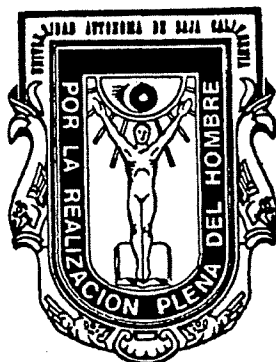


**UNIVERSIDAD AUTONOMA
DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS**



**DETERMINACION DE LA TALLA Y EDAD DE PRIMERA
MADUREZ SEXUAL Y FECUNDIDAD DE LA TRUCHA
ARCOIRIS *Oncorhynchus mykiss nelsoni*, DE LA SIERRA
SAN PEDRO MARTIR, B.C., MEXICO**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL TITULO DE**

BIOLOGO

PRESENTAN

**DORA LUZ LEON GARCIA
MARIA ISABEL MONTES PEREZ**

ENSENADA, B. C.

DICIEMBRE DE 1992

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS

DETERMINACION DE LA TALLA Y EDAD DE PRIMERA
MADUREZ SEXUAL Y FECUNDIDAD DE LA TRUCHA ARCOIRIS
Oncorhynchus mykiss nelsoni DE LA SIERRA SAN PEDRO
MARTIR, B.C., MEXICO.

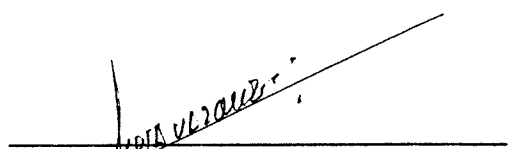
TESIS PROFESIONAL
QUE PRESENTAN:

DORA LUZ LEON GARCIA
MARIA ISABEL MONTES PEREZ

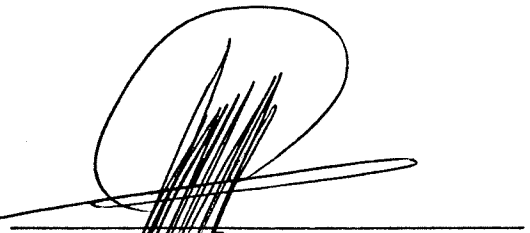
APROBADO POR:



M. en C. GORGONIO RUIZ CAMPOS
PRESIDENTE



BIOL. OLIVIA TAPIA VAZQUEZ
SECRETARIO



BIOL. ELIAS TORRES BALCAZAR
PRIMER VOCAL

AGRADECIMIENTOS

Nuestros más sinceros agradecimientos al M. en C. Gorgonio Ruiz Campos, director de esta tesis, por su valiosa ayuda en el desarrollo del presente trabajo.

A nuestra sinodal Biol. Olivia Tapia Vazquez, por su gran ayuda y consejos para la realización de este trabajo, y su sincera amistad.

Al Biol. Elias Torres Balcazar, por las sugerencias y revisión de esta tesis.

A los Biols. Marcelo Rodriguez y Jorge Alanis, por sus valiosos consejos.

A nuestra compañera y amiga P. B. Angélica Bastidas, los datos histológicos sobre el ciclo gonadal de la trucha.

A nuestra compañera P. B. Martha E. Valles Rios, por sus consejos y gran amistad.

Al Biol. Guillermo Bojorquez Rangel, por sus consejos y ayuda en el uso de la computadora.

Al P. B. Héctor Valles Rios , por su amistad y apoyo en la toma de material fotográfico.

Al P. Ing. Rafael Montes Pérez, por la elaboración del material gráfico.

A todas aquellas personas que de alguna manera colaboraron en la elaboración de esta tesis; nuestros más sinceros agradecimientos.

RESUMEN

Se determinó la talla y edad de primera madurez sexual de 269 truchas durante un año (Febrero de 1988 a Enero de 1989) en el Arroyo San Rafael, Sierra San Pedro Mártir, B.C., de las cuales las gónadas de 128 organismos se analizaron histológicamente con la técnica Hematoxilina-Eosina. La talla y edad de primera madurez se registró en especímenes de 103-112 mm LP y 1 año de edad, respectivamente. La fecundidad total y por gónada fue determinada en 24 hembras grávidas por conteo directo. La fecundidad total *per capita* fue 192 ± 77 ovocitos, y registró una correlación significativa ($p < 0.05$) con la talla, peso y edad. La fecundidad de la gónada izquierda presentó un promedio de 79 ± 44 ovocitos, en cambio la derecha, registró 113 ± 54 ovocitos. El tamaño promedio de ovocitos maduros fue de 2.65 ± 0.41 mm, y es independiente de la talla y peso de la trucha.

CONTENIDO

	Pag.
1.- Introducción	1
2.- Antecedentes	3
3.- Descripción del área de estudio	17
4.- Material y Métodos	20
4.1.- Colecta de truchas	20
4.2.- Talla y edad de primera madurez sexual	20
4.3.- Determinación de edad y frecuencia de tallas	23
4.4.- Fecundidad	23
4.5.- Análisis estadístico	25
5.- Resultados	27
5.1.- Temperatura	27
5.2.- Diagnóstico histológico	29
5.2.1.- Organismos inmaduros	29
5.2.2.- Organismos inmaduros indiferenciados	29
5.2.3.- Organismos inmaduros diferenciados	31
5.3.- Talla y edad de primera madurez sexual	37
5.4.- Fecundidad	39
5.5.- Análisis bioestadístico	47
6.- Discusión	51
7.- Conclusión	59
8.- Literatura citada	60
9.- Apéndices	72

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Fig. 1- Localización geográfica del área de estudio.....	19
Fig. 2- Anatomía interna de trucha arcoiris, <i>O. mykiss nelsoni</i>	22
Fig. 3- Temperatura del agua y aire para el arroyo San Rafael, Sierra San Pedro Mártir, B. C.....	28
Fig. 4- Frecuencia relativa de organismos maduros e inmaduros por clase-talla, de la trucha arcoiris <i>O. mykiss nelsoni</i>	40
Fig. 5- Frecuencia relativa por sexo y edad de la trucha arcoiris <i>O. mykiss nelsoni</i> , Arroyo San Rafael, SSPM.....	41
Fig. 6- Frecuencia relativa de organismos maduros e inmaduros para las diferentes edades de la trucha arcoiris, <i>O. mykiss nelsoni</i>	42
Fig. 7- Relación entre la longitud patrón y fecundidad observada y calculada de truchas hembras, <i>O. mykiss nelsoni</i> , SSPM.....	49
Fig. 8- Relación entre el peso y la fecundidad observada y calculada de la trucha arcoiris <i>O. mykiss nelsoni</i> , SSPM.....	50

LISTA DE TABLAS

	Pag.
Tabla I. Datos bioecológicos de individuos inmaduros de <i>Oncorhynchus mykiss nelsoni</i>, arroyo San Rafael Sierra San Pedro Mártir; Febrero 1988 a febrero de 1989	30
Tabla II. Frecuencia de individuos por clase de talla de trucha arcoiris <i>O. m. nelsoni</i>, señalando el sexo y la edad	38
Tabla III. Número de truchas hembras analizadas por mes para fecundidad, indicando número de ovocitos por gónada, fecundidad promedio y diámetro de ovocito (mm)	45.

LISTA DE PLACAS

Pag.

Placa 1-	Gonada indiferenciada de trucha arcoiris <i>Oncorhynchus mykiss nelsoni</i> , mostrando: Membrana peritoneal (MP), células primordiales germinales (CPG), células mesenquimatosas (CM). H-E Magnificación 112X.....	33
Placa 2-	Gonada indiferenciada de trucha arcoiris. Membrana peritoneal (MP), tejido conjuntivo (TC), fibroblastos (F), células primordiales germinales (CPG), células mesenquimatosas (CM) y eritrocitos (E) H-E Magnificación 280X....	34
Placa 3-	Gonada indiferenciada, mostrando agregados o nidos (N), constituidos por células primordiales germinales. H-E Magnificación 280X..	35
Placa 4-	Gonada diferenciada (ovario), cápsula (C), folículo (F), oocitos previtelogénicos (O.I y O.II). H-E Magnificación 112X.....	36
Placa 5-	Ovocito maduro de una hembra (edad I). H-E. Magnificación 11.2X.....	43
Placa 6-	Gonada (testículo), en etapa madura. H-E. Magnificación 112X.....	44

1. INTRODUCCION

La trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), antes referida como *Salmo gairdneri* Richardson (c.f., Smith y Stearley, 1989) es originaria en Norteamérica de la vertiente costera del Pacífico desde el sur de Alaska hasta México (McCrimmon, 1971), donde existen tanto poblaciones migratorias como totalmente de agua dulce o vicarias. Esta especie ha sido introducida extensivamente en muchas partes del mundo (McCrimmon, op. cit.) aunque poblaciones silvestres permanecen aún en algunos lugares (Maitland, 1980).

La trucha arcoiris bajacaliforniana *Oncorhynchus mykiss nelsoni* (Evermann), es una subespecie endémica de salmónido confinada a los arroyos de la pendiente occidental de la Sierra San Pedro Mártir, B.C. (Follett, 1960). Las primeras colectas realizadas para esta trucha datan de 1905, cuando fue colectada por primera vez por E.W. Nelson, durante un recorrido de exploración en el Río Santo Domingo, Sierra San Pedro Mártir. Estos especímenes fueron posteriormente descritos por Evermann (1908), como una especie nueva, *Salmo nelsoni*. Snyder (1926), realizó otra expedición de colecta al área antes aludida; concluyendo que unicamente en el Río Santo Domingo se encuentran las truchas descritas por Evermann; la cual es considerada como una forma geográficamente aislada de trucha arcoiris, además señala el error de Evermann en el conteo de las escamas de

la serie lateral y la posible relación con la trucha del Río Kern y otras especies de trucha dorada, que lo llevaron a considerarla como una especie nueva.

El presente trabajo contribuye al estudio de la biología reproductiva y manejo poblacional de esta subespecie endémica, determinando su talla y edad de primera madurez sexual, mediante la aplicación del análisis histológico. Además se determina la fecundidad, que permitirá establecer un análisis integrativo con respecto a su dinámica poblacional, cuyo conocimiento es básico no sólo para futuros estudios de tipo acuicultural, sino también para su conservación y un manejo integral del recurso.

Este estudio forma parte del proyecto de investigación denominado: "Distribución y bionomía de la trucha de la Sierra San Pedro Mártir, B.C. (*Salmo gairdneri nelsoni*), como especie potencialmente cultivable en Baja California"; el cual es desarrollado en la Facultad de Ciencias, U.A.B.C., con el apoyo económico del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (P220CC0R-892393, PCECCNA-050389), la Secretaría de Educación Pública (88-01-081, 89-01-185) y la Dirección de Investigación y Posgrado, U.A.B.C. (0148).

2. ANTECEDENTES

Los salmónidos comprenden a los peces conocidos comunmente como salmones y truchas holárticas, ninguna especie de esta importante familia es totalmente marina, siendo ya sea anádromas o enteramente de agua dulce. Sus miembros son originarios de Europa, Noroeste de Africa, Asia Septentrional y Norteamérica, pero han sido introducidos en muchos lugares del mundo (Maitland, 1980).

Algunos autores coinciden en indicar que los factores ambientales están implicados en la iniciación de la maduración y eventos reproductivos, tales como: el fotoperíodo (Hoover y Hubbard, 1937), la temperatura (Titarev, 1974), y el estado nutricional (Wydosky y Cooper, 1966; Alison, 1951, Carlson y Hale, 1973 *fide* Whitehead y Bromage, 1978), pareciendo ser éste último factor el más importante; lo cual se ve reflejado en los diferentes registros sobre talla y edad de primera madurez sexual que señalan estas variaciones en diferentes especies de peces.

En lo que respecta a la trucha arcoiris de la Sierra San Pedro Mártir (*Oncorhynchus mykiss nelsoni*), no se han realizado estudios sobre este tema, por lo que los antecedentes se apoyarán en los trabajos sobre otras subespecies o stocks de la serie *mykiss*, así como de otros miembros congénéricos.

Taube (1976), considera que el tamaño al cual los peces alcanzan su madurez sexual así como el número de

ovocitos que ellos producen, son parámetros básicos en el manejo de especies de importancia deportiva y comercial.

