

1993

REG. No. 083556293

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DESARROLLO GONADICO Y EPOCA DE DESOVE DEL
"HUACHINANGO" (*Lutjanus peru*) NICHOLS Y
MURPHY 1922 (PISCES: LUTJANIDAE) EN LA BAHIA
DE LA PAZ, B. C. S. MEXICO.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

LICENCIADA EN BIOLOGIA

P R E S E N T A:

MA. MAGDALENA REYNA TRUJILLO

GUADALAJARA, JALISCO.

1993

DR. JUAN LUIS CIFUENTES LEMUS.
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS.
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.
P R E S E N T E .

Por medio de la presente informo a usted que el trabajo de tesis titulado "DESARROLLO GONADICO Y EPOCA DE DESOVE DEL HUACHINANGO (Lutjanus peru) Nichols y Murphy, 1922 (Piscés: Lutjanidae) EN BAHIA DE LA PAZ, BAJA CALIFORNIA SUR. MEXICO." a sido satisfactoriamente elaborado y terminado por la C. P. B. MARIA MAGDALENA REYNA TRUJILLO egresada de la Facultad de Ciencias Biológicas a su digno cargo.

Se extiende la presente a fines de continuar el proceso de titulación correspondiente y esperando se le brinden las facilidades correspondientes a la antes mencionada con código 83556293 de la Universidad de Guadalajara.

Agradeciendo de antemano la atención que se sirva brindar a la presente y enviándole un cordial saludo, se despide de usted.

A t e n t a m e n t e .
Guadalajara, Jalisco a 13 de Mayo de 1993.



Biol. Guillermo Barba Calvillo.
Profesor investigador de tiempo completo.
Facultad de Ciencias Biológicas.
Universidad de Guadalajara.

Dedico este trabajo a los dos seres que con su calor encendieron seis llamas, las cuáles sustentan, con amor apoyo y comprensión.

Mis Padres:

***Laura Trujillo Cisneros
Raúl Reyna Torre***

Gracias por mantener ese calor que da vida a nuestro hogar.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis hermanos, Toño, Raúl, Marcos, Jonathan, y Edgar y a toda mi familia por su apoyo comprensión y confianza que me han sustentado a seguir adelante en la adversidad realizar un bello sueño, Titularme.

Le doy las gracias a mi amiga y compañera Ma. Teresa González Valdovinos por formar parte de un sueño, que me ayudo a seguir adelante y a madurar. Gracias por el cariño de hermana que me brindaste.

Esta Tesis se realizó en La Paz B.C.S. lejos de mi hogar y familia, esto permitió que conociera un sin número de personas que de manera desinteresada me brindó cariño, comprensión, confianza, tiempo, paciencia y conocimientos en diferentes aspectos y momentos. Gracias a ellos logré mi objetivo.

En primer término menciono a la Fam. Orozco. El Sr. Francisco Orozco y su esposa Guadalupe (La Virgen) que sin conocerme me dieron ese calor de hogar que muchas veces añore y necesité y a sus seis hijos por aceptarme como una más de la familia Juan Manuel, Pancho, Vero, Beto, Nancy y Alvaro Orozco.

Agradezco a Elia Briseño Hernández que de manera desinteresada me brindó su casa y soporto todas mis locuras. Ella vales mucho y deseo tu felicidad.

Para realizar este trabajo me ayudó mi directora y amiga B.M. Silvia Ramírez Luna y su esposo B.M. Juan Gabriel Díaz Uribe que con sus consejos, críticas y sobre todo paciencia aprendí cosas inimaginables que ahora son fuente básica para mi profesión. Gracias. Tienen una hija formidable que quiero mucho Mariana Díaz Ramírez.

A una Pareja muy especial, del cual aprendí muchas cosas, como valorar lo que tengo y luchar por ser mejor. Axayacatl Rocha O. y Leticia Hernández. Gracias.

A mi cuate Fernando Garza que me ayudó que cuando sentí que todas las puertas se me cerraban brindándome su casa y permitiéndome pertenecer a su mundo por un tiempo. Gracias Fer mi cuate, tus consejos fueron duros pero certeros.

A dos parejas excepcionales que hicieron que mis últimos meses de estancia fueran fabulosos. Luis Manuel Enriquez y Edna Sánchez, Armando Jaramillo y Edwyna Nieto. Luis Gracias por dedicar tiempo para revisar mis escritos y asesorarme para darle mejor presentación. Se encuentran en la lista el B.M. Rafael Ríos Mena y su esposa Alejandra ellos me brindaron su tiempo y comprensión, permitiéndome utilizar su computadora para la realización de mi Tesis al igual agradezco a Rafa por leer mis escritos y sus correcciones.

Con cariño recuerdo a compañeros y amigos que en algún instante compartimos agradables momentos Korina Peláez, Oscar Resendiz, Marco Antonio Medina, Arturo George, Silvia, Andres, Victor y su esposa Carmelita, Daniel Villanueva y Roberto Carmona.

Agradezco al personal del laboratorio de patología de la clínica ISSSTE por permitirme acceso al laboratorio y uso del material y equipo para realizar los cortes biológicos Dr. Antonio Cruz y al Técnico Agustín quien además me asesoró para mejorar la Técnica Histológica.

A todo el personal que labora en la pescadería El Sargento especialmente al Sr. Antonio Lucero (Don Toñito). quienes brindaron su ayuda incondicional para realizar el trabajo de mi compañera utilizando su pescado. Gracias por su sencillez y cariño que nos mostraron.

Por último agradezco a mis padres por confiar en mí y lograr juntos un sueño hermoso, a mis familiares y amigos cercanos que le dieron un toque especial a este trabajo, su fe y confianza, Joaquín Dávalos. Ma. Teresa Barajas Zarate, Ramón Tamayo Flores y Guillermo Barba Calvillo. Gracias por ayudarme a cerrar con broche de oro mis sueños.

INDICE GENERAL

| | pág. |
|---|----------|
| RESUMEN | |
| INTRODUCCION | 1 |
| OBJETIVO | 5 |
| ANTECEDENTES | 5 |
| TAXONOMIA | 7 |
| AREA DE MUESTREO | 11 |
| MATERIAL Y METODO | |
| <i>Trabajo de campo</i> |13 |
| <i>Trabajo en el laboratorio</i> |14 |
| <i>Tratamiento histológico</i> | 16 |
| <i>Observación y Análisis Microscópicos</i> |20 |
| <i>Organismos Indeterminados</i> |20 |
| <i>Distribución de Ovocitos</i> |21 |
| <i>Estadíos de Madurez</i> |22 |
| RESULTADOS | |
| <i>Proporción de Sexos</i> |24 |
| <i>Descripción de las Gónadas</i> |28 |
| <i>Índice Gonádico</i> | 29 |
| <i>Índice Gonadosomático</i> | 34 |
| <i>Caracterización de los Ovocitos</i> | 37 |
| <i>Distribución de Ovocitos</i> |43 |
| <i>Estadíos de Madurez</i> |45 |
| <i>Talles de Primera Madurez</i> |50 |

INDICE DE FIGURAS

- FIG. 1.-** Vista lateral del pez L. peru "Huachinango". en la Bahía de La Paz B.C.S.10
- FIG. 2.-** Areas de Pesca de L. peru "Huachinango". en la Bahía de La Paz B.C.S.12
- FIG. 3.-** Distribución por clase de tallas en hembras, machos e indeterminados.27
- FIG. 4.-** Relación de Índices gonádicos contra longitud total, por meses.30
- FIG. 5.-** Variación del Índice gonádico (IGL) a lo largo de un "AÑO TIPO", presentandose la media y los errores estándar en hembras, machos e indeterminados.36
- FIG. 6.-** Variación del Índice gonádicosomatico (IGP) a lo largo del año. Se presenta la media y los errores estándar mensualmente.38
- FIG. 7.-** Variación del Índice gonádico (IGL) a lo largo del año. Se presenta en la media y los errores estandar mensualmente.38
- FIG. 8.-** Ocurrencia en gónadas en reposo, desarrolladas y maduras a lo largo de una "AÑO TIPO".49

| | |
|------------------------|----------|
| DISCUSIONES |53 |
| <i>Recomendaciones</i> |58 |
| CONCLUSIONES |60 |
| BIBLIOGRAFIA | 62 |
| APENDICE | 69 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|---|-----------------|
| TABLA 1.- <i>Secuencia de trabajo durante el proceso de inmersión en las etapas de deshidratación, aclarado e inclusión en gónadas de L. peru.....</i> | 19 |
| TABLA 2.- <i>Proporción de sexos obtenidos durante el muestreo.</i> | 25 |
| TABLA 3.- <i>Determinación de sexos a nivel histológico.</i> | 26 |
| TABLA 4.- <i>Análisis de varianza de dos vías de la distribución de ovocitos en diferentes secciones de las gónadas de L. peru.</i> | 44 |

SERIE FOTOGRAFICA

.....51

FOTO. 1.- *Lóbulo de una gónada clasificada como indeterminada.*

FOTO. 2.- *Tipo de ovocitos encontrados en gónadas de L. peru.*

FOTO. 3.- *Estructura de un ovocito primario. (I).*

FOTO. 4.- *Estructura de ovocitos (IIIi y IIIa).*

FOTO. 5.- *Detalle de un ovocito maduro.*

FOTO. 6.- *Atresias presentes en gónadas de L. peru.*

FOTO. 7.- *Aspecto general de una gónada en reposo.*

FOTO. 8.- *Aspecto general de una gónada en desarrollo.*

FOTO. 9.- *Aspecto general de una gónada bien desarrollada.*

FOTO.10.- *Aspecto general de una gónada madura.*

RESUMEN

Se realizaron estudios para determinar el desarrollo gónadico y época de desove del huachinango Lutjanus peru, a partir de muestras provenientes de la Bahía de La Paz y zonas aledañas que se colectaron desde Mayo de 1989 a Octubre de 1991. Se obtuvieron un total de 644 organismos de los cuales 180 fueron hembras, 174 machos y 290 de sexo indeterminado. Mediante el método de los índices gonadales, índice gonadosomático (IGP) e índice gonádico (IGL), se estableció que la época reproductiva se encuentra ubicada en los meses de Junio, Julio, Agosto y Septiembre siendo Julio el mes de mayor actividad; permaneciendo inactivos sexualmente durante el resto del año. En el análisis histológico se hace una descripción detallada de los ovocitos encontrados así como de los estadios de madurez. Estos estadios coinciden con los resultados de los índices gonadales demostrando que efectivamente estos son los meses de actividad reproductiva. La ausencia de folículos postovulatorios y la presencia de pocas gónadas maduras en las muestras, hace suponer que el huachinango Lutjanus peru no desova en la Bahía de La Paz y que posiblemente tienen que emprender migraciones a otras áreas para efectuar el desove.

P. B. ...
43 (480-507-341) ...
15-10-16

INTRODUCCION

La Bahía de La Paz se considera como una zona biogeográfica de transición entre la Provincia Panámica (tropical) y la Californiana (templada) la flora y fauna están representadas por poblaciones de ambas provincias, por lo que su explotación pesquera, industrial y artesanal tiene una importancia relevante (Bermudez y García, 1985). En el Estado, esta bahía es una de las principales áreas de pesca de L. peru al cual se le conoce comunmente como huachinango. La importancia de este recurso radica tanto en el volumen capturado como en los beneficios económicos en los que redunda su pesca. Dentro de los grupos en que se divide el pescado en el momento de su comercialización el huachinango es considerado como pescado de primera categoría.

El análisis de los datos de captura provenientes de la oficina de Pesca de la ciudad de La Paz muestra que, a nivel estatal, la captura del huachinango ha permanecido la mayor parte de la década (1980-1990), entre las 14 especies más importantes en volumen total de captura; además se ha encontrado que este recurso forma parte de las 4 especies más capturadas en los alrededores de la Isla Cerralvo (Rodríguez-Medrano, 1990) área muy próxima a la Bahía de la Paz.

A pesar de que las especies de la familia Lutjanidae son importantes recursos pesqueros en las regiones tropicales y subtropicales en las que se distribuyen (Polovina y Ralston,

1987), hasta la fecha son pocos los estudios encaminados a describir la biología reproductiva, el crecimiento y la alimentación de estas especies. Por lo que en la Universidad Autónoma de Baja California Sur (U.A.B.C.S.), dentro del proyecto "Biología de Peces de Importancia Comercial" se están realizando estudios sobre esta base. Rocha (1991) determinó la edad y crecimiento de L. peru en Bahía de La Paz y zonas adyacentes; actualmente está realizándose además, el estudio de hábitos alimenticios de la misma especie (Díaz, U. com.pers.). Este estudio versará sobre aspectos reproductivos de esta especie permitiéndonos conocer la época de reproducción, la talla de primera madurez, el tipo de desove y posibles migraciones de estos organismos.

La actividad reproductiva de los peces que implica un desarrollo periódico de los órganos reproductores. El crecimiento evidente de las gónadas, así como los cambios de textura, coloración y desarrollo de sus células sexuales son características morfológicas diferenciables, que permiten separarlas en fases o etapas de desarrollo a lo largo del ciclo (Rodríguez, 1991).

El proceso de maduración y desove para cada una de las especies puede realizarse tanto en lapsos de tiempos cortos, como en lapsos relativamente largos. Esto depende de las condiciones en que el organismo se desarrolla.

Los peces con períodos prolongados de desove, se caracterizan por presentar un continuo proceso de maduración de ovocitos a lo largo del año, Nicolsky (1963) establece que estos

peces normalmente habitan en aguas tropicales y subtropicales; su época de reproducción se prolonga por varios meses durante los cuales presentan desoves sucesivos, por esta razón también se les conoce con el nombre de desovadores múltiples o parciales.

Por el contrario los peces cuyo período de desove es corto y que presentan una predominancia marcada de un tipo específico de células sexuales son catalogados como desovadores sincrónicos ó totales (Rodríguez, 1991). Los miembros de la familia Lutjanidae presentan predominancia marcada de un tipo específico de células sexuales.

