de 7 de 2023
- Pérez, p. X. (diciembre de 2014). Caracterización del sistema reproductor en desarrollo y la diferenciación sexual del híbrido de. La paz, baja californía sur, méxico.
- Piferrer, f. (s.f.). Epigenética de la determinación del sexo en los peces: cómo la temperatura durante las fases larvianas determina la proporción de sexos en la lubina y su aplicación a la acuicultura para la obtención de un mayor número de hembras. *Instituto de ciencias del mar*, 37-49.
- Piferrer, f., & guiguen, y. (2008). Fish gonadogenesis part II: molecular biology and genomics of sex differentiation. *Csic*, 33-53.
- Prophet, B. E., Mills, B., Arrington, B. J., y Sobin, H. L. (1995). Métodos Histotecnológicos. Preparado por el Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). Washington D.C. 269 p.
- Raymond, c. S., parker, e. D., kettlewell, j. R., brown, l. G., page, d. C., kusz, k., . . . David. (1999). A region of human chromosome 9p required for testis development contains two genes related to known sexual regulators. *Human molecular genetics*, 989–996.
- Salame-méndez, a. (1998). Influencia de la temperatura de incubación en la determinación del sexo en quelonios. *Rev.soc.mex.hist*, 125-136.
- Salame-mendez, a., & villalpando-fierro, i. (1998). La diferenciación sexual en vertebrados: hipótesis y teorías. 89-110.

- Seydoux, y., & braun, e. R. (2006). Pathway to totipotency: lessons from germ cells. *Cellpress*, 891-904. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.11.016>
- Takehana, y., matsuda, m., myosho, t., suster, m. L., kawakami, k., shin-i, t., . . . Naruse, k. (2014). Co-option of sox3 as the male-determining factor on the y chromosome in the fish *orizias dancena*. *Nature communications*.
- Trant, j., gavasso, s., ackers, j., chung, b., & place, a. (2001). Developmental expression of cytochrome p450 aromatase genes (cyp19a and cyp19b) in zebrafish fry (*danio rerio*). *Ncbi*.
- Trant, m. J., gavasso, s., jared, a., chung, b.-c., & place, a. R. (2001). Developmental expression of cytochrome p450 aromatase genes (cyp19a and cyp19b) in zebrafish fry (*danio rerio*). *Journal of experimental zoology*, 475-483.
- Úbeda-manzanaro, m., ortiz-delgado, j. B., merlo, a., rebordinos, l., & sarasquete, c. (noviembre de 2012). Obtenido de csic: <http://hdl.handle.net/10261/104075>
- Volff, j. N., kondo, m., & schartl, m. (2003). Medaka *dmy/dmrt1y* is not the universal sex-determining gene in fish. *Trends in genetics*, 196-199.
- Western, p. S., & sinclair, a. (2001). Sex, genes, and heat: triggers of diversity. *Ern and a.h. sinclair journal of experimental zoology*, 624-631.
- Wootton, r. J., & smith, c. (2014). *Reproductive biology of teleost fishesh*. Jhon wiley y sons.
- Yoshimoto, S., Okada, E., Oishi, T., Numagami, R., Umemoto, H., Tamura, K., Kanda, H., Shiba, T., Takamatsu, N., Ito, M. (2006). Expression and promoter analysis of *Xenopus Dmrt1* and functional characterization of the transactivation property of its protein. *Development, Growth and Differentiation*, 48, 597-603
- Zanuy, s., carrillo, m., rocha, a., & molés, g. (2009). La reproducción en los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura. En *regulación y control hormonal del proceso reproductor de los teleósteos* (págs. 99-172). Publicaciones científicas y tecnológicas del observatorio español de acuicultura.

Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional

Título de Tesis:	DETERMINACIÓN SEXUAL Y DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO GONADAL EN LARVAS DE CASTARRICA (<i>Mayaheros urophthalmus</i>)
Autor(a) o autores(ras) de la Tesis:	Andrea Cristina Carreta Ortiz
ORCID:	
Resumen de la Tesis:	<p><i>Mayaheros urophthalmus</i> es una especie nativa del estado de Tabasco que está siendo introducida a los sistemas de cultivo acuícola para el estudio y la investigación de los aspectos reproductivos y la determinación sexual la cual puede estar asociada a factores físicos como la temperatura, químicos como el pH, cromosómico y/o genéticos como la presencia de genes maestros como <i>DMRT1</i> específico para machos y genes reguladores como los <i>CYP19A</i> y <i>CYP19B</i> indispensables durante el desarrollo sexual de hembras. La diferenciación sexual ocurre una vez establecido el sexo genotípico y es un proceso ontogénico por medio del cual una gónada indiferenciada, se desarrolla para formar un testículo u ovario. Para el presente estudio se seleccionó un lote de reproductores para aislar las puestas de larvas en canaletes de 200 litros y se comenzó el primer muestreo a los 10 primeros días de eclosión con un total de 10 organismos por cada muestreo, tomando cada</p>