Wydoski y Cooper (1966) en su estudio con la trucha de arroyo (*Salvelinus fontinalis*), observan que el tamaño del organismo esta relacionado con su madurez sexual, encontrando que en la clase de edad de dos años, el porcentaje de machos y hembras maduras aumenta con el incremento de la longitud total (LT); sin embargo existe variación con respecto a la talla en que alcanzan la madurez sexual, ya que un organismo macho fue maduro a una longitud de 86.36 mm; mientras que uno de 170.18 mm de longitud estaba aún inmaduro; igualmente sucede en las hembras, encontrando una hembra madura de 91.44 mm de longitud y una que alcanzaba 147.32 mm se encontraba aún inmadura.

De manera similar a la trucha de arroyo, la trucha café (*Salmo trutta*) del Río Platte, Michigan, E.U.A., inicia la madurez sexual en los machos a una talla de 177 y 201 mm LT y en las hembras cuando estas alcanzan tallas entre 202 y 227 mm LT con un porcentaje de organismos maduros del 35% para ambos sexos (Taube, 1976). En forma general la madurez sexual se presenta a los 253 mm de LT en machos y a los 304 mm LT en las hembras, (Taube, op. cit.).

McAffe (1966, citado en Titarev, 1974); registró el inicio de la madurez sexual para la trucha arcoiris en

condiciones silvestres, generalmente desde el primer hasta el quinto año de edad alcanzando una longevidad de 7 a 11 años. Anteriormente Kwain (1971) estableció que esta especie alcanza su madurez sexual a una edad de dos a cinco años, con un promedio de dos a tres años; en donde los machos maduran más tempranamente que las hembras. Otros autores (e.g., Kato, 1975, Rounsefell, 1957; Nicholls, 1958; Allen y Sanger, 1960; Lagler et al., 1984; Naevdal et al., 1979), también han demostrado que la trucha arcoiris madura a los dos años de edad, principalmente las hembras, aunque algunos machos de un año de edad ya están maduros.

En dos estudios contemporáneos sobre el proceso de maduración de la trucha arcoiris (Oota et al., 1965; Yamamoto et al., 1965), observaron que estos organismos alcanzan su madurez sexual desde su primer año de vida.

Estudios similares con otras especies congénéricas de salmónidos destaca aquel de Wydosky y Cooper (1966), sobre la trucha *Salvelinus fontinalis*; la cual alcanza su madurez al final de su tercer año de vida, aunque algunos organismos machos y hembras fueron observados maduros a los dos años y un solo organismo macho estaba maduro en su primer año; asimismo, se encuentran otros organismos que no coinciden con este patrón (un macho inmaduro de cuatro años y dos hembras de tres años en la misma condición). Otro caso es el de la trucha *Salvelinus namaycush*, la cual alcanzó su

madurez sexual a partir de su quinto año de vida (Hanson y Wickwire, 1967); mientras que la trucha café (*Salmo trutta*) del Río Platte en Michigan, E.U.A., inicia su madurez al final de su segundo año de vida, predominando los machos; pero al final del tercer año la incidencia de organismos maduros es igual en ambos sexos (Taube, 1976).

Otro aspecto importante a considerar en la biología reproductiva de una especie; es la fecundidad; la cual es normalmente utilizada para denotar el número de ovocitos producidos por hembra por estación del año; asimismo, debe ser considerado el tamaño al cual maduran los ovocitos (Rounsefell, 1962). Para cada especie de salmónido, existe un rango normal en el número y tamaño de ovocitos producidos. El tamaño de los ovocitos es más constante para cada especie que el número, pero tiende a ser mayor en individuos más grandes (Rounsefell, 1957; 1962).

Son muchos los estudios sobre fecundidad que describen el número de ovocitos ováricos de diferentes especies ícticas. La mayoría de los estudios muestran una amplia variación en el número de ovocitos desovados por pez, que son aparentemente similares para la misma población. Estas variaciones no pueden ser explicadas satisfactoriamente debido a que se desconocen las fluctuaciones entre poblaciones alopátricas o en la misma población en diferentes tiempos (Bagenal, 1969).

La fecundidad es un tema especialmente interesante en

las diferentes especies de peces, particularmente en salmónidos, ya que el número comparativamente reducido de ovocitos grandes permite una relación demostrable entre el potencial reproductivo de los stocks en proceso de desove y el número de juveniles sobrevivientes (Rounsefell, 1957). Así mismo, Vladykov (1956), menciona que el conocimiento del número de ovocitos desovados en función de la talla del pez, es de vital importancia para el manejo de peces de cultivo con propósitos de reproducción, manteniendo organismos hembras de menor tamaño pero que produzcan cantidades equiparables de ovocitos que aquellas más grandes, las cuales consumen más alimento.

El número de ovocitos producidos por una hembra varía con la especie, edad y tamaño del pez, asimismo por las condiciones ambientales (e.g., disponibilidad de alimento, temperatura del agua, temporada del año; Lagler et al., 1984). Neave (1948, *fide* Rounsefell, 1957), estableció que la variación en el número de ovocitos entre especies de *Oncorhynchus*, está relacionada con las condiciones variantes de su ciclo de vida.

Entre los diferentes trabajos de fecundidad en salmónidos, destaca aquel de Needham y Taft (1934), sobre la trucha arcoiris de Waldell Creek, San Francisco, California, (E.U.A.), donde registran que una hembra de 60 cm LT puede desovar de 4,800 a 6,400 ovocitos.

Por su parte, Brown y Kamp (1942), registraron un

número promedio de ovocitos de 1,285 para 37 hembras de trucha café del Río Madison, Montana (E.U.A.), las cuales presentaron una longitud total promedio de 388.62 mm y un peso promedio de 606.69 g; dicho número de ovocitos es muy similar al encontrado por Vladykov y Legendre (1940), para esa misma especie. Para el caso de la trucha de arroyo (*Salvelinus fontinalis*), Ricker (1932, *fide* Vladykov, 1956), registró para una hembra de 144 mm de longitud, un número de 100 ovocitos, posiblemente como su primer desove. Por otra parte, el número promedio de ovocitos para 63 hembras de salmón plateado (*Oncorhynchus kisutch*) con una longitud furcal promedio de 63 cm fue de 3,100 ovocitos en el año de 1953 (Allen, 1958).

Existe una gran cantidad de información, que demuestra la relación directa entre la fecundidad y la longitud del pez (Nicholls, 1958; Allen y Sanger, 1960; Nomura, 1963; Kato, 1975; Bromage et al., 1990). En algunos casos esta relación no se presenta; un ejemplo de ello fue encontrado por Brown y Kamp (1942), para la trucha café del Río Madison Montana (E.U.A.).

En lo que concierne a la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), existen diferentes estudios que demuestran la relación directa entre el número de ovocitos y la longitud del pez. Dentro de dichos estudios sobresalen el de Donaldson y Olson (1955), quienes observan un aumento de 230 ovocitos por pulgada de incremento en longitud.

En el trabajo de Vladykov y Legendre (1940), ellos determinan el número de ovocitos ováricos de la trucha de arroyo (*Salvelinus fontinalis*) de Laurentide Park, Quebec (Canadá), observando que a medida que aumenta la talla del pez el número de ovocitos se incrementa; un promedio de 131 ovocitos fue registrado para los individuos de la clase-talla de 125-149 mm LT, y un promedio de 1,247 ovocitos para la clase-talla de 355-379 mm LT. En alusión a lo anterior, Vladykov (1956), menciona que en todas las especies de peces existe una relación directa entre la longitud de las hembras y el número de ovocitos. Resultados similares fueron encontrados por Henderson (1963), quien observó una relación lineal entre la fecundidad y la longitud de la trucha de arroyo; mientras que Wydoski y Cooper (1966), describen la relación en una ecuación exponencial, observando en la trucha de arroyo en Pennsylvania presenta un incremento en la fecundidad promedio de 18 ovocitos para una hembra de 91.44 mm LT a 213 ovocitos para una hembra de 195.58 mm LT.

De igual forma, se ha demostrado para otras especies de salmónidos la relación existente entre la longitud furcal y el número de ovocitos; tal es el caso de la trucha café (Nicholls, 1958; Taube, 1976), y la trucha *Salvelinus namaycush* del Lago Tahoe; ésta última muestra un incremento de casi 548 ovocitos por pulgada de incremento en longitud y un coeficiente de correlación de 0.91 (Hanson y Wickwire,

1967).

Foerster y Pritchard (1941), analizaron la relación entre la cantidad de ovocitos y la longitud total en dos especies de salmónidos (salmón "sockeye" *Oncorhynchus nerka*, y salmón rosado *O. gorbuscha*) en dos localidades de Columbia Británica (Canadá); encontrando que éstos tienen una correlación positiva; la tasa de incremento en el número de ovocitos por cada centímetro de incremento en longitud del salmón "sockeye" fue de 137 ovocitos, y para el salmón rosado 57 ovocitos. Subsecuentemente, Helle (1970), aporta resultados de sus investigaciones realizadas en 1962 y 1963, con el salmón rosado de Olsen Creek, Prince William Sound, Alaska; donde encontró para varios años una relación significativa entre el número de ovocitos y la longitud del salmón. Por su parte Allen (1958) determinó para el salmón plateado (*Oncorhynchus kisutch*) de la Piscifactoría de la Universidad de Washington (E.U.A.) una relación de tipo exponencial entre el número de ovocitos y el tamaño de la hembra.

Otra variable somática importante considerada en los estudios de fecundidad, es el peso del pez. En alusión a lo anterior, Allen y Sanger (1960), establecieron para la trucha arcoiris de la Piscifactoría Estatal en Humboldt, California (E.U.A.), una relación de tipo lineal de la fecundidad en función del peso. Una relación similar se registró para la trucha arcoiris de Trout Haven, Gasquet del

Norte County, California. Asimismo Islam et al. (1973), encontraron una relación del mismo tipo para esta misma especie. Bromage et al. (1990), al comparar 12 "stocks" de trucha arcoiris, observaron la misma relación para tales stocks. Otro ejemplo de este tipo de relación es registrado para la trucha de arroyo, la cual presenta un número de ovocitos de aproximadamente 30 para una hembra de 13 g y de 200 ovocitos para una trucha de 70 g (Wydoski y Cooper, 1966); en el caso de la trucha *Salvelinus namaycush*, del Lago Tahoe, California, la fecundidad varió de 919 ovocitos para una hembra de 1,089 g de peso a 11,472 ovocitos para individuos de 8,709 g, presentando una correlación altamente significativa ($r=0.94$; Hanson y Wickwire, 1967). Al igual que en las truchas, los salmones presentan una correlación significativa entre el número de ovocitos y el peso de los organismos. Por ejemplo, el salmón "sockeye" (*Oncorhynchus nerka*) del Lago Cultus, Columbia Británica, por cada kilogramo de aumento en peso, la fecundidad se incrementa en el orden de 1,100 ovocitos; en cambio para el salmón rosado (*O. gorbuscha* del Arroyo McClinton, Islas Reina Charlotte, Columbia Británica, el incremento es de 472 ovocitos, también por cada kilogramo de aumento en peso.

Otra variable importante de considerar en la fecundidad de salmónidos es la edad de la hembra, la cual, al igual que la longitud y peso del organismo, influye en la fecundidad. Donaldson y Olson (1955), mencionan para la trucha arcoiris

que el número de ovocitos producidos en cada desove sucesivo, se incrementa con la edad del pez; sin embargo, Dahl (1917, *fide* Brown y Kamp, 1942), afirma que en la trucha café el número de ovocitos decrece con la edad, y el peso de las hembras se incrementa (e.g., las truchas más jóvenes son más prolíferas, pero producen ovocitos más pequeños); en contraposición al criterio de este último autor, Taube (1976), menciona para esta misma especie, que el número promedio de ovocitos aumenta progresivamente con la edad de la hembra, presentando un factor de correlación altamente significativo ($r=0.98$); igualmente en el caso de la trucha *Salvelinus fontinalis*, Needham (1938, *fide* Brown y Kamp, 1942), encuentran que el número de ovocitos es dependiente de la edad del pez; un resultado similar fue observado en la trucha *Salvelinus namaychush*, donde el número promedio de ovocitos se incrementó de 1,866 para un pez de seis años a 9,401 ovocitos para un ejemplar único de once años de edad (Hanson y Wickwire, 1967).