Existen diferentes métodos que permiten realizar el estudio sobre los aspectos reproductivos de estos organismos:

1. - La evaluación visual que utiliza escalas de madurez ya establecidas, que evalúan el aspecto macroscópico de las gónadas, para ubicarlas en estados de madurez.

El problema de este método es que pueden ser adecuadas para unas especies pero para otras no lo son, a menos que se elaboren escalas particulares para cada especie.

2. - Los índices gonadales método ampliamente utilizado para estimar la actividad reproductiva de estos organismos. En él se considera la relación existente entre el peso de la gónada con el peso corporal (IGP) o bien con la longitud total de los organismos (IGL), de tal manera que en gónadas inmaduras arrojan valores de índices bajos, mientras que en las maduras estos índices tenderán a ser altos.

3. - *El análisis histológico sirve para establecer estadios de madurez individuales, determina el desarrollo gonádico, la tendencia reproductiva así como época de desove de estos organismos y posibles migraciones, por lo que se le considera un método confiable. Estos datos se obtienen mediante cortes histológicos de las gónadas, realizándose observaciones a nivel microscópico describiendo detalladamente los ovocitos encontrados, de tal manera que puedan establecerse niveles de desarrollo de manera precisa.*

Una de las ventajas importantes de este análisis es que, una vez obtenidas las láminas histológicas estas pueden utilizarse cuantas veces sea necesario sin correr el riesgo de que se dañen.

Hunter et al., (1985) han aclarado que tanto los índices de madurez visual, como los índices gonadales pueden ser indicadores burdos de la actividad reproductiva, pero de ninguna manera pueden ser confiables, para establecer diferencias muy sutiles entre ciertas gónadas, como sería el discernir entre gónadas con folículos postovulatorios y gónadas atrésicas.

De Vlaming et al., (1982) mencionan que generalmente no se realiza la valoración de una serie de fundamentos teóricos en las especies en las que se utilizan los índices gonadales, y en muchos casos estos no son buenos indicadores de la actividad reproductiva.

Por lo que es conveniente contrastar los resultados que proporcione este método con el método de análisis histológico siendo este el más confiable para determinar el desarrollo gonádico.

El estudio previo del desarrollo gonádico, periodo de desove y tallas de primera madurez permíte realizar estudios posteriores sobre fecundidad y frecuencia de desove de la población de referencia. La información obtenida es importante en las consideraciones sobre el manejo del recurso desde el punto de vista de las pesquerías.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es determinar el desarrollo gonádico y época de desove de la población de huachinango explotado en la Bahía de La Paz y zonas adyacentes mediante la determinación de los índices gonadales (IGL e IGP), y el análisis histológico.

ANTECEDENTES

Existe poca información sobre diversos aspectos de las especies de la familia Lutjanidae. Trabajos realizados por Grimes (1957), Leis, Manooch y Parrish (1987), tratan sobre reproducción, estadios de vida, edad y crecimiento y sobre hábitos alimenticios de esta familia.

En el país, se cuenta con investigaciones realizadas en el Golfo de México, como los estudios biológicos y pesqueros de la especie rabirrubia Ocyurus chrysurus la rubia Lutjanus synagris (Canatarell, 1982; López-Cuevas y Garduño-Dionale, 1987; Torres- Lara et al., 1990).

En el Pacífico, Maeda-Martínez (1981) estudió aspectos ecológicos y alimenticios de la ictiofauna de tres lagunas costeras de la Bahía de La Paz, incluyendo algunas especies de Lutjánidos. Bermudez-Almada y García-Laguna (1985) investigaron los hábitos alimenticios de los peces de zonas rocosas de este mismo cuerpo incluyendo algunas especies de pargos; por último García-Laguna y Orozco-Zorrilla (1988) estudiaron sobre hábitos alimenticios del pargo amarillo Lutjanus argentiventris.

Con respecto a estudios realizados sobre la especie L. peru son pocos. Gerelova (1979) que estudió experimentalmente el tiempo de digestión en juveniles mantenidos en cautiverio, Castro (1981) avanzó sobre parametros de crecimiento de la especie en el Edo. de Michoacán. En ese mismo año, en la Fac. de Ciencias de la U.N.A.M. se realizó un trabajo que aborda la edad, el crecimiento y algunos aspectos de las pesquerías del huachinango y de otras tres especies de pargos en las costas del mismo estado. Aguilar-Salazar (1986) estudió sobre la edad y el crecimiento del huachinango de las costas de Michoacán, Guerrero y parte del Edo. de Oaxaca. Madrid et al., (1987) presentaron información sobre alimentación, reproducción y pesquería de la especie en Michoacán y Sinaloa; además en 1988 investigaron

la distribución de las especies de Lutjánidos en la misma área de estudio presisando que L. peru es la única que al parecer presenta patrones migratorios. Por último el Centro Regional de Investigaciones Pesqueras del Estado de Colima llevó a cabo un estudio sobre aspectos biológicos y pesqueros del huachinango y otras dos especies de Lutjánidos en el litoral de ese Estado (Cruz Romero et al., 1988).

TAXONOMIA

La familia Lutjanidae agrupa a 103 especies repartidas en 17 géneros. Los adultos de estas especies se encuentran en su mayoría , asociados al fondo marino y se alimentan principalemete de peces y crustáceos. Su distribución vertical abarca desde las agua someras de la zona nerítica hasta profundidades de 550 m (Anderson, 1987).

La familia se encuentra dividida en 3 subfamilias, Etelinae, Apsilinae, Lutjaniae cuyos límites y relaciones se encuentran ampliamente revisados por Johnson (1981).

Las especies del género Lutjanus que se distribuyen en el Pacífico son: L. argentiventris, L. colorado, L. jordani, L. novemfasciatus, L. viridis, L. guttatus, y L. peru; cuya distribución abarca desde México hasta Perú (Allen, 1987).

El huachinanago L. peru posee la siguiente posición taxonomica (Nelson, 1954):

PHYILUM = *Chordata*

SUPER CLASE = *Gnathostomata*

CLASE = *Osteicthyes*

SUB CLASE = *Teleostei*

SUPER ORDEN = *Acanthopterygii*

ORDEN = *Perciforme*

SUB ORDEN = *Percoidae*

FAMILIA = *Lutjanidae*

GENERO = *Lutjanus*(Bloch, 1790)

ESPECIE = *L. peru* (Nichols y Murphy, 1922)

CARACTERISTICAS DIAGNOSTICAS DE L.peru :

Presenta una aleta dorsal con nueve espinas y trece radios (IX, 13); aleta anal con tres espinas y ocho radios (III, 8) con la segunda espina ligeramente menor pero más fuerte que la tercera. Las escamas por encima de la línea lateral se encuentran dispuestas en series oblicuas. Mandíbula superior con pequeños dientes caniniformes ausentes en la inferior; dientes viliformes en el vomer, paladar y lengua, los del vomer dispuestos en un parche con forma de diamante ligeramente prolongado hacia atrás, de tal suerte que los márgenes posteriores son cóncavos. Preopérculo finamente aserrado en su región posterior, aserración

más gruesa en su margen inferior. Interorbital muy convexo. Diez espinas branquiales en la rama descendente del primer arco branquial. Coloración en vivo; rojo que se torna café pálido al conservarse. Presenta un lunar tenue en la axila; los radios centrales de la aleta caudal con un borde negro. (Nichols y Murphy, 1922).

(Fig.1).

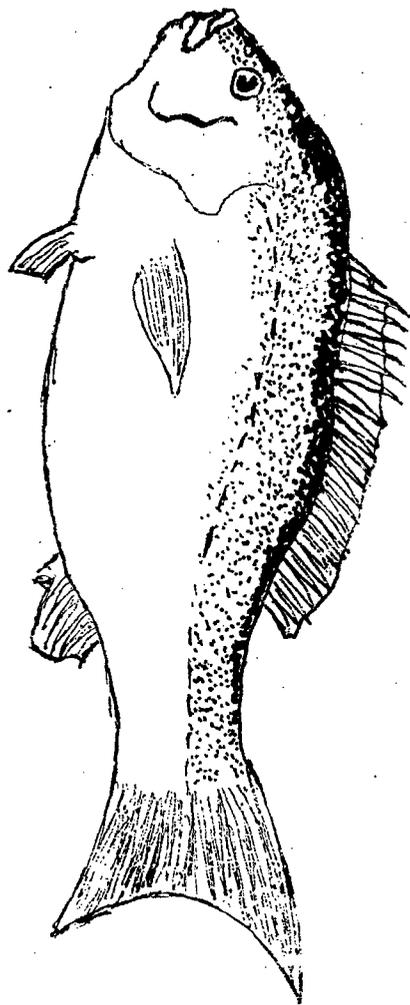


FIG. 1. Vista Lateral del Pez *L. perca*. "Huachinango"

En la Bahía de La Paz B.C.S.

AREA DE MUESTREO

La colecta se realizó en la Bahía de La Paz y zonas adyacentes siendo este el cuerpo de agua más grande a lo largo de la costa del Golfo de California, contando con aproximadamente 2000 Km² (Carmona et al., 1988). Geográficamente se encuentra entre los 24° 10' y 24° 34' latitud Norte y los 110°24' y 109° 50' de longitud Oeste (Fig. 2)

Físicamente se encuentra limitada al Norte por la Isla San José, al Sur por Ensenada de La Paz, al Oriente por la Isla Espíritu Santo y la Partida y al Occidente está limitada por la Península de Baja California (Díaz y Ruiz, 1989).

Las variaciones en la salinidad son leves, el promedio en el verano es de 35%. y para el invierno es de 32%. La temperatura superficial en la Bahía de La Paz oscila de 20° C en invierno a 29° C en el verano (Bermudez y García 1985). En la Bahía, la evaporación excede a la precipitación y presenta valores máximos entre los meses de Junio y Julio. Los vientos de invierno provienen del suroeste y son denominados Sures o Corumueles, los de verano provienen del Noroeste y son conocidos como Collas.

Las principales zonas de pesca del huachinango se localizan en los alrededores de la Isla Cerralvo y Espíritu Santo donde son extraídos a 60 metros de profundidad promedio.

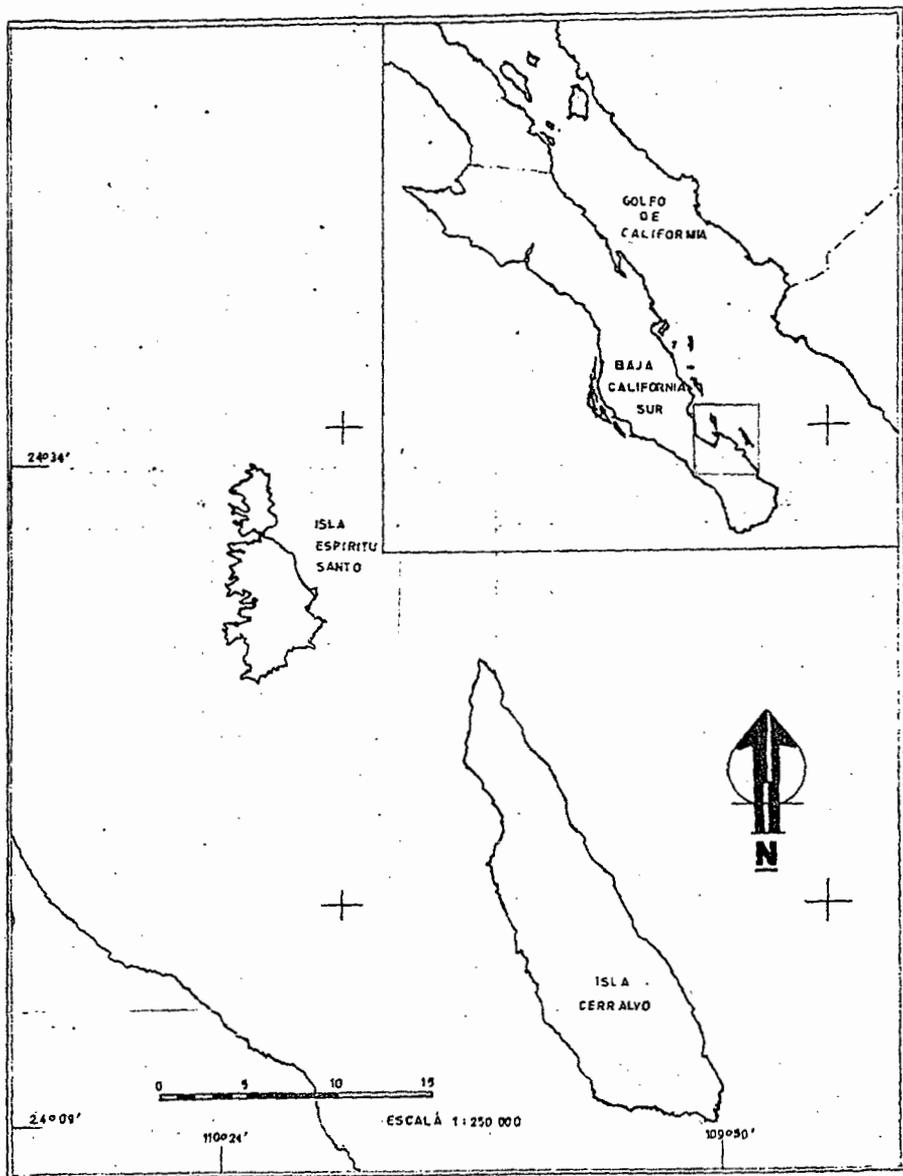


FIG. 2.- Areas de pesca del huachinango *L. percy* en la Bahía de La Paz y zonas adyacentes, B. C. S.

MATERIAL Y METODO

I.- TRABAJO DE CAMPO:

Las muestras se colectaron mensualmente desde Mayo de 1989 a Octubre de 1991 mediante el arte de pesca denominado palangre, el cual consiste en una línea o piola de la que penden de 4 a 6 anzuelos separados uno de otro aproximadamente 10 cm. En el extremo inferior se encuentra una plomada que permite mantener tensa la piola con los anzuelos una vez que ha sido arrojada al fondo. Se muestrearon todos los organismos capturados obteniendo los siguientes datos:

1.-Longitudes: Se midieron la longitud total (LT) y longitud estándar (LS) del pez, mediante un ictiómetro con precisión de 1 mm.