	<p>muestra cada 10 días, hasta completar los 100 días post eclosión para el estudio de determinación sexual se analizaron a nivel molecular la presencia de los genes <i>CYP19a</i> y <i>CYP19b</i> los cuales mostraron una mayor expresión en el día 70 y el día 100 de eclosión mientras que <i>DMRT1</i> se logra visualizar durante todos los muestreos pero también muestra un alto umbral de expresión en el día 70 y 100 de eclosión. De igual manera la diferenciación sexual se observó a nivel histológico en donde el lote de animales muestreados fue fijado en formaldehído al 30%, procesados y teñidos con hematoxilina-eosina para su observación en microscopia óptica, donde los resultados muestran que las células germinales primordiales comienzan a colonizar la gónada a partir del día 30 de eclosión posterior a esto la gónada muestra cambios morfofisiológicos evidentes sin completar la diferenciación gonadal.</p>
<p>Palabras claves de la Tesis:</p>	<ul style="list-style-type: none"> • CGP: células germinales primordiales • DDE: días después de la eclosión • LT: longitud total • LP: longitud patrón • DETERMINACIÓN SEXUAL: se refiere a como el sexo de un individuo llega a ser definido y este ocurre durante la fecundación. • DIFERENCIACIÓN SEXUAL: proceso ontogénico por medio del cual una gónada indiferenciada, se desarrolla para formar un testículo o un ovario.
<p>Referencias citadas:</p>	<p>Alvarez, g. C., Márquez, c. G., Ramírez, m. C., & Jesús, r. F. (2013). <i>Manual para el cultivo de cíclidos nativos tenguayaca (petenia splendida) y castarrica</i></p>

(*cichlasoma urophthalmus*). México:
universidad autónoma de nuevo león.

Banh, q. Q., domingos, j. A., zenger, k. R., &
jerry, d. R. (2017). Morphological changes
and regulation of the genes dmrt1 and
cyp11b during the sex differentiation of
barramundi (lates calcarifer bloch),
Elsevier, 75-84.

Doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.05.022>

Barrientos-medina, r. C. (2003). Una sinopsis
sobre el cíclido maya, 'cichlasoma'
urophthalmus. *The cichlid room
companion*.

Brenan, j., & capel, b. (2004). One tissue, two
fates: molecular genetic events that
underlive testis versus ovary development.
Nature, 509-21.

Carrillo, e. M. (2009). *La reproducción de los
peces: aspectos básicos y sus
aplicaciones en acuicultura*. Madrid:
publicaciones científicas y tecnológicas de
la fundación observatorio español de
acuicultura.

Chavez-lopez, r., peterson, m. S., brown-
peterson, n. J., morales-gomez, a. A., &
franco-lopez, j. (2005). Ecology of the
mayan cichlid, *cichlasoma
urophthalmus*günther, in the alvarado. *Gulf
and caribbean research*, 17(1), 123-131.

Chiang, e. F.-l., yan, y.-l., guiguen, y.,

postlethwait, j., & chu chung, b. (2001). Two cyp19 (p450 aromatase) genes on duplicated zebrafish chromosomes are expressed in ovary or brain. *Molecular biology and evolution*, 542-550. Doi:<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a003833>

Comalleau, p., pellegrine, e., adrio, f., diotel, n., cano-nicolau, j., nasri, a., . . . Kah, o. (2015). Aromatase, estrogen receptors and brain development in fish and amphibians. *Elsevier*, 152-62.

Crespo, b., lan-chow-wing, o., rocha, a., zanuy, s., & gómez, a. (2013). Foxl2 and foxl3 are two ancient paralogs that remain fully functional. *Elsevier*, 81-93. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.08.016>

Devlin, r. H., & nagaham, y. (2002). Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and enviromental influences . *Elsevier sciense*, 191-364.

Devlin, r., & nagahama, y. (2002). Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Elsevier*, 191-364.

Diotel, n., page, y. L., mouriec, k., tong, s.-k., pellegrini, e., vaillant, c., . . . Kah, o. (2010). Aromatase in the brain of teleost fish:

expression, regulation and putative functions. In: frontiers in neuroendocrinology. *Elsevier*, 172-192.
Doi:<https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2010.01.003>

Dubiec, a., & zagalaska-neubauer, m. (2006). Molecular techniques for sex identification in birds. *Researchgate*, 4-12.