Se ha establecido para muchas especies de peces, y en particular en los salmónidos, que el tamaño de los ovocitos fluctúa ampliamente entre las hembras y dentro de la misma hembra. Lo anterior es aparentemente debido a las características de la gametogénesis; como es mostrado en el estudio de Sakun (1966); quien encontró que los ovocitos del salmón del Atlántico (*Salmo salar*), a diferencia de la mayoría de los peces teleósteos, pueden alcanzar la

maduración cuando la vitelogénesis está en diferentes grados de terminación; lo cual de acuerdo a dicho autor, tiene una significancia adaptativa, ya que produce una gran inestabilidad en los períodos en los cuales los oocitos maduran (Galkina, 1962).

Se ha demostrado que las condiciones adversas de alimentación para las hembras, causan una reducción de fecundidad pero no afectan el tamaño del ovocito (Galkina, 1962). Rounsefell (1957), en su estudio compilativo de fecundidad en los salmónidos de Norteamérica, aporta datos de fecundidad para diferentes especies, señalando también el diámetro promedio de los ovocitos. El diámetro promedio de ovocitos para trucha arcoiris de Scott Creek, California (E.U.A.), es de 5.5 mm (Shapovalov y Taft, 1954). Para la trucha café se han registrado diferentes promedios en el tamaño de ovocitos: 4.94 mm para 31 hembras de trucha, del Río Madison, Montana (Brown y Kamp, 1942); 3.2 a 4.8 mm para individuos de uno a cuatro años; en cambio para los grupos de longitud (202-227 a 355-472 mm), el rango fue de 3.7 a 4.4 mm (Taube, 1976).

En forma similar se observó que en la trucha de arroyo *Salvelinus fontinalis*, del Parque Laurentide, Provincia de Quebec (Canadá), se ha registrado un rango de 2 a 4 mm en el promedio del tamaño del ovocito, basados en 77 gonadas examinadas (Vladykov y Legendre, 1940; Vladykov, 1956). Asimismo en la trucha del río Tomtit, Pennsylvania (E.U.A.),

el tamaño de los ovocitos maduros para 67 truchas examinadas varió de 3.35 a 5.0 mm.

Se considera que existe una correlación entre el tamaño del ovocito y el tamaño de las hembras (e.g., Tereshchenko, 1913; Sokolov, 1933, 1965; Pak Farid, 1968; c.f. Galkina, 1962); sin embargo otros autores han encontrado, que las variaciones en el tamaño de los ovocitos son de naturaleza independiente y no están relacionados, ni con la longitud, ni con la edad de las hembras (Peters, 1959; Tarnauckiy, 1965; c.f. Galkina, 1962).

Algunas de las especies de truchas, en las que se ha encontrado una relación lineal o directa entre el tamaño de ovocito y la longitud de la hembra, son: trucha arcoiris (Bromage, et. al. 1990); trucha café (Taube 1976); y la trucha de arroyo (Wydoski y Cooper, 1966). De igual forma se ha observado una relación directa entre el peso del cuerpo y el diámetro del ovocito, para la trucha arcoiris (Islam, et al., 1973). Similarmente, se ha registrado una relación directa entre el diámetro del ovocito y la edad del pez, como es el caso de la trucha café y la trucha de arroyo (Brown y Kamp, 1942; Taube, 1976; Wydoski y Cooper, 1966).

Otro de los factores que algunos investigadores han considerado en sus trabajos de fecundidad, es el factor de condición del pez (K). Brown y Kamp (1942), mencionan que al parecer no tiene relación con la producción de ovocitos, sin embargo señalan que los especímenes que exhiben un mayor

factor de condición, producen un número más grande de ovocitos; esto en el caso de la trucha café.

Es muy notorio que el tamaño de los ovarios es muy diferente; siendo generalmente, el ovario izquierdo más largo y pesado que el derecho y contenga también más ovocitos. Esta diferencia es debido principalmente al arreglo anatómico de los órganos en la cavidad celómica; por tanto, la longitud del ovario es inversamente proporcional al grado de amontonamiento de éste (Brown y Kamp, 1942).

Algunos trabajos hacen referencia a las diferencias existentes entre el número promedio de ovocitos en el ovario derecho e izquierdo de salmón (Rounsefell, 1957). En el salmón "sockeye" del sistema Karluk, Kodiak Island, Alaska, se ha notado que ambos ovarios mantienen la misma proporción de maduración aún cuando el número de ovocitos en cada ovario es diferente (Rounsefell, 1957). Hartman y Conkle (1960, *fide* Helle, 1970), observaron en el salmón "sockeye" de Brooks Lake, Alaska, que casi el 90% de los ovarios izquierdos presentaron más ovocitos que los derechos. Nelson (1959, *fide* Helle, 1970), señalaron también que el ovario derecho contenía más ovocitos que el izquierdo en el salmón "sockeye" de Bare Lake, Alaska, y de igual forma Helle (1970), registró el número de ovocitos en ovarios de 50 especímenes de salmon rosado de Olsen Creek en 1963, donde el promedio de ovocitos en los ovarios izquierdos fue de 954, y el promedio de ovocitos en los ovarios derechos fue

de 978; aunque no se presentaron diferencias significativas.

En el caso de la trucha café, Brown y Kamp (1942), encontraron que el número promedio de ovocitos para los ovarios derecho e izquierdo de 38 hembras fue de 589 y 680, respectivamente; mostrando que el ovario más pequeño tiene menos ovocitos.

3. AREA DE ESTUDIO

El área de estudio en el Arroyo San Rafael se encuentra localizada en la porción noroeste de la Sierra San Pedro Mártir, Baja California, México, en la localidad conocida como Rancho Mike's Sky ($30^{\circ} 51' - 30^{\circ} 55' N$ y $115^{\circ} 37' - 115^{\circ} 50' W$), la cual se encuentra a una altitud de 1,219 msnm (Fig. 1).

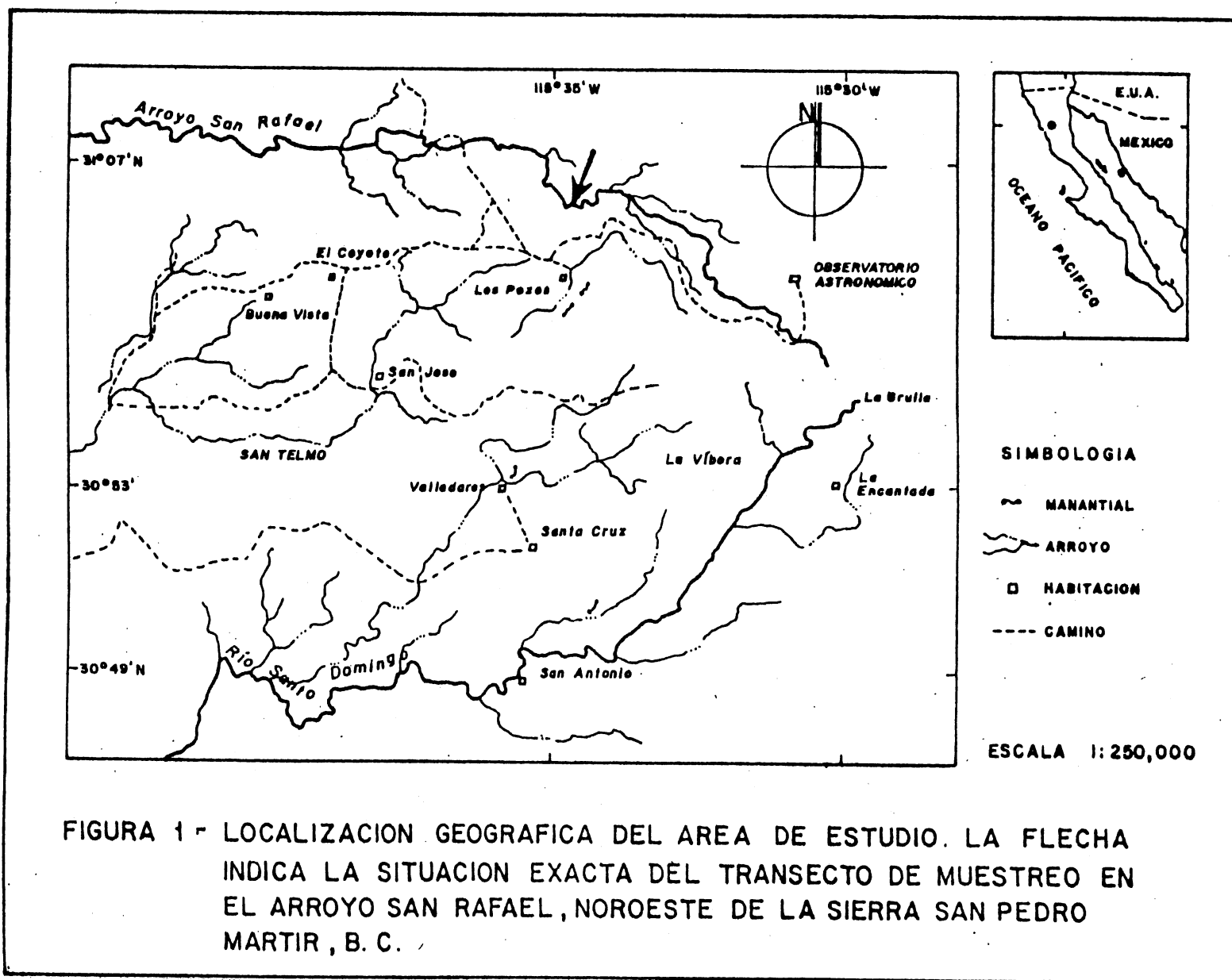
La Sierra de San Pedro Mártir es de origen tectónico (Frizell, 1984), y fue formada por la intrusión del batolito peninsular sobre roca precretácica, esencialmente constituida por rocas de tipo granítica, granodioritas y tonalita (Ruiz-Campos, 1991).

La vegetación que presentan los márgenes ribereños de la Sierra San Pedro Mártir, son de tipo arborescente o arbustiva, dominada por sauces (*Salix lasiolepis*), alisos (*Platanus racemosa*) y álamos (*Populus fremonti*), mientras que la vegetación acuática esta representada por formas de tipo emergente (*Typha* sp.) o sumergida (*Potamogeton* sp.) (Ruiz-Campos, 1991).

Este arroyo se caracteriza por ser angosto (4 m en promedio) y bastante sómero (50 cm de profundidad promedio); sin embargo, se pueden presentar pozas de más de un metro de profundidad en áreas de remanso (Ruiz-Campos, 1989). El Arroyo San Rafael nace en la Sierra San Pedro Mártir, y tiene como tributarios a los arroyos "La Fresa", "Vallecitos" (que nace en Vallecitos) y sale en el área del

Cerro de la Botella Azul, confluyendo en el San Rafael, y el Arroyo de Agua Blanca que nace al Oeste de Vallecitos, pasa por el aserradero y se une al San Rafael. De aquí el San Rafael pasa por el Rancho Mike's Sky, llega a Colonet, para finalmente desembocar al Océano Pacífico en Bahía Colonet (Yruretagoyena, 1985).

El tipo de clima que predomina en la Sierra San Pedro Mártir es sub-húmedo con precipitación invernal; semi-frío con temperatura anual de 7°C y con un rango promedio de temperatura de 10°C . La precipitación promedio anual es del orden de 400 mm, ya sea en forma de lluvia o nieve (Alvarez, 1985).



4. MATERIAL Y METODOS

4.1 Colecta de Truchas.

Un total de nueve muestreos fueron realizados de Febrero de 1988 a Febrero de 1989, en el Arroyo San Rafael, Noroeste de la Sierra San Pedro Mártir, Baja California; en la localidad conocida como Rancho Mike's Sky (Fig. 1).

Las truchas fueron colectadas con un equipo de electropesca Yamaha EF600 (110 volts corriente alterna), en transectos de 100 m a lo largo del arroyo. Este voltaje es recomendado para estudios de poblaciones icticas en arroyos (Pratt, 1954; Vincent, 1971). En el campo, los ejemplares fueron medidos tomando la longitud patrón (LP) en milímetros, usando un vernier (precisión 0.01 mm) y pesados en una balanza granataria (precisión 0.01 g). Posteriormente los ejemplares fueron colocados en hielo a una temperatura aproximada de 4 °C para su traslado al laboratorio.

La temperatura del agua y del aire fue registrada en cada muestreo y transecto de colecta, utilizando un termómetro digital (precisión 0.2 °C.).