2.- Pesos: Se consideró tanto el peso total (PT) como el peso eviscerado (PE), utilizando dinamómetros OHAUS; de diferentes capacidades, (250 g \pm 2g, 500 g \pm 5g, y 2 Kg \pm 10g).

3.- Extracción de las gónadas.

4.- Sexos: Identificación macroscópica del sexo indicando si era hembra, macho o

indeterminado.

5.- Estadios de madurez: Clasificadose el estadio correspondiente de acuerdo a la escala propuesta por Nikolsky (1963); Inmaduros, en reposo, en desarrollo, bien desarrollados, maduros y desovados.

6.- Peso de las gónadas en fresco: Se utilizó una balanza de precisión de (\pm 2gr).

7.- Fijación: Las gónadas colectadas se fijaron en formol al 10% neutralizado con Borato de Sodio y fueron transportadas al laboratorio.

II.- TRABAJO EN EL LABORATORIO:

Se le extrajo el tejido graso adyacente, prosiguiendo a pesarlás con una balanza analítica con una precisión de 0.001 g. Se consideró la primera lectura obtenida para tener un criterio constante y evitar las variaciones en peso debido a la volatilización del formol (Ramírez, 1990).

Con los datos que se obtuvieron se determinó los índices gonadales; Índice gonádico (IGL) e índice gonadosomático (IGP), utilizando las siguientes fórmulas (Balbontin y Fisher, 1981).

$$IGL = [PeGo (gr)/LT(mm)^2]*10^7$$

$$IGP = [PeGo (gr)/PT(gr)]*100$$

DONDE:

PeGo = Peso de la gónada en gr.

LT = Longitud total del organismo en mm.

PT = Peso total del organismo en gr.

Con estos cálculos se determinaron los valores máximos, la media y el error estándar mensualmente que al ser graficados, permitió comparar los valores mensuales y determinar la tendencia general de la actividad reproductiva a lo largo del año.

Para observar la tendencia anual presentada para hembras, machos e indeterminados se decidió elaborar un "Año Tipo"; ya que durante el período de muestreo hubo algunos meses en los que no se obtuvieron organismos, o bien el número de muestras fue bajo. Esto se obtuvo mediante la obtención de un solo bloque de datos de aquellos meses repetidos siendo estos Enero, Febero, Abril, Junio, Julio, Agosto, Septiembre, Octubre y Noviembre, e incluyendo a los meses con un único organismo en el lugar que les corresponde para formar así un año completo.

TRATAMIENTO HISTOLOGICO

Para la obtención de los cortes histológicos las muestras fueron sometidas previamente a un tratamiento que comprende las siguientes etapas:

a) Fijación.- Las muestras fueron fijadas con formol al 10% neutralizado con Borato de Sodio.

b) Disección.- Las gónadas fueron seccionadas obteniéndose cortes transversales de 5 mm de ancho aproximadamente, en gónadas de tamaño regular. En el caso de las gónadas pequeñas se consideró todo el lóbulo.

c) Lavado.- Después de tener los cortes con su numeración correspondiente, se colocaron en cassettes especiales para este tratamiento, lavandose con agua corriente durante algunas horas para eliminar el de exceso de formol.

d) Deshidratación.- En esta etapa las muestras fueron introducidas en alcohol Butílico en concentraciones progresivas; que fueron del 30% hasta el 100%.

e) Aclarado.- Se introdujeron en una mezcla Alcohol- Cloroformo, en proporción 1:1 continuando con Cloroformo-parafina con la misma

proporción.

f) Inclusión.- Se incluyeron en parafina cuyo punto de fusión osciló entre los 56°C a 58° C.

g) Corte.- Con la ayuda de un microtomo de rotación American Optical, se obtuvieron cortes con un grosor aproximado de 5 micras.

h) Tinción.- Se manejó el método de Hematoxilina- Eosina.

j) Montaje.- Se utilizaron portaobjetos de tamaño estándar y resina sintética diluída con xilol al 60% como medio de montaje.

Se realizaron algunas modificaciones a la técnica histológica como la substitución de alcohol Etílico por Butílico, ya que este proporcionó mejores resultados en la obtención de los cortes. Otro paso más fué el de agregar glicerina al 5% a los alcoholes 70 I y 70 II con el objetivo de suavizar el tejido.

La etapa de aclarado se acortó tanto en tiempo de inmersión como por la eliminación del paso de Cloroformo al 100% para evitar que las muestras se quemaran con el paso normal.

En la etapa de tinción el alcohol utilizado fue también el Butílico.

Para adecuar la técnica se procesaron 30 gónadas hembras tomadas al azar, y 50

clasificadas como de sexo indeterminado; para realizar una serie de pruebas que permitieran determinar el tiempo adecuado en el que permanecerían las muestras en las etapas de deshidratación, aclarado e inclusión, (Tabla 1).

| Tamaño de la GONADA | TIEMPO DE INMERSION | | | | | | | | | | | | ACLARADO | | INCLUSION | | |
|---------------------|---------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|----------|-----|-----------|-----|-----|
| | DESHIDRATACION | | | | | | | | | | | | OH-CL | | CL-PA | | |
| | 30% | 30% | 50% | 60% | 70% | 70% | 80% | 90% | 90% | 100% | 100% | 100% | I | II | III | | |
| Pequeñas | 30' | 30' | 30' | 30' | 30' | 30' | 30' | 30' | 30' | 60' | 60' | 60' | 2' | 10' | 30' | 30' | 30' |
| Medianas | 45' | 45' | 45' | 45' | 45' | 45' | 45' | 45' | 45' | 90' | 90' | 90' | 2' | 10' | 45' | 45' | 45' |
| Grandes | 60' | 60' | 60' | 60' | 60' | 60' | 60' | 60' | 60' | 120' | 120' | 120' | 2' | 10' | 60' | 60' | 60' |

TABLA I.- Secuencia de trabajo seguida durante el proceso de deshidratación, aclarado e inclusión de las gónadas dependiendo del tamaño. Los números bajo DESHIDRATACION indican concentraciones de alcohol butílico (%) OH-CL indica mezcla de alcohol-cloroformo (1:1); CL-PA indica mezcla de cloroformo parafina (1:1).

OBSERVACION Y ANALISIS MICROSCOPICO

Las observaciones de las láminas se realizaron en un microscopio Zeiss Standar con 100 y 400 aumentos totales.

Se seleccionaron las preparaciones más representativas y se obtuvo una descripción detallada de los ovocitos de L. peru, basandose en la caracterización hecha por Ramírez (1990); considerando, tamaño celular, presencia y disposición de orgánulos, morfología de los ovocitos, cantidad y predominancia de cada tipo de ovocito observado.

ORGANISMOS INDETERMINADOS

De los organismos colectados, la mayoría de las gónadas obtenidas fueron pequeñas y delgadas, clasificandose a nivel visual, como organismos de sexo indeterminados, para saber si efectivamente estas gónadas eran de organismos indeterminados, de las 50 muestras seleccionadas al azar se tomó una submuestra de 30 cuyo objeto fue determinar que porcentaje de las mismas se les pudo determinar el sexo a nivel histológico.

DISTRIBUCION DE OVOCITOS

Para establecer el tipo de distribución que tienen los ovocitos en el interior de la gónada, fue necesario hacer observaciones histológicas de las áreas anterior (A), media (M) y posterior (P) de una submuestra de 11 gónadas tomadas al azar; para cada una de las partes A, M y P; se contó el número de ovocitos de cada estadio presente utilizando un contador de células y barriendo el campo con la vista evitando contar cada ovocito más de una vez.

En cada conteo se consideró el número y sección de la gónada. El aumento utilizado para cortes muy pequeños fue de 40 X y para los de tamaño moderado de 10 X. Se determinó el total de ovocitos contados y las lecturas promedio para cada estadio en cada sección (A, M y P).

Para decidir si a lo largo de la gónada los ovocitos se distribuyen de una manera homogénea se aplicó el análisis estadístico de dos vías, conocido como modelo I de ANOVA (Sokal y Rohlf, 1979) en el que los factores fueron, por un lado las secciones A, M, y P de las gónadas; y por el otro, los tipos de ovocitos (I, II, III, IV). Para este análisis se utilizaron las lecturas promedio para cada estadio de cada sección (A, M ó P) y se trabajó con $\alpha=0.05$.

ESTADIOS DE MADUREZ.

Se realizó la descripción detallada de cada gónada, en base a la observación total de cada corte, haciendo consideraciones sobre el estado de irrigación sanguínea, registrando la presencia de atresias, venas y capilares transversales y longitudinales, considerando, además, el grosor de la membrana ovárica, indicando si era gruesa, regular o delgada; e incluyendo caracterizaciones tales como tipos de ovocitos presentes en el corte; anotando su abundancia en base a la siguiente escala cualitativa.

- a) Nulos*
- b) Escasos*
- c) Regular*
- d) Bastantes*

Se hicieron anotaciones sobre la presencia de atresias y/o folículos postovulatorios. En base a esta descripción se ubicó a cada gónada en el estadio que se consideró adecuado. Debido a la escasa información sobre aspectos reproductivos de la Fam. Lutjanidae específicamente de L. peru y dada la similitud encontrada con los estadios establecidos por (Ramírez, 1990) para la especie de Caulolatilus princeps se consideró apropiada esta clasificación.

Se realizaron observaciones por triplicado para confirmar que los estadios establecidos fueran los correctos.

Para conocer en que período(s) se concentraba la mayor actividad reproductiva y cual era la época de desove, se establecieron relaciones entre los estadios de madurez asignados a los cortes y los meses del año.

Estos resultados permitieron detectar los meses en los que se encontraba un mayor número de gónadas de cada uno de los estadios de madurez. Con esta secuencia se puede observar la temporada de mayor actividad reproductiva.

Estos fueron comparados con los obtenidos en los índices gonadales (IGL e IGP) para detectar si efectivamente pueden ser considerados como buenos indicadores de la actividad reproductiva de la especie.

RESULTADOS

PROPORCION DE SEXOS

La colecta de organismos se inició a partir de Mayo de 1989 y finalizó en Octubre de 1991; se obtuvieron un total de 644 organismos; de los cuales 180 fueron hembras 174 machos y el resto quedo clasificado como indeterminados.

En base a estos resultados se obtuvo una proporción de sexos global de 28% para hembras, 27% para machos y el 45% correspondió a indeterminados; esto da una proporción practicamente de 1:1 sin considerar el porcentaje de peces indeterminados (Tabla 2).

TABLA 2.- Porcentajes de sexos obtenidos en los muestreos.

| MUESTREO | HEMBRAS | MACHOS | INDETER. | TOTAL |
|------------------|----------------|---------------|-----------------|--------------|
| BIOLOGICO | | | | |
| | 180 | 174 | 290 | 644 |
| % | 28 | 27 | 45 | 100 |

De los organismos colectados se tomó al azar 50 muestras de las cuales se utilizó una submuestra de 30 clasificados como indeterminados para determinar el sexo de estos organismos a nivel histológico obteniendo los siguientes resultados (Tabla 3).

TABLA 3.- Determinación de sexos a nivel histológico

| <i>MUESTRA</i> | <i>HEMBRAS</i> | <i>MACHOS</i> | <i>INDETER.</i> | <i>PERDIDOS</i> | <i>TOTAL</i> |
|----------------|----------------|---------------|-----------------|-----------------|--------------|
| | 10 | 0 | 12 | 8 | 30 |
| % | 33.3 | 0 | 40 | 26.6 | 100 |

En machos no se obtuvieron resultados debido a que las muestras que se procesaron en su mayoría sufrieron daño lograndose solamente una porción de las mismas, suficiente para establecer el sexo en hembras ya que se distinguieron algunas ovogonias esparcidas en el estroma (Fotografía 3). En los organismos indeterminados se observó solamente tejido (Fotografía 1).

La distribución por clase de tallas abarcó rangos de 200 a 750 mm encontrándose la mayor parte de los peces concentrados en los intervalos de 250 a 450 mm. Las hembras comprenden un intervalo que va de 300 mm a 350 mm, y en machos e indeterminados comprenden rangos de 250 a 300 mm, posiblemente en estos rangos pueden incluirse a hembras y/o machos en estado virginal que debido a su tamaño tan pequeño fue difícil clasificarlos visualmete (Fig. 3).

Los organismos comprendidos en las tallas de 200 a 750 mm les corresponden edades que van de 1 año a 6 años, siendo frecuentes los de 2 y 4 años (250 a 450 mm), (Rocha 1991).