Erdman, e. S., & burtis, c. K. (1993). The drosophila doublesex proteins share a novel zinc. *Journal*, 12, 527-535.

Fernandino, j. I., & hattori, r. S. (2013). Sex determination in neotropical fish: implications ranging from aquaculture technology to ecological assessment. *Elsevier*, 81-93.

Doi:<https://doi.org/10.1016/j.ygcn.2018.07.002>

Fernandino, j. I., & hattori, r. S. (2019). Sex determination in neotropical fish: implications ranging from aquaculture technology to ecological assessment,. *Elsevier*, 273, 172-183.

Doi:<https://doi.org/10.1016/j.ygcn.2018.07.002>

Fujimoto, t., miyayama, y., & fuyuta, m. (1977). The origin, migration and fine morphology of human primordial germ cells. *Ncbi*.

Gaspar, A. G. (1995). Desarrollo gonadal y sexualidad de peces teleosteos. *Saber*,

7(2), 7-17.

Guraya, s. S. (1994). Desarrollo gonadal y producción de gametos en peces. India.

Herpin, A., Schindler, D., Kraiss, A., Hornung, U., Winkler, C., Scharl, M. (2007).

Inhibition of primordial germ cell proliferation by the medaka male determining gene *Dmrt1bY*. *BMC Developmental Biology*, 7, 99-113.

Herpin, A., Braasch, I., Kraevssling, M.,

Schmidt, C., Thoma, C. E., Nakamura, s., .

. . Shartl, m. (2010). Transcriptional rewiring of the sex determining *dmrt1* gene duplicate by transposable elements.

Genetic .

Hu, q., xiao, h., tian, h., & meng, y. (2017).

Identification and expression of cytochrome p450 genes in the chinese giant salamander *andrias davidianus*,. *Elsevier*, 62-68.

Doi:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.03.001>

Huang, s., ye, l., & chen, h. (13 de enero de

2017). Determinación y mantenimiento del sexo: al papel de *dmrt1* y *foxl2*. *Asian journal of andrology*, 619-624.

Joy, k. P., & chaube, r. (2015). Vasotocin – a

new player in the control of oocyte maturation and ovulation in fish. *Elsevier*, 54-63.

- Kwon, j. Y., mcandrew, b. J., & penman, d. J. (26 de junio de 2001). Cloning of brain aromatase gene and expression of brain and ovarian aromatase genes during sexual differentiation in genetic male and female Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Molecular reproduction development*, 59(4), 359-370. Obtenido de <https://doi.org/10.1002/mrd.1042>
- Lasalle, g. A. (2016). Caracterización y estudio de la expresión de la aromatasa en gónadas durante el desarrollo del esturión siberiano *Acipenser baerii*. 1-73.
- Leda, c., torres, m., & merchant, I. H. (2006). Aspectos moleculares de la determinación del sexo en tortugas. *Red de revistas científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 13(2), 176-182.
- Luna, p. . (2017). Expresión genética de la aromatasa *cyp19a1a* durante la reversión sexual en el cíclido joya, *Hemichromis guttatus*. *Expresión genética de la aromatasa cyp19a1a durante la reversión sexual en el cíclido joya, Hemichromis guttatus*. Ensenada, Baja California, México.
- Maldonado, a., de la cruz, j. C., gómez, d., lópez, I., fernández, a., peña, e., & álvarez-gonzález, c. A. (s.f.). (fordecyt, ed.) Obtenido de <https://www.researchgate.net>.
- Martinez-palacios, & ross. (1992). The

reproductive biology and growth of the central american cichid *cichlasoma urophthalmus* (gunter). 99-109.

Munday, p. L., caley, m. J., & jones, g. P. (1998). Gp:bi-directional sex change in a coral-dwelling goby. *Behav ecol sociobiol*, 43(6), 371-377.

Myosho, t., otake, h., masuyama, h., matsuda, m., kuroki, y., fujiyama, a., . . . Sakaizumi, m. (2012). Tracing the emergence of a novel sex-determining gene in medaka, *oryzias luzonesis* . *Genetics*, 163-170.

Nakamura, m., kobayashi, t., xiao-tian, c., & nagahama, y. (1998). Gonadal sex differentiation in teleost fish. *The journal of experimental zoology*, 362-372.

Nakamura, m., kobayashi, t., xiao-tian, c., & nagahama, y. (1998). Gonadal sex differentiation in teleost fish . *The journal experimental zoology*, 362-372.