4.2 Talla y Edad de Primera Madurez Sexual.

De un total de 269 truchas colectadas, fueron seleccionados 32 organismos pequeños considerados como inmaduros, con un rango de tallas entre 65.4 y 129.9 mm (LP), que no presentaron gónadas desarrolladas al ser disecados. Estos organismos fueron analizados

histológicamente en cortes transversales seriados, de la región pectoral anterior a la aleta dorsal (Fig.2), con el propósito de localizar la estructura que origina a la gónada y apreciar el inicio de su actividad gamética.

Dichas muestras fueron primeramente tratadas con una técnica de descalcificación (Apéndice 1), y posteriormente se les aplicó la técnica histológica convencional (Tapia, 1984, c.f. Apéndice 2), utilizando la técnica topográfica Hematoxilina-Eosina (Apéndice 3). Se prepararon 10 laminillas por espécimen, las que fueron analizadas con la ayuda de un microscopio óptico.

El número de ejemplares de truchas colectadas fluctuó entre 20 y 43 organismos por muestreo, comprendiendo diferentes tallas y edades representativas de la población. Las truchas colectadas fueron disecadas en el laboratorio para la obtención de sus gónadas. Cada gónada fue medida en longitud (precisión 0.01 mm) y pesada (g) en una balanza analítica (precisión 0.1 mg). Se registraron además las características morfocromáticas de la gónada de cada organismo, así como el sexo y la determinación macroscópica de su madurez sexual, antes de ser preservados en formaldehído 8% (neutralizado con fosfato de sodio).

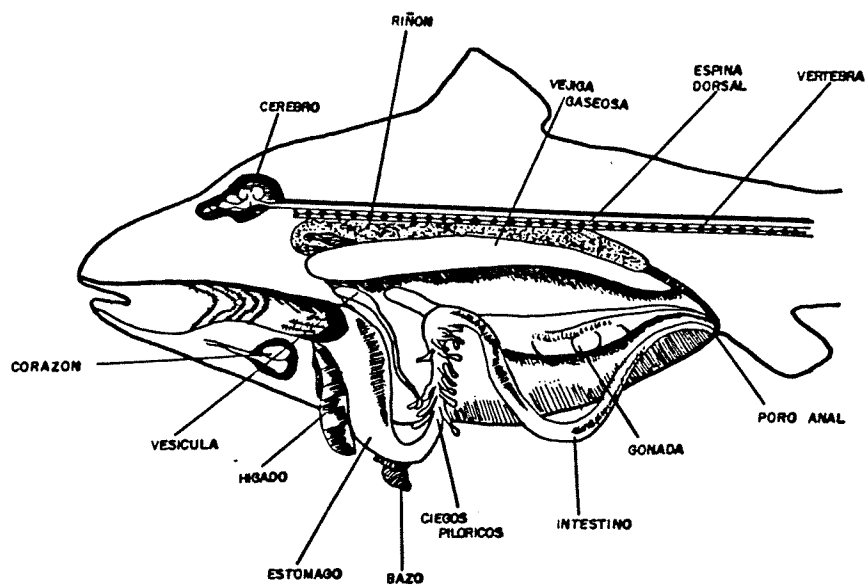


Fig. 2 Organos internos de una trucha, (Calif. Dept. of Fish and Game, 1969).

4.3 Determinación de Edad y Frecuencias de Tallas.

La determinación de edad de las truchas fue basada en la interpretación de anillos de crecimiento anual en escamas (Ruiz-Campos y Gómez-Ramírez, 1991). Las lecturas de escamas fueron realizadas por el personal del Laboratorio de Vertebrados de la Facultad de Ciencias, U.A.B.C.

Se determinaron 17 intervalos de longitud de las truchas, con una amplitud de clase de 10 mm. Se estableció la frecuencia de organismos maduros en cada clase de talla. Asimismo, se determinó la frecuencia de organismos maduros en cada una de las diferentes edades de la población.

4.4 Fecundidad.

Para este análisis, se seleccionaron las gónadas de 24 truchas hembras correspondiendo a los muestreos de Noviembre y Diciembre de 1988, así como de Enero de 1989. Dichas gónadas presentaron características de la fase reproductiva, y ningún indicio de haber iniciado el desove.

Las gónadas después de la fijación fueron lavadas en agua con el propósito de extraer el exceso de fijador y posteriormente se efectuó la separación de los ovocitos. Este último procedimiento fue fácil y rápido dado que no fue necesario aplicar el tratamiento con el líquido de Gilson's.

Para cada gónada se determinó el número de ovocitos ováricos presentes, mediante cuantificación directa, es decir, el conteo de todos los ovocitos en la gónada (Lagler,

1978).

Asimismo, para cada individuo se registró el número de ovocitos por gónada (izquierda y derecha) como también ambas gónadas combinadas. Simultaneamente, se midió con un micrómetro ocular el diámetro del ovocito. Se midieron 60 ovocitos por gónada, tanto izquierda como derecha.

Después del conteo, los ovocitos fueron preservados en alcohol etílico al 60% y colocados en frascos pequeños, con sus respectivos datos.

4.5 Análisis Estadístico.

Se realizó el análisis de madurez y se graficó la frecuencia de organismos maduros en función de la talla (longitud patrón en milímetros), utilizando una amplitud de clase de 10 mm. De igual forma se elaboró una gráfica de frecuencia de organismos maduros en relación a cada clase de edad.

Para determinar la relación entre la fecundidad (ambas gonadas combinadas) y las características biométricas de las truchas (talla, peso y edad), se utilizó la ecuación de regresión de potencia sugerida por Bagenal (1957, 1978):

$$F = a X^b$$

donde: F = fecundidad estimada (número de ovocitos por desove individual),

X = talla, peso, y edad del pez.

a y b= constantes de la regresión.

Dichas regresiones fueron calculadas con el programa Fishparm (Saila et al., 1988). Asimismo, se calculó la significancia de las regresiones con el análisis de correlación paramétrica de Pearson (Sokal y Rolf, 1979). De igual forma, se efectuó un análisis de correlación entre el número de ovocitos de cada una de las gónadas y la longitud y peso, respectivamente. También se correlacionó el diámetro de ovocitos con la longitud, peso y edad del pez, y con el número de éstos presentes en las gónadas.

Para comparar el tamaño del ovocito entre ambas gonadas, se aplicó una prueba t Student (Sokal y Rohlf, 1979).

5. RESULTADOS

5.1 Temperatura.

La temperatura ambiental más baja registrada (11:00 horas) en el Arroyo San Rafael durante el período de Febrero de 1988 a Febrero de 1989, fue de 16.6°C en Diciembre y la más alta de 29.8°C en Junio. La temperatura del agua registró valores de 9.6 y 25.7°C para Enero y Junio, respectivamente (Fig. 3).

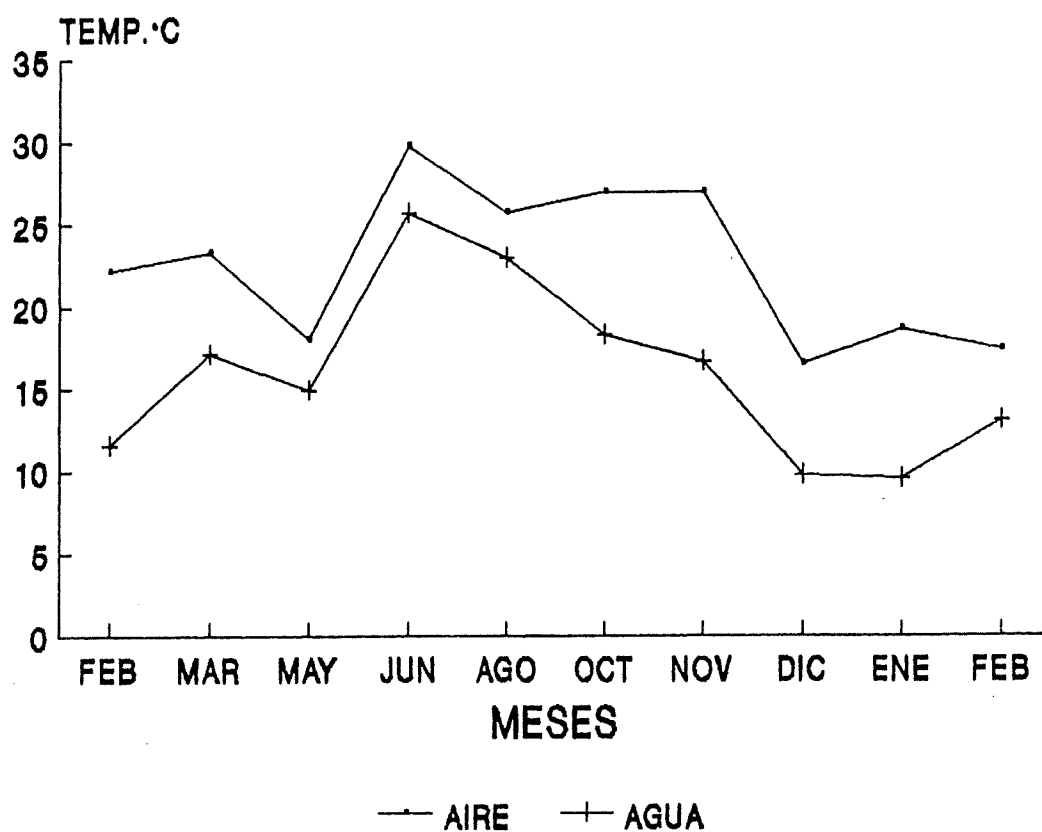


Fig. 3- Temperatura del agua y aire para el arroyo San Rafael, Sierra San Pedro Mártir, B. C.

5.2 Diagnostico Histológico.

5.2.1 Organismos Inmaduros.

De los 32 organismo inmaduros (64.9 a 124.9 mm LP), analizados en cortes transversales, unicamente en ocho de ellos se logró reconocer estructuras gonadales (Tabla I).

Dos de éstos se encuentran ya diferenciados en hembras, con un promedio de longitud de 93.3 mm LP; mientras que los otros seis ejemplares mostraron una estructura gonadal indiferenciada, con un promedio de longitud patrón de 90.3 mm. La edad que registraron los especímenes correspondientes a hembras fue de 1 año, y el resto de organismos indiferenciados son juveniles del año o de edad cero.

5.2.2 Organismos Inmaduros Indiferenciados.

En el análisis histológico de los organismos inmaduros e indiferenciados; se observó que el primordio gonadal se encuentra rodeado por la membrana peritoneal; la cual internamente está constituida principalmente por células primordiales germinales, las que se encuentran inmersas en el tejido conjuntivo constituido por fibras colágenas, fibroblastos y células mesenquimatosas, en donde también se observan vasos sanguíneos. Las células germinales primordiales, son de gran tamaño y de forma oval a esférica, con un núcleo basófilo que ocupa la mayor parte del citoplasma, el cual es acidófilo y escaso. El diámetro

Tabla I. Datos bioecologicos de individuos inmaduros de Oncorhynchus mykiss nelsoni, arroyo San Rafael SSPM; Febrero 1988 a Febrero de 1989.

No. Org.	Mes	Lp.	Peso	Sexo	Edad
1	Febrero	95.1	17.8	Hem.	I
2	Junio	75.7	9.5	Inm.	0
3	Junio	68.0	6.3	Inm.	0
4	Junio	107.9	22.7	Inm.	I
5	Nov.	85.9	11.4	Inm.	0
6	Nov.	114.0	21.7	Inm.	I
7	Dic.	91.9	13.3	Inm.	0
8	Enero	91.5	13.7	Hem.	I

promedio es de 5.6 μm con un rango que va de 3.5 a 10 μm . (Placa 1 y 2).