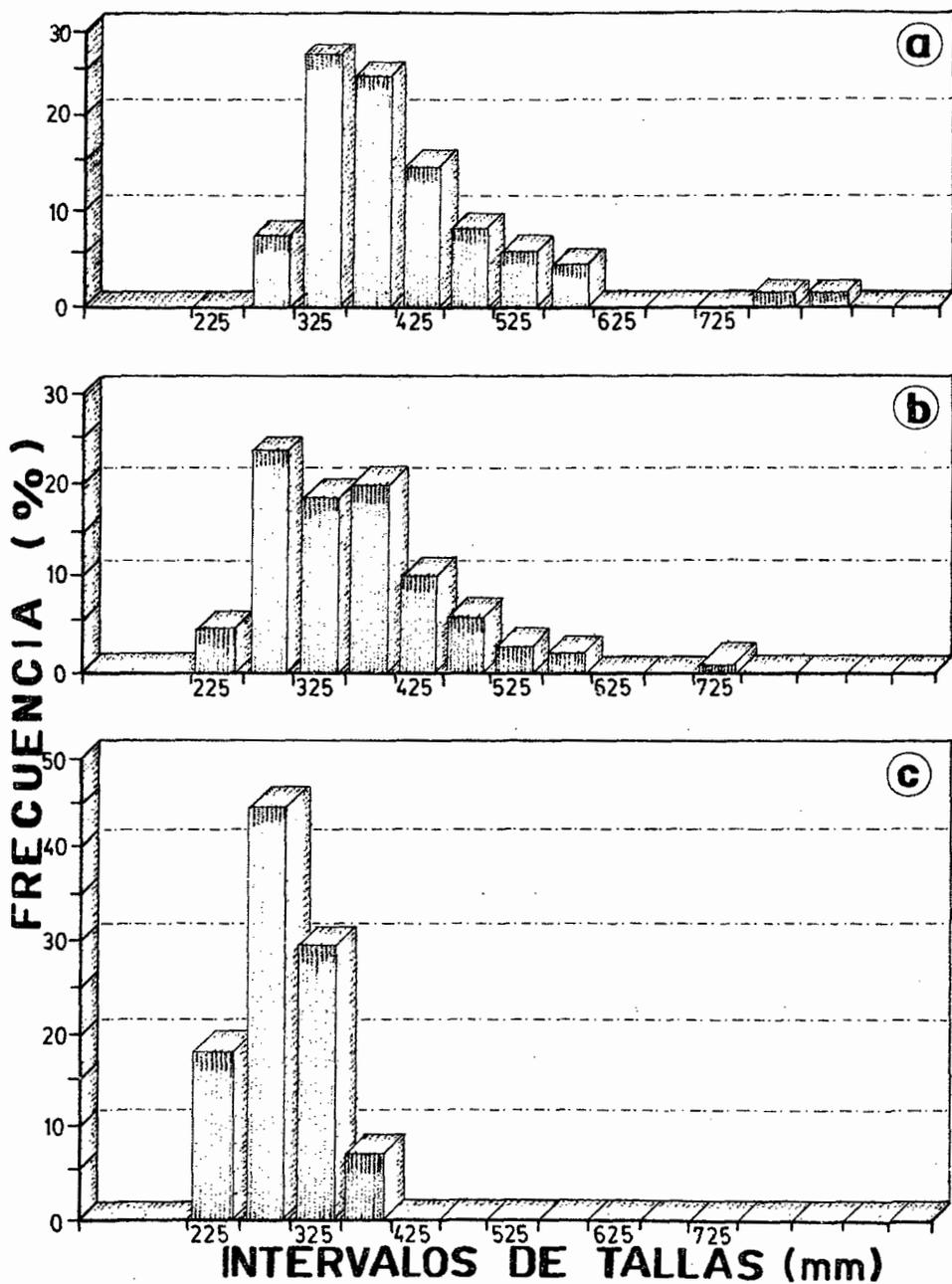


FIG. 3.- Distribución por clase de tallas en:
hembras (a), machos (b), e indeterminados (c).

DESCRIPCION DE LAS GONADAS

Las hembras de L. peru presentan un par de ovarios localizados debajo de la vejiga gaseosa y unidos a esta por el mesovario, que se prolonga hacia la parte posterior de la cavidad abdominal sosteniendo ambas gónadas. El mesovario contiene a las arterias ováricas que irrigan a la gónada.

Los ovarios son de forma cilíndrica, alargada, y extremos redondeados, el aspecto ventral es liso y del lado dorsal se aprecia una arteria muy notoria a partir de la cual se derivan irrigaciones secundarias que cubren las zonas laterales de cada ovario, además, en esta arteria se adhiere bastante tejido adiposo. Los ovarios se unen en la parte posterior de la cavidad abdominal, constituyendo el oviducto por donde son liberados los ovocitos. Conforme avanza el desarrollo de la gónada, los lóbulos aumentan de tamaño, con respecto a su coloración las gónadas pequeñas son de color translúcido y conforme van creciendo se tornan de color rosáceo hasta llegar a un color amarillo cafésoso. Generalmente uno de los lóbulos presentaba una ligera variación en cuanto a tamaño siendo uno más pequeño que el otro, y rara vez se presentó que alguno de los lóbulos el tamaño fuese marcadamente más grande. Estudios realizados por Klett y Rodríguez (1989) demuestran que a pesar de que el lóbulo izquierdo de la gónada del marlín rayado Tetraopturus audax es más largo que el derecho, no hay diferencias en el desarrollo de ambos.

Ramírez (1990) trabajó con 3 muestras que presentaban las mismas características en gónadas de Caulolatilus princeps encontrando que no había diferencia en cuanto a grado de desarrollo, presentandose los mismos niveles en ambos lóbulos.

Esto no significa que se presente de manera similar para todas las especies por lo que al realizarse el análisis de varianza para determinar la distribución de los ovocitos se esperó que no hubiese distinción alguna del lóbulo derecho con respecto al izquierdo para determinar si las gónadas de L. peru presentan las mismas tendencias encontradas en las especies anteriores.

INDICE GONADICO

En el análisis del índice gónadico (IGL) el cual considera peso de la gónada contra longitud total del organismo se compararon en hembras las variaciones de los valores mes a mes (Fig. 4). Los índices se mantuvieron bajos practicamente casi todo el año, los valores fueron cercanos ó ligeramente mayores de 0.5 e incrementandose en los meses de Julio, Agosto y Septiembre.

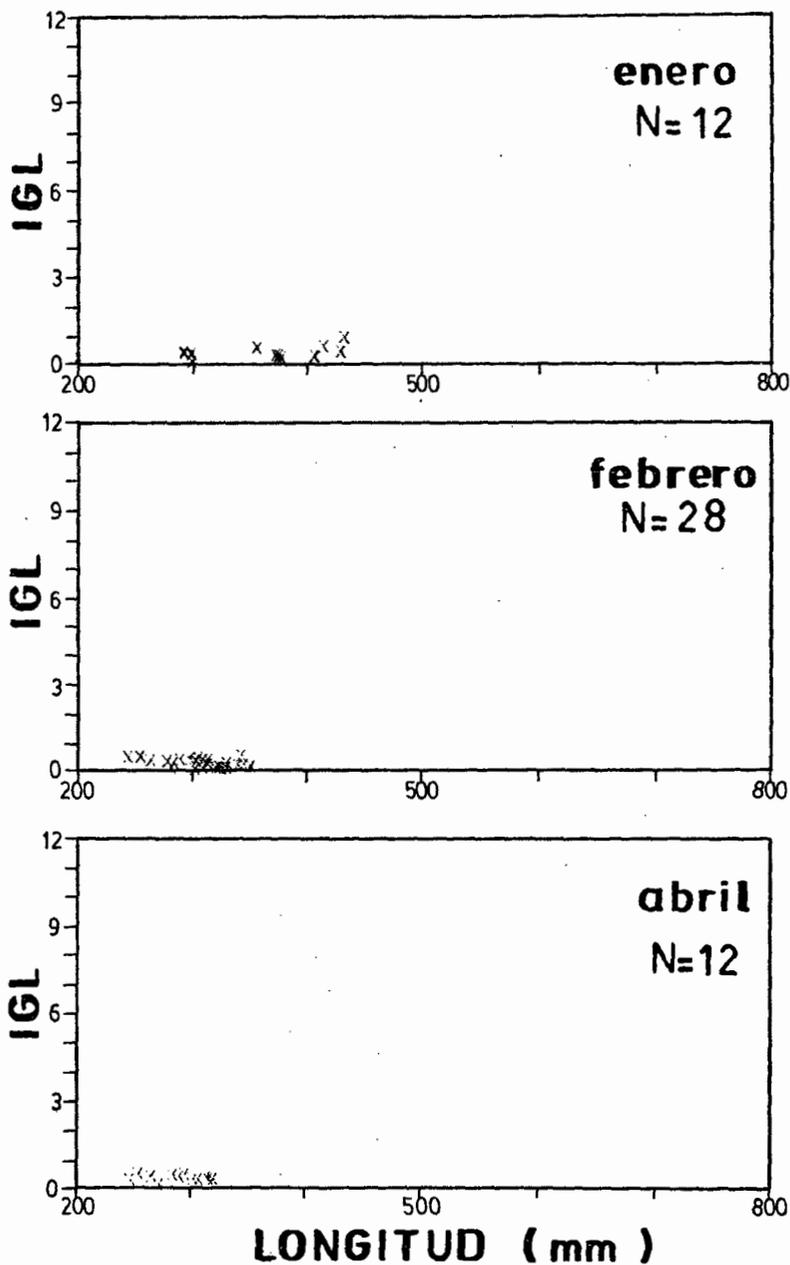


FIG. 4.- Relación de índices gonádicos contro longitud total por meses.

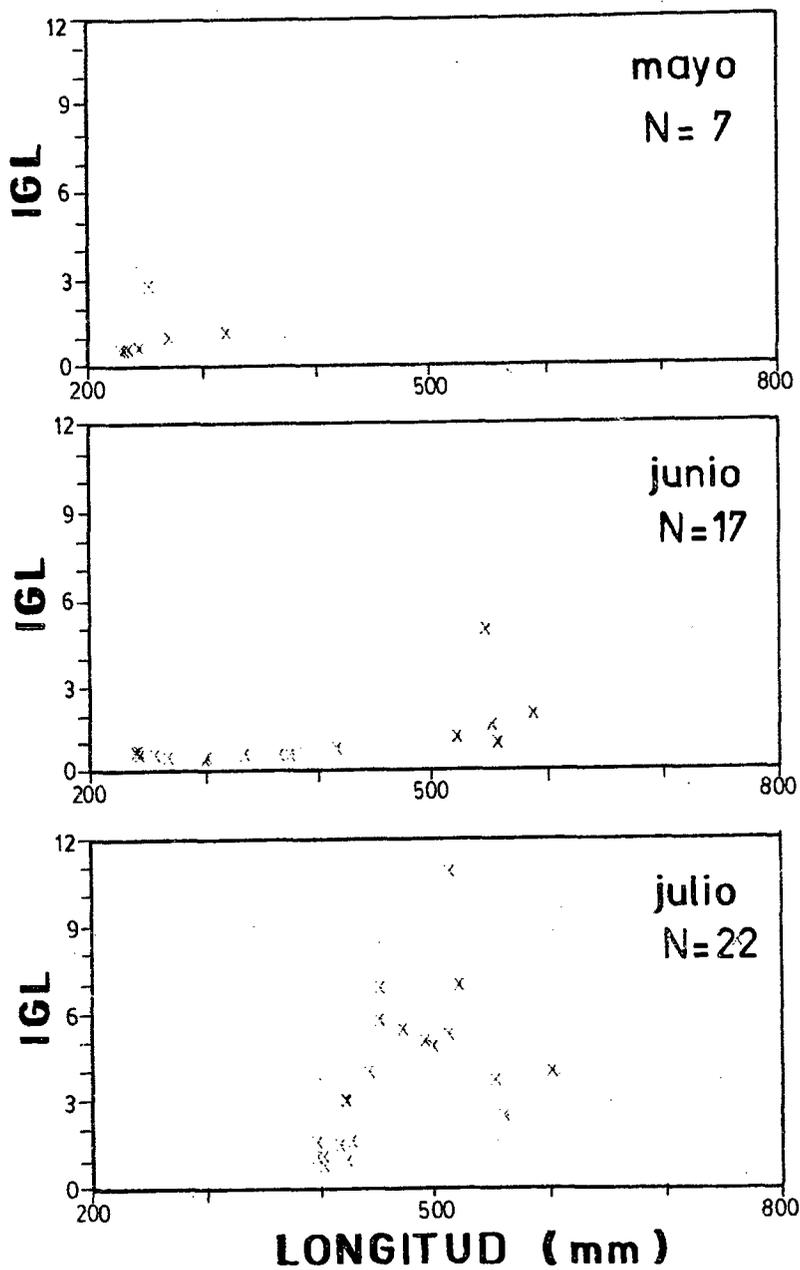


FIG. 4.- Relación de índices gonádicos contra longitud total por meses, (continuación)

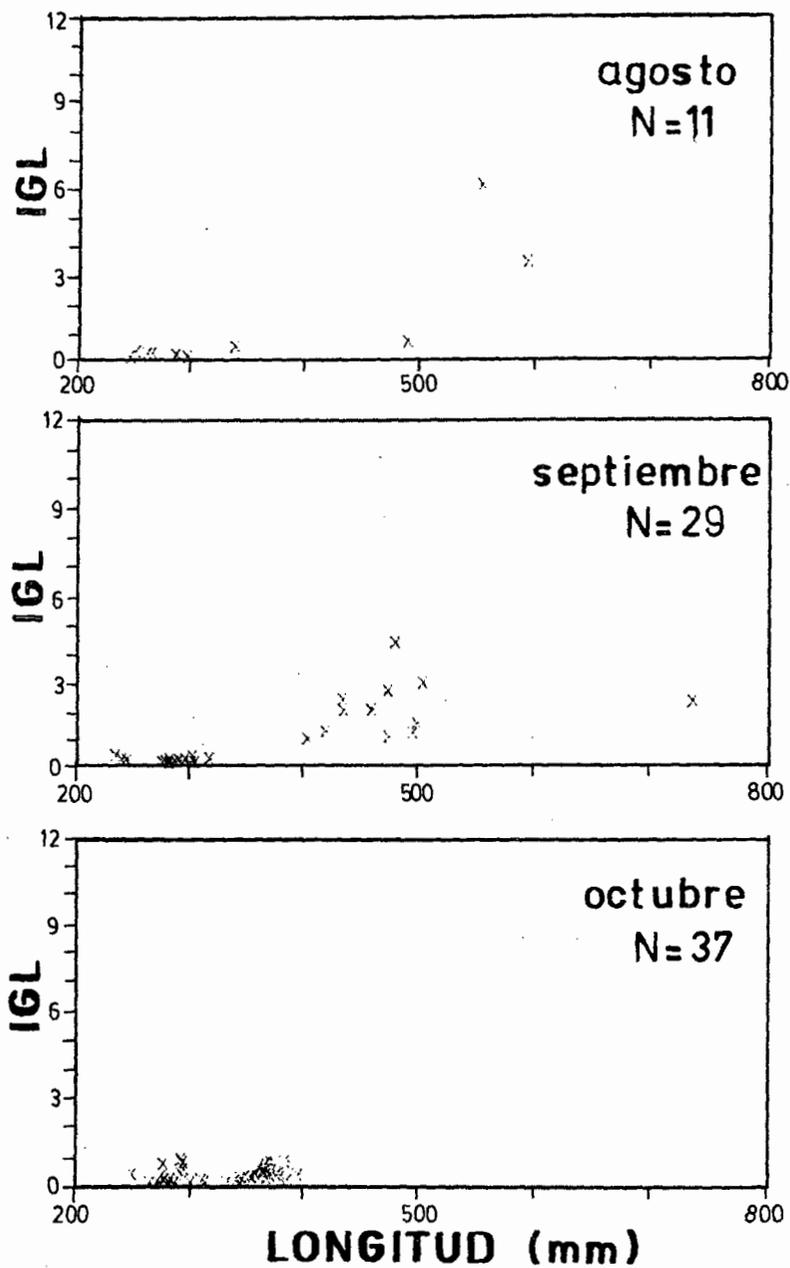


FIG. 4.- Relación de índices gonádicos contra longitud total por meses, (continuación)