Nelson, j. S., wilson, m. V., & grande, t. (2016). *Fishes of the world*. John wiley y sons.

Nishimura, t., & tanaka, m. (2014). Gonadal development in fish. *Sexual development*, 8, 252–261.

Okada, h., hagihara, s., yamashita, k., ijiri, s., & adachi, s. .. (2017). Expression pattern of *foxl2* and *dmt1* in gonad of amur sturgeon *acipenser schrenckii* in relation to sex

differentiation,. Elsevier, 712-720.

Doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.020>

Oliván, v. A. (2009). *Mecanismos de determinación sexual*. Obtenido de <http://www.unizar.es>

Paredes, m. A. (2018). Descripción de la gonadogénesis e identificación del periodo de diferenciación sexual de totoaba macdonaldi. Ensenada, baja californía, México. Recuperado el 28 de 7 de 2023

Pérez, p. X. (diciembre de 2014).

Caracterización del sistema reproductor en desarrollo y la diferenciación sexual del híbrido de. La paz, baja californía sur, México.

Piferrer, f. (s.f.). Epigenética de la determinación del sexo en los peces: cómo la temperatura durante las fases larvares determina la proporción de sexos en la lubina y su aplicación a la acuicultura para la obtención de un mayor número de hembras. *Instituto de ciencias del mar*, 37-49.

Piferrer, f., & guiguen, y. (2008). Fish gonadogenesis part II: molecular biology and genomics of sex differentiation. *Csic*, 33-53.

Prophet, B. E., Mills, B., Arrington, B. J., y Sobin, H. L. (1995). Métodos

Histotecnológicos. Preparado por el Instituto

de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP).

Washington D.C. 269 p.

Raymond, c. S., parker, e. D., kettlewell, j. R., brown, l. G., page, d. C., kusz, k., . . . David. (1999). A region of human chromosome 9p required for testis development contains two genes related to known sexual regulators. *Human molecular genetics*, 989–996.

Salame-méndez, a. (1998). Influencia de la temperatura de incubación en la determinación del sexo en quelonios. *Rev.soc.mex.hist*, 125-136.

Salame-mendez, a., & villalpando-fierro, i. (1998). La diferenciación sexual en vertebrados: hipótesis y teorías. 89-110.

Seydoux, y., & braun, e. R. (2006). Pathway to totipotency: lessons from germ cells. *Cellpress*, 891-904.

Doi:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.11.016>

Takehana, y., matsuda, m., myosho, t., suster, m. L., kawakami, k., shin-i, t., . . .

Naruse, k. (2014). Co-option of sox3 as the male-determining factor on the y chromosome in the fish *orizias dancena*. *Nature communications*.

Trant, j., gavasso, s., ackers, j., chung, b., & place, a. (2001). Developmental expression of cytochrome p450 aromatase

genes (cyp19a and cyp19b) in zebrafish fry (danio rerio). *Ncbi*.

Trant, m. J., gavasso, s., jared, a., chung, b.-c., & place, a. R. (2001). Developmental expression of cytochrome p450 aromatase genes (cyp19a and cyp19b) in zebrafish fry (danio rerio). *Journal of experimental zoology*, 475-483.

Úbeda-manzanaro, m., ortiz-delgado, j. B., merlo, a., rebordinos, l., & sarasquete, c. (noviembre de 2012). Obtenido de csic: <http://hdl.handle.net/10261/104075>

Volff, j. N., kondo, m., & schartl, m. (2003). Medaka dmy/dmrt1y is not the universal sex-determining gene in fish. *Trends in genetics*, 196-199.

Western, p. S., & sinclair, a. (2001). Sex, genes, and heat: triggers of diversity. *Ern and a.h. sinclair journal of experimental zoology*, 624–631.

Wootton, r. J., & smith, c. (2014). *Reproductive biology of teleostost fishesh*. Jhon wiley y sons.

Yoshimoto, S., Okada, E., Oishi, T., Numagami, R., Umemoto, H., Tamura, K., Kanda, H., Shiba, T., Takamatsu, N., Ito, M. (2006). Expression and promoter analysis of *Xenopus Dmrt1* and functional characterization of the transactivation property of its protein. *Development, Growth and Differentiation*, 48, 597–603

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

Zanuy, s., carrillo, m., rocha, a., & molés, g. (2009). La reproducción en los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura. En *regulación y control hormonal del proceso reproductor de los teleósteos* (págs. 99-172). Publicaciones científicas y tecnológicas del observatorio español de acuicultura.