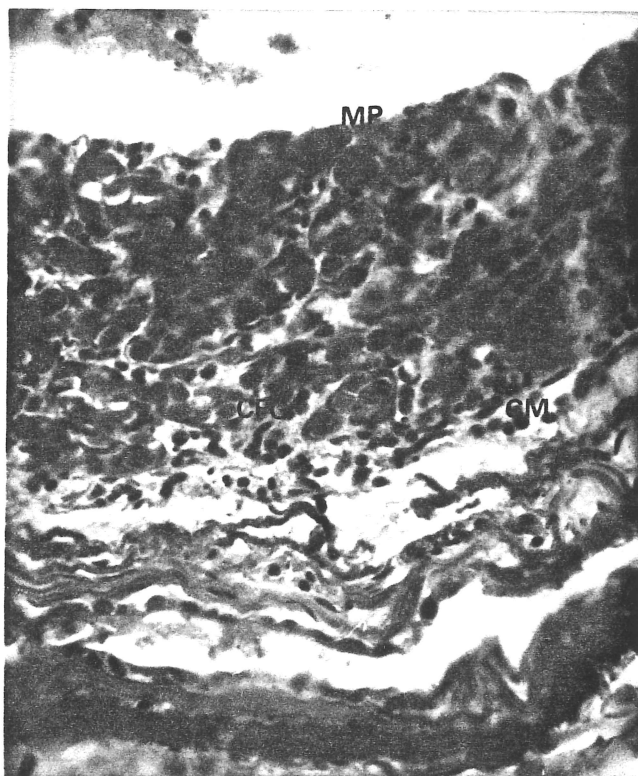
Las células primordiales germinales se encuentran rodeadas por células de forma alargada, constituyendo agregados o nidos de células en un número de dos a cuatro (Placa 3).

Estas células primordiales germinales, sufren divisiones celulares tipo mitótico, proliferando en la estructura gonadal y posteriormente dando origen a oogonias o espermatogonias, que de acuerdo a la diferenciación genética; determinan el sexo del organismo en hembra o macho, respectivamente, las cuales finalmente constituirán las células sexuales maduras (ovocitos y espermatozoides).

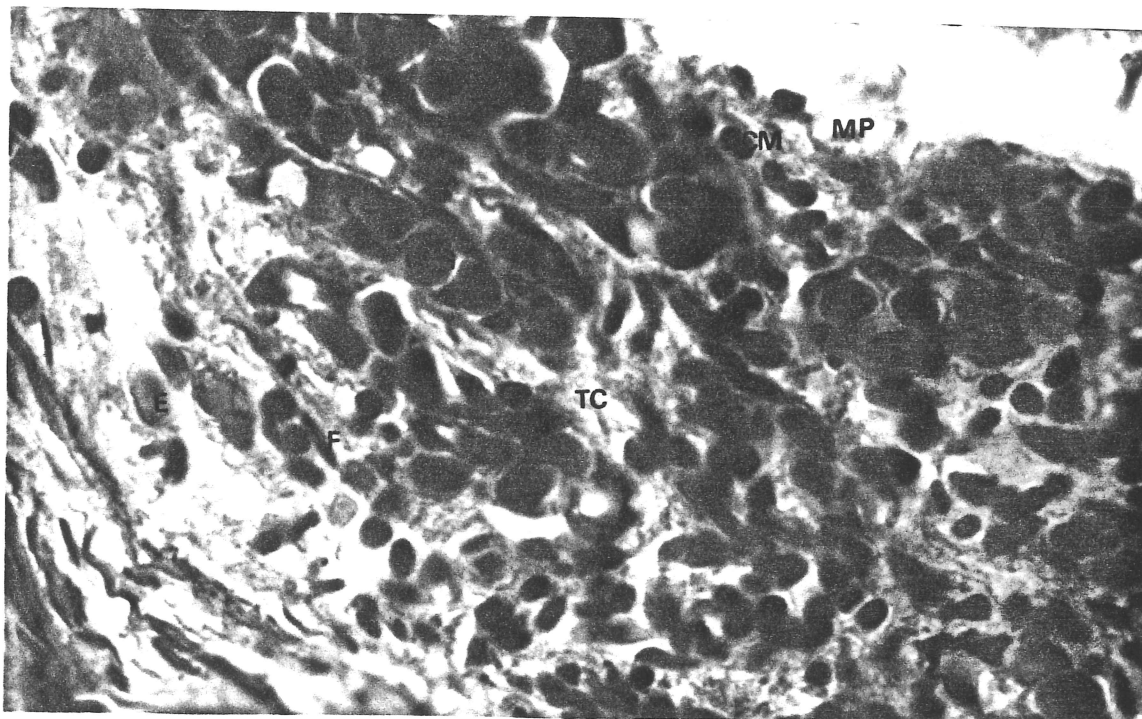
5.2.3 Organismos Inmaduros Diferenciados.

En el análisis de organismos inmaduros, donde se presentó ya la gónada diferenciada, correspondieron únicamente a individuos hembras. En éstos se observa la gónada rodeada por una cápsula, constituida por tejido conjuntivo denso regular, que se prolonga formando trabéculas, las cuales se encuentran constituyendo cavidades en las que se presentan los folículos delimitados por un epitelio germinal. Entre los tipos celulares observados, dentro de los folículos encontramos, a los oocitos previtelogénicos de tipo I y II (Bastidas, com. pers.); los cuales tienen un diámetro promedio de 54 μm (Placa 4).

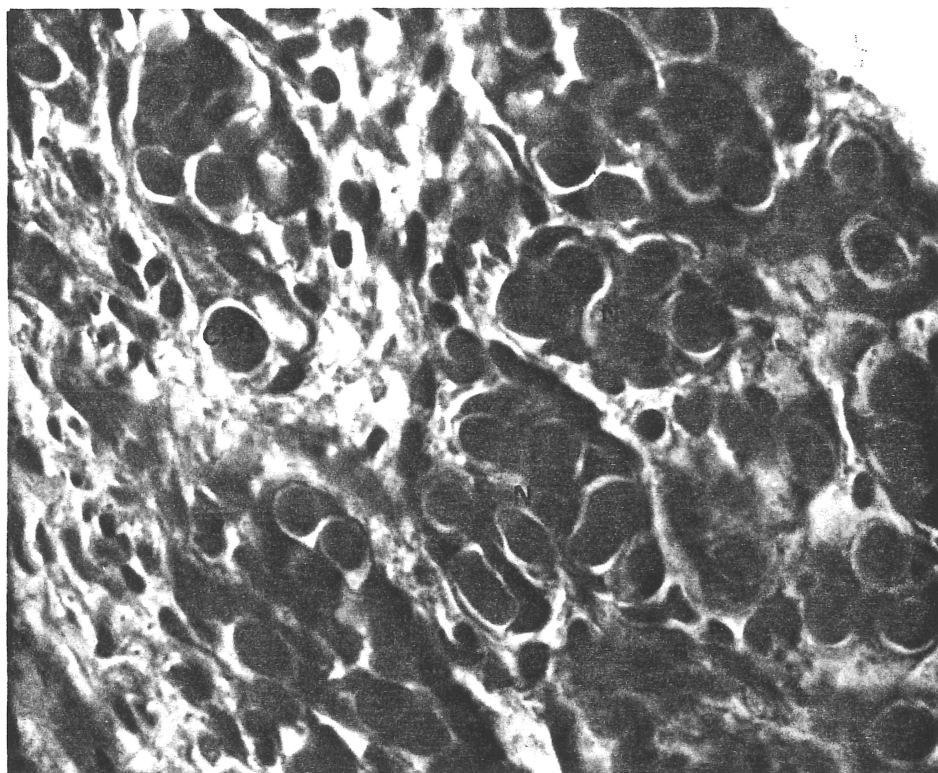
En el tejido conjuntivo, se encuentran embebidas también células intersticiales (células mesenquimatosas); así como células sanguíneas, predominando los eritrocitos.



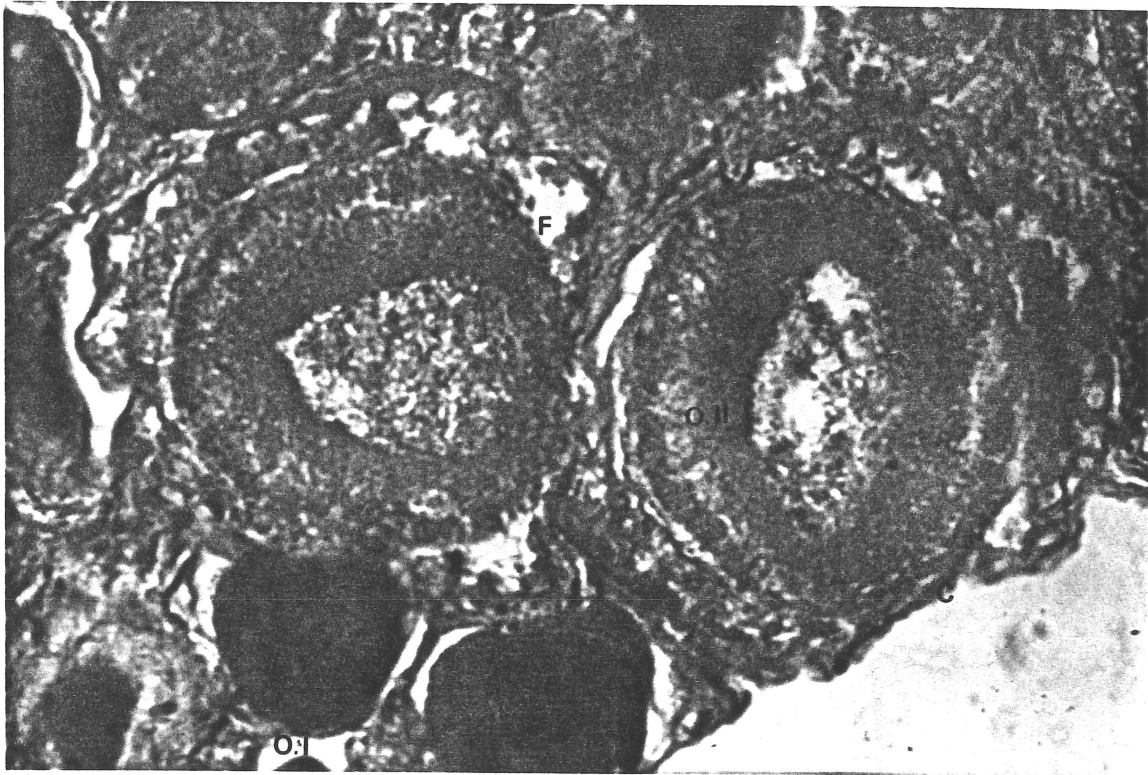
Placa. 1- Gonada indiferenciada de trucha arcoiris Oncorhynchus mykiss nelsoni, mostrando: membrana peritoneal (MP), células primordiales (CPG), células mesenquimatosas - (CM). H-E, Magnificación 112 X.



Placa. 2- Gonada indiferenciada de trucha arcoiris. Membrana peritoneal (MP), tejido conjuntivo (TC), fibroblastos (F), células primordiales germinales (CGP), células mesenquimatosas (CM) y eritrocitos (E). H-E. Magnificación 280 X.



Placa. 3- Gonada indiferenciada, mostrando agregados o
nidos (N), constituidos por células primor-
diales germinales (CPG). H-E Magnificación .
280 X.



Placa. 4- Gonada diferenciada (ovario), cápsula (C), folículo (F), oocitos previtelogénicos (O.I y O.II). H-E. Magnificación 112 X.

5.3 Talla y Edad de Primera Madurez Sexual.

El análisis microscópico de las gónadas de trucha, señala que de los 269 organismos colectados, únicamente 187 (69.51 %) de ellos están ya sexualmente maduros.

En la tabla II, se presentan el número de truchas analizadas por intervalo de talla, sexo y edad. Aquí, se puede observar que el número de truchas hembras y machos analizados es muy similar, registrando un porcentaje de 35.68 y 33.82, respectivamente, en relación al total de organismos colectados. Para el caso de los especímenes inmaduros, esta proporción fue un poco menor, ocupando el 30.48 % del total.

En lo que respecta a la frecuencia de organismos por edad, la mayor ocurrencia se presentó en los especímenes de un año, y la menor en la edad IV, la cual presentó un solo ejemplar.

Considerando la frecuencia de organismos sexualmente maduros por intervalo de talla (mm LP); se observa la presencia de éstos a partir del intervalo de talla 73-82 mm LP hasta 93-102 mm LP, con un porcentaje de madurez no representativo. Por tal motivo, se establece el intervalo de talla de 103-112 mm LP, como aquel en el cual las truchas inician su madurez sexual, presentando un porcentaje de 78.12 de organismos maduros. En el caso de las truchas cuyas tallas son mayores al intervalo antes descrito, se observa que los individuos han alcanzado ya su madurez gonadal

Tabla II. Frecuencia de individuos por clase de talla de trucha arcoiris, O. m. nelsoni, señalando el sexo y la edad.