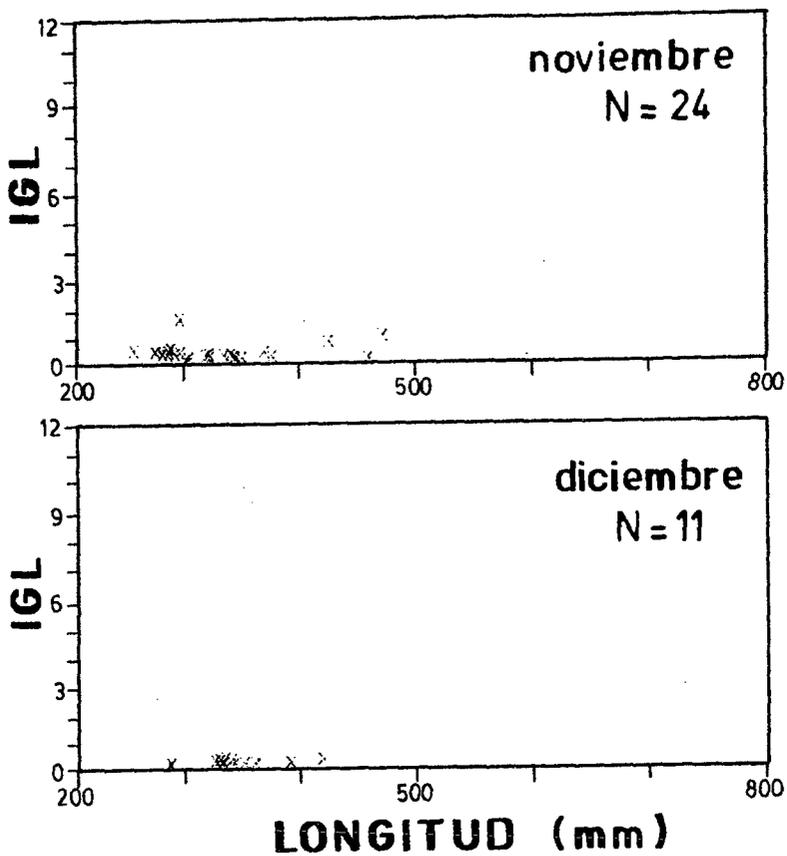


FIG. 4.- Relación de índices gonádicos contra longitud total por meses, (continuación)

En relación a la distribución de los datos dentro de las gráficas, se observa que en los valores altos de los IGL estos se distribuyen de manera vertical y horizontal, a diferencia de los datos con índices bajos, que se mantienen concentrados prácticamente en el área inferior de la gráfica.

INDICE GONADOSOMATICO

Este índice (IGP) tiene relación con el peso de la gónada y el peso total del organismo.

Los resultados que se presentaron siguen el mismo comportamiento que los índices gonádicos IGL. Presentando índices bajos durante casi todo el año e incrementándose en los meses de Julio, Agosto y Septiembre; por lo que se consideró apropiado graficar solamente los IGL.

Se elaboró un "Año Tipo" para hembras, machos e indeterminados para observar las tendencias que presentan cada uno de ellos a lo largo de un ciclo anual, se obtuvo mediante la suma de los meses iguales de cada año y graficando el promedio de los mismos, (Fig. 5) se consideró la media y el error estándar y el índice gonádico IGL.

Los resultados muestran que para machos y hembras los índices tienden a aumentar en los meses de Junio, Julio, Agosto y Septiembre, siendo Julio el mes cuyo valor es más alto para ambos lo cual indica que en ese mes se puede considerar como el de mayor actividad

reproductiva.

Sin embargo, los valores que se obtuvieron para los indeterminados se mantuvieron bajos durante casi todo el año. Los meses en los que se observan espacios vacíos indican que no se obtuvieron muestras durante la colecta, y no se descarta la posibilidad de que en esos meses se encontrasen estos organismos.

AÑO TIPO

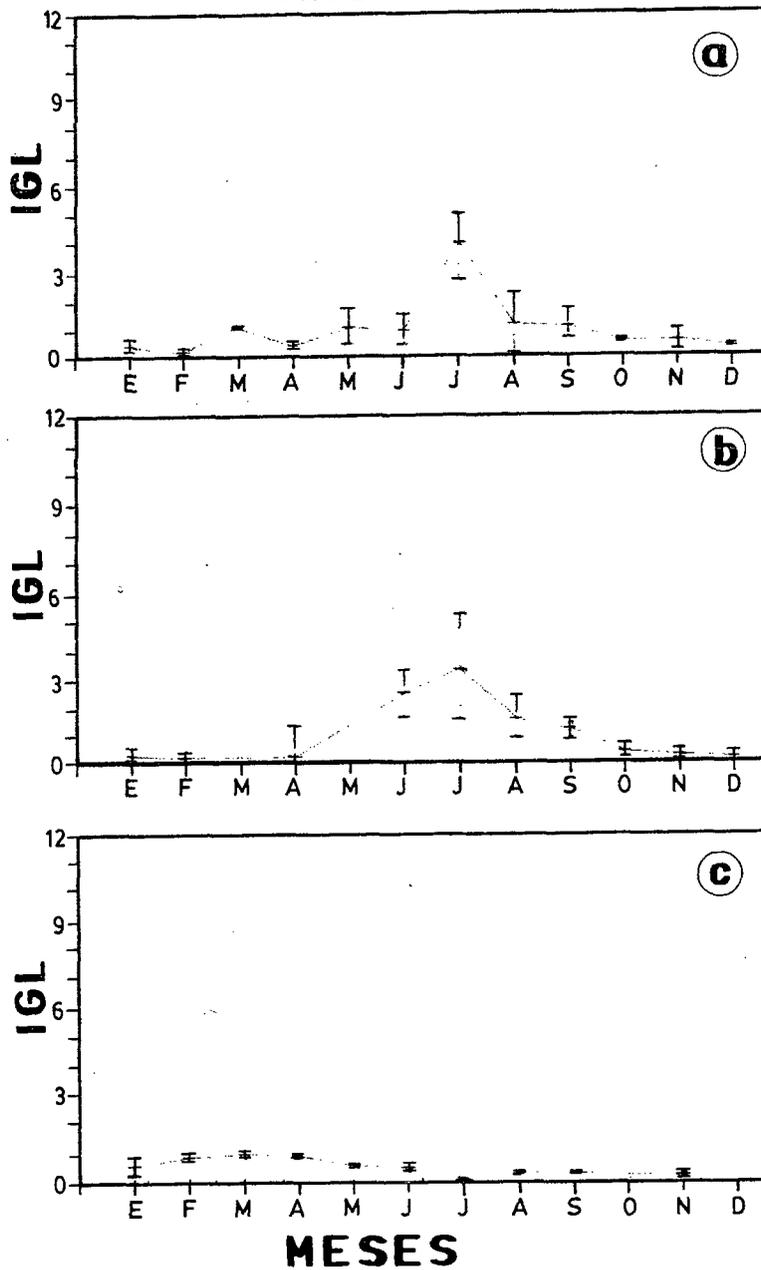


FIG. 5. - Variación del Índice gonádico (IGL) a lo largo del año. Presentándose la media y los errores estándar; en hembras (a), machos (b), e indeterminados (c).

Las Figuras 6 y 7 muestran los valores medios, los errores estándar y los rangos de los IGP e IGL a lo largo del año, observando que prácticamente son similares siendo el mes de Julio el que presenta el valor más alto a lo largo de todo el año, lo cual puede considerarse como el mes en el que incide una alta actividad reproductiva.

CARACTERIZACION DE LOS OVOCITOS

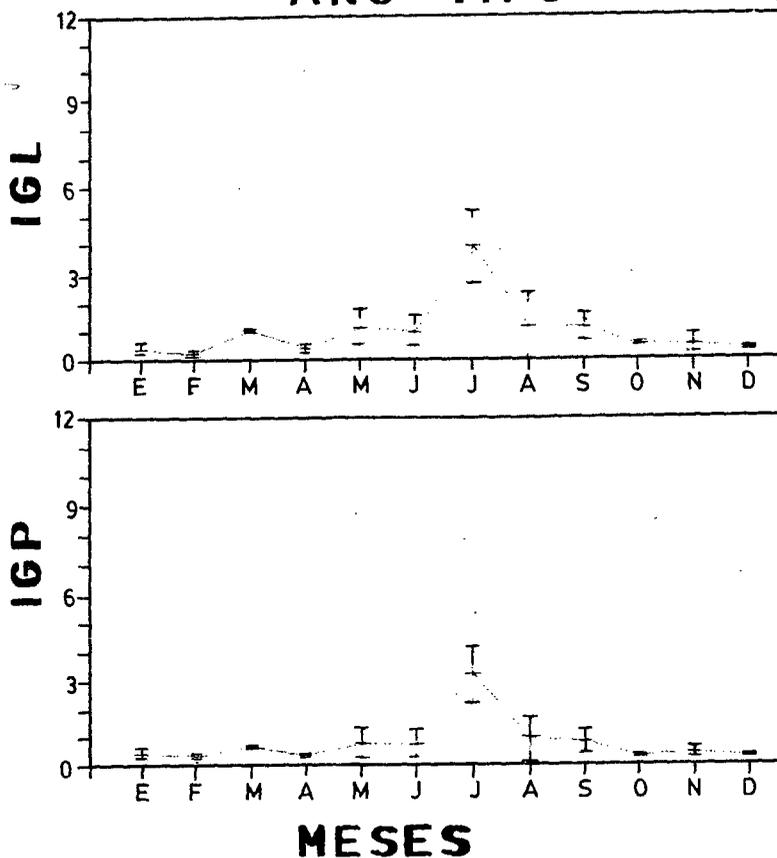
Para la caracterización de ovocitos y debido a la escasa información sobre reproducción de Lutjánidos, se utilizó la propuesta por Ramírez, (1990) quien considera 6 tipos de ovocitos:

- 1.- Ovogonias (OO)*
- 2.- Ovocitos primarios (I)*
- 3.- Ovocitos previtelogénicos (II)*
- 4.- Ovocitos en vitelogénesis activa (III)*
- 5.- Ovocitos maduros (IV)*
- 6.- Ovocitos prehidratados (H)*

Especificando la presencia de atresias y folículos postovulatorios.

Es importante hacer mención de que en algunas ocasiones se presentaron ovocitos que se encuentran en los umbrales de cada nivel; que de algún modo dificultó la ubicación de estos; sobre todo en las gónadas caracterizadas como maduras que presentan casi todos los estadios de desarrollo.

AÑO TIPO



FIGS. 6 y 7.- Variación de los índices gonadales, índice gonádico (IGL), e índice gonadosomático (IGP) a lo largo del año. Presentándose la media y los errores estándar mensualmente.

En las gónadas de L. peru se observó la predominancia de ovocitos de características muy similares durante casi todo el año, y solamente en los meses de Julio, Agosto y Septiembre se observó simultáneamente ovocitos en diferentes grados de desarrollo, distinguiéndose solamente cinco tipos celulares.

- 1.- Ovogonias (OO)*
- 2.- Ovocitos primarios (I)*
- 3.- Ovocitos previtelogénicos (II)*
- 4.- Ovocitos en vitelogénesis activa (III)*
- 5.- Ovocitos maduros (IV)*

También se observaron varios tipos de atresias, aparentemente no se presentaron folículos postovulatorios sin embargo, algunas estructuras catalogadas como atrésicas tardías podían haber sido considerados como postovulatorios tardíos. Es evidente también la ausencia de postovulatorios recientes y ovocitos prehidratados ambos indicadores de desove (Hunter y Macewicz, 1985).

A continuación se presenta una descripción detallada de los diferentes tipos de ovocitos en L. peru.

OVOGONIAS (OO).- Células pequeñas que se tiñen de hematoxilina y su consistencia es muy densa y compacta. Estas estructuras fueron observadas eventualmente, aún en los estadios de menor desarrollo gónadico. En los casos en que se pudieron observar, las ovogonias se encontraban inmersas en el estroma.

OVOCITOS PREVITELOGENETICOS (I).- Presentan un citoplasma de aspecto homogéneo y denso; núcleo con 2 a 4 nucleólos poco visibles, ubicados indistintamente en el centro. En estos ovocitos todavía no se forma a su alrededor la capa de células foliculares. Estas células se distinguen fácilmente por su coloración morada.

OVOCITOS EN VITELOGENESIS (II).- Tienen una apariencia similar a los ovocitos I, pero en su citoplasma va presentándose poco a poco, zonas blanquecinas que disminuyen el carácter homogéneo de formación de alveolos corticales. La cantidad de nucleólos es un poco mayor y ubicados generalmente en la periferia y pocas veces en el centro, pudiéndose contar generalmente de 8 a 10 nucleólos.

Se puede observar una sola capa alrededor de los ovocitos (capa folicular), aunque en ciertas ocasiones fue difícil apreciar estas características.

