

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

**SECRETARÍA DEL MEDIO AMBIENTE RECURSOS
NATURALES Y PESCA**

**CURSO TEÓRICO-PRÁCTICO
DETERMINACIÓN DE LA MADUREZ Y FECUNDIDAD EN ESPECIES DE
IMPORTANCIA COMERCIAL**

FACULTAD DE CIENCIAS

**CENTRO REGIONAL DE
INVESTIGACIONES PESQUERAS
(I.N.P.)**



SEMARNAP

**M.C. OLIVIA MARGARITA TAPIA VÁZQUEZ
BIOLPESQ. JOSÉ JULIAN CASTRO GONZÁLEZ
BIOL. MARÍA ISABEL MONTES PÉREZ
T.L. EVA ANGELINA INDA PRESICHI**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

**SECRETARIA DEL MEDIO AMBIENTE RECURSOS
NATURALES Y PESCA**

**CURSO TEÓRICO-PRÁCTICO
DETERMINACIÓN DE LA MADUREZ Y FECUNDIDAD EN ESPECIES DE
IMPORTANCIA COMERCIAL**

FACULTAD DE CIENCIAS

**CENTRO REGIONAL DE
INVESTIGACIONES PESQUERAS
(I.N.P.)**



SEMARNAP

**M.C. OLIVIA MARGARITA TAPIA VÁZQUEZ
BIOLPESQ. JOSÉ JULIAN CASTRO GONZÁLEZ
BIOL. MARÍA ISABEL MONTES PÉREZ
T.L. EVA ANGELINA INDA PRESICHI**

CURSO SOBRE DETERMINACIÓN DE LA MADUREZ Y FECUNDIDAD EN ESPECIES DE IMPORTANCIA COMERCIAL

• INTRODUCCIÓN.

Ha sido una inquietud de los profesores de la cátedra de Histología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Baja California, el transmitir los conocimientos adquiridos a través del tiempo sobre la anatomía microscópica de gónadas de especies de importancia comercial; para lo cual en forma conjunta con investigadores del Centro Regional de Investigación Pesquera de El Sauzal de Rodríguez, se organiza el presente curso con el objetivo de proporcionar los conocimientos que hemos considerado claves para determinar madurez en los organismos y así poder hablar el mismo idioma con respecto a la determinación de madurez en pelágicos menores, equinodermos, moluscos, crustáceos, entre otros; conocimientos que podrán integrarse con tallas de primera madurez, épocas reproductoras, biomasa desovante, fecundidad, índices gonadales, que permitan entender mejor la dinámica poblacional de especies de importancia comercial. así como el de uniformar criterios que nos permitan proporcionar datos más fidedignos y establecer la normatividad correspondiente para el mejor manejo de los recursos.

OBJETIVOS.

Proporcionar conocimiento teórico y adiestramiento práctico en relación a las estructuras microscópicas que permitan definir el estado de madurez de las gónadas, así como determinar fecundidad en especies de importancia comercial.

UBICACIÓN Y FECHAS.

Del 23 al 27 de Junio de 1997, en el laboratorio de Histología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Baja California Unidad Ensenada B.C.

PARTICIPANTES.

El curso contará con la presencia de:

Biol. Pesq. José Julián Castro González
Biol. María Isabel Montes Pérez
M.C. Olivia Margarita Tapia Vázquez
Téc. en Lab. Eva Angelina Inda Presichi.

MÉTODO.

Se realizará un curso Teórico-práctico de una semana con el fin de proporcionar conocimiento con respecto a las técnicas más propias para denotar las estructuras en las gónadas que permitan a su vez definir con más precisión el grado de madurez y cuantificar la frecuencia de desove, estableciendo con esto los momentos de desove y por lo tanto la biomasa desovante, así también se determinará la fecundidad de especies como los pelágicos menores, pepino de mar, langosta, entre otros.

P R O G R A M A .
 UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA. UNIDAD ENSEÑADA.
 SECRETARÍA DEL MEDIO AMBIENTE RECURSOS NATURALES Y PESCA
 INSTITUTO NACIONAL DE LA PESCA.
 CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACIÓN PESQUERA. EL SAUZAL DE RODRÍGUEZ B.C.

**CURSO SOBRE DETERMINACIÓN DE LA MADUREZ Y FECUNDIDAD DE ESPECIES DE IMPORTANCIA COMERCIAL
 DEL 23 AL 27 DE JUNIO DE 1997**

FECHA	HORARIO	TEMA	ACTIVIDADES	
Lunes 23	8:00 - 8:30	REGISTRO DE PARTICIPANTES BIENVENIDA E INAUGURACIÓN DEL CURSO. INTRODUCCIÓN AL CURSO OBJETIVOS.	PRESENTACIÓN.	
	8:30 - 9:30			
	9:30 - 10:30			
	10:30 - 10:45	RECESO.	MÉTODO, CARACTERÍSTICAS DE LOS MUESTREOS, TÉCNICA HISTOLÓGICA APLICADA A RECURSOS PESQUEROS.	PREPARACIÓN DE SOLUCIONES FIJADORAS Y TÉCNICAS DE DISECCIÓN DE RECURSOS PESQUEROS (PELÁGICOS MENORES, ERIZO, PEPINO DE MAR)
	10:45 - 13:00			
	13:00 - 14:00	COMIDA TÉCNICA HISTOLÓGICA 1 a) DESHIDRATACIÓN b) INCLUSIÓN		
	14:00 - 16:00			
	16:00 - 16:15	RECESO	TÉCNICA HISTOLÓGICA II c) OBTENCIÓN DE CORTES	OBTENCIÓN DE CORTES POR: a) INCLUSIÓN EN PARAFINA b) POR CONGELACIÓN.
	16:15 - 20:00			

FECHA	HORARIO	TEMA	ACTIVIDADES
MARTES 24	8:00 - 11:00	TÉCNICA HISTOLÓGICA III a) TÉCNICA DE COLORACIÓN HEMATOXILINA EOSINA (H-E). b) TÉCNICA ESPECIAL TRICRÓMICA DE GALL- GO Y MALLORY.	APLICARÁ Y CONOCERÁ EL FUNDA- MENTO DE LA TÉCNICA H-E. APLICARÁ Y CONOCERÁ EL FUNDA- MENTO DE ESTAS TÉCNICAS.
	11:00 - 11:15	R E C E S O .	
	11:15 - 13:00	c) TÉCNICA DE SUDAN	APLICARÁ Y CONOCERÁ EL FUNDA- MENTO DE LA TÉCNICA.
	13:00 - 14:00	C O M I D A .	
	14:00 - 16:00	GENERALIDADES SOBRE LOS TEJIDOS	MEDIANTE EL USO DE DIAPOSITIVAS, BIBLIOGRAFÍA Y PREPARACIONES DE OVARIO Y TESTÍCULO DE DIFEREN- TES ORGANISMOS, SE IDENTIFICARÁ A LOS TEJIDOS PRESENTES EN LOS MISMOS.
	16:00 - 16:15	R E C E S O .	
	16:15 - 17:00	EPITELIO GERMINATIVO. GAMETOGENESIS (OVOGENESIS Y VITELLO GENESIS)	MEDIANTE EL USO DE DIAPOSITIVAS, BIBLIOGRAFÍA Y PREPARACIONES DE OVARIO Y TESTÍCULO DE DIFEREN- TES ORGANISMOS.
	17:00 - 20:00	ESPERMATOGÉNESIS TIPOS DE REPRODUCCIÓN	IDENTIFICARÁ EN CORTES DE SARDI- NA, ANCHOVETA, MACARELA, ERIZO, ABULÓN, LANGOSTA, MEJILLÓN, PE- PINO DE MAR.

FECHA	HORARIO	TEMA	ACTIVIDADES
MIÉRCOLES 25			
	8:00 -10:00	ANATOMÍA MICROSCÓPICA DE OVARIOS Y TESTÍCULOS DE PELÁGICOS MENORES	ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE OVARIOS Y TESTÍCULOS. IDENTIFICACIÓN DE LAS SIGUIENTES ESTRUCTURAS: TIPOS DE OVOCITOS: OVOCITOS NO VITELADOS, PARCIALMENTE VITELADOS, VITELADOS , HIDRATADOS.
	10:00 -10:15	<i>R E C E S O .</i>	
	10:15 -13:00	TIPOS DE FOLÍCULOS POSTOVULATORIOS Y TIPOS DE ATRESIAS. TESTÍCULOS DE PELÁGICOS MENORES	ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE TESTÍCULO DE PELÁGICOS MENORES, OBSERVACIÓN DE LOS DIFERENTES TIPOS DE CÉLULAS GAMÉTICAS.
	13:00 - 14:00	<i>C O M I D A</i>	
	14:00 - 16:00	ANATOMÍA MICROSCÓPICA DE TESTÍCULOS DE PELÁGICOS MENORES, (CONTINUACIÓN)	ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE TESTÍCULOS. OBSERVACIÓN DE LOS DIFERENTES TIPOS DE CÉLULAS GAMÉTICAS
	16:00 - 16:15	<i>R E C E S O</i>	
	16:00 - 20:00	ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE OVARIOS Y TESTÍCULOS DE EQUINODERMOS MOLUSCOS,	ANÁLISIS MICROSCÓPICO ESCALAS MORFOCROMÁTICAS

FECHA	HORARIO	TEMA	ACTIVIDADES
JUEVES 26	8:00 - 10:00	DETERMINAR FRECUENCIA DE DESOVE, CONCEPTO E IMPORTANCIA.	CON BASE AL ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE LAS ESTRUCTURAS OBSERVADAS EN EL LABORATORIO Y CON FORMATOS ESPECÍFICOS, APLICARÁ LAS FÓRMULAS CORRESPONDIENTES Y DETERMINARÁ FRECUENCIA DE DESOVE.
	10:00 - 10:15	<i>R E C E S O .</i>	
	10:15 - 11:00	FRECUENCIA DE DESOVE (CONTINUACIÓN)	
	11:00 - 11:45	FECUNDIDAD, CONCEPTO E IMPORTANCIA. MÉTODO PARA LA OBTENCIÓN DE MUESTRAS TÉCNICAS PARA DETERMINAR FECUNDIDAD.	SE DEFINIRÁ EL CONCEPTO Y EL MÉTODO - MEDIANTE EL USO DE DIAPOSITIVAS, BIBLIOGRAFÍA.
	11:45 - 13:00	ANÁLISIS DE FECUNDIDAD EN: PELÁGICOS MENORES, CHANO, LANGOSTA PEPINO DE MAR,	SEPARACIÓN DE MUESTRAS, PARA ANÁLISIS DE FECUNDIDAD, CONTEO Y APLICACIÓN DE FÓRMULAS.
	13:00 - 14:00	<i>C O M I D A</i>	
	14:00 - 16:00	ANÁLISIS DE FECUNDIDAD (CONTINUACIÓN)	a) PELÁGICOS MENORES b) CHANO c) LANGOSTA d) PEPINO DE MAR
	16:00 - 16:15	<i>R E C E S O .</i>	
	16:15 - 20:00	DETERMINAR FECUNDIDAD	CONTINUACIÓN (TRABAJO PRACTICO)

FECHA	HORARIO	TEMA	ACTIVIDADES
VIERNES 27	8:00 - 10:00	FECUNDIDAD, INTEGRACIÓN DE DATOS	CONTINUACIÓN DE CONTEO DE OVOCITOS O EMBRIONES, DETERMINAR LA FECUNDIDAD DE CADA UNO DE LOS ORGANISMOS PROPORCIONADOS.
	10:00 -10:15 10:15 -13:00	RECESO, INTEGRACIÓN Y DISCUSIÓN DE LO PROPORCIONADO DURANTE EL CURSO	TOMANDO COMO BASE LO VISTO DURANTE EL CURSO, INDICAR LA IMPORTANCIA EN EL MANEJO DE RECURSOS, ESTABLECIENDO LA IMPORTANCIA DE ESTOS CON RELACIÓN A: DETERMINAR ESTADIOS DE MADUREZ, TALLA DE PRIMERA MADUREZ, ÉPOCAS REPRODUCTORAS, BIOMASA DESOVANTE, FECUNDIDAD Y SU RELACIÓN CON ÍNDICES GONADALES.
	13:00 - 14:00	COMIDA	
	14:00 - 16:00	EVALUACIÓN (CONCLUSIONES).	CADA EQUIPO EN FORMA CLARA Y RESUMIDA, CONCLUIRÁ CON RESPECTO A LO VISTO DURANTE EL CURSO,
	16:00 - 16:15	RECESO	
	16:15 - 19:00	EVALUACIÓN (CONTINUACIÓN)	
	19:00 - 20:00	C L A U S U R A .	

**CURSO SOBRE DETERMINACIÓN DE LA MADUREZ Y FECUNDIDAD EN ESPECIES
DE IMPORTANCIA COMERCIAL.**

ÍNDICE

I.- PRESENTACIÓN

II.- INTRODUCCIÓN

III.- ASPECTOS BÁSICOS SOBRE REPRODUCCIÓN.

IV.- DETERMINACIÓN DE ETAPAS DE MADUREZ

V.- ANATOMÍA MICROSCÓPICA DE:

- OVARIO DE PELÁGICOS MENORES
- TIPOS DE OVOCITOS
- TIPOS DE FOLÍCULOS POSTOVULATORIOS.
- TIPOS DE ATRESIA
- TESTÍCULO
- TIPOS DE CÉLULAS GAMÉTICAS EN EPITELIO GERMINATIVO.
- MADUREZ GONADAL EN EQUINODERMOS.

VI.- FRECUENCIA DE DESOVE

VII.- FECUNDIDAD

- CONCEPTO E IMPORTANCIA
- REQUISITOS DE LOS MUESTREOS.
- MÉTODOS DE ESTUDIO

VIII.- TÉCNICAS HISTOLÓGICAS MÁS UTILIZADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA MADUREZ.

- TÉCNICA TOPOGRÁFICA HEMATOXILINA-EOSINA,
- TÉCNICA TRICRÓMICA DE GALLEGO
- TÉCNICA TRICRÓMICA DE MALLORY
- TÉCNICA AZUL DE TOLUIDINA.
- TÉCNICA PARA DETERMINAR GRASAS

IX.- BIBLIOGRAFÍA.

X.- ANEXO 1

- FOTOGRAFÍAS

I. PRESENTACIÓN.

La pesca es una de las actividades económicas de primer orden en México, y el Puerto de Ensenada B.C no es la excepción generando gran cantidad de divisas; por lo que investigadores y técnicos del Centro Regional de Investigación Pesquera de El Sauzal de Rodríguez y de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Baja California, integran el presente curso, con el objetivo de uniformar criterios con respecto a los conceptos que deben manejarse a nivel histológico que si bien es cierto que son de gran importancia a nivel descriptivo, es necesario cuantificarla para determinar en forma más confiable y fidedigna los datos referente a épocas reproductoras, tallas de primera madurez, proporción sexual, frecuencia de desove, biomasa desovante, fecundidad, que en forma conjunta con otros conocimientos nos permitan conocer la dinámica poblacional de especies de importancia comercial a través del tiempo, dándonos conclusiones más claras y precisas para establecer las normas que permitan la permanencia de los recursos en el ambiente; así como su aplicación en la acuicultura.

II.- INTRODUCCIÓN

La histología es una ciencia morfológica, cuyo significado derivado del griego, quiere decir literalmente "El estudio de los tejidos" y tejido se define como un grupo de células similares y especializadas en la realización de funciones determinadas; ahora bien todo tejido esta constituido por células y por sustancias que ocupan los espacios intercelulares. Por lo tanto en los organismos se encuentran las células que colaboran en la formación de sustancias intercelulares, lo que a su vez provee el medio adecuado para soporte, unión, difusión y almacenamiento de agua, gases, nutrientes y en general productos del metabolismo celular. De la forma de organización de estos diferentes componentes celulares; así como de las diferencias morfológicas, fisicoquímicas y bioquímicas de éstos, es que se establecen los cuatro tejidos fundamentales, el tejido epitelial, el tejido conjuntivo, el tejido muscular y el tejido nervioso, que ha su vez se integran de una forma ordenada para constituir órganos, aparatos y sistemas, proporcionando una coordinación morfológica y fisiológica a los organismos que permite la adaptación de éstos al ambiente (9).

Para comprender la organización de estos tejidos en un órgano, es necesario realizar el estudio de la Anatomía Microscópica u Organografía Microscópica, aplicando el método de Análisis Microscópico, el cual implica no sólo la observación al microscopio; sino también la interpretación de lo observado, realizando una asociación de forma de las estructuras, color (técnica utilizada), localización, función y utilización de bibliografía; que es lo que se realizará en el presente curso con gónadas de organismos como los pelágicos menores, equinodermos, moluscos entre otros. Así mismo, se aplicaran técnicas de uso práctico en el laboratorio que permitan identificar a las estructuras necesarias para realizar un diagnóstico preciso del estado de madurez de los organismos. Para facilitar éste objetivo se integra el presente documento, con las estructuras más características en gónadas.

III.- ASPECTOS BÁSICOS SOBRE REPRODUCCIÓN.