Clase-talla.	EDAD (MACHOS)					EDAD (HEMBRAS)				EDAD (INM)		TOTAL
	0	I	II	III	IV	0	I	II	III	0	I	
43-52										6		6
53-62										12		12
63-72										11		11
73-82	1									26	1	28
83-92	5					1				8	3	17
93-102		4					4				4	12
103-112		7					18				7	32
113-122		20					24				4	48
123-132		6	11				15	4				36
133-142		2	11					10				23
143-152			11	1				7				19
153-162			2	3				4	3			12
163-172				2					4			6
173-182				4					2			6
183-192												
193-202												
203-212					1							1
TOTAL	6	39	35	10	1	1	61	25	9	63	19	269

(Fig.4). Además, es posible notar que los organismos machos inician más tempranamente su desarrollo gonadal que las hembras los cuales se encuentran a partir del intervalo de talla de 73-82 mm LP (Fig. 5).

La frecuencia relativa de organismos sexualmente maduros por clase de edad, señala que a partir del primer año de edad (clase de edad I), el 84.03 % de los organismos están sexualmente maduros (placa 5 y 6). Se observa también que a la edad cero (clase de edad 0) algunos organismos están ya maduros, (10 %). De tal forma, que los especímenes que alcanzan ya las edades de dos, tres y cuatro años, todos se encontraron sexualmente maduros (Fig. 6).

5.4 Fecundidad.

Para determinar el número de ovocitos producidos por una hembra, durante la temporada de desove; es necesario contar con organismos, en los cuales la etapa de desarrollo gonadal predominante sea la reproductiva, también denominada como grávida. Para tal propósito, fueron analizados un total de 24 organismos hembras de 1 y 2 años de edad (ver datos en la tabla III), los cuales fueron colectados en los meses de Noviembre y Diciembre de 1988 y Enero de 1989. Asimismo, los valores correspondientes al número de truchas hembra por muestreo, número promedio de ovocitos por gónada, fecundidad promedio por mes y diámetro promedio de ovocitos, son presentados en la tabla III.

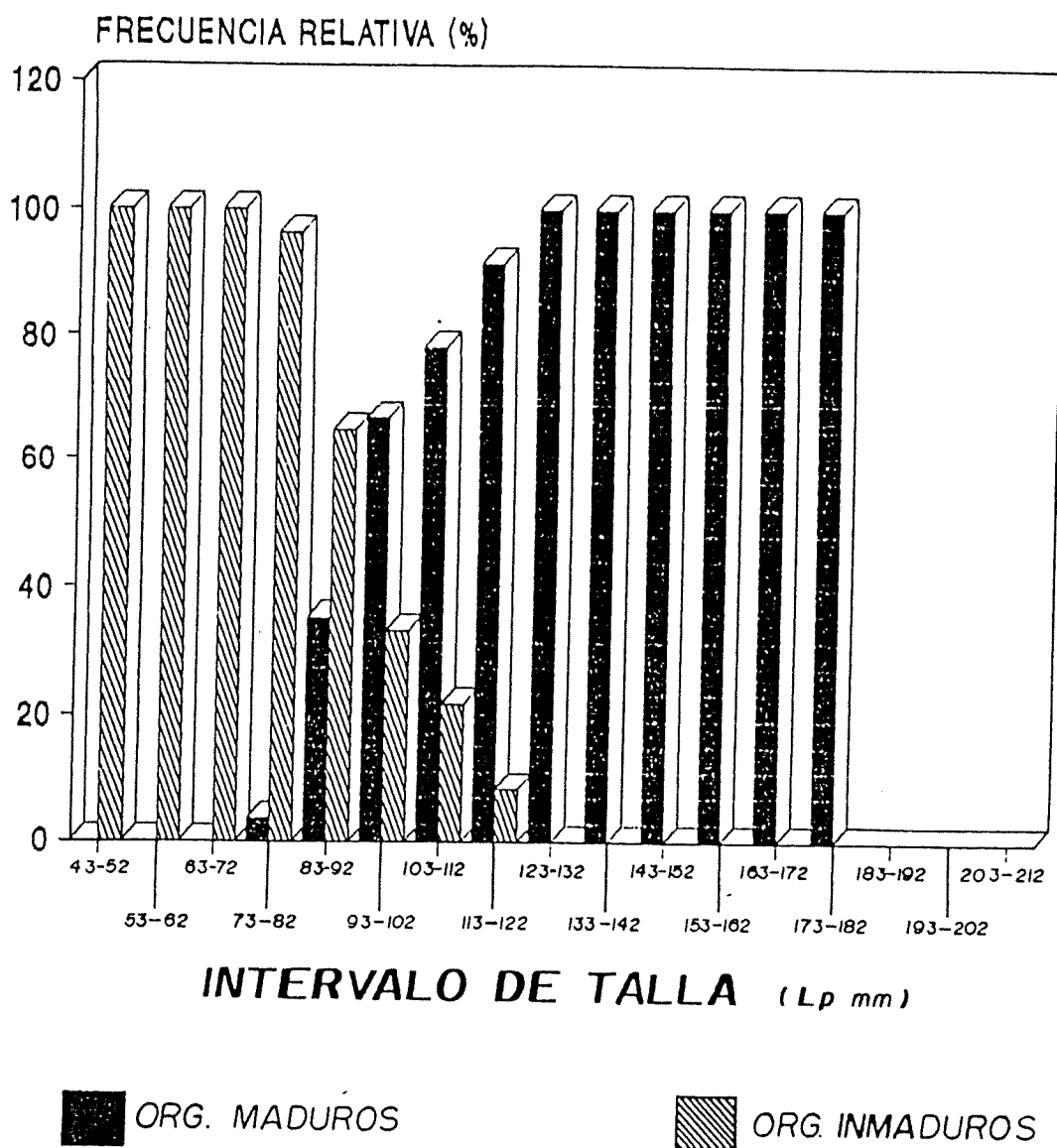


Fig.4- Frecuencia relativa de organismos maduros e inmaduros por clase-talla de la trucha arco-iris *O. m. nelsoni*, del arroyo San Rafael, Sierra San Pedro Mártir.

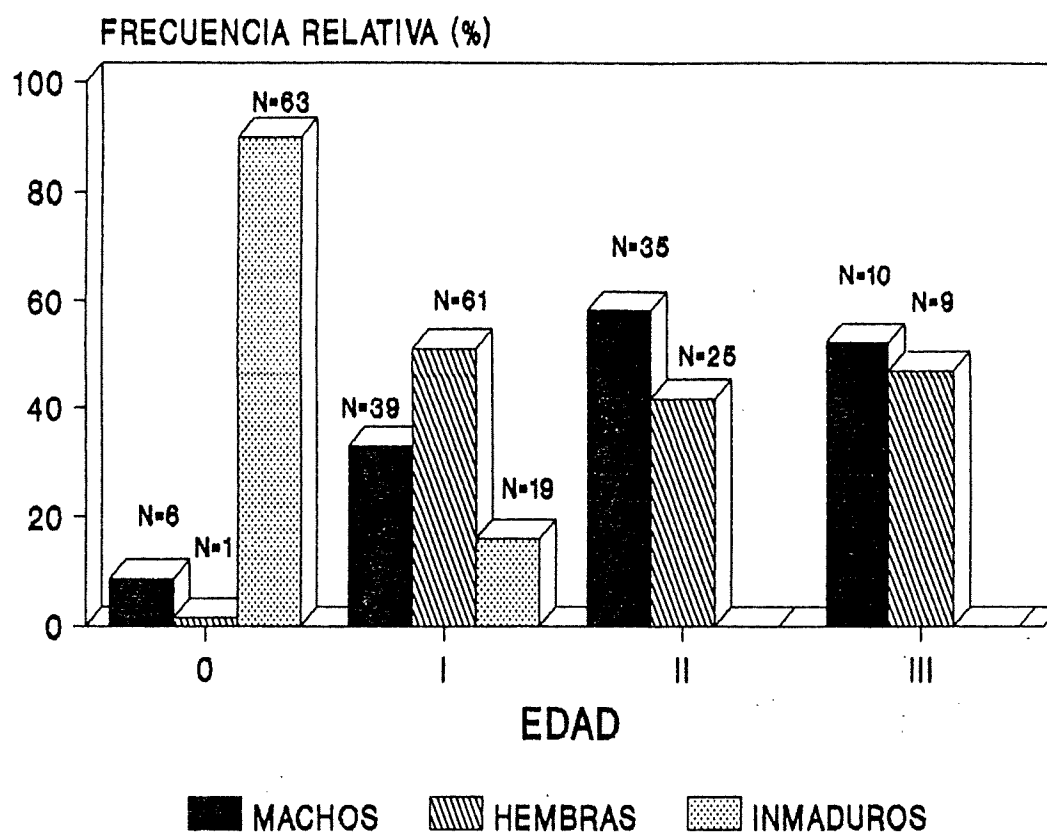


Fig.5- Frecuencia relativa por sexo y edad de la trucha arcoiris *O. m. nelsoni*, del arroyo San Rafael, SSPM.