OVOCITOS EN VITELOGENESIS ACTIVA (III). - *Se clasificó en 2 etapas diferentes de acuerdo a las características presentes en estos huevos.*

1.- Período inicial de la vitelogénesis activa (IIIi).

2.- Vitelogénesis activa (IIIa).

En la primera categoría se encuentran los ovocitos que presentan citoplasma teñidos más suavemente que los ovocitos I y II. Su aspecto no es homogéneo, observándose la formación de vitelo. Se aprecian bastantes alveolos corticales dispuestos en la periferia de cada ovocito; presenta cierta cantidad de nucleólos llegando ser hasta 10.

En los ovocitos IIIa se observan claramente los granulos de vitelo y las células foliculares (Fotografía 4), aunque todavía están compactados. Los alveolos corticales se presentan en la periferia del ovocito y en la zona adyacente al núcleo.

OVOCITOS MADUROS (IV). - *Su tamaño es mayor relacionado con los ovocitos III. Sus membranas externas se distinguen claramente y se observa un engrosamiento en la zona radiada, la teca interna y externa, los granulos de vitelo distribuidos ampliamente en todo el ovocito; núcleo localizado en el centro cuando se llegaba a distinguir, rodeado por alveolos*

corticales (Fotografía 5).

ATRESIAS (A).- En las gónadas de L. peru se observaron algunas estructuras atrésicas, clasificándose de la siguiente manera:

1.- Atresias tardías (A tard.) Son estructuras amorfas, de tamaño variable y delimitados por una teca muy delgada; se observan bastantes zonas vacuoladas y total degeneración del ovocito. Células de las capas foliculares totalmente absorbidos.

2.- Atresias de ovocitos vitelogénicos activos IIIa y maduros IV. En estos ovocitos la zona radiada se va disolviendo introduciéndose en el interior del ovocito; las células de la capa granulosa empiezan a invadir provocando degeneración de los granulos de vitelo que se fusiona o expanden, perdiendo su forma regular (Fotografía 6).

DISTRIBUCION DE OVOCITOS

El análisis de varianza dos vías (Tabla 4), permitió establecer la distribución de los ovocitos dentro de las gónadas a lo largo del año. Este análisis proporcionó tres resultados importantes:

1.- No existen diferencias significativas en los conteos entre las partes A, M y P.

(F. obs. < $F_{0.05}(2,290)$; 0.080 < 0.9234).

2.- Existen diferencias significativas en los conteos de los distintos tipos de ovocitos (F obs. > $F_{0.05}(4,290)$; 28.536 > 0.000)

3.- No hubo interacción entre los estadios de los ovocitos y las secciones de las gónadas (F obs. < $F_{0.1}(8,290)$; 0.053 < 0.9999). Es decir, no existe coincidencia entre un tipo de ovocito u ovocitos y su ubicación en la gónada.

| FUENTE DE VARIACION | SUMA DE CUADRADOS | GRADOS DE LIBERTAD | CUADRADOS MEDIOS | F obs. | F tab. |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|---------------|---------------|
| SUBGRUPO | 1138524.2 | 11 | 162646.31 | 14.56 | 0 |
| A | 6210.4 | 2 | 3105.19 | 0.08 | 0.9234 |
| B | 1132313.8 | 4 | 226462.76 | 28.536 | 0 |
| A*B | 16731.278 | 8 | 1673.1278 | 0.053 | 0.9999 |
| ERROR | 1406892.5 | 290 | 11165.813 | | |
| TOTAL | 256148 | | | | |

TABLA 4.- Análisis de varianza de dos vías de la distribución de ovocitos en diferentes secciones de las gónadas de *L. peruv* (A)

indica las secciones anterior, media y posterior sobre el que se realizó el análisis. (B) indica los estadios de los ovocitos (I, II, III y IV) utilizando 11 muestras para el análisis.

En las gónadas que presentaron un lóbulo marcadamente mayor que el otro se utilizó el mismo análisis de varianza. Demostrando con los tres puntos anteriores que ambos lóbulos presentan el mismo grado de desarrollo.

En base a estos resultados, podemos concluir que no hay una distribución selectiva de los ovocitos, sino que esta es homogénea y por tanto es acertado determinar el estado de madurez de la gónada a partir de observaciones realizadas en cualquier sección de la gónada de tal manera que es suficiente analizar el corte de una sola sección de la gónada para el estudio posterior del desarrollo gonádico.

ESTADIOS DE MADUREZ

Para designar los estadios de madurez individual se consideraron características morfológicas, tamaño, coloración y abundancia de los ovocitos presentes durante las observaciones de los cortes obtenidos.

La caracterización de estos estadios es la siguiente:

REPOSO.- *Distinguiéndose dos etapas:*

1.- Reposo virginal.- Son gónadas pequeñas, con ovocitos exclusivamente I y II

pequeños, la cápsula de tejido conjuntivo o pared ovárica es delgada.

La irrigación periférica, es decir, a nivel de la pared ovárica es escasa. Ovocitos basófilos, densamente dispuestos en paquetes digitiformes, delimitados por tejido conjuntivo, formando los pliegues ovigeros.

Algunos sacos pueden ramificarse y dar lugar a otros más pequeños. Distinguiéndose además pequeñas cantidades de tejido adiposo alrededor de la membrana ovárica principalmete en la zona de irrigación.

2.-Reposo.- Se observan generalmente ovocitos II y en menor proporción ovocitos I dispuestos en paquetes de digitiformes, delimitados por tejido conjuntivo, formandose así los pliegues ovigeros, las zonas apicales de cada saco terminan aproximadamente en el centro de la gónada. A diferencia de las gónadas virginales, estas presentan un mayor grado de irrigación, la pared ovárica sigue siendo delgada.

La disposición que presentan los ovocitos en las trabéculas es variable ya que tienden a ocupar el espacio disponible entre ellos. El tejido adiposo sigue presente alrededor de la membrana ovárica. (Fotografía 7).

DESARROLLO.- Se observan 2 etapas.

1.- *En desarrollo:* En estas gónadas se observan ovocitos II, bastantes ovocitos III que apenas inician vitelogénesis activa y regular ovocitos I. Los ovocitos están distribuidos indistintamente unos de otros. La irrigación tanto interna como periférica es regular; la pared ovárica se engruesa en las zonas de irrigación, en tanto que en el resto de la gónada es variable, tejido adiposo adherido a la membrana ovárica, las atresias que se presentaron fueron escasas, y generalmente eran ovocitos III en reabsorción. (Fotografía 8).

2.- *Bien desarrolladas:* Gónadas que están densamente pobladas por ovocitos dispuestos aleatoriamente, los ovocitos más representativos son los ovocitos IIIa, en estado avanzado de vitelogénesis activa ovocitos maduros (IV) y ovocitos I y II pero en una escala mucho menor que en el estadio anterior. (Fotografía 9).

En la pared ovárica, la irrigación es moderada y su grosor es más constante que las membranas de la gónada en desarrollo, las atresias que se encontraron fueron escasas de ovocitos III fueron recientes y de los ovocitos IV generalmente fueron tardías.

Una manera de distinguir las gónadas "En desarrollo" de las "Bien desarrolladas" es que, aunque en ambos estadios se encuentran ovocitos IIIi y IIIa, los primeros presentan una mayor proporción de ovocitos IIIi y una cantidad relativamente pequeña de ovocitos IIIa; en

cambio en las gónadas "Bien desarrolladas" la proporción de estas es inversa.

MADURAS.- *En este estadio la cantidad de ovocitos IV es la que predomina conjuntamente con los ovocitos IIIa, se presentan además, ovocitos I, II y IIIi que quedan entre los espacios que dejan los ovocitos IV. La irrigación tanto interna como periférica es regular y el grosor de la pared ovárica es generalmente regular (Fotografía 10).*

Establecidos los estadios de madurez se procedió a elaborar un "Año Tipo" de manera similar a la que se empleó en los índices gonadales, cuyo objetivo fue detectar en que meses se presentó la actividad reproductiva y época de desove (Fig. 8).

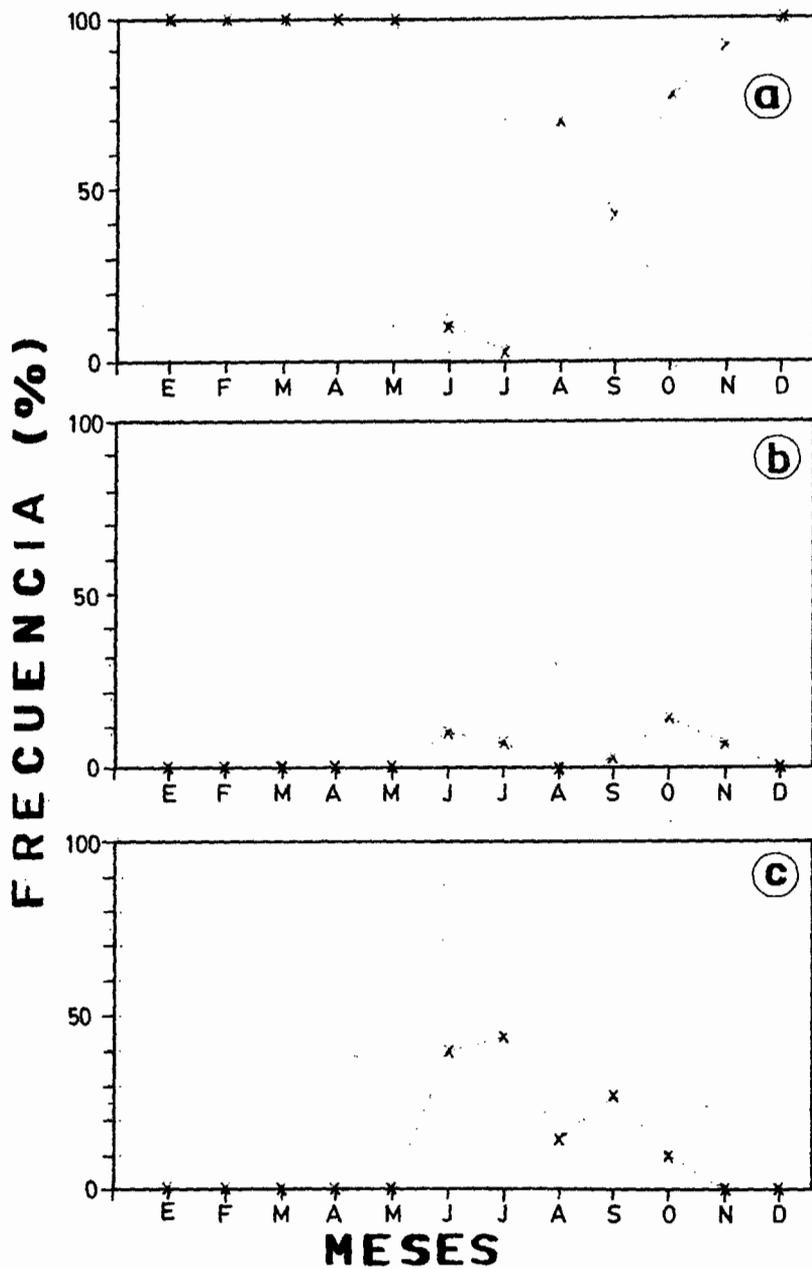


FIG. 8.- Ocurrencia de gónadas en reposo (a), desarrolladas (b), y maduras (c) a lo largo de un año tipo.

Las gónadas en reposo aparecen básicamente durante casi todo el año, Enero, Febrero, Marzo, Abril, Mayo, Junio, Noviembre y Diciembre, y en menor cantidad en los meses de Agosto, Septiembre y Octubre. En esta gráfica se ha incluido el estado virginal.

Las gónadas "Bien desarrolladas" se presentan en los meses de Junio, Julio, Agosto, Septiembre y Octubre, en cantidades regulares.

Las gónadas "Maduras" comprendidas principalmente en el mes de Julio, disminuyen poco a poco en los meses de Agosto, Septiembre y Octubre. En estos 3 últimos meses se presentan todos los estados de madurez antes mencionados, "Reposo", "En desarrollo", "Bien desarrollada" y "Madura".

TALLAS DE PRIMERA MADUREZ

La mayoría de las muestras colectadas fueron organismos pequeños de tallas comprendidas entre los 200 a 300 mm, clasificándose como organismos de sexo indeterminado.

La cantidad de organismos maduros correspondientes a las tallas de 250 a 300 mm fueron insuficientes para establecer la talla de primera madurez.

Sin embargo, pudiera ser que estas tallas fuesen indicadoras como de primera madurez, sin ser definitivo.