Dado que el objetivo fundamental es el conocimiento de ovarios y testículos de los organismos; es importante recordar que el sexo de un individuo depende fundamentalmente de la naturaleza de su herencia cromosómica; vemos así que durante algún tiempo los órganos sexuales del embrión presentan una etapa indiferenciada; las gónadas y conductos siguen desarrollándose sin mostrar datos de tendencia específica hacia macho o hembra. El inicio de la secreción hormonal permite caracterizar al sexo; y las gónadas se transforman definitivamente en testículos u ovarios, *sólo siguen diferenciándose los conductos y otras estructuras accesorias correspondientes al sexo "escogido"*. Las estructuras innecesarias, correspondientes al sexo opuesto, dejan de crecer y pueden desaparecer, pero a veces sólo se detiene su crecimiento y persisten en el adulto como vestigios (11,23).

En el techo del celoma se forman dos crestas genitales longitudinales, por dentro de los riñones embrionarios, y en ambos lados del mesenterio dorsal. Después de que las células germinales primordiales se establecen en la región urogenital, inicia un activo proceso de proliferación, que coincide cronológicamente con la proliferación de células somáticas mesenquimatosas y del epitelio celómico que rodea a esta región. Esta actividad mitótica da origen al blastema gonadal, situado en la parte ventral del mesonefros (23)

El blastema gonadal tiende a organizarse en dos tipos de tejidos: a) el tejido que contiene las células germinales primordiales, rodeadas de células somáticas precursoras de las

células de Sertoli o de la granulosa, y b) el tejido del estroma que dará origen al tejido conectivo, vasos sanguíneos y tejido intersticial estereidogénico. Este último estará representado por las células de Leydig; cuando se diferencia hacia testículo o por las células de la teca interna en caso de diferenciarse hacia ovario (18,23)

Desde el epitelio germinativo que cubre la superficie, crecen hacia abajo en la sustancia de las gónadas, estructuras alargadas llamadas cordones sexuales primitivos; estos además de su estructura de sostén contienen las células germinativas a partir de las cuales se desarrollarán más tarde los óvulos y espermatozoides; hay muchas pruebas de que las primeras células germinativas del ovario y testículo proceden del endodermo (11,18, 23).

En el desarrollo del ovario, después de la etapa indiferenciada, los conductos sexuales primarios degeneran y suele haber proliferación hacia el interior de cordones sexuales secundarios; en donde a partir de las células germinales primordiales, se desarrolla la ovogénesis. Las células del folículo, ayudan al desarrollo del óvulo y se considera son responsables de la producción de hormonas sexuales y de la formación de vitelo (11, 23).

En las épocas de actividad reproductora, los folículos maduros de la superficie del ovario, se abren en el espacio celómico que los rodea, el fenómeno se llama ovulación. En casi todos los vertebrados inferiores el folículo desaparece pronto, pero en los mamíferos y algunos elasmobranquios persisten cierto tiempo, y su cavidad se llena de una sustancia amarillenta, se forma así el cuerpo amarillo que secreta una hormona llamada progesterona (23).

La historia embrionaria inicial de los testículos, desde la fase indiferenciada hasta la época del desarrollo de los cordones sexuales primarios, es igual a la del ovario. Luego el testículo adquiere características propias en los teleósteos, encontrando tubulos seminíferos alargados, formado por un epitelio en el cual existen relativamente pocas células de sostén (de Sertoli) y abundantes elementos germinativos (11,18, 23).

CONDUCTA REPRODUCTIVA:

La conducta reproductiva en la mayoría de los organismos es cíclica, en periodos más o menos regulares; por lo que existen diferentes formas de reproducción; así con base a la forma en que se desarrollan las células gaméticas, se tiene a los reproductores totales o isócronos, que se caracterizan por la sincronía en la formación de sus células gaméticas; **es decir se da una sola moda de ovocitos en cada determinada temporada**; por lo tanto todos los ovocitos y el esperma serán expulsados en un sólo periodo de reproducción, definiéndose muy claramente la etapa reproductora. Los reproductores parciales o heterócronos; cuyo epitelio germinativo produce diferentes modas de ovocitos; por lo que los procesos de reproducción pueden darse varias veces en el transcurso del año (varios desoves) (8). Para el caso de los pelágicos mayores, es común mencionarlos como de reproducción fraccionada, múltiples, de serie o reproductores de camada.

Lo anterior nos conduce al análisis y descripción de los términos "etapas o fases de madurez"; ya que lo utilizamos para identificar el grado de madurez de las gónadas de un organismo, más no que éste se encuentre o no sexualmente maduro; para lo que utilizamos el término de "primera madurez"; es decir cuando un organismo se reproduce por primera vez (8). La estimación de la madurez se puede captar por estructuras

anatómicas que pueden diferenciarse a simple vista; sin embargo una estimación más fidedigna la dan los estudios histológicos.

Muchas especies de invertebrados marinos, tienen los sexos separados, unisexuales o dioicos o gonocóricos, otros son bisexuales, monoicos o hermafroditas, dentro de este último se da la protandria o la protoginia; por lo que es importante conocer independientemente del tipo de reproducción, las fases más importantes de los ciclos gametogénicos las cuales se basan en lo siguiente:

1. Una acumulación de nutrientes que son utilizados durante la gametogénesis.
2. Proliferación de células goniales y su diferenciación a gametos (gametogénesis)
3. Acumulación de gametos maduros
4. Liberación de gametos
5. Fase de reposo en donde sobreviene un período de reabsorción.
6. Una fase de recuperación

Posteriormente sobreviene una estación de apareamiento y una de crianza (11).

Como se explicó anteriormente existen ciertas diferencias típicas en el desarrollo de los ovocitos en el ovario de los organismos; además de que el proceso de desove en las diferentes especies es estrictamente periódica y, dentro de éste, se dan diferentes formas de desove; así se tiene:

1. - Las especies desovan una vez al año, durante un período corto.
2. - El desove tiene lugar una vez al año, pero el periodo es de larga duración.
3. - El desove tiene lugar dos veces al año.
4. - El desove se realiza a través del año, pero en forma intermitente; es decir de modo alternativo, pudiendo presentar momentos de desove de mayor intensidad en alguna temporada del año.

Otro aspecto que debe ser tomado en cuenta es la latitud con relación al comportamiento reproductivo; ya que se dan diferencias importantes como se resume e indica en el siguiente cuadro: (10).

LATITUD		
AGUAS BOREALES	AGUAS TEMPLADAS	AGUAS TROPICALES
VITELOGÉNESIS CORTA	VITELOGÉNESIS MÁS LARGA	VITELOGÉNESIS TODO EL AÑO (MAYOR RAPIDEZ)
ADULTEZ EN EDAD AVANZADA	ADULTEZ MÁS TEMPRANO	ADULTEZ MUCHO MÁS TEMPRANO
SINCRÓNICOS	SINCRÓNICOS/ASINCRÓNICO	ASINCRÓNICOS/SINCRÓNICOS
DESOVE TOTAL	DESOVE TOTAL/PARCIAL	DESOVE PARCIAL /TOTAL
REPRODUCCIÓN CORTA (primavera)	REPRODUCCIÓN MÁS LARGA	REPRODUCCIÓN TODO EL AÑO
I.G. EL 50% PESO CORPORAL	I.G. DEL 10 AL 25%	I.G. MENOS DEL -10%

IV.- DETERMINACIÓN DE ETAPAS DE MADUREZ.

La determinación de las etapas de madurez, por lo tanto se realiza con base al conocimiento de la gametogénesis (ovogénesis y espermatogénesis), así como la serie de estructuras que se forman en el ovario a través del tiempo; las que indican el estado reproductivo en que se encuentra en ese momento el organismo. Otro aspecto por demás importante es el tipo de reproducción (sincrónica o asincrónica).

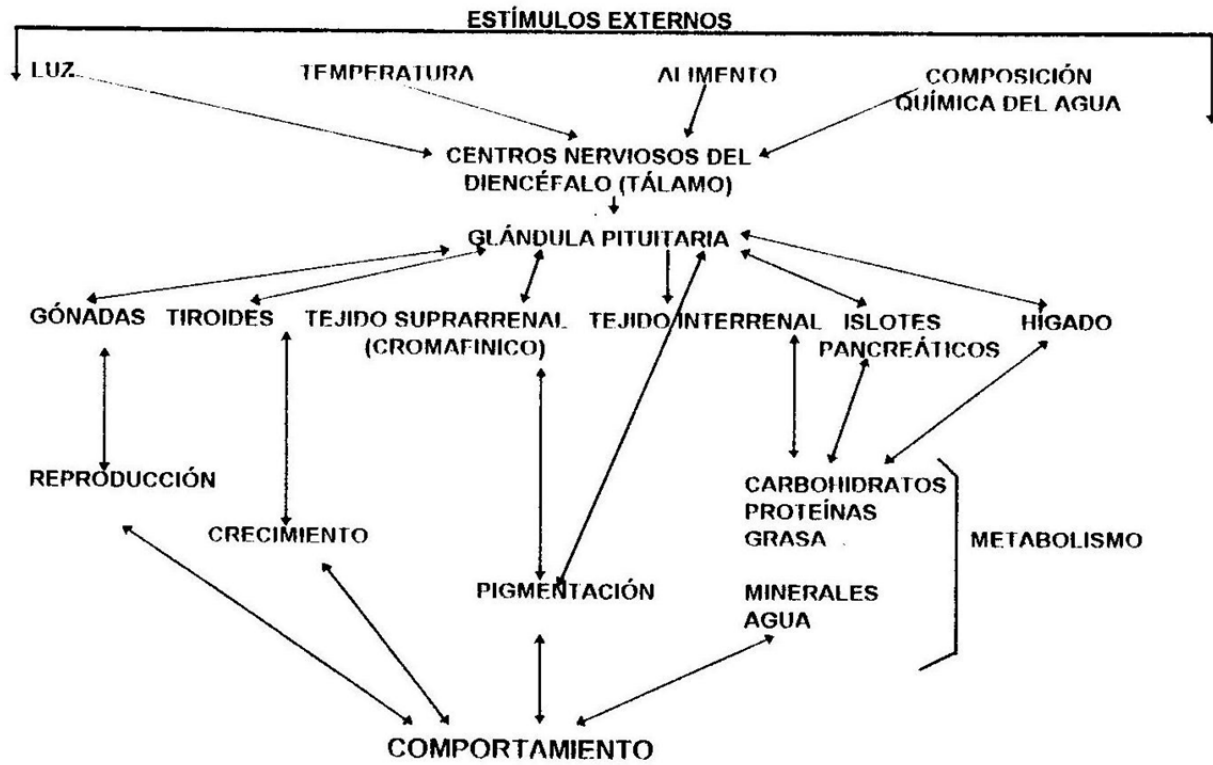
En el Cuadro No 1, se presentan las etapas de madurez consideradas más relevantes, que deben tomarse en cuenta para uso y aplicación práctica en el análisis de pesquerías (5, 19, 27).

Para la estimación de las reservas (stocks) de cualquier especie, es importante comprender la biología reproductora de éstas; por lo que la estimación y definición del tamaño de las reservas que se encuentran en el momento reproductivo y desove, son esenciales si se desea mantenerlos a niveles adecuados; ya que sólo esto permite evitar la sobreexplotación de las reservas (stocks) (Cushing, 1983, Tapia 1993). Otro aspecto esencial es determinar el lugar, duración del desove, fecundidad y frecuencia

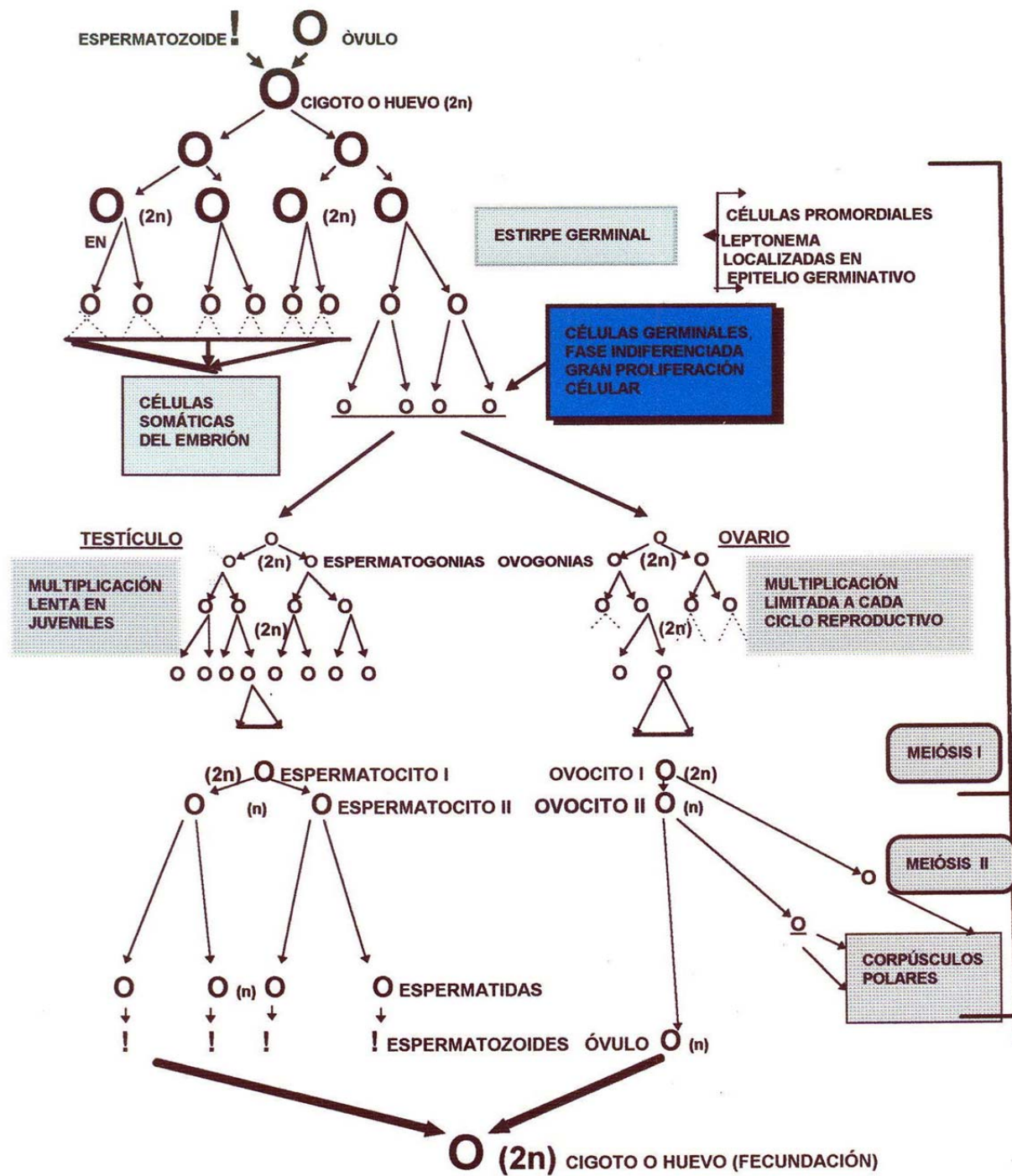
CUADRO No 1: Etapas de madurez establecidas para diferentes especies, tomando en cuenta los procesos de gametogénesis. (16, 17 y 27 modificado por Tapia).

OVARIO	ETAPA O FASE	CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS
INACTIVA	I INMADURO: • VIRGEN (INDIFERENCIADO) • REPOSO	El epitelio germinativo presenta células primordiales o goniales indiferenciadas sin restos de ovocitos ni atresias (virgen), o bien con ovocitos en reabsorción y atresias (mínimo un desove anterior)
	II GAMETOGENICO O PROCESO DE DIFERENCIACIÓN INICIAL	Epitelio germinativo con abundantes células goniales (espermatogónias y ovogonias). Proliferación celular.
ACTIVO	III MADURACIÓN AVANZADA	Con menos del 50% de ovocitos no vitelados y, el resto con ovocitos parcialmente vitelados y algunos vitelados.
	IV MADURO O REPRODUCTIVO	Más del 50% de ovocitos vitelados, con vesícula germinativa desplazada y algunos ovocitos hidratados o bien una gran cantidad de ovocitos hidratados más el resto; vasos sanguíneos con abundantes elementos formes
	V DESOVE O EXPULSIÓN.	Presencia de folículos postovulatorios de 0 a 24 horas, atresia de ovocitos vitelados y pocos no vitelados

CUADRO 2.- INTEGRACIÓN DE LOS FACTORES EXTERNOS, CON EL SISTEMA ENDOCRINO Y APARATO REPRODUCTOR (11, modificado por Tapia).



CUADRO 2.- ESQUEMA RECAPITULADO, DE LA EVOLUCIÓN DE LAS CÉLULAS GERMINATIVAS.
GAMETO



V.- ANATOMÍA MICROSCÓPICA DE:

• OVARIO DE PELÁGICOS MENORES.

Los ovarios de los pelágicos menores son de forma alargada y tubular (Fig. 1), constituidos por una cápsula de tejido conjuntivo denso que generalmente es de disposición regular; en donde se encuentran incluidas fibras colágenas y fibras musculares lisas. Esta cápsula está delimitada externamente por un tejido epitelial de revestimiento de tipo cúbico o plano simple que puede o no tener intercaladas células de tipo glándular. La cápsula de tejido conjuntivo penetra al ovario, formando trabéculas las que se dirigen en forma concéntrica hacia el interior y centro del órgano, integrando las cavidades foliculares o cordones (Fig.2.A). Es en las trabéculas de tejido conjuntivo en donde se observan los vasos sanguíneos, los que delimitan el interior de las cavidades foliculares y en donde se encuentra el epitelio germinativo; el cual posee diferentes tipos de células gaméticas, dependiendo del grado de madurez del organismo (18,27) (Fig. 2).