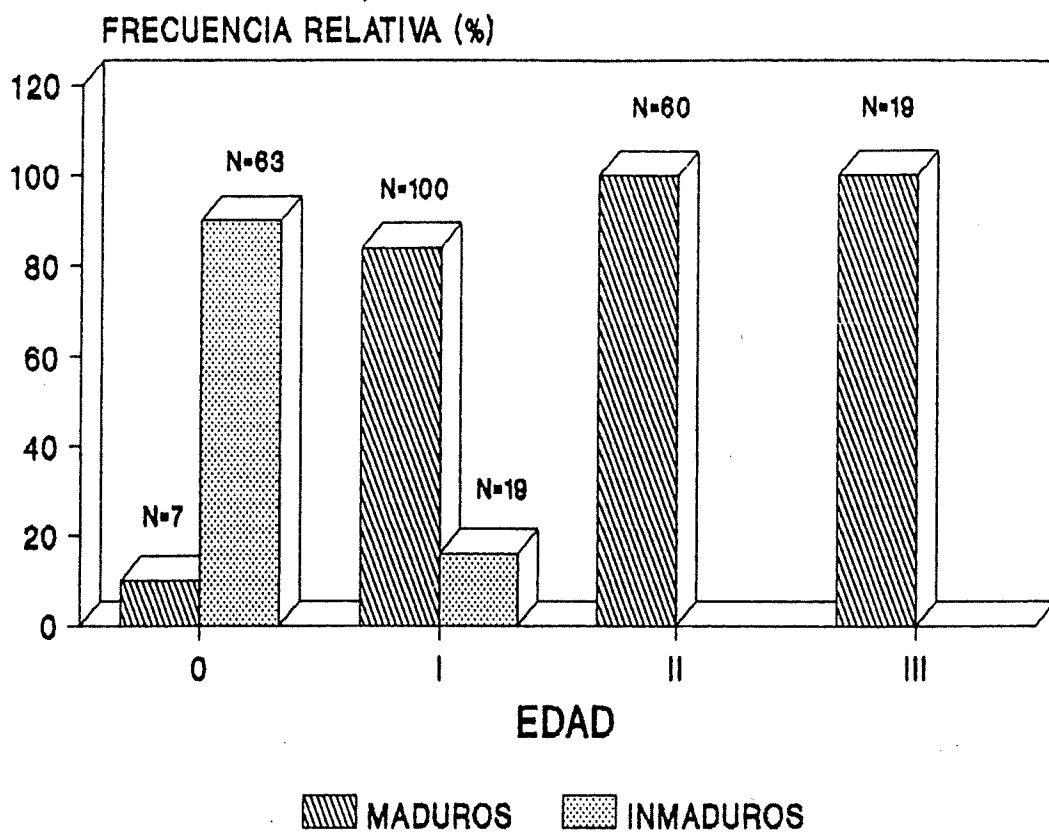
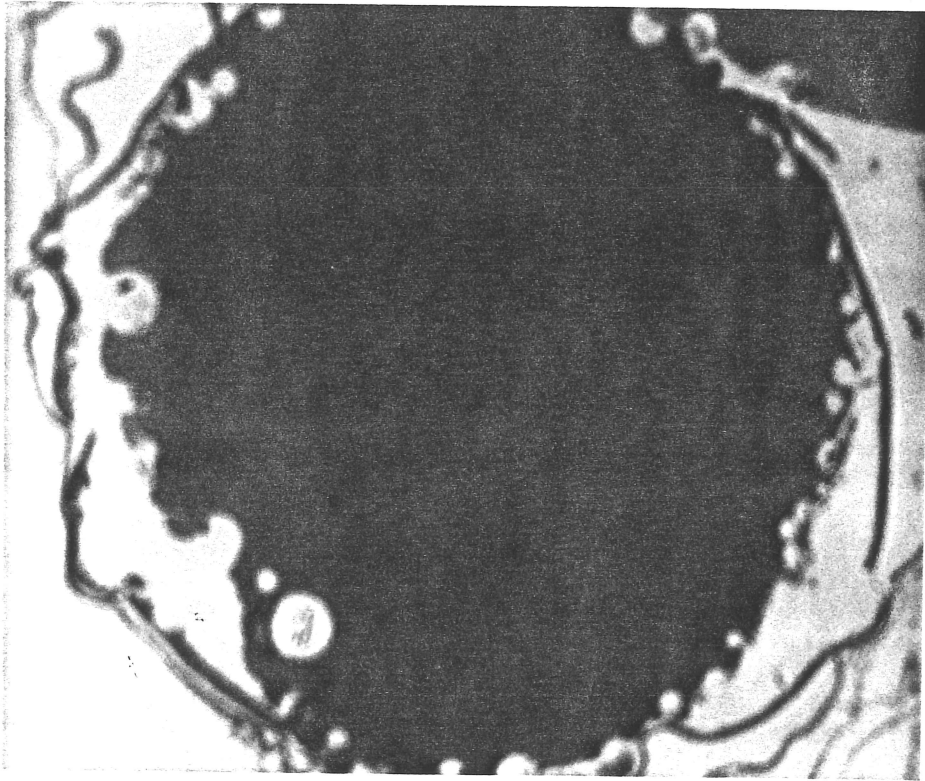
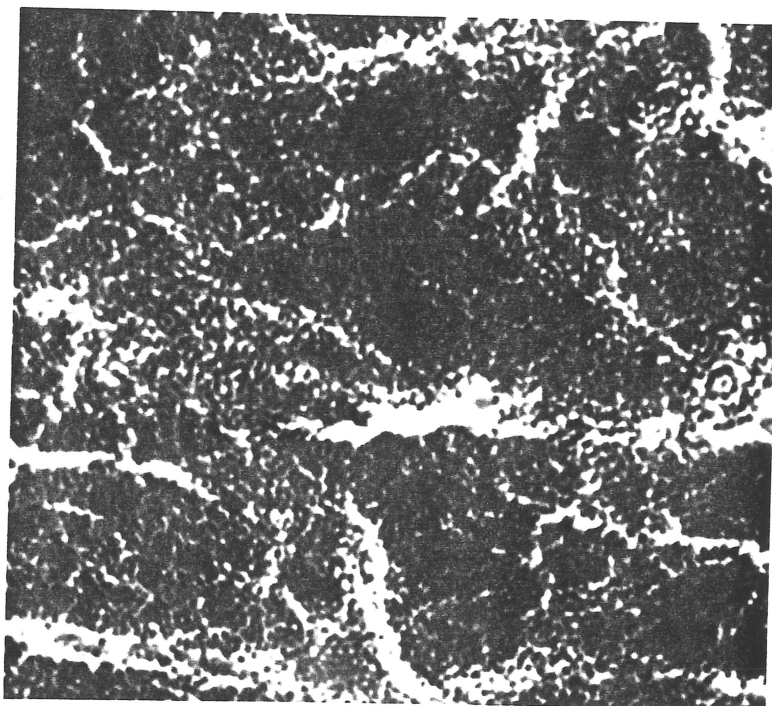


Fig.6- Frecuencia relativa de organismos maduros e inmaduros, para las diferentes edades de la trucha arcoiris O. m. nelsoni.



Placa. 5- Ovocito maduro de una hembra (edad I).
H-E. Magnificación 11.2 X.



Placa. 6- Gonada (testículo), en etapa madura.
H-E. magnificación 112 X.

Tabla III. Número de truchas hembras analizadas por mes para fecundidad, indicando número de ovocitos por gonada, fecundidad promedio y diámetro de ovocito (mm).

MES	Número de Org. (N)	No. X de ovocitos gon. izq.	No. X de ovocitos gon. der.	Fecun. promedio	Diámetro X ovoc. (mm)
NOV. 88'	9	84.66	143.55	228.22	1.91
DIC. 88'	11	69.45	103.27	172.72	2.45
ENE. 89'	4	94.25	123.75	218.00	3.14

La fecundidad promedio observada (ambas gónadas combinadas) para las 24 hembras fue de 192 ± 77 ovocitos; en cambio el promedio de ovocitos para la gónada izquierda fue de 79 ± 44 ovocitos, y de 113 ± 54 ovocitos para la gónada derecha. Lo cual indica que en la mayoría de los organismos, la gónada derecha registró un número mayor de ovocitos, como un reflejo de su mayor tamaño y volumen en comparación con la gónada izquierda.

El número promedio de ovocitos para los 16 organismos de 1 año fue de 152 ± 57 ovocitos, para una longitud y peso promedio de 119.5 mm y 30.3 g respectivamente; mientras que la fecundidad para las hembras de 2 años ($n=8$ especímenes) fue de 273 ± 40 ovocitos, para una longitud y peso promedio de 137.23 mm y 43.3 g, respectivamente.

El tamaño promedio de ovocito registrado para las truchas colectadas en los muestreos de Diciembre y Enero, fue de 2.65 ± 0.41 mm.

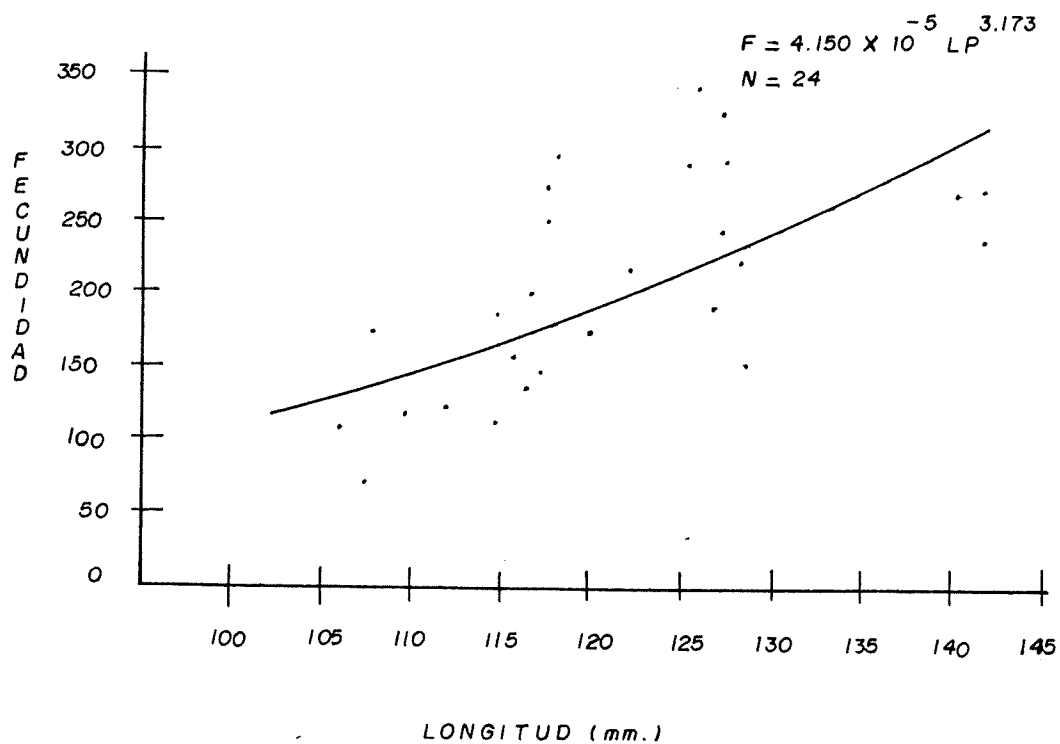
5.5 Análisis Bioestadístico.

El análisis de correlación entre la fecundidad y cada una de las variables somáticas y bionómicas de los organismos, se describe a continuación: la correlación entre la fecundidad y la longitud patrón del pez es significativa, ($r=0.733$, $P<0.05$; Fig. 7). En el caso de la relación entre el número de ovocitos y el peso del organismo, se observa también una significativa correlación ($r=0.807$, $P<0.05$; Fig. 8); asimismo, la relación entre la fecundidad y la edad de la hembra, fue también significativa ($r=0.752$, $P<0.05$). La misma significancia de correlación ($P<0.05$), fue encontrada entre el número de ovocitos de la gónada izquierda con respecto a la longitud y peso del pez, ($r=0.617$ y $r=0.661$, respectivamente), mientras que la gónada derecha presentó valores de correlación de 0.551 para la longitud ($P<0.05$) y 0.622 para el peso ($P<0.05$); en ambos casos la gónada izquierda presentó valores mayores de coeficiente de correlación.

Por otra parte, la relación entre la longitud y peso de la gónada y el número de ovocitos de cada una de ellas, fue significativo; solamente para la gónada izquierda con valores de $r=0.595$ y $r=0.691$, respectivamente; mientras que los coeficientes de correlación para la gónada derecha con relación a la longitud ($r=0.385$) y peso ($r=0.418$), fueron en ambos casos no significativos.

En lo que concierne a las relaciones del diámetro de

ovocito con la longitud, peso y edad del pez, unicamente se presenta una correlación ligeramente significativa con la longitud ($r=0.427$); mientras que los valores de correlación para el peso ($r=0.385$) y edad ($r=0.218$), fueron no significativos. Al igual que éstos últimos, la relación entre el diámetro del ovocito y su número por gónada, no presenta una correlación significativa ($r=0.205$). Respecto a la comparación del diámetro de ovocito entre gónada izquierda y derecha, se observó que no existen diferencias significativas, en el tamaño de ovocitos, ($t = 0.437$, $P > 0.05$).



FECUNDIDAD

• OBSERVADA

— CALCULADA

Fig. 7- Relación entre la longitud patrón y fecundidad observada y calculada de truchas hembras de Oncorhynchus mykiss nelsoni.

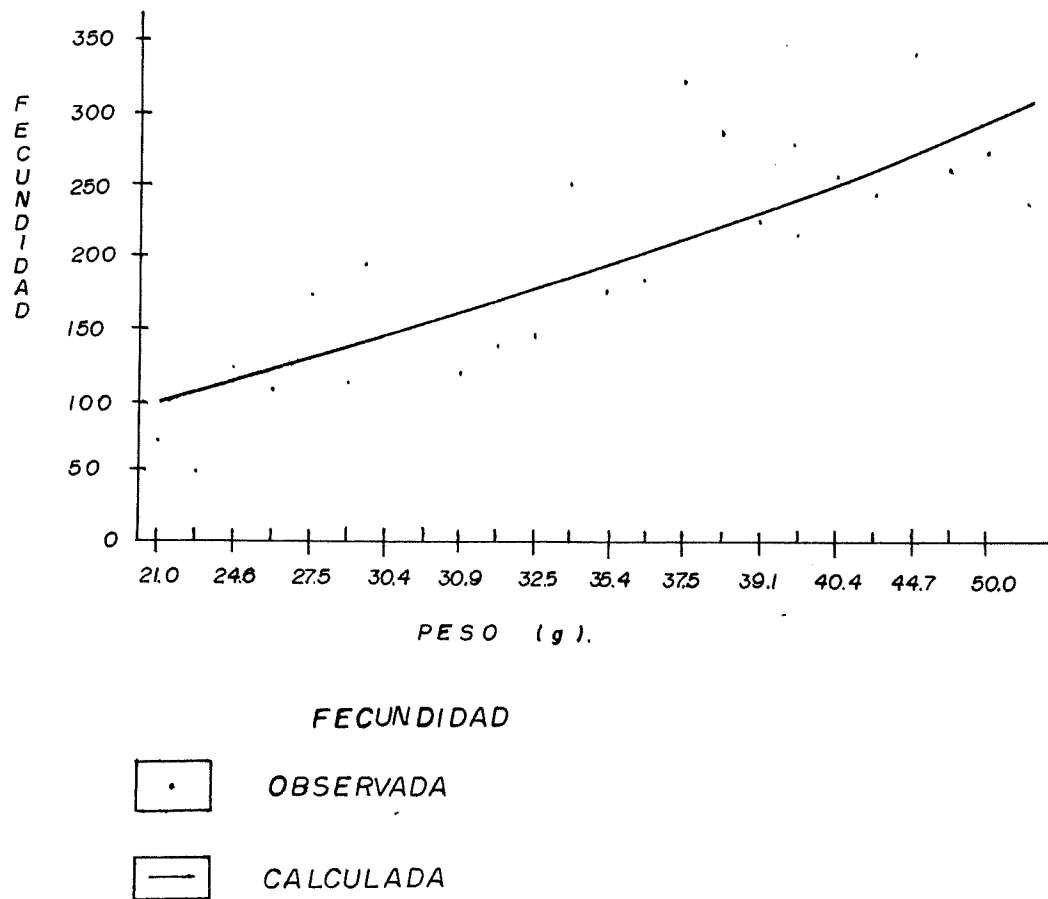


Fig. 8- Relación entre el peso (g) y la fecundidad observada y calculada de la trucha arcoiris, O. mykiss nelsoni, de la Sierra San Pedro - Mártir.