SERIE DE FOTOGRAFIAS

FOTOGRAFIA 1.- *Porción de un lóbulo de L. peru clasificado observandose solamente tejido estromático.*

FOTOGRAFIA 2.- *Tipos de ovocitos encontrados en gónadas L. peru. Ovocitos primarios (I), ovocitos previtelogénicos (II), ovocitos en vitelogénesis (III) y ovocitos maduros (IV). Aumento 10 X.*

FOTOGRAFIA 3.- *Ovocitos primarios (I), se observa la membrana ovárica (Mo), y tejido estromático (T).*

FOTOGRAFIA 4.- *Ovocitos previtelogénicos (II) y ovocitos en vitelogénesis activo (IIIa). En los ovocitos (II) puede observarse el núcleo (N) y en su interior los nucléolos (n) dispuestos indistintamente unos de otros, en los ovocitos (IIIa) se notan los gránulos de vitelo compactados (Gv), el núcleo en el centro y a su alrededor los alveolos corticales (Ac), por último se diferencia la capa folicular que rodea al ovocito (Cf). Aumento 40 X*

FOTOGRAFIA 5.- *Detalle de un ovocito maduro. Notese los gránulos de vitelo (Gv) dispersos por toda la célula, núcleo en el centro (N) y las capas que rodea al ovocito, zona pelúcida (Zp), teca interna (Ti) y sus células foliculares (Cf).*

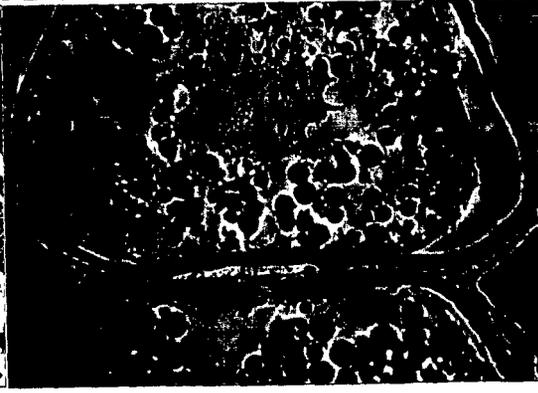
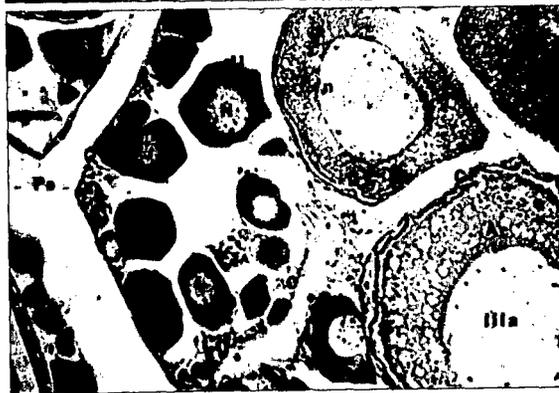
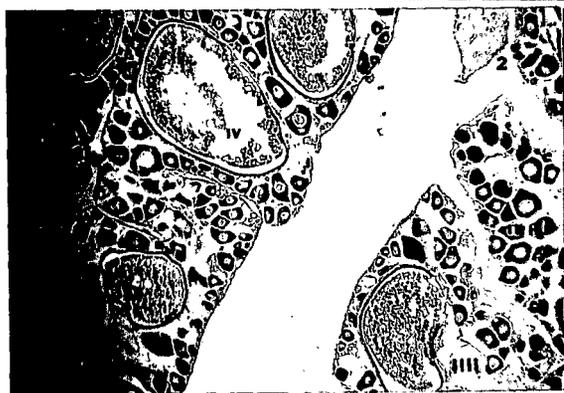
FOTOGRAFIA 6.- *Atresia reciente de un ovocito (III), se observa reabsorción de sus gránulos de vitelo (Gv) y deformación de la capa folicular (Cf). Aumento 40 X.*

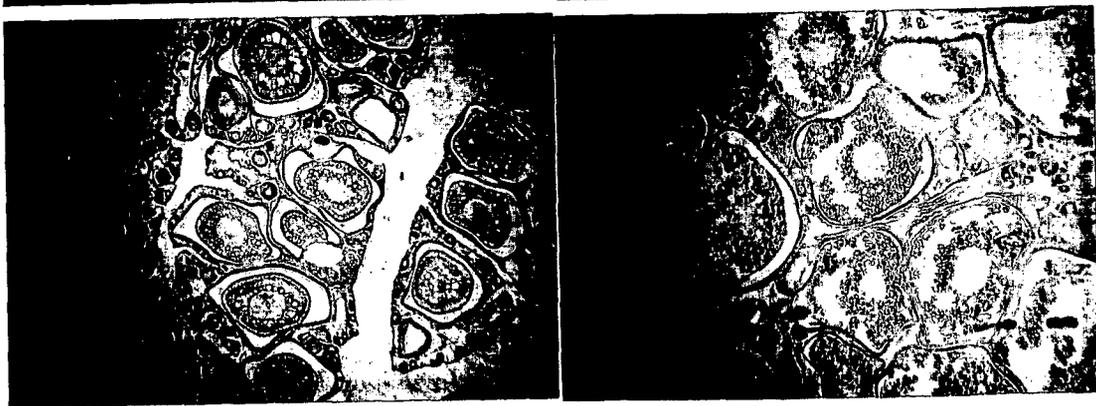
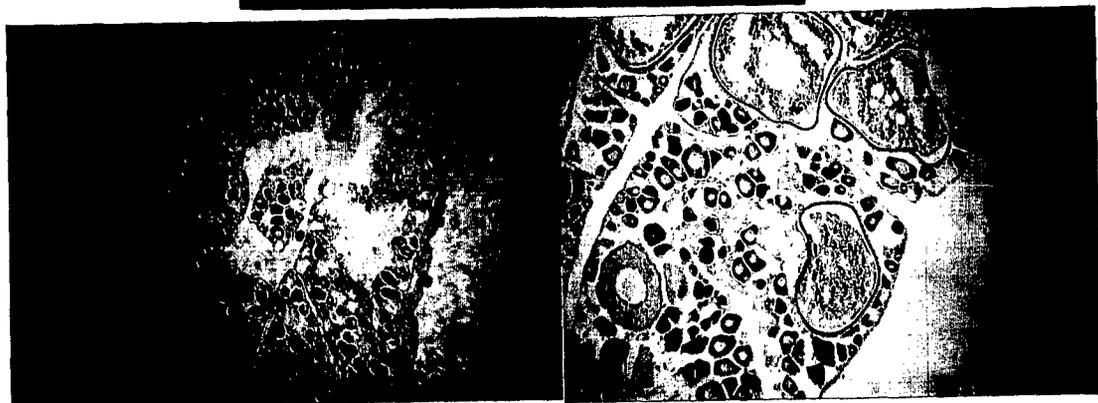
FOTOGRAFIA 7.- *Aspecto general de una gónada en Reposo. Observese la presencia de ovocitos (I) y (II), los pliegues ovígeros (Po) y la membrana ovárica (Mo). Aumento 10 X.*

FOTOGRAFIA 8.- *Gónada En Desarrollo, se presentan ovocitos (I), (II) y (III) abundando los ovocitos (II). Aumento 10 X*

FOTOGRAFIA 9.- *Gónada Bien Desarrollada, en este estadio la abundancia de los ovocitos (II) disminuye presentandose en mayor cantidad los ovocitos (IIIa). Aumento 10 X.*

FOTOGRAFIA 10.- *Gónada madura, Ovocitos (IV) cubriendo casi en su totalidad todo el campo, los ovocitos (I, II y III) estan presentes, pero en cantidades pequeñas.*





DISCUSIONES

La proporción de sexos global que presentó L. peru fue de 1:1 observándose una ligera predominancia en hembras además, las tallas de los machos maduros fueron ligeramente menor con relación a las hembras, este hecho concuerda con lo comentado por Grimes (1981), quién observó que los machos de la familia Lutjanidae maduran a tallas menores que las hembras, menciona también que en los estudios en los que se ha muestreado un amplio rango de talla, muestran las tendencias de las hembras a ser predominantes entre los organismos de mayor talla y edad.

Grimes (1987) agrega que la predominancia de los machos sobre las hembras es un fenómeno frecuentemente observado en Lutjánidos, de los 55 estudios comparativos entre ambos sexo presentados a nivel mundial 27 siguen esta tendencia.

La predominancia mínima de hembras sobre machos que se obtuvo en este estudio no implica que efectivamente sea así, no hay que descartar que la predominancia de organismos fue representado por los indeterminados que oscilaron en tallas que van de los 200 a los 300 mm; pudiendo presentar en este rango los 2 sexos, ya que presentan características muy similares en cuanto a tamaño siendo estos muy pequeños y por tanto dificultando la clasificación visual de las gónadas.

El gran porcentaje de organismos de sexo indeterminado sugiere que la talla de primera madurez de L. peru se encuentra entre los 250 y 300 mm correspondiéndoles una edad entre 2 y 3 años (Rocha, 1991). Si se considera que la mayor proporción de la pesquería se lleva a cabo sobre organismos de estas edades, se desprende que se está pescando una proporción importante de la población que no se ha desarrollado reproductivamente.

La predominancia de estas tallas en la captura de L. peru y al hecho de que fuera del período reproductivo; Julio, Agosto y Septiembre que es cuando se pescan especímenes mayores, los organismo de estas tallas son los únicos accesibles a la pesquería artesanal la mayor parte del año. Esto sugiere la existencia de una población permanente en la Bahía de La Paz y zonas aledañas conformado principalmente de organismos inmaduros (Rocha, 1991).

Para determinar la actividad reproductiva y época de desove se utilizaron métodos como los índices gonadales (IGL e IGP) y el análisis histológico.

De los índices gonadales se han hecho comentarios con respecto a que si realmente, los resultados que proporcionan estos, en un determinado momento pueden ser válidos para la determinación del período reproductivo de la especie estudiada a lo largo del año.

De Vlaming et al., (1982) establecen que los índices gonadales no siempre son indicadores seguros de la actividad reproductiva, debido a que generalmente no se realiza la validación para cada especie, de los fundamentos en los se se basa el concepto del índice gonadal. A grandes rasgos estos fundamentos son los siguientes:

" La regresión del peso gonadal con el peso corporal (índice gonadosomático IGP), mantiene una relación lineal, la cual interseca al eje de las Y en el punto cero; si esto no es así, la relación, no es constante. También establecen que el coeficiente de variación del peso gonadal es constante para todo el rango de pesos corporales. Y finalmente, las regresiones del peso gonadal con el peso corporal, no cambian al variar los estadios de desarrollo".

Estos autores proponen que el peso gonadal expresado como una función exponencial del tamaño corporal (IGL), proporcionan, un mejor índice gonadal. A pesar de los supuestos de De Vlaming et al., (1982) puede afirmarse que para L. peru los índices gonadales fueron indicadores efectivos para establecer la actividad reproductiva siendo estos similares a los obtenidos con los del análisis histológico al momento de ser contrastados.

Los resultados que se obtuvieron en este análisis histológico se constrastaron con los datos proporcionados por los índices gonadales observando que en los meses con valores altos representados por los IGP e IGL correspondieron a estadios de madurez avanzado asignados histológicamente; las diferencias que se presentaron fueron mínimas ya que prácticamente durante casi todo el año se presentaron gónadas con un estadio de desarrollo (reposo); los resultados proporcionados por los índices concuerdan con esto debido a que se mantuvieron constantes casi todo el año no excediendo de 0.5, indicándonos que estos organismos se mantienen inactivos sexualmente durante la mayor parte del año; y solamente en los meses de Julio, Agosto y Septiembre estos aumentan, siendo el valor mas alto en el mes de Julio, mes en que histológicamente se marca el grado de madurez avanzado, presentandose también gónadas en distintas etapas de desarrollo; "En desarrollo", "Bien desarrolladas", "Maduras" y en "Reposo".

Con respecto a las atresias, Hunter y Macewicz (1985), establecen que la tasa de ovarios atrésicos aumenta a medida que se aproxima el fin de la temporada de reproducción y que todos los huevos con vitelo son reabsorbidos, incluyendo además, que las gónadas con folículos postovulatorios y ovocitos hidratados son útiles para estimar la duración del período de desove.

La falta de organismos en fase de desove, las escasas atresias, los posibles folículos postovulatorios y la nula presencia de ovocitos hidratados indican que esta especie posiblemente no desova en la Bahía de La Paz y áreas adyacentes, y tiendan a presentar migraciones a otras áreas para efectuar el desove. O bien; presentan un desove en un período muy corto; desafortunadamente la falta de gónadas maduras nos impide afirmar correctamente estas ideas.

Hasta ahora solo Madrid et al ., (1988) han sugerido la existencia, de patrones migratorios en L. peru en las costas de Michoacán y Sinaloa, pero no se cuenta con los datos suficientes ni los resultados en los que se apoyaron para llegar a esta conclusión.

Se deduce que L. peru pertenece al grupo de los peces catalogados como desovadores sincrónicos; donde se ubican aquellos organismos en cuyas gónadas existe una distribución modal homogénea y varias poblaciones de diferentes grados de desarrollo. Los resultados obtenidos en el análisis de la gónada de esta especie revela el predominio de un solo grupo de ovocitos y la presencia simultanea de varios grupos ovocitos en otras etapas de desarrollo.

RECOMENDACIONES

Con respecto a este análisis y considerando que cualquier análisis de la anatomía microscópica descriptiva deberá asegurar la conservación de la estructura y su posición normal y dado, que en las gónadas de hembras de L. peru principalmente las maduras dificultaron de manera significativa la técnica histológica impidiendo realizar cortes óptimos de la misma, fue necesario realizar un sin número de pruebas para adecuar el tiempo de inmersión, aclarado e inclusión que nos permitiese encontrar una técnica óptima para continuar con el estudio.

La causa probable de que no haya funcionado la técnica en gónadas de esta especie es el contenido o tipo de grasa que se encontraron en las mismas, más el método de extracción de grasas lamentablemente no fue prueba suficiente para confirmar esta suposición.

Las pruebas se realizaron en las especies que se trabajaban en este proyecto, Mycteroperca rosacea (cabrilla), Caulolatilus princeps (pierna) y L. peru (huachinango) observando que en la técnica aplicada con alcohol Etílico las dos primeras presentaron resultados óptimos y al utilizar el alcohol Butílico en las 3 muestras resultó; denotándose que en las dos primeras especies quedaron mejor fijadas y teñidas.

Esta causa quizás se deba a las características del alcohol Butílico ya que es un solvente de grasas y ceras y el alcohol Etilico es un solvente fuertemente deshidratante (Susan et al., 1989) la mezcla de ambos genera un solvente no muy enérgico a las membranas pero su acción deshidratante y degradante por ambos permitió la optención de cortes y tinciones favorablemente.