• TIPOS DE OVOCITOS (Esquema 1 y 2).

OVOGONIAS O CÉLULAS PRIMORDIALES:

El tamaño de estas células es menor de 0.04 mm en anchoveta, son de forma esférica y con un núcleo denso teñido con hematoxilina y ocupa casi todo el citoplasma que se observa como un halo ligeramente menos basófilo que el núcleo; frecuentemente se encuentran formando grupos de células (nidios oogoniales) sobre el epitelio germinativo o bien entre las cavidades foliculares (16, 17, 27) (Fig. 11).

OVOCITOS NO VITELADOS:

En gónadas de anchoveta son mayores de 0.04 mm hasta 0.15 mm, el ovocito rodeado de una capa de células planas alargadas que corresponde al inicio de formación de la capa granulosa. El núcleo es esférico o bien ovalado, menos basófilo que el citoplasma con varios nucleolos situados generalmente sobre la membrana nuclear. Se puede observar el inicio de formación de la zona radiata la cual se denota como una fina capa hialina eosinófila entre la membrana del ovocito y la capa folicular en crecimiento, éstos ovocitos se encuentran incluidos en el tejido conjuntivo, asociado con capilares sanguíneos, fibras colágenas y fibroblastos que constituyen la teca que rodea al ovocito (Fig.2).

OVOCITOS PARCIALMENTE VITELADOS.

Estos tienen un tamaño entre los 0.3 a 0.6 mm y puede notarse el inicio de síntesis de vitelo (vitelogénesis), son células redondas u ovales con presencia de gránulos eosinófilos, las que en su inicio de formación se encuentran en la periferia del citoplasma y conforme aumenta este proceso, se va ocupando la zona perinuclear con gránulos más redondos y grandes. El núcleo es ovalado acidófilo, con varios nucleolos en la periferia muy basófilos, iniciando la formación de vitelo. La zona radiata presenta estriaciones muy claras, y la capa folicular se hace más evidente que se acompaña del incremento o proliferación de la granulosa. Las células de la teca presentan forma alargada y se rodea de capilares (Fig. 2 y 3).

OVOCITOS VITELADOS.

El tamaño de estos ovocitos en anchoveta, varía de 0.5 a 0.85 mm, son células esféricas u ovoides cuyo citoplasma se encuentra ocupado por gran cantidad de vesículas o glóbulos de vitelo de diferentes tamaños dado que la síntesis del mismo continúa, el núcleo es oval con numerosos nucleolos de localización perinuclear; el cual inicia su migración hacia el polo animal, lo que indica el inicio de la fusión de las vesículas de vitelo. La capa granulosa presenta células de forma poliédrica muy claras con su núcleo basófilo redondo, ésta seguida de la zona radiata con estriaciones muy claras (Fig. 4).

OVOCITOS HIDRATADOS.

Este tipo de ovocitos se encuentra entre los 0.85 mm y 1.2 mm para el caso de la anchoveta. El citoplasma presenta una coloración acidófila, los glóbulos o vesículas de vitelo se fusionan constituyendo las llamadas placas de vitelo, proceso que se da debido a la migración de la vesícula germinativa; la cual puede o no ser visible debido a que cuando alcanza el polo animal, la membrana nuclear se desintegra, dispersando su contenido en el citoplasma, este crecimiento citoplásmico provoca que la zona radiata y la granulosa se hagan más finas o delgadas y por lo tanto menos evidentes al igual que las células de la teca (Fig. 5 y 6).

Es importante mencionar que muy frecuentemente no es posible observar a los ovocitos hidratados u ovocitos maduros en las gónadas; dada la presencia tan efímera de éstos; ya que inmediatamente son eliminados mediante el proceso de desove, durando menos de un día. Se considera que la migración nuclear se puede presentar 24 horas antes de la ovulación y, que el fenómeno mediante el cual los glóbulos se han fusionado para formar placas vitelinas ocurre 12 horas antes del desove; además no se han observado atresias en ovocitos hidratados en el caso de la anchoveta nortea; por lo que se considera que todos los ovocitos hidratados son desovados, cuando las condiciones del medio son las adecuadas (16,17,27,30); sin embargo cuando no se dan las condiciones ambientales adecuadas, sobre todo la temperatura, no se produce el desove, provocando un proceso degenerativo en este tipo de ovocitos, como lo fue durante el fenómeno del niño (Cuadro No 2).

• TIPOS DE FOLÍCULOS POSTOVULATORIOS.

FRECUENCIA DE DESOVE (6,7,13,14,16,17).

Para realizar la estimación de la frecuencia de desove es necesario saber identificar el grado de avance o edad de las estructuras conocidas como folículos postovulatorios que para el caso de la anchoveta *Engraulis mordax* ha sido estudiado en cautiverio; lo que permite establecer en forma más exacta el tiempo de desove de éstos organismos.

Es importante por lo tanto, saber que los folículos postovulatorios son el resultado de la ovulación múltiple en el momento del desove, en donde la capa folicular que rodea a cada uno de los ovocitos maduros (hidratados) permanecen en el ovario, proceso que se da en un cardumen cuando las condiciones del medio son las adecuadas; es así como dependiendo del momento de desove los folículos postovulatorios presentan a través del tiempo estructuras diferentes, lo que permite identificar el tiempo de ovulación; por lo que se establece el método, basándose en la siguiente descripción de los folículos postovulatorios.

DÍA CERO

Los folículos postovulatorios de día cero, son todos aquellos folículos que han permanecido en el ovario de las 0 a las 23 horas; sin embargo en este estudio se incluyen a los folículos postovulatorios de 0 a 5 horas desde el momento en que se pesca al organismo y sólo durante el periodo de desove nocturno.

Los folículos postovulatorios presentan una luz o lumen grande, pero irregular, colapsado o bien con circunvoluciones que puede o no contener gránulos eosinófilos. Las células de la granulosa son de forma cuboidal o columnares, pudiendo presentar una ligera hipertrofia, el núcleo es prominente de posición basal o apical. La capa de las células de la teca están bien definidas, se adhiere a la capa granulosa y contiene capilares sanguíneos muy evidentes (Fig. 7).

DÍA UNO

Los folículos postovulatorios clasificados como día 1, aparecen entre las 19 y 28 horas después del desove; por lo que se consideran a los desovados después de las 24 horas, pero menos de 48 .

Los folículos se colapsan y presentan una luz muy reducida, el que puede contener material granular. Las células de la capa granulosa no presentan un alineamiento definido, algunos núcleos son picnóticos, el citoplasma es muy vacuolado y sólo algunos tienen sus membranas intactas. La capa de las células de la teca están poco definidas (Fig. 8)

DÍA DOS

Los de 48 horas o más, son de un medio a un cuarto del tamaño de un folículo de 24 horas, la luz o lumen es muy reducida, o bien ausente y no presenta gránulos eosinófilos. Las membranas de las células de la capa granulosa no se observan, notando sólo zonas vacuoladas o núcleos picnóticos, cariorrexis y cariólisis, lo que modifican la coloración. La teca se hace difusa confundiendo con el estroma de tejido conjuntivo del ovario. Se piensa que de 3 a 4 horas después del desove todos los folículos postovulatorios se han reabsorbido, sin embargo es importante señalar que estos pueden permanecer en el ovario. Los folículos de más de 28 horas ofrecen una mayor dificultad, debido a que se pueden confundir con beta atresia (Fig.9).

• TIPOS DE ATRESIA.

Durante el proceso de ovogénesis, los folículos ováricos pueden llegar a la maduración que culmina con la rotura del folículo, produciendo el proceso de ovulación, o bien cuando éstos no maduran se produce un proceso degenerativo en el ovocito y folículo, exhibiendo figuras de picnósis, cariorrexis y cariólisis; así como vacuolización en citoplasma que se conoce como atresia; esta puede observarse en los ovocitos no vitelados, parcialmente vitelados, vitelados o bien en los folículos ováricos; observándolo más frecuentemente a éste proceso, en los ovocitos en crecimiento.

Tomando en cuenta las diferentes estructuras mencionadas y los criterios establecidos; es que a los procesos atrésicos se les ha clasificado de la siguiente manera:

ESTADO DE ALFA ATRESIA:

En este estado los ovocitos se reabsorben totalmente, incluyendo el vitelo si se presenta, dejando sólo a la capa folicular. La fase temprana del estado alfa atresia se caracteriza por la desintegración del núcleo, tomando una forma irregular y granular así como una

coloración basófila, fenómeno paralelo a la desintegración de algunas vesículas de vitelo. La zona radiata va desapareciendo paulatinamente, lo que se demuestra por la presencia de estriaciones irregulares de diámetro desigual. La teca con gran cantidad de capilares sanguíneos, además de gran cantidad de fibroblastos incluidos en el estroma de tejido conjuntivo, la que al parecer no prolifera ni invade a los ovocitos, quedando una fina capa fibrilar que cubre a la granulosa. Se considera que este estado termina cuando la reabsorción del ovocito es completo. En los ovocitos no vitelados este proceso es similar y la zona radiata que aún es sumamente fina se reabsorbe. La proliferación de fagocitos o macrófagos es evidente (Fig.10).

ESTADO DE BETA ATRESIA:

El estado de beta atresia, es una estructura compacta compuesta de numerosas células de la granulosa totalmente desorganizada, rodeadas de una fina teca de tejido conjuntivo denso regular que incluye capilares sanguíneos. Los núcleos de algunas células de la granulosa son picnóticas y muchas de ellas contienen vacuolas intracelulares que pueden estar vacías o contener partículas pequeñas como pigmentos. En forma ocasional se pueden encontrar cavidades grandes intercelulares que pueden estar presentes entre las células de la granulosa (nivel en donde puede existir confusión con los folículos postovulatorios de 48 horas (Fig.11).

ESTADO DE GAMMA ATRESIA.

Son estructuras más pequeñas que la anterior; las células de la granulosa contienen pigmento amarillo y los núcleos de morfología muy irregular. Las células de la granulosa están rodeados por muy pocas células tecales y capilares sanguíneos (Fig. 12).

ESTADO DE DELTA ATRESIA.

La característica que permite identificar a la delta atresia, es la presencia de un pigmento finamente granular de coloración café amarillento en las células de la granulosa. Son estructuras muy pequeñas típicamente compuestas de 2 a 20 células de la granulosa dentro del estroma de tejido conjuntivo, las células tecales y los vasos sanguíneos no rodean a las células de la granulosa, debido a que han sido reabsorbidas dentro del estroma del tejido conjuntivo (Fig.13)

ESTADOS ATRESICOS (16 y 17).

- **ESTADO ATRESICO CERO (0):**

Las hembras clasificadas en este estado tienen ovocitos vitelados y no *presentan alfa atresia de ovocitos vitelados*. El estado beta atresia puede presentarse pero no es lo más común; no puede separarse del estado tardío de folículos postovulatorios de más de 48 horas. Las hembras de anchoveta en este estado tienen un alto potencial de desove.

- **ESTADO ATRESICO UNO (I) :**

Los ovarios con ovocitos vitelados en las cuales menos del 50 % de los ovocitos vitelados están en estado de alfa atresia. La frecuencia de desove de las hembras clasificadas en este estado es menos de la mitad que en las hembras del estado atrésico 0. Este estado es un índice de la declinación en la proporción de desove. Las hembras que persisten en este estado bajo las condiciones naturales puede extenderse y probablemente los períodos sean variados. El estado atrésico I es la condición atrésica más común durante

el pico de desove, lo que puede ser utilizado para detectar diferencias entre clases de longitud.

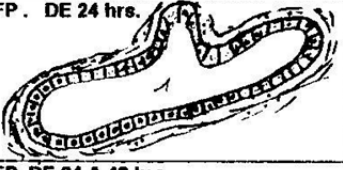
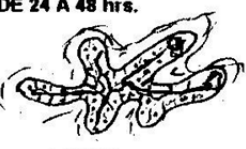
- **ESTADO ATRESICO DOS (2) :**

Cuando las hembras presentan mayor o igual cantidad al 50 % de ovocitos vitelados en estado de alfa atresia, en condiciones de laboratorio, este estado persiste durante 9 días, observando que tienen poca duración en poblaciones naturales. La presencia de este estado, es la mejor medida en términos de proporción absoluta del proceso de reabsorción del ovario en la población; ya que puede ser utilizada para pronosticar el fin del acercamiento reproductivo o bien el fin de la estación del desove. Una alta incidencia de hembras en este estado indican que el cese del proceso de desove es inminente.

- **ESTADO ATRESICO TRES (3) :**

Las hembras no presentan ovarios con ovocitos vitelados, el estado de beta atresia se encuentra presente; así como gamma y delta atresia. Este estado identifica a las hembras en condiciones de un postdesove tardío. El estado atrésico tres es utilizado para separar hembras en condiciones de postdesove de las hembras inmaduras; es decir hembras que no han tenido una historia reproductiva previa o vírgenes; consecuentemente la identificación de las hembras en este estado es fundamental para precisar la estimación de la edad o longitud de primera madurez que a su vez permite precisar a la biomasa desovante utilizando el método de producción de huevos.

TABLA I.- CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA DE OVARIOS DE LA ANCHOVETA NORTEÑA Y LAS IMPLICACIONES REPRODUCTORAS. FP= FOLÍCULOS POSTOVULATORIOS. (13, 16, 17 y 18 modificado por Tapia)

OVARIO	ESTADO	CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS	IMPLICACIÓN REPRODUCTIVA
ACTIVA:	DE DESOVE		
	HIDRATADOS	PRESENCIA DE OVOCITOS HIDRATADOS 	EL DESOVE OCURRIÓ EN LAS ÚLTIMAS 19 hrs.
	EDAD 0 DÍAS FP	FP. DE 24 hrs. 	EL DESOVE OCURRE A LAS 24 hrs.
	EDAD DE 1 DÍA FP	FP DE 24 A 48 hrs. 	DESOVE DE 1 DÍA
ACTIVA:	ATRESICO		
	CERO (0)	PRESENCIA DE OVOCITOS VITELADOS; NO ALFA ATRESIA EN OVOCITOS VITELADOS 	PROBABILIDAD ALTA DE DESOVE DEL DÍA 1 AL 10.
	UNO (1)	ALFA ATRESIA DE OVOCITOS VITELADOS, MENOS DEL 50% DE OVOCITOS VITELADOS ESTÁN AFECTADOS. 	PROBABILIDAD DE DESOVE, PRESENCIA DE ESTADO ATRESICO 0, EN PROPORCIÓN MEDIA.
INACTIVO:	DOS (2)	ALFA ATRESIA DE OVOCITOS VITELADOS. MAS DEL 50 % DE OVOCITOS VITELADOS ESTÁN AFECTADOS.	PROBABILIDAD DE DESOVE=0, PUEDE TENER UN OVARIO ACTIVO DE 1 A 20 DÍAS. (MEDIA DE 8 DÍAS).
	TRES (3)	PRESENCIA DE OVOCITOS NO VITELADOS; PRESENCIA DE BETA ATRESIA. 	PROBABILIDAD DE DESOVE = 0, PUEDE TENER UN OVARIO ACTIVO DE 16 A 30 DÍAS.
	INMADURO	SIN OVOCITOS VITELADOS Y SIN FP (PO) BETA ATRESICOS 	PROBABILIDAD DE DESOVE= 0, SIN EVIDENCIAS REPRODUCTORAS EN LOS ÚLTIMOS 30 O MAS DÍAS. PUEDE DESARROLLARSE UN OVARIO ACTIVO DENTRO DE 31 DÍAS.

- **TESTÍCULO.**

Los testículos en los peces son un par de órganos internos, alargados y corren longitudinalmente en la cavidad del organismo; en el caso de los pelágicos menores cada testículo presenta los extremos agudos o en forma de punta y se encuentran sostenidos por mesenterio. El color de los testículos varían de acuerdo al grado de maduración de éstos órganos y al desarrollo sexual del pez; así el color de los testículos en estado maduro es café claro cremoso y de superficie lisa (Fig. 1),

Cada testículo esta protegido de una cápsula de tejido conjuntivo denso regular; el cual puede o no estar delimitado por un epitelio de revestimiento de tipo cúbico o plano simple que se puede continuar con las capas de mesotelio. De la cápsula de tejido conjuntivo parten tabiques o trabéculas que se extienden a todo lo largo del órgano, conformando los folículos o tubos seminíferos, sitio en donde se lleva a cabo el proceso de espermatogénesis. El folículo, tubo espermático o tubo seminífero está formado por dos capas; hacia la luz o lumen del tubo, se encuentra el epitelio germinativo delimitado por una membrana basal; dicho epitelio varia mucho con respecto al estado de madurez y edad del organismo. Asociado a la lamina basal, se encuentra la lamina propia de tejido conjuntivo con gran cantidad de fibras colágenas ordenadas concéntricamente, entre las que se encuentran fibras elásticas, células propias del tejido conjuntivo, vasos sanguíneos y células intersticiales agrupadas, cuyo citoplasma es acidófilo y núcleo pequeño basófilo; dicho tejido se encuentra unido al resto del estroma conjuntivo de los tubos seminíferos (5)(Fig. 14).

- **TIPOS DE CÉLULAS GAMÉTICAS EN EL EPITELIO GERMINATIVO (4).**

En el epitelio germinativo es en donde se lleva a cabo el proceso de formación de los espermatozoides, proceso que recibe el nombre de espermatogénesis, con la consecuente reducción del número cromosómico; es así como se tienen dos procesos importantes dentro de la espermatogénesis, la espermacitogénesis y la espermiogénesis o período de diferenciación; otro tipo de células que se encuentran intercaladas a las células gaméticas son las células nutricias.

La espermacitogénesis a su vez comprende una etapa de proliferación, una de crecimiento y otra de maduración. Por lo tanto la espermacitogénesis se inicia con la formación de células denominadas espermatogonias que por medio de la mitosis, proliferan en número mostrando forma oval o poliédrica, núcleos muy basófilos que ocupan la mayor parte del citoplasma, estas células están asociadas a la membrana basal (Fig. 15 y 16).

Posteriormente sobreviene la etapa de crecimiento, dado que las espermatogonias se dividen ($2n$), formando los espermatocitos primarios que aumentan de tamaño y ocupan una posición intermedia en los folículos o tubos seminíferos, se disponen en una o dos filas por fuera de las espermatogonias, son de forma esférica o poliédrica; el citoplasma es acidófilo, el núcleo no tiene un aspecto definido o uniforme, debido a que depende de la etapa de la mitosis en que se encuentre u observe; pues los cromosomas tomaran posiciones diferentes, dando origen a los espermatocitos secundarios y con ello al proceso de división reduccional (n); células que suelen ser parecidas a las anteriormente mencionadas, sólo que ligeramente más pequeñas, con membranas nucleares muy bien definidas y basófilas; inmediatamente se produce la segunda mitosis formando las

espermátides (n), para ser seguida del proceso de la espermiogénesis que es la transformación al espermatozoide (Fig. 16 y 17).

La morfología de las espermátides jóvenes, es muy clara, ya que puede observarse una delimitación muy definida, dada por la membrana citoplásmica, la cual es como un hilo basófilo delimitado internamente por zonas más basófilas; en tanto que las espermátides más maduras, se denota una estructura basófila alargada, que permite definirlo claramente por la posición concéntrica, dirigida hacia el interior del tubulo.

Los espermatozoides, en el caso de organismos con reproducción sincrónica, pueden crecer a partir de una espermatogonia, permaneciendo unidas, hasta formar los espermatozoides, los cuales se separan al finalizar el proceso; estos son fácilmente identificados por su estructura flagelar y de posición concéntrica en la luz o lumen de los tubulos seminíferos.

Es importante mencionar que el epitelio germinativo de los tubulos seminíferos en peces, presentan una disposición por grupos celulares en diferente grado de madurez, a los cuales llamaremos segmentos y, al parecer cada uno de estos segmentos se repite y dispone en un orden determinado a lo largo de los tubulos seminíferos, encontrando los estados más avanzados hacia la rete testis, lo que permite que siempre haya disponibilidad de células maduras o espermatozoides en un ciclo anual.

• MADUREZ GONADAL EN EQUINODERMOS.

El erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus* (Agassiz, 1863) es un equinoideo regular de simetría pentaradiada que pertenece a la familia Strongylocentrotidae, se considera que este organismo es el que tiene el mayor tamaño, dentro de los equinodermos encontrados en la península de Baja California. Estos pueden alcanzar tallas de hasta 150 mm, además presentan espinas primarias bastante largas con una longitud de hasta 7 cm. (Ver escala morfocromática).

Todos los equinoideos son dioicos y la mayoría no muestran dimorfismo sexual, el aparato reproductor esta constituido por cinco gónadas, que se encuentran suspendidas en los interambulacros sobre el lado interno del caparazón, unidos por finas capas transparentes de peritoneo celómico. Cada gónada es un conjunto de sáculos o folículos, que se unen a un gonoducto corto, que se extiende hacia la superficie aboral, para abrirse a un gonoporo localizado sobre una de las cinco placas genitales (3), la fertilización es externa.

Cada gónada presenta forma de lengüeta, generalmente de color amarillo, aunque varía, dependiendo del sustrato, sexo y grado de madurez. Externamente la gónada esta delimitada por un epitelio celómico de tipo plano a cúbico simple, internamente se observa una gran cantidad de sáculos o folículos con ramificaciones las cuales constituyendo sacos o acinos.

En un corte transversal observado al microscopio, es posible identificar gran cantidad de acinos o folículos que se encuentran delimitados externamente por tejido epitelial de revestimiento de tipo plano o cúbico simple, el que descansa sobre la membrana basal y debajo de la cual se encuentra la lamina propia de tejido conjuntivo denso regular, con presencia de fibras musculares lisas que corren en sentido circular al acino, en donde se observan senos venosos. En la región más interna hacia la luz del acino se encuentra el

epitelio germinativo, además de gran cantidad de células nutricias e inclusiones de reserva. Este patrón morfológico se da tanto en hembras como en los machos.

En el caso de las hembras se observan diferentes tipos de ovocitos; así se tienen cinco tipos, los que a su vez permiten identificar cinco etapas o fases de madurez que son: Indiferenciado (Indeterminado), Madurez inicial (Gametogénico), Madurez intermedia (Madurando), Maduro (Reproductivo), Desove o expulsión.

En los machos al igual que en las hembras se observan diferentes tipos de células gaméticas en el epitelio germinativo, y del tipo de célula dominante es que también se han establecido cinco fases de madurez.

El pepino de mar es un equinodermo de morfología cilíndrica que comprende aproximadamente 1000 especies, *Parastichopus parvimensis* e *Isostichopus fuscus* son las más importantes en Baja California, en cuanto a comercialización se refiere: el primero se encuentra desde Monterey, Cal. E.U.A., hasta Bahía tortugas B.C.S. y, la otra en el Golfo de California.

Muchos Holothuroideos son dioicos y, a diferencia de otros equinoideos, tienen una única gónada la que se encuentra suspendida en el celoma, tanto la gónada de las hembras como la de los machos, están compuestos de un gran mechón de finas ramificaciones de forma tubular (Ver escala morfocromática), que desembocan a un conducto único largo, revestido por epitelio cúbico ciliado; el que se abre al gonoporo, colocado justamente atrás de la boca, sobre la base de los tentáculos bucales. En el pepino de mar como en otros equinodermos la fertilización es externa y el desarrollo es a través de varios estadios larvarios de tipo pelágico.

En relación a la morfología de las gónadas a nivel microscópico, se observa en general el mismo patrón morfológico que en erizo; por lo que nos basaremos en los mismas fases de madurez, aunque si se dan diferencias en las células gaméticas.

VIII.- FECUNDIDAD.

• CONCEPTO E IMPORTANCIA.

La fecundidad es un parámetro importante en el estudio de la dinámica de poblaciones; la cual nos permite determinar el número de nuevos posibles reclutas que se integran en esta; éste término es comúnmente definido como el número de ovocitos producidos por una hembra antes de ser desovada (1,2, 3,8, 26,27).

La estimación es rápida para aquellos organismos, que presentan una sola moda anual; es decir para los desovadores totales o sincrónicos, en donde todos los ovocitos son liberados en una sola puesta u ocasión, claramente definida, como es el caso de algunos organismos boreales como la merluza, bacalao y, otros de regiones subtropicales como la totoaba, el pez sable, la langosta roja, entre otros; su estimación en el tiempo es poco variable.

Por otro lado se tiene aquellos organismos con desoves parciales, llamados frecuentemente desovadores múltiples o asincrónicos, en éstos organismos es importante conocer el número de puestas al año; es decir el número de ovocitos puestos en cada desove y la relación entre estos factores y la talla y edad del organismo; muchos de estos

organismos son tropicales y subtrópicos, como ejemplo tenemos la anchoveta, sardina, macarela, atún, barrilete, chano entre otros. La determinación de su fecundidad por lo tanto, es un poco más difícil y presenta variabilidad interanual, por lo que se recomienda estimarlo cada vez que sea necesario.

Un aspecto importante en cuanto a la producción de productos sexuales y, por ende en la determinación de la fecundidad, es la calidad de ellos; ya que frecuentemente sufren atrofia en una de sus fases de su desarrollo gametogénico y en ocasiones conducen a una mala interpretación del valor real de la fecundidad. Otro factor que también regula la cantidad de ovocitos, es el tamaño, que algunas veces depende de la edad y condiciones de alimentación (disponibilidad), temperatura del agua, temporada del año y en otros casos por factores latitudinales.

Como podemos notar éste es un parámetro muy susceptible a factores externos y propios de la especie, que muestran variaciones en la fecundidad dentro de la misma especie, entre poblaciones y dentro de una población a través del tiempo; por lo que es importante monitorear, para conocer sus variaciones y entender el comportamiento reproductivo real de una especie y poder concluir adecuadamente con respecto a este parámetro.

FECUNDIDAD ABSOLUTA (fecundidad individual)

Número de ovocitos producidos por un único pez; esta incrementa con el tamaño y edad de el pez.

FECUNDIDAD RELATIVA

Número de ovocitos por unidad de peso; esta relación asume que la fecundidad absoluta es una función simple directa de el peso del cuerpo.

FECUNDIDAD PARCIAL

Número de ovocitos desovados durante un desove o puesta; es calculado en peces desovadores múltiples como anchovetas y sardinas, y es estimado a partir de submuestras. Dado que la fecundidad parcial de un pez varía con su peso, es necesario la selección de un modelo apropiado para describir la relación entre la fecundidad parcial y el peso del pez (21).

FECUNDIDAD POBLACIONAL

Es la suma de las fecundidades absolutas de todas las hembras maduras (madurando) y también es el número de ovocitos desovados ("puestos") por la población en una época.

• REQUISITOS DE LOS MUESTREOS.

Para efectuar la estimación de la fecundidad, se tienen que considerar varios factores, algunos de ellos son dependientes de la especie, como lo es el tipo de reproducción, la talla, la edad, el tamaño del ovocito y la condición del organismo, además de los externos (ambientales) que tienen gran influencia.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL PEZ

Es necesario conocer la especie a estudiar, en este caso, contar con referencias que nos permitan determinar aquellas características que están involucradas en el cálculo de la fecundidad. El análisis histológico de las gónadas es el que principalmente nos dará

información determinante como es: el tipo de reproducción de la especie, el ciclo de reproducción y el tamaño de los ovocitos, éste último será clave para nuestro estudio.

SELECCIÓN DE ORGANISMOS

MUESTREO: El muestreo de los organismos para el cálculo de este parámetro, puede ser dirigido cuando se conocen algunos aspectos reproductivos de la especie, como la temporada de desove y el horario en que éste ocurre como es el caso de la sardina que desova en la noche. Además conociendo las características externas que presentan las hembras antes del desove es fácil identificarlas. Esto es posible de realizarse en colectas durante un crucero, donde serán seleccionados los organismos para este análisis en un número definido con anterioridad. Cuando los organismos son obtenidos por otros medios (captura comercial), no es posible tener el control de el número de organismos, por lo que se trabaja con los datos que es posible obtener.

Cuando es la primera vez que se realiza el cálculo de este parámetro en una población, el análisis histológico es necesario para definir el tipo de ovocitos que deberán ser incluidos en este parámetro. El apoyo en la información bibliográfica, en estas situaciones es básica para determinar ciertos aspectos que apoyaran nuestros resultados.

TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

Una vez identificados aquellos organismos, que presentan las características que permitan efectuar el cálculo de la fecundidad, debemos aplicar un tratamiento especial y observar ciertos cuidados en su manejo.

• MÉTODOS DE ESTUDIO

Una vez seleccionadas las gónadas en el estado reproductivo más avanzado, se pueden aplicar varios métodos para estimar la fecundidad. Así tenemos que los métodos comunes para el conteo de ovocitos u huevos es diferentes especies son el volumétrico, gravimétrico, Von Bayer y el conteo directo (3,6,7,8)

El método gravimétrico se basa en el peso total de la muestra, una vez que son desprendidos del tejido ovárico, se elimina el exceso de humedad vertiéndolos en un papel secante expuesto al aire, posteriormente se separa una submuestra de ovocitos para contar y pesarlos. El número total de huevos se obtiene en la relación del número de la submuestra por el peso total de la muestra entre el peso de la submuestra.

El número total de ovocitos en los ovarios se obtiene con la ecuación:

$$F = \frac{n G}{g}$$

F = fecundidad

n = número de huevos u ovocito maduros de la moda más avanzada en la submuestra.

G = peso total de los ovarios

g = peso de la submuestra en las mismas unidades.

En el método volumétrico; una vez separados los ovocitos del tejido ovárico, que puede ser realizado, por medio de una solución de Gilson, los ovocitos o huevos una vez separados y libres de tejido se colocan en un recipiente o cilindro graduado, se le agrega una cantidad conocida de agua, en seguida se agita uniformemente el recipiente para poder tomar una submuestra de volumen conocido y se cuentan los ovocitos. La fecundidad se obtiene de la relación entre el número de ovocitos en la submuestra, por el volumen total que ocupó la muestra, entre el volumen de la submuestra. Otra manera, es pesar un número conocido de ovocitos y observar su volumen por desplazamiento y posteriormente obtener el valor que esta desplaza en la muestra total.

Por lo tanto la fecundidad será:

$$F = \frac{n V}{v}$$

En donde:

F = fecundidad

n = número de huevos u ovocitos maduros de la moda más avanzada, en la submuestra

V = volumen al que se ha llevado el número total de huevos.

v = volumen de la submuestra

Se recomienda analizar más de una submuestra de cada gónada para obtener una estimación adecuada de la fecundidad. El recuento reiterado de las submuestras del mismo ovario demuestra que la distribución de cada recuento es del tipo Poisson; por lo tanto como la varianza es una distribución Poisson es igual a la media del número de submuestras necesario para el grado de exactitud esperado, que puede determinarse a partir del número contado en la primera submuestra con la ecuación:

Porcentaje de precisión: $100/n$ en la que la media, m, se toma como el recuento de la primer submuestra y, n es el número necesario de submuestras.

Se debe tener en cuenta que es difícil conseguir que todos los ovocitos se distribuyan uniformemente en el cilindro graduado; ya que la densidad de los ovocitos es mayor en el fondo que en la superficie del líquido y en el centro, que en los lados.

El método de **Von Bayer** se basa en la búsqueda del diámetro promedio de los ovocitos o huevos, por medio de un canal graduado, y removiendo el exceso de **humedad de la muestra**, obtener submuestras para determinar el número de ovocitos que hay sobre ella y obtener el promedio. Posteriormente se consulta con la tabla establecida por Von Bayer.

Para aplicar el método de **conteo directo**, se elimina el tejido conjuntivo con líquido de Gilson, y se cuentan todos los ovocitos una vez disgregados, por medio de contadores automáticos y se da la cantidad de ovocitos en x cantidad de submuestras; esto evita el error inherente a toda técnica de submuestreo, el inconveniente es el costo del aparato.

MÉTODO APLICADO PARA HACER ESTUDIOS DE FECUNDIDAD EN ABULÓN.

REQUISITOS.

1. Tamaño mínimo de muestra.
2. Fijación en formalina buffer de cada abulón por separado en bolsas de plástico.
3. Clave del organismo interior y exterior.
4. Asegurar que los organismos escogidos se encuentran maduros, previo análisis histológico o bien previo análisis de los ovocitos mediante una impronta.

MÉTODO:

1. La víscera seleccionada, se lava para eliminar el exceso de formalina.
2. Colocar en un papel secante para eliminar el exceso de agua.
3. Separar con mucho cuidado la parte que contenga a la gónada, tratando de obtener la totalidad de la misma.
4. Pesar la masa visceral
5. Obtener tres porciones la anterior, la media y la posterior, tratando de que tengan la misma longitud.
6. Para obtener estas secciones, se recomienda congelar a la masa visceral y cortar con navajas o bisturíes que no hayan sido utilizados antes.
7. Antes de tomar las muestras para fecundidad, se determina el coeficiente de madurez (Ino y Harada 1961), de la siguiente forma:
 - Con el compás y regla se determina el diámetro de la gónada y la del hepatopáncreas o glándula digestiva a la sección anterior, media y posterior.
 - Se determina el coeficiente de madurez mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{L - L^*}{L} \times 100 \quad \text{en donde:}$$

L = Diámetro de la gónada y el hepatopáncreas

L* = Diámetro del hepatopáncreas.

- Se determina el diámetro "L" a lo largo y ancho de cada sección y se continúa con la determinación de "L*" en el mismo sentido efectuando luego el promedio de resultados por sección y por gónada.
7. Se procede a disecar de las tres porciones el hepatopáncreas, dejando solo a la gónada.
 8. Cada sección se coloca en un vidrio de reloj de peso conocido y se pesa en una balanza.
 9. De cada sección se obtiene una muestra de máximo 50 mg y se coloca en frascos previamente identificados.
 10. Se coloca en cada frasco 5 ml de líquido de Gilson o alcohol glicerinado y se dejan durante un día antes del conteo y medición de óvulos, agitando para facilitar la separación de éstos.
 11. En caso de que no se separen bien los ovocitos, con la ayuda de una espátula se les quita el tejido conjuntivo.
 12. De cada frasco se obtiene con un gotero graduado, seis submuestras.