Es recomendable trabajar con alcohol Etilico debido a que es muy comerciable y a que su toxicidad es mínima, comparado con el alcohol Butílico que es menos comerciable y su grado de toxicidad es mayor. Si su manejo es cuidadoso no impide que se utilice como un agente deshidrate de tejidos que dificulten de alguna manera la técnica convencional.(APENDICE)

CONCLUSIONES

- *Las diferencias observadas en proporción de sexos entre los machos y hembras del huachinango L. peru en la Bahía de La Paz fue mínima; siendo ligeramente mayor en hembras.*
- *La presencia abundante de organismos indeterminados hace suponer que en la Bahía de La Paz se pescan organismos cuya actividad reproductiva no se ha iniciado todavía.*
- *El ciclo sexual del huachinango presenta una etapa reproductiva que inicia en Junio y termina en Septiembre siendo Julio el mes más activo.*
- *El índice gonadosomático IGP e índice gonádico IGL; resultaron ser buenos indicadores para determinar la época reproductiva de la especie L. peru*
- *La distribución de ovocitos tanto entre secciones como entre lóbulos es similar.*
- *Se presenta un desarrollo conocido como sincrónico.*

- *La escasez de atresias presentes en gónadas maduras, y al no presentarse ovocitos hidratados ni folículos postovulatorios, hacen suponer que el huachinago L. peru no desova en la Bahía de La Paz áreas adyacentes.*

BIBLIOGRAFIA

- **AGUILAR-SALAZAR, F. A. 1986. Determinación de la estimación de tasa de crecimiento del huachinango del Pacífico rubia (Nichols y Morphy, 1922), por el método de lectura de escamas. Tesis Profesional. Fac. de Ciencias. Uni. nal. Autn. de México. 74pp.**

- **ALLEN, G. R. 1987. Synopsis of the circumtropical fish genus *Lutjanus* (Lutjanidae). En: J.J Polovina y S. Ralston (eds). Tropical Snapper and Groupers: Biology and Fisheries Management. Westview Press Inc. Boulder: 33-87**

- **ANDERSON, W. D., J. R. 1987. Systematics of the fishes of the family Lutjanidae (Perciformes: Percoidae), the snappers. En: J.J Polovina y S. Ralston (eds). Tropical Snapper and Groupers: Biology and Fisheries Management. Westview Press Inc. Boulder: 1-31.**

- **BERMUDEZ-ALDAMA, B. Y G. GARCIA-LAGUNA. 1985. Hábitos alimenticios en los peces de zonas rocasas de la Bahía de La Paz, B.C.S. Tesis profesional. Fac. de Ciencias. Univ. Nal. Autón. de México. 256 pp.**

- **BALBOTIN Y W FISCHER. 1981. Ciclo sexual y fecundidad de la merluza *Mertuuccis gayi*, en la costa de Chile. *Rev. Biol. Mar. Inst. Oceanol. Univ. Valparatso. Chile.* 17 (3): 285-334 pp.**

- **BERMUDEZ A. B. Y GARCIA L. G. 1985 Hábitos alimenticos en los peces de la Bahía de La paz B.C.S. Tesis Profesional Fac. de Cien. U.N.A.M. 259 pp.**

- **BODAVARI S., J. O. O'NEIL, A. SMITH. 1989 The Merck and Encyclopedia of Chemicals, Drigs and Biologicals. Editorial Assisamt. 1606pp**

- **CARMONA R, J. ELEURDUY Y J. GUZMAN. 1988. Abundancia mensual de *Fragata magnificenses* la Bahía de La Paz B.C.S. e hipótesis sobre su patrón de dispersión. *Mem. VII Simposium de Biología Marina. La Paz B.C. S.***

- **CASTRO, C. F. 1981. Determinación de la edad y crecimiento de *L. peru* *Rev. Cienc. del mar. Univ. Aut. de Sinaloa México* 1:4 -8.**

- **CATARELL, E. D. 1982. Determinación de la edaad y el ritmo de crecimiento del pargo Canané (*Ocyrus chrysurus*, Bloch 1971) en el litoral del estado de Yucatán, México, 1980/1981. Tesis Profesional . Fac. de Ciencias. Univ. Nat. Autón. de México. 180 pp.**

- CRUZ R. M., ESPINO B. E. Y GARCIA B. A. 1988. Aspecto biológico pesquero de tres especies de Lutjánidos del litoral Colimense Sec. de pes. Inst. Nac. de la Pesca, Centro regional de la investigación Pesquera.

- DE VLAMING, V.G. GROSSMAN Y F. CHAPMAN. 1982. On the use of gonosomatic index. *J. Physiol. Great Britain* 1:31-39 pp.

- DIAZ J.G. Y S.S. RUIZ 1989. Edad y crecimiento del conejo Caulolatilus affinis Gill 1965, en la Bahía de La Paz y sus alrededores B.C.S. Tesis Profesional U.A.B.C.S. 101 pp.

- GARCIA-LAGUNA, G. Y J. M. OROZCO-ZORILLA. 1988. Hábitos alimenticios del pargo amarillo L. argentiventris y cabrilla sardinera Micropogonias undulatus en la Bahía de La Paz. Res. I/ Congr. Nal. ictiol., La Paz B. C. S : 30.

- GERELOVA, T. A. 1979. Experimental data on the digestion rate in fingerlings of the snapper L. peru. J. Ichthyl. 19(6): 161-164.

- GRIMES, C. B. 1987. Reproductive biology of the Lutjanidae: A review. En: J.J. Polovina y S. Ralston (eds). *Tropical Snappers and Groupers: Biology and Fisheries Management*. Westview Press Inc. Boulder: 239-294.

- HUNTER, J. R. Y B. MACEWICZ 1885. *Measurement of spawning frequency in multiple spawning fishes. (67-77). En: Lasker, R. (ed). An egg production method for estimating spawning biomass of es. pelagic fish: Application to the Northern anchovy. Engraulis mordax. NOAA NMFS Tech. Rep. 36-99 pp.*

- KLETT , T. A. Y S. RODRIGUEZ . 1988. *Contribución al estudio de desarrollo gónadico del Marlin Rayado Tetrapturus audax (Philippi, 1887). VII Simp. Int. Biol. Mar.: 45-53*

- LEIS J. M. 1987. *Review of the early life history of tropical grouper (Serranidae) and snappers (Lutjanidae). En: J.J. Polovina y S. Ralston (eds). Tropical Snappers and Groupers: Biology and Fisheries Management. Westview Press Inc. Boulder: 198-238 pp.*

- LOPEZ-CUEVAS, A. Y M. GARDUÑO-DIONATE. 1987. *Edad, crecimiento y mortalidad de rubia Ocyurus chrysurus (Bloch) Pisces: Lutjanidae, en el banco de Campeche. Congr. al. Zool. , Villahermosa Tabasco: 28*

- MADRID, V.M. , C.A. MAUPOME Y S M. HERRERA. 1988. *Contribución al conocimiento de la biología y ecología de las especies de la familia Lutjanidae (Perciformes: Pericoidea) . Res. I. Congr. Nal. Ictiol., La Paz B.C.S.: 38*

- **MAEDA-MARTINEZ, A. N. 1981. *Composición, abundancia, diversidad y alimentación de la ictiofauna, en tres lagunas costeras del Golfo de California. Tesis Profesional. Fac. de Ciencias Biológicas. Univ. Autón. de Nuevo León. 140 pp.***

- **MANOOCH C. S. III 1987. *Age and Growth of Snappers* . En: J.J. Polovina y S. Ralston (eds). *Tropical Snappers and Groupers: Biology and Fisheries Managment. Westiew Press Inc. Boulder: 329-374.***

- **NIKOLSKY G. V. 1963. The Ecology of Fishes. *Academit Press London : 352 pp.***

- **PARRISH J.D. 1987. *The Tropical bilogy of Snappers and Groupers*, En: J.J. Polovina y S. Ralston (eds). *Tropical Snappers and Groupers: Biology and Fhisheries Managment. Westiew Press Inc. Boulder: 405-464.***

- **PITCHER, T. J. Y P.J.B. HART. 1982. Fisheries Ecology. *AVI Publ. Co. Inc., Westport. 414 pp.***

- **POLOVINA J. J. Y S. RALSTON 1987. *Tropical Snappers and Groupers: Biology and Fisheries Managment. Westiew Press Inc. Boulder: 659 pp.***

- RAMIREZ L. S. 1990. Desarrollo gónadico y época de desove de la pierna Caulolatilus princeps Jenys 1842 (Pisces: Branchiostegidae) en la Bahía de La Paz y zonas adyacentes. B.C.S. México. Tesis Profesional. U.A.B.C.S.

- ROCHA O. A. 1991. Edad y crecimiento del huachinango L. peru Nichols y Murphy (1922) (Pisces: Lutjanidae) en la Bahía de La Paz y zonas adyacentes. B.C.S. México. Tesis Profesional U.A.B.C.S.

- RODRIGUEZ-MEDRANO, M. DEL C. 1990. Composición de la captura artesanal de escama de la Isla Cerralvo, B.C.S., México. Tesis profesional. Depto. de Biología Mari-na. U.A.B.C.S. 61 pp.

- RODRIGUEZ R.S. 1991. Determinación del ciclo de madurez gónadal y proporción de sexos del Marlin Rayado Tetrapturus audax, Philippi 1987. (Pisces: Istiophoridae) en la zona de Cabo San Lucas, B.C.S. México. Tesis Profesional U.A.B.C.S.

- RUIZ-LUNA A. E. GIRON. MADRID Y A. GLEZ. 1985. Determinación de edad, crecimiento y algunas constantes biológicas del huachinango del Pacífico, L. peru Nichols y Murphy 1922, Octavo Congreso nac. Zool. Mem. I. Esc. Nor. Sup. del Edo. Saltillo Coahuila. Agost. 26-30 de 1985. 188-197 pp

- RUIZ-SANTOS H. 1983. *Reproducción del huachinango L. peru (Pisces:Lutjanidae) del Pacífico Sur, México. Tesis profesional Univ. Nac. Federico Villarreal. Perú 72 pp*

- SOKAL, R.R Y F. J. ROHLR. 1981 *Biometry. The principles and practice of statistic in biological research 2nd. ed. W. H. Freeman and Co., San Francisco. 859 pp*

- TORRES-LARA, R. 1987. *Evaluación y diagnóstico de la pesquería de rubia L. synagris en el estado de Yucatán. Tabasco: 47.*

APENDICE

TECNICA HISTOLOGICA APLICADA EN GONADAS HEMBRAS DE L.PERU "HUANCHINANGO"

- 1.- **Fijación.-** *Las gónadas fueron fijadas en formal al 10% neutralizado con Borato de Na.*
- 2.- **Lavado.-** *Para eliminar el exceso de formol se lavaron durante 3 o 4 horas aproximadamente o se dejan toda la noche en agua corriente.*
- 3.- **Corte.-** *Se seccionaron en porciones de 5 mm. de grosor aproximadamente, en gónadas de tamaño moderado, en las pequeñas se consideró todo un lóbulo.*
- 4.- **Deshidratar.-** *Se utilizó el alcohol butílico en concentraciones progresivas con tiempo de inmersión adecuado, considerándose el tamaño de la muestra.*

| CONCENTRACION DE OH BUTILICO/ETILICO (%) | TAMAÑOS Y TIEMPOS APLICADOS | | |
|---|------------------------------------|------------|----------------|
| | PEQUEÑAS | MED | GRANDES |
| 30 I | 30' | 45' | 60' |
| 30 II | 30' | 45' | 60' |
| 50 | 30' | 45' | 60' |
| 60 | 30' | 45' | 60' |
| 70 I | 30' | 45' | 60' |
| 70 I | 30' | 45' | 60' |
| 80 | 30' | 45' | 60' |
| 90 I | 30' | 45' | 60' |
| 90 II | 30' | 45' | 60' |
| 100I | 60' | 90' | 120' |
| 100II | 60' | 90' | 120' |
| 100III | 60' | 90' | 120' |

5.- **Aclarado.-** Se utilizó una mezcla de alcohol butílico-cloroformo (OH-CL) alcohol butílico-parafina (OH-PARAF.) en proporción 1:1 y con un tiempo de inmersión de OH-CL 2' y OH-PARAF. 10' para todas las muestras.

6.- **Inclusión.-** Se realizaron tres baños con parafina cuyo punto de fusión fué de 58°C.

| PARAFINA | | | TAMAÑO | TIEMPO |
|----------|----|-----|----------|--------|
| I | II | III | Pequeñas | 30' |
| | | | Medianas | 45' |
| | | | Grandes | 60' |

7.- **Corte.-** Se realizó con un microtomo America Optical utilizando navajas desechables, se hicieron cortes de 2 Micras a 8 Micras de grosor aproximadamente; colocandose el baño maría cuya temperatura oscilaba entre 38°C y 40°C.

8.- **Tinción.-** Se manejó la técnica de hematoxilina-eosina. Debido al cambio que se sucitó en la etapa de deshidratación fué necesario hacer el mismo cambio en los alcoholes utilizados en esta etapa.

TINCION

HEMATOXILINA - EOSINA

| TIEMPO | | TIEMPO | |
|---------------------|--------------|---------------------|--------------|
| XILO I | 5' | ETI.70 | 5' |
| XILOL II | 5' | OH AC. | 30' |
| C X C | 3' | OH AMONIACAL | 7' |
| COLODIOL | 3' | ETI-70 | 5' |
| BUT.96 I | 3' | EOSINA | 1'-3' |
| BUT.96 II | 3' | BUT.96 | 3' |
| BUT.90 I | 3' | BUT.96 II | 3' |
| BUT 70 II | 3' | BUT 100% | 3' |
| ETI.70 | 5' | XILOL I | 3' |
| HEMATOXILINA | 3'-5' | XILOL II | 3' |
| AGUA | 5' | XILOL III | 3' |

9.- **Montaje.-** Se cubrieron los porta objetos con resina sintética diluida con xilol al 60%.

Se hace la aclaración de que ésta técnica fué utilizada solamente en gónadas de hembra de la especie L. peru; debido a que la técnica convencional no resultó adecuada además se hicieron pruebas con gónadas de machos de la misma especie y gónadas de hembras C. princeps "pierna" y de M. rosacea "cabrilla" utilizando ambas técnicas y ver las diferencias suscitadas concluyendo de que ambas técnicas presentaron resultados óptimos.

La teoría de que el contenido o tipo de grasa de esta especie sea la causa del cambio de alcoholes suma un punto a su favor debido a que las gónadas de machos contienen muy poca grasa, más no es definitivo por lo que se aconseja realizar estudios mas concretos con respecto a este tipo de casos para que en un futuro el tiempo empleado sea más corto y completo.