13. En la submuestra 1, se realiza el conteo de ovocitos y paralelamente se puede realizar la medición de 100 células (ocular micrométrico).
14. El conteo se puede realizar en una caja reticulada de cuadrantes de 1 mm², auxiliándose de un contador manual.
15. Registrar el número total de óvulos contados en los 50 mg obtenidos de cada sección y sacar el total de óvulos por gramo, peso de la porción en gramos; total de óvulos por porción. diámetro promedio de óvulos.

VIII. TÉCNICAS HISTOLÓGICAS MÁS UTILIZADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA MADUREZ (12,24, 25,28).

El proyecto Investigaciones Histológicas elaboró este manual con el objetivo de facilitar el manejo de la técnica histológica, indicando por un lado las técnicas que nos permiten identificar con facilidad las estructuras propias de un proceso de desove y por otro, los cuidados que deben tomarse en cuenta desde la colecta, fijación, lavado, hasta el análisis microscópico de la muestra. Además se indica la forma de preparación de los fijadores más utilizados, así como algunas recomendaciones para obtener preparaciones o laminillas que nos den datos confiables y definitivos para lograr la meta principal del curso.

TÉCNICA HISTOLÓGICA.

Comprende la preparación de los tejidos para su estudio microscópico, lo cual se logra sometiendo a la parte seleccionada del tejido por examinar a una serie de procesos como son la fijación, deshidratación, aclaramiento, obtención de cortes, coloración y montaje.

FIJACIÓN.

En cuanto se extirpa un tejido del organismo este empieza a descomponerse, lo cual viene siendo consecuencia de los cambios de temperatura corporal, que ocasiona falta de oxígeno y metabolitos esenciales, acumulación de bióxido de carbono y otros productos del metabolismo celular; así como de la acción de diversas enzimas. Por eso es indispensable colocarlos en una solución fijadora, para detener los procesos autolíticos propios de la muerte celular y preservar al tejido lo más cercano a su estado vivo. Para esto existen diversos tipos de fijadores que permiten el logro de este objetivo; sin embargo es importante tener en cuenta el tipo de organismos y estudios que se desea hacer, para seleccionar al fijador adecuado y obtener resultados óptimos.

MÉTODO.

1. Se deberá colectar la cantidad mínima indispensable de ejemplares.
2. Tener listo el material a utilizar.
3. Tomar fotografías de los organismos que se colectaron o cuando se obtiene una fracción del organismos, también es conveniente elaborar esquemas antes de separarlos o fijarlos indicando posición anatómica, color y textura.
4. Antes de fijar, si es posible lavar rápidamente para eliminar impurezas que puedan interferir en el estudio.
5. Anotar con lápiz o marcador de tinta insoluble y letra clara la clave a utilizar.

6. Cuando son varias muestras en un sólo recipiente, envolver la muestra en una gasa doble junto con la clave, procediendo a fijar, indicando en la libreta u hojas los datos que se anexaron en la envoltura de la muestra.
7. Cuando se obtiene una fracción del organismo, que esta sea de 1 cm³, previo lavado se coloca en el fijador; si es un organismo completo se fija inyectándolo poco a poco sin lesionar a los tejidos, puede ser vía intravenosa.
8. Tomando en cuenta el tamaño del organismo, el líquido fijador debe usarse en una relación de 10 a 1.
9. Se colocan las muestras en bolsas de plástico o bien en frascos perfectamente cerrados y se agrupan por sexo, épocas o temporadas según sea el caso, manteniéndolos en refrigeración o bien en lugares frescos.

ELIMINACIÓN DEL FIJADOR.

Los tejidos contienen gran cantidad de agua tanto intra como extracelularmente, que puede ser eliminada por procesos de deshidratación lenta, esto debe ser realizado mediante algunas sustancias que se mezclen con el agua de manera que pueda penetrar fácilmente entre las células de los tejidos, el mejor agente a este respecto es el alcohol etílico. La deshidratación se logra mejor utilizando alcoholes de distinta concentración, empezando por alcohol del 70 al alcohol del 100 o absoluto. No es aconsejable el paso directo del tejido del formol al alcohol concentrado ya que provoca lesión en los tejidos. También pueden utilizarse otros deshidratantes como: alcohol metílico, isopropílico, butanol.

Si el tejido no ha sido deshidratado correctamente el aclarador se vuelve lechosos. Por lo tanto la impregnación con parafina no puede lograrse y el bloque resultante es blando y aún pulposo, y al cortar los bloques resulta demasiado difícil hacerlo y a veces imposible; por lo que si durante el aclaramiento se aprecia una deshidratación inadecuada, se puede remediar volviendo a regresar al tejido en los alcoholes.

ACLARAMIENTO.

Permite que el alcohol de los tejidos sea reemplazado por un líquido que disuelva la parafina, con la cual el tejido va a ser impregnado para su posterior obtención de cortes. Los buenos aclarantes eliminan pronto el alcohol y aclaran rápidamente sin provocar endurecimiento del tejido. Es importante cuidar los tiempos de "aclaramiento"; ya que un tiempo mínimo en estos, provoca que el tejido se haga pulposo y si se excede, los hace quebradizos. Entre los principales aclarantes de tejidos tenemos al benceno, xileno, tolueno, acetona, éter.

Este proceso comprende la impregnación de los tejidos con un medio que llene todas las cavidades tisulares, que proporcionen la consistencia firme y necesaria para hacer cortes bastante delgados, sin provocar lesión y sin alterar los elementos celulares; otra ventaja es el de encerrar en un bloque o en una masa de material de inclusión que permite manejar y fijar la muestra al microtomo sin daño al tejido. En histología se emplea el método de inclusión en parafina o ameraffin, celoidina y gelatina. Para que la inclusión impregnada en parafina sea exitosa es necesario dar dos baños en parafina entre una o dos horas en cada una, después se procede a la inclusión definitiva.

OBTENCIÓN DE CORTES.

Se preparan la cantidad de bloques a cortar, dándole a cada uno la forma de pequeñas pirámides con la ayuda de una navaja, de tal forma que se rebaja alrededor del órgano sin tocarlo, acercándose lo más que se pueda. Se introducen en el congelador mínimo una hora antes de empezar a cortar, al igual que las navajas o cuchillas; las cuales no deben tener mellas

Antes de proceder a cortar, se prepara el baño de flotación con agua destilada espolvoreando gelatina, haciendo una capa uniforme, evitando no agregar demasiada, ya que las laminillas quedarían manchadas. la temperatura del agua no deberá exceder los 40°C. Se colocan los cortes con la parte opaca hacia arriba y la parte brillante hacia abajo en contacto con el agua; cuando se tiene dificultad para extender los cortes, se agrega alcohol del 96% al agua que contiene la gelatina en el baño de flotación. Otras dificultades que se pueden tener al obtener cortes en el microtomo, sería la inclinación de la navaja o cuchilla, la velocidad que se aplica al obtener el corte puede ser excesiva y cuchillas mal afiladas.

Cuando se presenta dificultad para obtener los cortes, se puede remediar colocando sobre el tejido un poco de amilasa (saliva); la cual se aplica suavemente con el dedo pulgar.

Una vez obtenidos los cortes, se cubre la superficie del tejido incluido en el bloque con parafina derretida, así se evita la entrada de agua, la desecación o lesiones de otro tipo. Es importante que los cortes queden centrados en el portaobjetos y en una misma posición. Se dejan escurrir en una gradilla y se acomodan en una canastilla de vidrio o metálica; posteriormente se colocan en la estufa a una temperatura de 60° C por 30 minutos, como tiempo mínimo, esto permite que el corte se adhiera bien al portaobjetos, quedando listas para ser utilizadas en la técnica de coloración.

TÉCNICA PARA DESPARAFINAR.

Para que los tejidos puedan captar a los colorantes, es necesario eliminar la parafina de estos, con solventes de la misma; lo que se logra mediante la técnica de desparafinación la que consiste en preparar 12 cajas de coloración con los siguientes reactivos:

- | | |
|--|----------------------------------|
| 1. Tres cajas con xileno | ----- cinco minutos en cada una. |
| 2. Dos cajas con alcohol absoluto xileno | ----- cinco minutos en cada una. |
| 3. Dos cajas con alcohol del 96% | ----- cinco minutos en cada una. |
| 4. Dos cajas con alcohol del 70 | ----- cinco minutos en cada una. |
| 5. Dos cajas con agua destilada | ----- cinco minutos en cada una. |
| 6. Una caja con agua formolada | ----- cinco minutos. |

TÉCNICAS DE COLORACIÓN.

La coloración tiene por objeto proporcionar contraste a las estructuras observadas en el microscopio, lo que permite una mejor interpretación del órgano en estudio. La utilidad del método se debe a que los distintos componentes de la célula, muestran afinidades diferentes para casi todos los colorantes.

La identificación de ciertas estructuras o sustancias químicas, se logra mediante reacciones químicas específicas bien controladas, que permiten dar un color fijo al lugar en donde se encuentra la estructura o la sustancia correspondiente. Como sabemos, la aplicación de una técnica depende del estudio que se pretenda realizar; por lo que para el presente objetivo aplicaremos la técnica tricrómica de Gallego, la técnica tricrómica de Mallory, la Hematoxilina-Eosina y la técnica para demostración de lípidos.

El tiempo que se emplea para la coloración va a depender del espécimen que se va a teñir y del colorante empleado, el cual puede fluctuar desde unos segundos hasta 24 horas o más. Es conveniente hacer una prueba de coloración antes de aplicarla a varias muestras. Si por alguna razón es necesario remover los colorantes de los tejidos, que han sido sobreteñidos, podemos utilizar soluciones ácidas y para reafirmar la coloración se utilizan soluciones alcalinas.

PREPARACIÓN DE FIJADORES.

LÍQUIDO DE BOUIN:

Tiempo de fijación de uno hasta 8 días.

Sol. acuosa saturada de ácido pícrico.....	75 partes
Formol comercial (formalina o formol al 4%).....	25 partes
Ácido acético	5 partes

FORMOL-ACETO-ALCOHOL (F.A.A):

Tiempo de fijación 24 horas

Formol comercial (formalina)	10 ml.
Agua destilada	35 ml.
Ácido acético glacial	5 ml
Alcohol del 96%	50 ml

FORMOL AL 10%:

Formol comercial	1 parte
Agua destilada	9 partes

ZENKER:

Cloruro de mercurio	25 g
Bicromato de potasio	125 g
Sulfato de sodio	50 g
Agua destilada	500 ml
Ácido acético glacial	125 ml
(agregar en el momento de usar)	

FORMOL NEUTRO:

Tiempo de fijación 24 horas mínimo.

Formol al 10% saturar con bicarbonato de sodio al 1%
(usar papel tornasol como indicador)

DAVIDSON:

Alcohol etílico (96%)	330 ml
Formol	220 ml
Ácido acético glacial	115 ml
Agua destilada	335 ml

SOLUCIÓN ABLANDADORA:

Glicerina	5 ml
Agua destilada	25 ml
Alcohol del 96%	70 ml
a 4°C durante 24 hrs.	

FORMALINA BUFFER:

Fosfato de sodio monobásico	72.5 g
Fosfato de sodio dibásico	117 g
Formol	1800 ml
Agua destilada	18 l

COLORACIÓN HEMATOXILINA-EOSINA

FUNDAMENTO:

La hematoxilina-Eosina (H-E), pertenece al grupo de técnicas topográficas que nos proporciona la estructura general de los tejidos. La Eosina es un colorante ácido que tiñe al citoplasma y la Hematoxilina es un colorante básico que demuestra las estructuras nucleares; por lo tanto se observa el contraste entre citoplasma y núcleo de los diferentes tipos de tejidos que forman a un órgano.

MÉTODO:

1. Fijar en formol al 10% durante 24 horas o más.
2. Obtención de cortes por congelación o parafina.
3. Desparafinar
4. Lavar en agua formolada por lo menos una hora antes de la coloración
5. Teñir con Hematoxilina de un minutos a 8 minutos.
6. Lavar en agua de la llave hasta eliminar el exceso de colorante.
7. Diferenciar en alcohol ácido (rápido y vira a color rosál)
8. Lavar en agua destilada
9. Lavar en agua amoniacal (vira a color azul)
10. Lavar en agua de la llave
11. Lavar en agua destilada
12. Teñir con Eosina de uno a tres minutos.
13. Alcohol absoluto (rápido)
14. Alcohol absoluto-xileno de uno a tres minutos
15. Xileno I cinco minutos
16. Xileno II cinco minutos.
17. Xileno III cinco minutos
18. Montar en resina.

RESULTADOS:

Núcleos azul
Citoplasma rosa

COLORACIÓN TRICRÓMICA DE GALLEGO

FUNDAMENTO:

Una de tantas técnicas que ponen de manifiesto de manera especial a las fibras colágenas, fibras musculares y células epiteliales; ya que estas destacan completamente de los demás componentes tisulares, por lo tanto viene siendo una de las llamadas técnicas especiales, en donde se utiliza la mezcla de dos colorantes, el ácido picrico y carmín indigo y como colorante nuclear la fucsina fenicada de ziehl.

MÉTODO:

1. Cortes por congelación o parafina.
2. Agua formolada (dejar en agua formolada 1 hr, como mínimo)
- ✓ 3. Fucsina acética durante dos minutos
4. Lavar en agua destilada
5. Virofijación en formol acético 5 min. *fixar fucsina*
6. Lavar en agua destilada, hasta eliminar el exceso.
7. Pícro indigo carmín 1 min. *fibras colágenas*
8. Alcohol picrico *menor del* 1 min. *queratina*
9. Alcohol absoluto I 2 min.
10. Alcohol absoluto II 3 min.
11. Alcohol absoluto-xileno I 3 min.
12. Alcohol absoluto-xileno II 3 min.
13. Xileno I 2 min.
14. Xileno II 2 min.
15. Xileno III 2 min.
16. Montar en resina

RESULTADOS:

Núcleos	rojo violáceo
Haces colágenos	azul verde
Citoplasma	amarillo
Queratina	amarillo
Fibras musculares	amarillo verde

permite una mejor diferenciación de estructura

COLORACIÓN DE MALLORY

FUNDAMENTO:

Consiste en tratar a los cortes con soluciones no oxidantes de la hematoxilina, el hierro de la hemosiderina toma un color negro azul y el cobre toma un color azul claro, el hierro oxida al colorante.

MÉTODO:

1. Fijar en el líquido de Zenker o en formol al 10%.
2. Hacer cortes por parafina.
3. Lavar en agua destilada. Si se fijó en Zenker remover el precipitado de bicloruro de mercurio con una solución de iodo.
4. Poner los cortes en hiposulfito de sodio 2.5% durante 5 minutos.
5. Lavar en agua de la llave.
- ✓ 6. Teñir con fucsina ácida 0.1% durante 3 minutos.
- ✓ 7. Lavar en agua de la llave.
8. Fijar en ácido fosfomolibdico 10% durante 3 a 5 minutos.
- ✓ 9. Fijar en agua de la llave.
- ✓ 10. Teñir con solución colorante de Mallory 10 min.
11. Diferenciar con alcohol del 96% 5 min.
12. Aclarar en xileno de 1 a 3 minutos (dos cambios).
13. Montar en resina.

RESULTADOS:

Núcleos	anaranjado a rosa
Mucina	azul
Eritrocitos	anaranjado rojizo
Musculo estriado	anaranjado brillante
Neuroglia y células nerviosas	violeta rojizo
Cromatina	rojo a pardo amarillento.

*muy usada en
Cérvix, Cerebro*

BNE12M

COLORACIÓN DE SUDAN

FUNDAMENTO:

La demostración de lípidos se basa fundamentalmente en las propiedades físico-químicas del colorante más que a una reacción química específica con el tejido. Los lípidos son ácidos grasos de cadena larga insolubles en agua y soluble en éter, acetona, alcohol, xileno, etc. por lo tanto el reconocimiento de los lípidos se lleva a cabo en cortes por congelación o bien si no es posible, en cortes en parafina pero con fijación previa en formol calcio o formol calcio-bicromato, lo que permite estabilizar a los lípidos. Cuando los cortes se obtienen por congelación, se debe fijar la muestra en gelatina.

MÉTODO:

1. Fijar en formol calcio al 10%
2. Obtención de cortes por congelación.
3. Coloración de contraste con hematoxilina de Harris de 1 a 15 min.
4. Lavar con agua destilada, hasta eliminar el exceso de hematoxilina.
5. Virar en agua de la llave.
6. Lavar en agua destilada, por 5 minutos. *ad*
7. Sumergir los cortes en Sudán durante 5 minutos. *20-25 min*
8. Lavar en agua destilada.
9. Cubrir con gelatina glicerizada.

RESULTADOS:

Lípidos rojo brillante
Núcleos morado

TÉCNICA DE COLORACIÓN CON AZUL DE TOLUIDINA

FUNDAMENTO:

El azul de toluidina es un colorante básico del grupo de las tiazinas, que da reacción metacromática en presencia de grupos electronegativos; por lo que demuestra mucopolisacáridos sulfatados, y que para el caso de las células gaméticas en estado fresco e inclusive fijados, la coloración nos facilita la identificación del grado de madurez de estas sin necesidad de realizar el procesamiento histológico, teniendo como base escalas morfocromáticas.

MÉTODO:

1. Se toma una fracción muy pequeña de la gónada y se coloca en el centro de un portaobjetos limpio.
2. Con la ayuda de un bisturí se fracciona a la misma, con el objetivo de que las células gaméticas queden fuera de los sacos, folículos o tubos.
3. Se agrega una gota de azul de toluidina y se cubre la muestra con un cubreobjetos limpio.
4. Se determina el grado de madurez y sexo, por el tipo de células presente en la gónada.

PREPARACIÓN DEL AZUL DE TOLUIDINA:

Azul de toluidina 1g
Alcohol del 70% 100 ml.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS PARA LA TÉCNICA HEMATOXILINA-EOSINA

HEMATOXILINA:

Hematoxilina cristalizada	1 g
Alcohol etílico absoluto	10 ml
Alumbre de potasio y aluminio	20 g
Oxido rojo de mercurio	0.5 g
Agua destilada	299 ml

Se disuelve la hematoxilina en el alcohol y el alumbre en agua caliente, se mezclan ambas soluciones, se lleva la mezcla a ebullición y se agrega poco a poco el óxido de mercurio fuera de la parrilla para evitar la proyección del colorante. Se calienta la solución nuevamente hasta que la mezcla toma color rojo púrpura, se retira de la parrilla y se enfría. Filtrar antes de usar.

ALCOHOL ÁCIDO:

Alcohol del 70	99 ml.
Ácido clorhídrico	1 ml.

AGUA AMONICAL:

Agua destilada	80 ml.
Hidróxido de amonio	5 gotas.

EOSINA:

Eosina	1 g
Alcohol 75%	100 ml.

Se recomienda agregar unos granos de Orange G, para obtener una mejor coloración. Se puede utilizar en solución alcohólica o acuosa, agregando unas gotas de cloroformo para la preservación del colorante.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS PARA LA TÉCNICA TRICRÓMICA DE GALLEGO

FUCSINA ACÉTICA:

Agua destilada	10 ml.
Fucsina fenicada	10 gotas
Ácido acético	1 gota

FUCSINA FENICADA DE ZIEHL:

Fucsina básica	1 g
Fenol cristalizado	5 g
Alcohol del 96%	10 ml.
Agua destilada	90 ml.

FORMOL ACÉTICO:

Agua destilada	10 ml.
Formol puro	2 gotas
Ácido acético	1 gota

PICRO ÍNDIGO CARMÍN:

Carmín índigo al 1%	1 parte
Solución saturada de ácido pícrico	2 partes

ALCOHOL PÍCRICO:

Solución alcohólica (96%), saturada de ácido pícrico.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS PARA LA TÉCNICA DE MALLORY

SOLUCIÓN DE YODO:

Tintura de yodo al 10% 10 ml.
Alcohol del 70 100 ml.

SOLUCIÓN COLORANTE:

Azul de anilina 0.5 g
Orange G 2. g
Ácido oxálico 2. g
Agua destilada 100 ml.
Se mezcla todo, se hierve y se filtra en frío.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS PARA LA TÉCNICA DE SUDAN

SOLUCIÓN SOBRESATURADA DE SUDAN III O IV:

Alcohol isopropílico saturar con sudan
Filtrar antes de usar.

Alcohol isopropílico diluido:

Alcohol isopropílico 50 ml.
Agua destilada 50 ml.

GELATINA GLICERINADA:

Gelatina 7 g
Glicerina 50 ml.
Agua destilada 42 ml.

TÉCNICA DE DESHIDRATACIÓN.

1. Lavar con agua de la llave durante 1 a 12 horas.
2. Alcohol del 70% I 1 hr.
3. Alcohol del 70% II 1 hr.
4. Alcohol del 96% I 2 hrs.
5. Alcohol del 96% II 2 hrs.
6. Alcohol absoluto I 2 hrs.
7. Alcohol absoluto II 2 hrs.
8. Alcohol absoluto-xileno 15 min.
9. Xileno 15 min.
10. Parafina-xileno 15 min.
11. Parafina I 2 hrs.
12. Parafina II 2 hrs.
13. Inclusión en parafina.

TÉCNICA DE THEILACKER DESHIDRATACIÓN E INFILTRACIÓN EN AMERAFFIN. (Calculo para 100 ml.)

HORAS	SOLUCIÓN	ETANOL 95%	1-BUTANOL	AGUA DESTILADA
1	70% DE ETOH	70	-----	25
1	70% DE ETOH	70	-----	25
3	70% DE ETOH+NBA	50	20	30
3	83% DE ETOH+NBA	50	33	17
1.5	95% DE ETOH+NBA	45	55	-----
1.5	95% DE ETOH+NBA	45	55	-----
1	100% DE ETOH+NBA	25	75	-----
1	100% DE ETOH+NBA	25	75	-----
1	100% DE NBA	-----	100	-----
1	100% DE NBA	-----	100	-----
2.5-8	AMERAFFIN DE 55-57°C	-----	-----	-----

BIBLIOGRAFIA.

1. Alegre B. y J. Alheit. 1986. Un Nuevo método para la determinación de la fecundidad de la sardina peruana (*Sardinops sagax*). Boletín Instituto del Mar del Perú. Callao Perú. 10(3). 90 pp.
2. Alheit, J.B. Alegre., V.H. Alarcón y B.J. Macewicz. 1983. Batch fecundity and spawning frequency of various anchovy (Genus: *Engraulis*) population from upwelling areas and their use for spawning biomass estimates. Fish. Rep. Vol. 291, No. 3 pp 977-985.
3. Boyar, H.C. y R.A Clifford, An automatic device for counting dry fish eggs. Trans. Am. Fish. SOC., 96(3): 361.
4. Bruce A., D. Bray., L. Lewis., M. Raff., K.Roberts., J.D. Watson. 1994. Molecular Biology of the Cell. Third Edition . Garland Publishing. Inc. New York & London.
5. Castro G.J.L., O.M. Tapia V., H. Valles R. 1992. Informe técnico del comportamiento reproductivo del erizo rojo *Strongylocentrotus franciscanus*, de las cuatro zonas establecidas para la captura comercial, durante el período de marzo a noviembre de 1990. Proyecto Investigaciones Histológicas de recursos pesqueros del Pacífico Norte. Centro Regional de Investigación Pesquera de El Sauzal de Rodríguez. I.N.P. SEMARNAP. Documento Interno.
6. Castro-González, J.J. y O.M. Tapia-Vázquez. 1995. Frecuencia de desove de la anchoveta norteña (*Engraulis mordax*) en la costa occidental de Baja California, México. I.N.P. Semarnap. Ciencia Pesquera No. 11 (Nueva Época), 28-31.
7. Castro-González, J.J., H.M. Lizárraga-Rodríguez y O. Chapa-Morales. 1997. Fecundidad de la sardina crinuda *Opisthonema bulleri* (Piscis: Clupeidae) entre las costas de Sinaloa y Nayarit, México. Revista de Biología Tropical 44(3)/45(1): 659-661.
8. FAO. 1975. Manual de Ciencia Pesquera; Métodos para Investigar los Recursos y su Aplicación. Parte 2.
9. Fernández A.H., O.M. Tapia V. , y E. Uria G. 1978. Manual para el curso de Histología, Escuela Nacional de Ciencias Biología. Instituto Politécnico Nacional. Dpto. de Morfología. México D.F.
10. García-Cagide A., R. Claro., y D.V. Koshelev. 1982. Peculiaridades de los ciclos reproductivos de los peces de diferentes latitudes. Instituto de Oceanología, Academia de Ciencias de Cuba. Inf. Cient. Tec., 1-13
11. Giese A.C., J.S. Pearse y V.B. Pearse. 1991. Reproduction of Marine invertebrates. Vol. VI. Echinoderms and Lophophorates. The Boxwood Press. Pacific Grove, California.
12. Hunter, J.R. 1985. Preservation of northern anchovy in formaldehyde solution. In R. Lasker (editor) In: R. Lasker (editor) An Eggs Production Method for Estimating

Spawning Biomass of Pelagic Fish; Application to the northern anchovy *Engraulis mordax*. p 63-65 U.S. Dep. Commer., NOAA Tech. Rep. NMFS 36.

13. Hunter, J.R., N.C.H. Lo., and R.J.H. Leong 1985. Batch fecundity in multiple spawning fishes. In R. Lasker (editor) An Eggs Production Method for Estimating Spawning Biomass of Pelagic Fish; Application to the northern anchovy *Engraulis mordax*. U.S. Dep. Commer. NOAA Tech. Rep. NMFS 36:67-78.
14. Hunter, J.R. and D.R. Goldberg. 1980. Spawning incidence and batch fecundity in northern anchovy, *Engraulis mordax*. Fish. Bull., U.S. 77:641-652.
15. Hunter, J.R. and B.J. Macewicz. 1980. Sexual maturity, batch fecundity, spawning frequency, and temporal pattern of spawning for the northern anchovy, *Engraulis mordax*, during the 1979 spawning season. Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep. 21:139-149.
16. Hunter, J.R. y B.J. Macewicz. 1985a. Measurement of spawning frequency in multiple spawning fishes. In: R. Lasker (Editor) An eggs production method for estimating spawning biomass of pelagic fish: Application to the northern anchovy. *Engraulis mordax*. NOAA Tech. Rep. NMFS 36. U.S. Dep. Commer., Wash., D.C. pp 79-94.
17. Hunter, J.R. y B.J. Macewicz. 1985b. Rates of atresia in the ovary of captive and wild northern anchovy *Engraulis mordax*, Fishery Bulletin Vol. 83, No 2 pp 119-136.
18. Lagler K.F., Bardach J.E., Miller R.R., May Passino D.R. 1984. Ictiología. Primera edición. @ A.G.T. Editor, S.A. México 18. D.F.
19. Lasker, R. 1985. (Ed.) An egg production method estimating spawning biomass of pelagic fish: Application to the northern anchovy *Engraulis mordax*, p.p. 99 U.S. Dep. Commer. NOAA Tech. Rep. NMPS 36.
20. Leong, R. 1971. Induced spawning of the northern anchovy, *Engraulis mordax* Girard. Fish. Bull. U.S. 69:357-360.
21. Lo, N.C.M., J. Alheit y B. Alegre. 1986. Fecundidad parcial de la sardina peruana (*Sardinops sagax*). Bol. Inst. Mar del Perú, Callao, 10 (2). 60 pp.
22. Pineda-Barrera J., A.J. Díaz de León C. y F. Uribe Osorio. 1981. Fecundidad de la Langosta Roja *Panulirus interruptus* (Randall 1842) en Baja California. Ciencia Pesquera Inst. Nal. Pesca. Dpto de Pesca. México. I (1): 99-118.
23. Ruiz D.Ma.F. 1988. Fundamentos de Embriología y Fisiología de la Reproducción. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria, México.
24. Spannhof L. 1966. Histoquímica Práctica. Editorial Acribia. Zaragoza (España)
25. Tapia V.O. 1984. Manual de Técnicas Histológicas. Secretaría de Pesca. I.N.P. México.

26. Tapia V.O. M. y J.J. Castro González. 1996. Fecundidad de la Langosta roja *Panulirus interruptus* (Randall 1842) de Punta Eugenia Baja California Sur (Agosto 1995). Informe Técnico. C.R.I.P. de El Sauzal de Rodríguez B.C. SEMARNAP.
27. Tapia V.O., C.E. Coterio A. Y C.M. García C. 1988. Determinación de Madurez Gonadal y Fecundidad en Anchoqueta (*Engraulis mordax mordax*) de la Subpoblación Central. Ciencia Pesquera. Inst. Nal. Pesca. Sria. De Pesca. México (6):69-101.
28. Theilacker, G.H. 1985. Notas "Standard histological procedure used for the larvae and ovaries at the Southwest Fisheries Center, La Jolla, California".
29. Torres, V.J.R., G. García, V.A. Levy y R.I. Ochoa. 1985. Madurez sexual, peso promedio, proporción sexual y frecuencia de desovantes de *Sardinops sagax* en el Golfo de California para noviembre de 1984. Memorias de CIBCACIO, X Reunión, La Jolla California. agosto, 1985. p. 536-549.

FORMATO DE ESPECIMEN

PAG. ____ DE ____

ESPECIE _____

BARCO _____ CRUCERO _____ LINEA _____ FECHA _____

ARRASTRE _____ COLECCION _____ TIEMPO DE INICIO _____ FIN _____

PESO PARCIAL (Kg)	INDIVIDUOS + CANASTAS = TOTAL	N° PECES
INDETERMINADO		
MACHO (ACTIVO)		
MACHO (INACTIVO)		
HEMBRA (ACTIVA + HIDRATADA)		
HEMBRA (ACTICA)		
Total		

N° PEZ	LONG mm	SEXO	CODIGO MADUREZ RAZA	COND. COLEC.	PESO TOTAL (GR)	OTOLITO N°	TIPO DISEÑO MARCA SEL. MADUREZ	N° DE CONTROL ANOTÓ FORMOL CONGEL
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								
21								
22								
23								
24								
25								

TIPO DE
ESPECIMEN
E AL AZAR
S SELECCIONADA

SEXO
M MACHO
F HEMBRA
I INDETER.

CODIGO DE
MADUREZ
I INACTIVO
A ACTIVO
H HIDRATADA

GONADA
P PIEZA
V COMPLETA
B NO COLECTADA

FORMATO DE POSICION DE ARRASTRE

CRUERO [][] **MARCO** [][] **AERASTER** [][] **Orden.** [][]
Occ. [][]

AND MRS DIA NOMBRE _____

POSICION:	LATITUD			LONGITUD			METODO	
	grados	minutos	N	grados	minutos	W	(marque uno)	
INICIO							GPS	
FIN							NPS	

CODIGO DE POSICION DE PESCA: LETRA N°
CUADR.

PROFUNDIDAD DE LA RED
 Min. _____ Max. _____
 prom. _____
 Bragas [][][][]
 prom. _____ mts. _____

DE FONDO
 min. _____ max. _____
 prom. _____
 Bragas [][][][]
 prom. _____ mts. _____

TIEMPO (TSE)	INICIO	RED AFUERA
	EQUILIBRIO	HORA DE EQUIL.
FIN DE ARRASTRE		RED ABORDO
DURACION DEL ARRASTRE	MINUTOS	HORAS

VEL. DE REASTEE [] [] [] [] prom.
NUDOS
MAX. MIN.

CANTIDAD DE CABLE UTILIZADO [] [] [] [] FM

TEMPERATURA DEL AGUA METODO
SUPERFICIE °C

METODO
A PROF. °C
DE PESCA °C

INFORMATION GENERAL

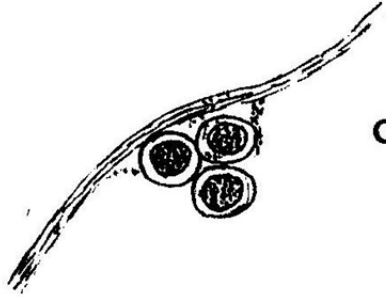
CONDICIONES DEL MAR _____ CLARIDAD _____

DIR. Y VEL DEL VIENTO

CONDICIONES DE DISTANCIA DE
DEL ARRASTRE ARRASTRE (M. N.)

OBSERVATIONS:

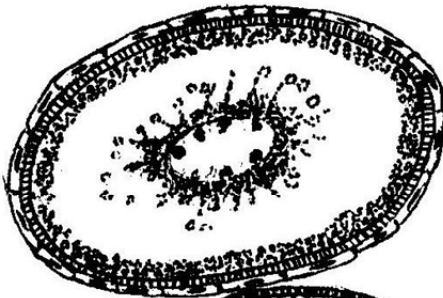
TIPO DE CÉLULAS GAMÉTICAS EN HEMBRAS (PECES)



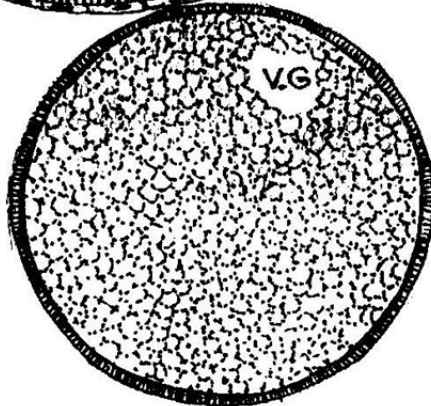
GRUPOS DE CÉLULAS OOGONIALES



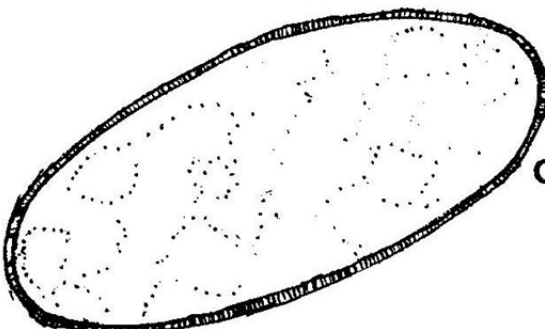
OVOCITOS NO VITELADOS



OVOCITOS PARCIALMENTE VITELADOS

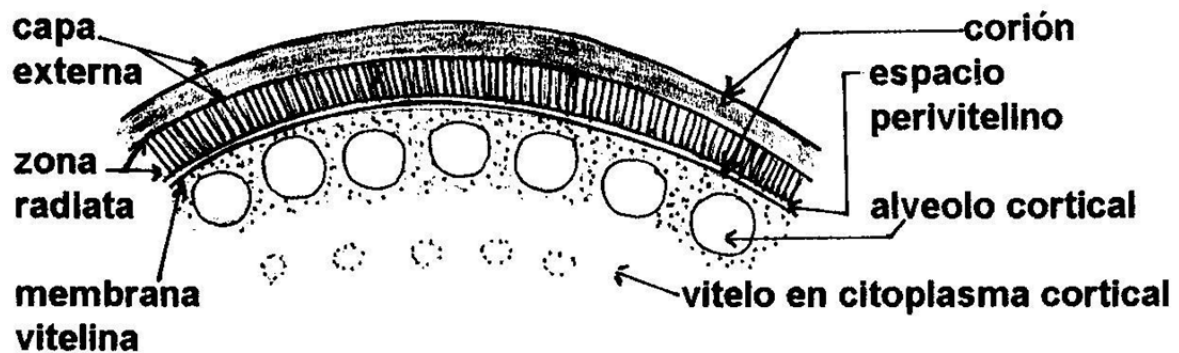
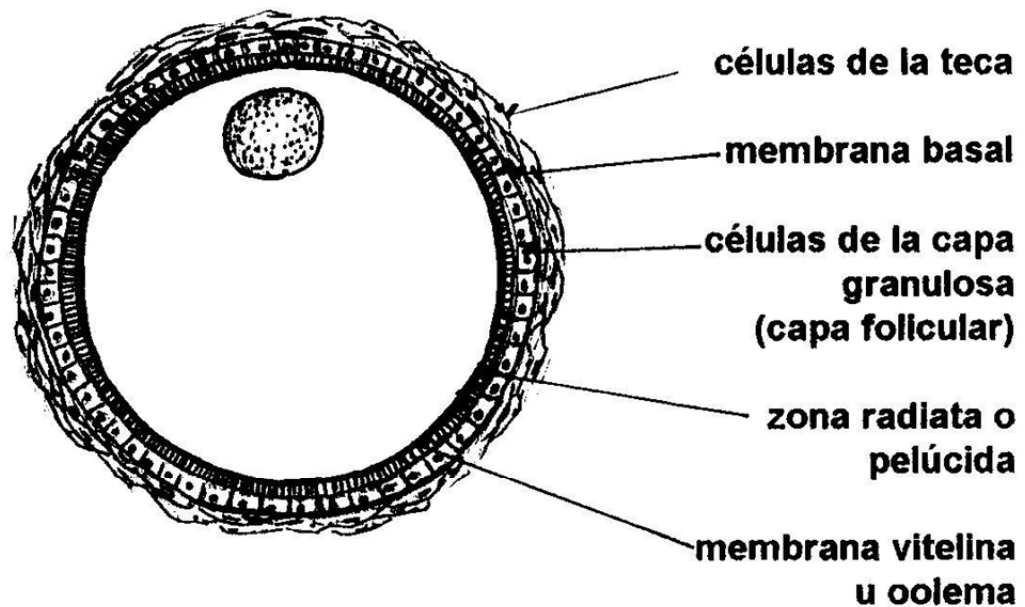


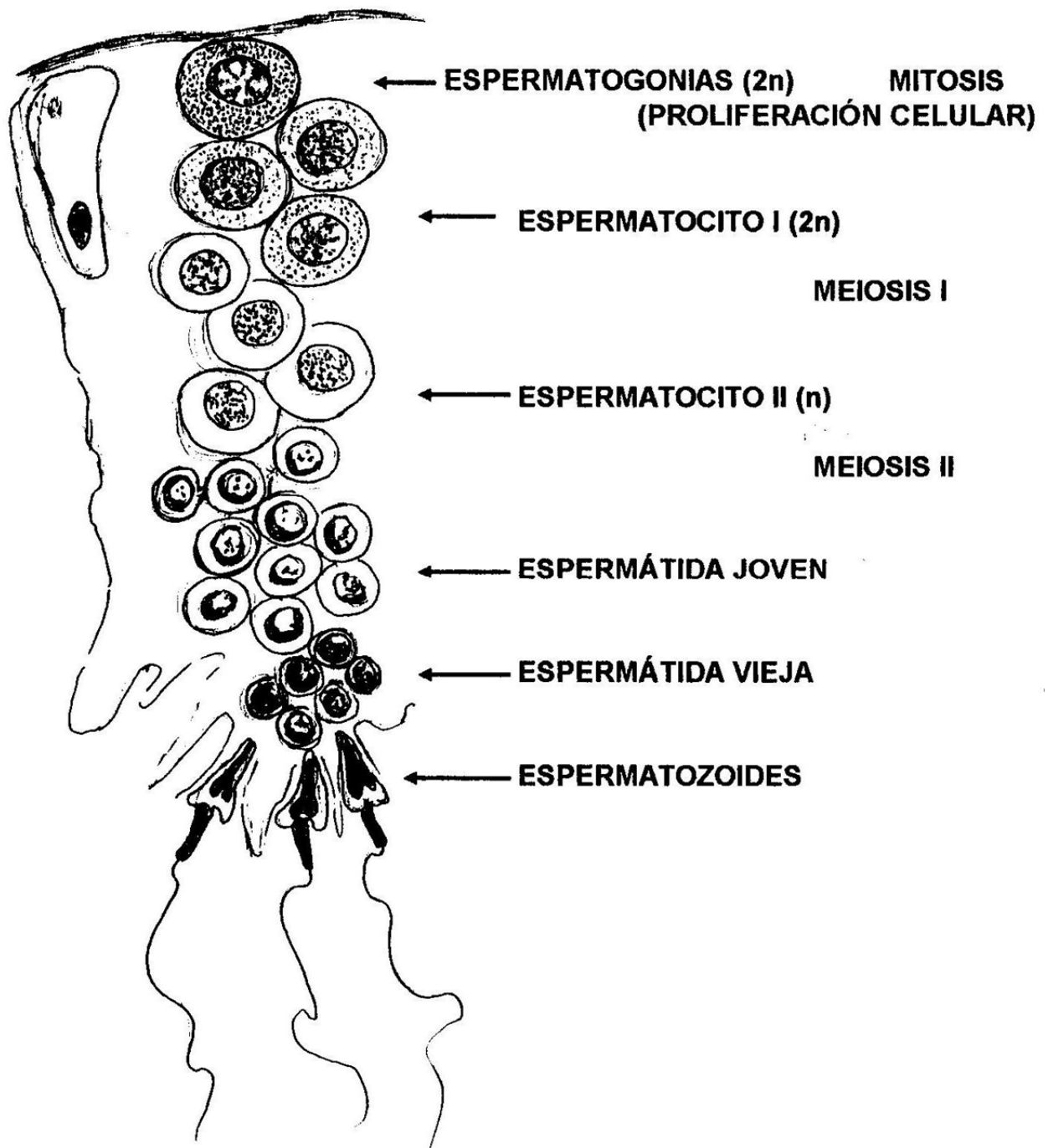
OVOCITOS VITELADOS



OVOCITOS HIDRATADOS

MORFOLOGIA DEL OVOCITO





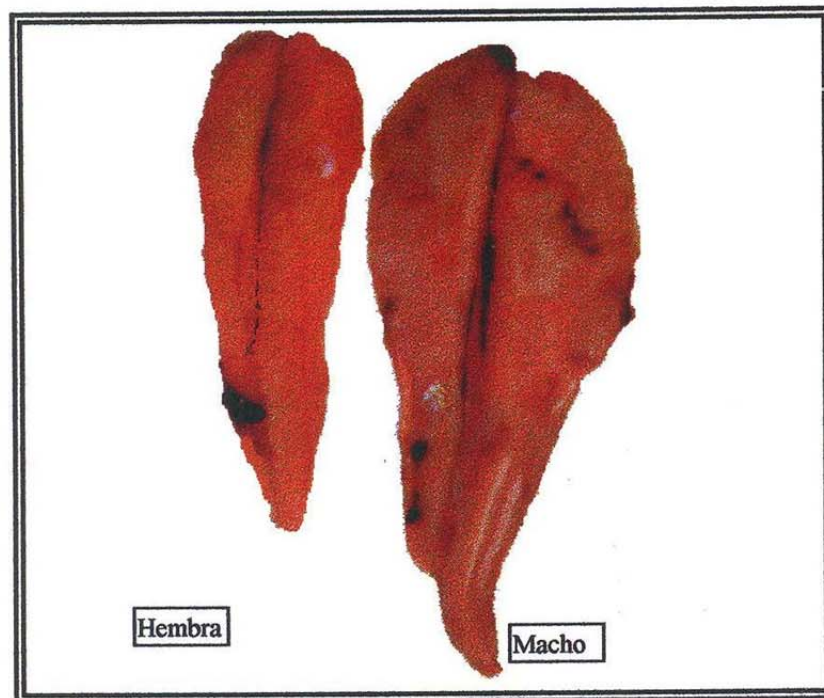


Fig. 1.- Anatomía macroscópica de gónadas de macarela *Scomber japonicus*.

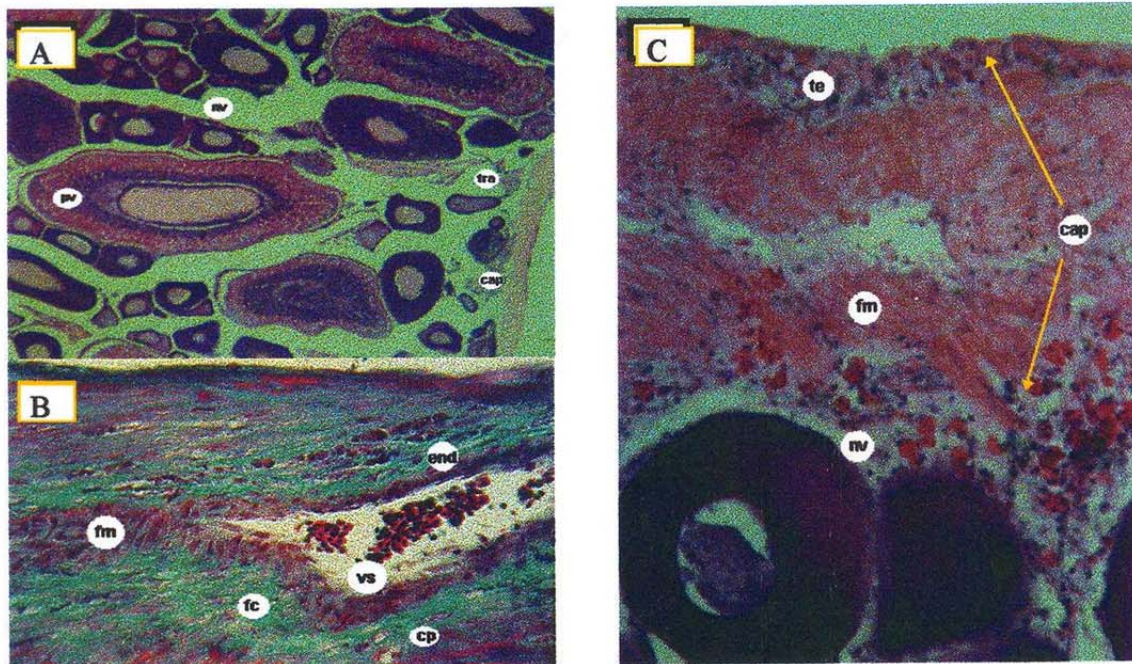


Fig. 2.- A. Gónada de anchoveta *Engraulis mordax*, ovocitos no vitelados(nv); ovocitos parcialmente vitelados (pv); trabécula (tra); cápsula (cap); (Téc. H-E). B. Cápsula de la gónada, fibras musculares (fm); vaso sanguíneo (vs); endotelio (end); fibras colágenas (fc) y capilar (cp). (Téc. T-G). C. Cápsula de la gónada de macarela, tejido epitelial (te) (Téc. H-E).

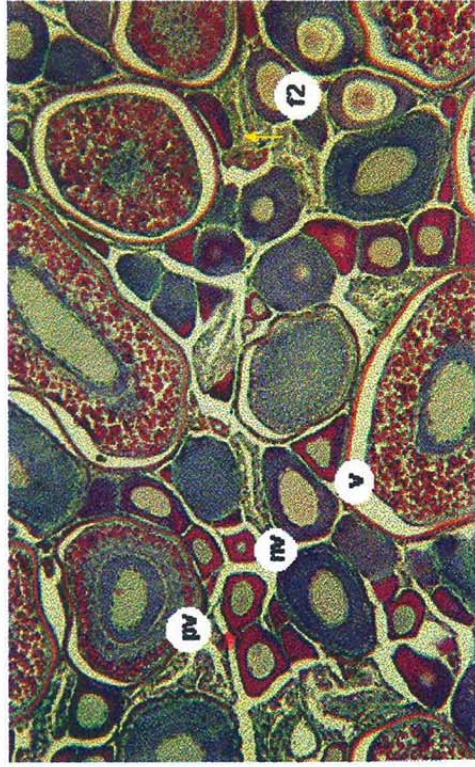


Fig. 3.- Gónada de Anchoveta, ovocito no vitelado (nv); parcialmente vitelado (pv); vitelado (v); folículo postovulatorio de dos días (Téc. Masson).

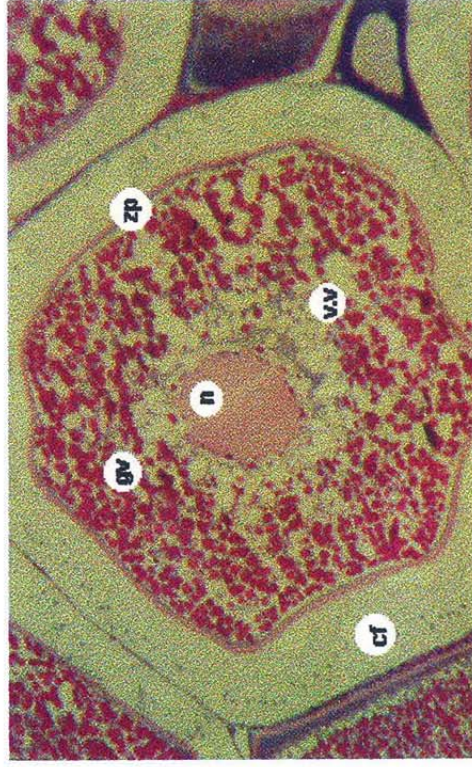


Fig.- 4.- Ovocito vitelado de Sardina *Sardinops caeruleus*; núcleo (n); gránulos de vitelo (gv); vesículas de vitelo (v.v); zona pelúcida (zp); capa folicular (cp). Téc. H-E.

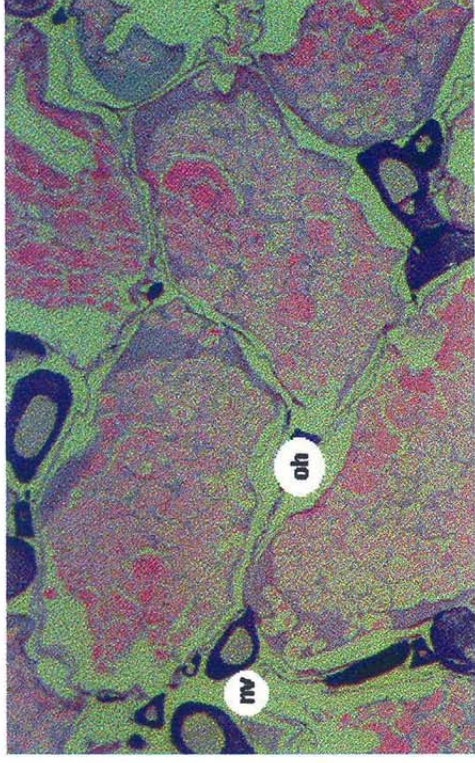


Fig. 5.- Gónada de anchoveta; ovocitos hidratados (oh); ovocitos no vitelados (nv); Téc. H-E.



Fig. 6.- Ovocito hidratado de anchoveta; Téc. de Masson.

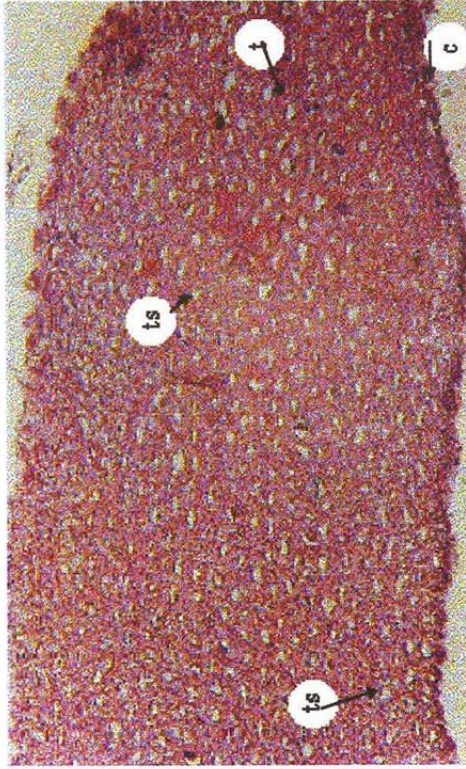


Fig.14.- Testículo de Chano *Micropogonias megalops*, en etapa indiferenciada; tubos seminíferos (ts) pequeños, cápsula (c) poco evidente y trabéculas (t) evidentes. Téc. H-E. (11.2x).

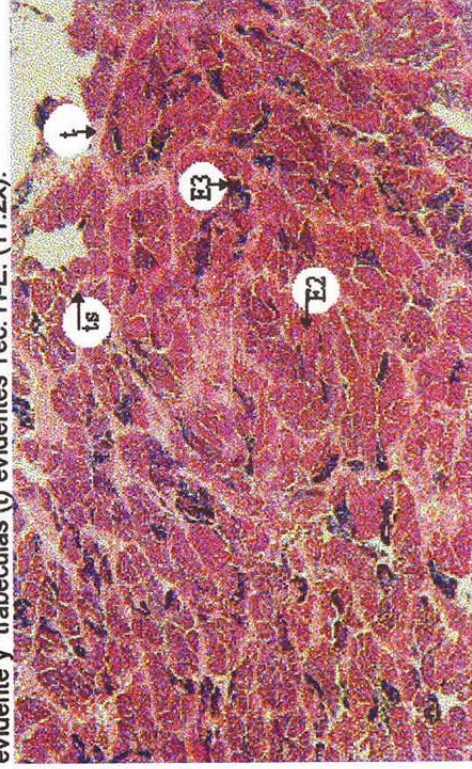


Fig. 15.- Testículo de Chano *Micropogonias megalops* en etapa gametogénica, trabéculas (t) delimitando los tubos seminíferos (ts), lespmatocitos (E2) y pocos espermatídes (E3). Téc. H-E. (28x).

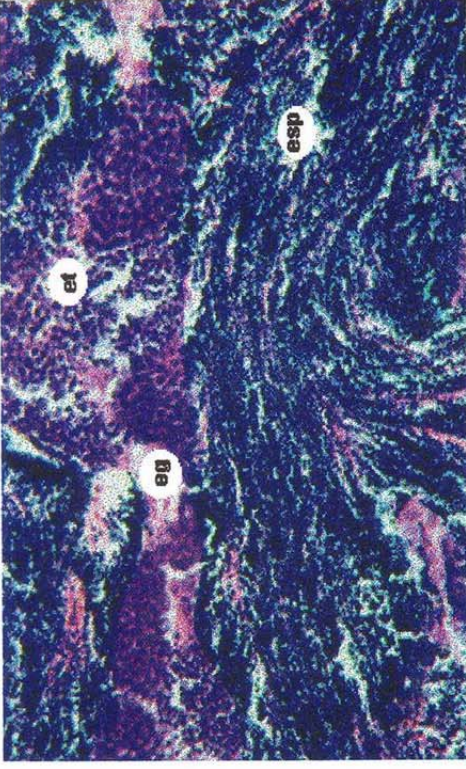


Fig. 16.- Testículo en etapa de maduración avanzada de macarela *Scorber japonicus*; espermatogonias (cg); espermatídes (et); espermatozoides (esp); Téc. H-E.

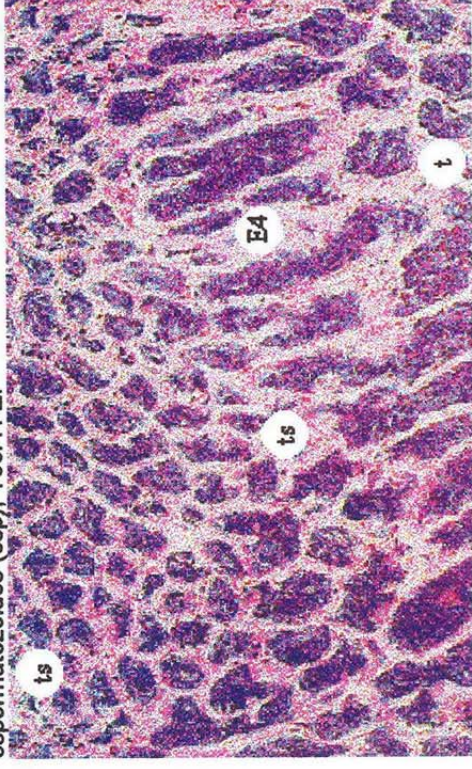
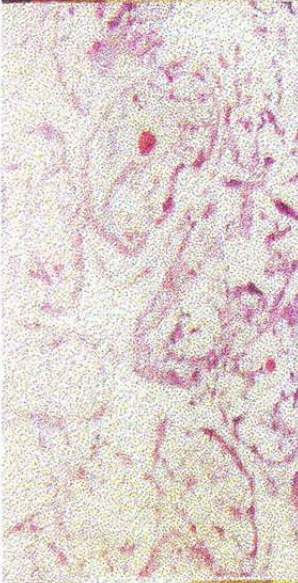
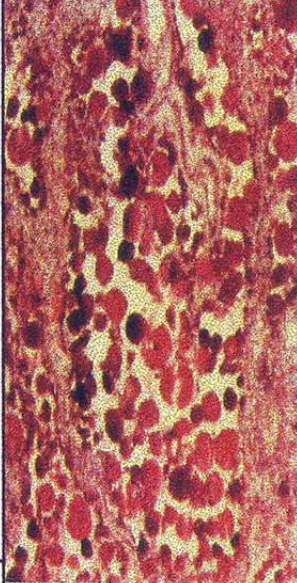
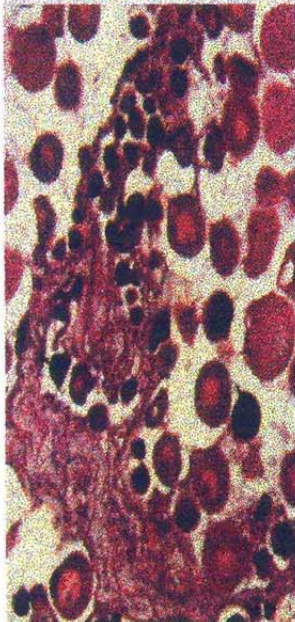
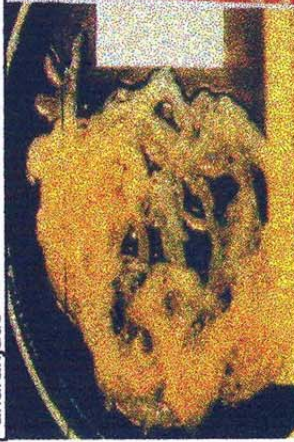
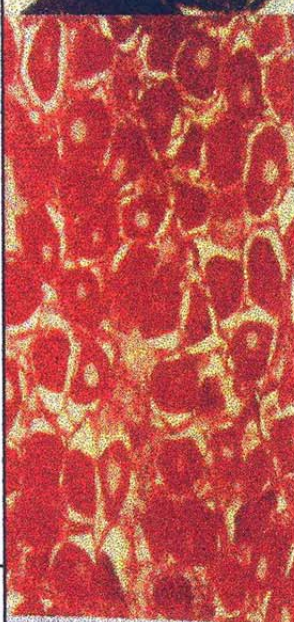
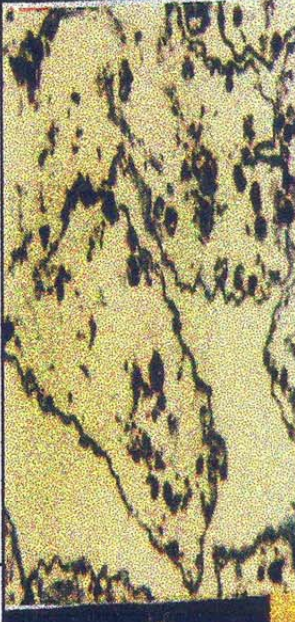
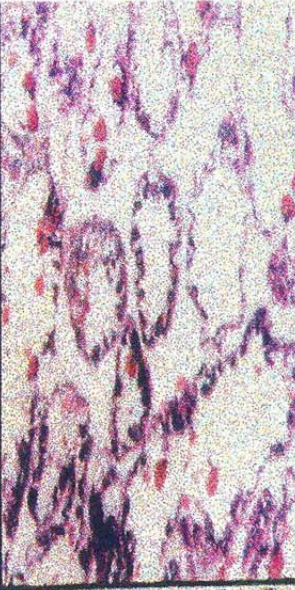


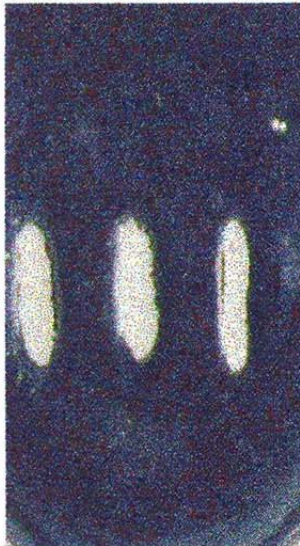
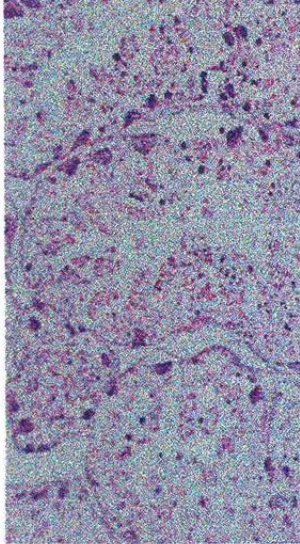
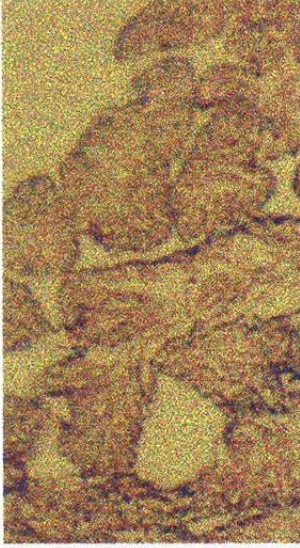
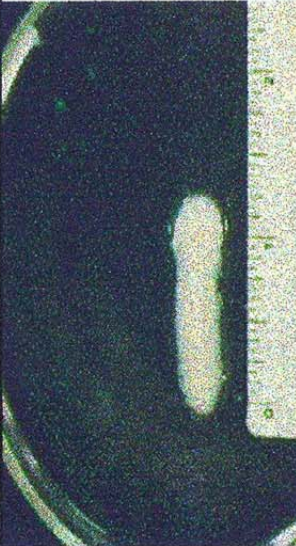
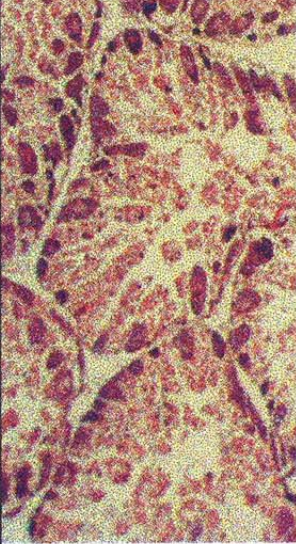
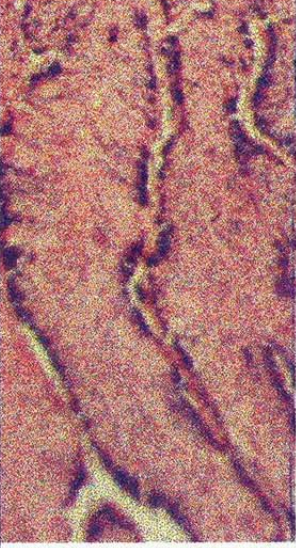
Fig. 17.- Testículo de Chano *Micropogonias megalops* en etapa madura, los tubos seminíferos presentan abundantes espermatozoides (E4) en sus cavidades. t: trabécula. Téc. H-E. (11.2x).

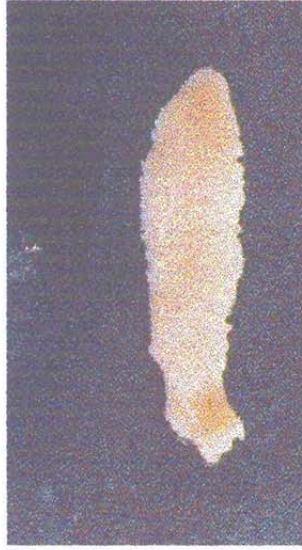
ESCALA MORFOCROMÁTICA PARA DETERMINAR LA MADUREZ EN EL PEPINO DE MAR
Parastichopus parvimensis e *Isostichopus fuscus*.

	Etapa I .-Muy pocos tubos ramificados de color transparente.		
	Etapa II.- Tubos más ramificados de color transparente.		
Folículos sin epitelio germinativo evidente o bien con células germinales en estado atrésico.			
Folículos con epitelio germinativo en proceso de proliferación celular, gran cantidad de ovogonias y ovocitos previtelogénicos en las hembras; espermatogonias y escasos espermatozoides en los machos.			

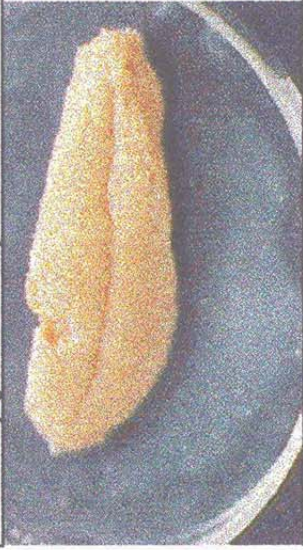
	Etapa III.- tubulos con gran cantidad de ramificaciones y mayor diámetro. En machos de color blanco y en hembras de color anaranjado		En el caso de las hembras el epitelio germinativo con presencia de ovocitos previtelogénicos y pocos vitelogénicos. En los machos con presencia de escasas espermatogonias, muchos espermatocitos, espermatídes y escasos espermatozoides en región central.					Los folículos totalmente turgentes, debido a la presencia de gran cantidad de células maduras. Ovocitos vitelogénicos en las hembras y espermatozoides en los machos.	Etapa IV.- Tubulos muy ramificados y de gran grosor, en machos de color blanco y en hembras anaranjado.				Etapa V.- Reducción del número de tubulos, algunos bien conformados y otros degenerados de forma de rosario.	Folículos colapsados con ovocitos en reabsorción y atrésicos en la hembras; grupos de espermatozoides formando cuerpos atrésicos y gran cantidad de células fagocíticas.
---	--	--	---	---	---	--	---	--	---	---	--	---	--	---

ESCALA MORFOCROMÁTICA PARA DETERMINAR MADUREZ EN EL ERIZO ROJO *Strongylocentrotus franciscanus*.

	Etapa I.- Gónadas pequeñas en forma de lengua, de color transparente cuando aún no maduran y amarillo pálido cuando ya han madurado.		Folículos con o sin presencia de células gaméticas en reabsorción o bien con grupos de células primordiales, en su primera etapa de desarrollo, puede o no diferenciarse el sexo.	
	Etapa II.- Gónadas en forma de lengua, de coloración amarillo pálido		Folículos con epitelio germinativo con mayor actividad . En el caso de las hembras con gran cantidad de ovogonias y ovocitos tipo I y gran cantidad de gránulos de reserva. En los machos el epitelio germinativo con presencia de espermatogonias y espermatozoides.	



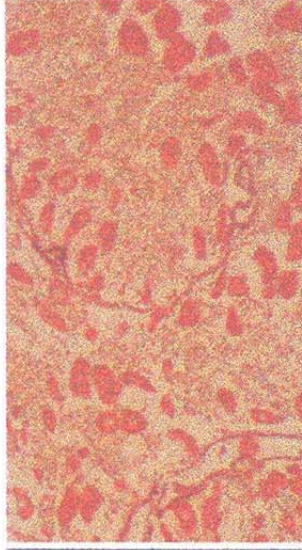
Etapla III.- Las gónadas aumentan en grosor y longitud, tomando una coloración de amarillo fuerte a anaranjado. Si se hace presión, se observa una secreción de color blanco en el macho y ligeramente anaranjado en la hembra.



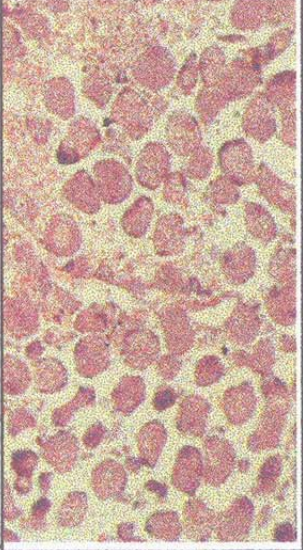
Etapla IV.- Gónadas grandes y voluminosas muy bien definida; si se aplica una pequeña presión se expulsan células gaméticas.



Etapla V.- Gónadas con bordes irregulares (despeinadas), frágiles y con gran cantidad de secreción. Su color es amarillo fuerte o anaranjado.



Los folículos de la gónada son muy regulares. En las hembras se encuentran ovocitos tipo I, II y en la luz, ovocitos tipo III y algunos tipo IV. En los machos se encuentran todo tipo de células gaméticas, presentando mayor proporción de espermátides y espermatozoides.



Los folículos se hacen turgentes por la presencia de ovocitos tipo IV en el caso de las hembras, y por los espermatozoides en los machos.



Los folículos se observan colapsados o irregulares, con presencia de células gaméticas en reabsorción.