6. DISCUSION

La mayoría de los peces desovan en determinados momentos y estaciones del año, dentro de estrechos límites de temperatura (Knapp, 1990). El factor temperatura es de vital importancia en la fisiología de especies de salmónidos de regiones frías y templadas, donde la gran mayoría de éstos desovan en otoño o en invierno, cuando la temperatura del agua es muy baja (Knapp, op. cit.). Debido a que las truchas son peces que requieren de una gran cantidad de oxígeno para poder sobrevivir, y considerando que el oxígeno disuelto disminuye al aumentar la temperatura, es entendible el porqué las truchas requieren de aguas frías, de preferencia de 9 a 10 °C, para sus óptimos fisiológicos (Pérez, 1982).

Por otro lado, Moore (1937), menciona que la célula germinal de trucha arcoiris (*Onchorynchus mykiss*), fue localizada desde el séptimo día en el mesodermo lateral. Asimismo Van den Hurk y Sloff (1981), señalan que las diferencias sexuales son visibles desde el día 45 al 55 después de la fertilización. Estos datos fueron también confirmados por Padoa (1939, *fide* Takashima, 1980) y Takashima et. al. (1980), quienes establecen que en la trucha arcoiris silvestre, la diferenciación sexual tiene lugar después de terminada la reabsorción del saco vitelino, durante el período de la primera aceptación de alimento. En lo referente a nuestros resultados se observó que los

organismos pequeños analizados presentaron estructuras gonadales semejantes a las descritas por los autores antes mencionados; de los cuales unicamente se identificaron dos truchas hembras y seis organismos en estado indiferenciado.

La trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss nelsoni*, es una subespecie capaz de madurar y desovar en su primer año de vida, lo cual se ve reflejado en los resultados obtenidos. Sin embargo, el tiempo de maduración se puede ver afectado por varios factores antes de alcanzar su primera madurez sexual; por tanto, debemos de tomar en cuenta la edad, tamaño y la fisiología del organismo.

En relación a lo anterior, otros autores (e. g., Oota et al., 1965; Yamamoto, 1965; Kato 1975; Smith 1991, han observado que la trucha arcoiris también alcanzan su primera madurez a la edad de un año.

Aunque la mayoría de las poblaciones de trucha arcoiris alcanzan la maduración sexual hasta los dos años de edad, existen diversos estudios que indican que los machos maduran en rangos de tamaño menores que las hembras (Rounsefell, 1957; Nicholls, 1958; Allen y Sanger, 1960; Kato, 1975; Lagler et.al., 1984; Naevdal et. al., 1979; Rubin, 1979). Resultados similares fueron registrados por Taube (1976), para la trucha café *Salmo trutta*, de Platte River. En alusión a lo anterior, Alm (1959 *fide* Taube, 1976), McFadden et al. (1965), y Carlander (1969), asumen que esta tendencia de maduración a tamaños más pequeños y a una edad

menor que las hembras, es una característica de algunos salmónidos.

Se presume que esta maduración temprana en los machos de trucha arcoiris se debe al nivel elevado del metabolismo, posiblemente a través de la influencia endócrina que se produce en respuesta a factores genéticos y ambientales (Lagler et al., 1984; Smith, 1991). Por otro lado, Brown (1946), sugiere un ciclo anual de crecimiento endógeno para la trucha. Más tarde Frost y Brown (1967), sugirieron la existencia de un ritmo de crecimiento endógeno sincronizado, así como un beneficio metabólico durante ciertos tiempos del año para los requerimientos de alimento y temperatura.

Con respecto a la fecundidad, atributo de gran importancia en estudios poblacionales, puede ser variable entre poblaciones de una misma especie ó entre diferentes especies (Rounsefell, 1957, 1962; Scott, 1962; Bagenal, 1969); lo cual es demostrado por nuestros resultados para la trucha arcoiris (*Ocorhynchus mykiss nelsoni*), presentándose variación en el número de ovocitos en organismos de tallas similares. Esta subespecie presenta un menor número de ovocitos en comparación con otras especies y subespecies de salmónidos; tal es el caso de la trucha arcoiris de Waldell Creek, San Francisco, Calif. (E.U.A.), donde Needham y Taft (1934) registraron que una hembra de 60 cm puede desovar de 4800 a 6400 ovocitos; otros como la trucha café, del Río Madison, Montana, (E.U.A.); ha sido registrada a presentar

un promedio de 1285 ovocitos en 37 hembras con promedio de 388.62 mm de longitud total (Brown y Kamp, 1942); similar al encontrado por Vladykov y Legendre (1940) para esa misma especie.

Diferentes autores, han demostrado que el número de ovocitos producidos por una hembra es afectado por la variación de diferentes factores, tales como la edad, tamaño, especie, cambios estacionales en la temperatura del agua, y la disponibilidad de alimento, (Lagler et al., 1984; Neave, 1948; Rounsefell, 1957; Scott, 1962). Una interesante explicación teórica para estas diferencias en fecundidad son dadas por Svardson (1949), postulando que hay variaciones intraespecíficas como resultado de la selección natural.

En el caso particular de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss nelsoni*), la cual es caracterizada como una forma de lento crecimiento y poca talla, adaptada a condiciones de baja productividad y frecuentes bajos flujos de agua, típico de ese habitat sureño (Ruiz-Campos y Gomez-Ramirez, 1991); es de esperarse que la subespecie produzca una cantidad pequeña de ovocitos maduros, como una respuesta a las condiciones ambientales presentes..

Algunos autores registran diferencias en el número promedio de ovocitos en los ovarios derecho e izquierdo; por ejemplo en el caso del salmón "sockeye" de Karluk en Kodiak Island, Alaska (Rounsefell, 1957). Hartman y Conkle (1960, *vide* Helle, 1970) observaron en el salmón de Brooks Lake,

Alaska, que el ovario izquierdo contenía más ovocitos que el derecho; de manera contraria a esto, Nelson (1959, *fide* Helle, 1970) demostró que en el salmón "sockeye" de Bare Lake, Alaska, el ovario derecho usualmente contenía más ovocitos que el izquierdo.

Para el caso de la trucha de arroyo (*Salvelinus fontinalis*), Wydoski y Cooper (1966) señalaron que el número de ovocitos maduros de ambos ovarios era frecuentemente similar.

Nuestros análisis del número promedio de ovocitos por gónada para la trucha *Oncorhynchus mykiss nelsoni*, demostraron que la gónada derecha presentó un mayor número (113 ± 54 ovocitos) en comparación con la gónada izquierda (79 ± 44 ovocitos). Sin embargo el grado de madurez en ambas gónadas fue igual.

También la fecundidad está relacionada directamente con la longitud del pez (Nicholls, 1958; Allen y Sanger, 1960; Nomura, 1963; Kato, 1975; Bromage et. al. 1990); tal es el caso de la trucha arcoíris, registrada por Donaldson y Olson (1955), quienes observaron un aumento de 230 ovocitos por pulgada de incremento en longitud.

Al igual que para la trucha arcoíris, Vladykov y Legendre (1940) y Vladykov (1956); determinaron también una relación directa entre la fecundidad y la longitud de la trucha de arroyo (*Salvelinus fontinalis*) de Laurentide Park Quebec, (Canada). Otra evidencia sobre la relación de la

longitud del pez y la fecundidad para esta trucha fue dada por Wydosky y Cooper (1966), siendo esta relación de tipo exponencial, observando un incremento de 18 ovocitos para una hembra de 91.44 mm de longitud total (LT) a 213 ovocitos para una hembra de 195.58 mm LT. En la subespecie *O. mykiss nelsoni*, esta relación es también de tipo directa o proporcional ($r = 0.733$).

Asimismo, otra relación importante de estimar es aquella entre la fecundidad y el peso del organismo. Varios autores (e.g., Allen y Sanger 1960; Islam et. al. 1973; Bromage et. al. 1990), han establecido una relación lineal para la trucha arcoiris. Un ejemplo de esta relación es dada por Wydosky y Cooper (1966), para la trucha de arroyo, la cual presenta un promedio de 30 ovocitos para una hembra de 13 g y de 200 ovocitos para una trucha de 70 g.

Por lo que respecta a la subespecie *O. mykiss nelsoni*, presentó un factor de correlación mayor entre la fecundidad y el peso, que entre las relaciones de ésta con la longitud y la edad.

En los trabajos realizados sobre trucha arcoiris donde se muestra una correlación significativa entre la fecundidad y la edad de éstos, se encuentran los de Needham (1938), Donaldson y Olson (1955), Hanson y Wickwire (1967), Taube (1976); quienes argumentan que a mayor edad, el número de ovocitos es mayor.

El único autor que está en contraposición a los

autores antes citados , es Dahl (1917 *fide* Brown y Kamp, 1942); dicho autor demostró que en la trucha café, el número de ovocitos va a decrecer con la edad, pero se incrementa el peso de las hembras.

En el caso la trucha arcoiris de la Sierra San Pedro Mártir (*O. m. nelsoni*), se observa también una relación significativa entre la fecundidad y la edad del pez ($r=0.75$).

El tamaño promedio de ovocitos calculado para esta subespecie de trucha fue de 2.65 ± 0.41 mm. Por lo cual es un poco menor comparado con otras especies de trucha.

Algunos autores han argumentado que el tamaño de los ovocitos varía entre y dentro de la misma hembra (Galkina, 1962; Sakun, 1966). Billard (1992) registró un diámetro promedio de ovocito de 3.5 a 5.5 mm para la trucha arcoiris, y menciona que esto va a depender de la edad y tamaño de la hembra, así como del régimen de alimentación.

Igualmente el tamaño del ovocito puede variar considerablemente entre la misma población, pero la fecundidad es semejante, la cual está correlacionada con el tamaño y edad de la hembra; es decir, las hembras más grandes y más viejas producen ovocitos más grandes (Taube, 1976). Asimismo, McFadden et. al., (1965) y Hardy (1967), señalan que la trucha café que habita en arroyos de baja fertilidad generalmente produce ovocitos que son mas pequeños que los producidos por trucha café en arroyos de

más alta fertilidad.

En un experimento de Bagenal (1969), estableció que la proporción de sobrevivencia en juveniles de trucha café fue significativamente más alta para aquellos desarrollados de ovocitos grandes. Por otro lado, Scott (1962), afirma que los cambios en el tamaño del ovocito para una raza en particular puede ser un indicador de las condiciones ambientales existentes.

7. CONCLUSIONES

- 1.- La talla de primera madurez de la trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss nelsoni*, se establece en la clase de talla de 103 a 112 mm LP.
- 2.- Se establece para esta subespecie que la edad de primera madurez sexual corresponde a 1 año.
- 3.- La fecundidad *per capita* para la trucha *O. mykiss nelsoni* fue de 192 ± 77 ovocitos.
- 4.- La fecundidad registró una relación significativa con el peso, edad y longitud de la trucha.
- 5.- El tamaño del ovocito para esta subespecie es de 2.65 ± 0.41 mm, siendo independiente de la talla y el peso del pez.
- 6.- Los organismos pequeños inmaduros (65.4 a 129.9 mm LP), exhibieron el inicio de la actividad gamética.

8. LITERATURA CITADA

Alison, L. N. 1951. Delay of spawning of eastern brook trout by means of artificially prolonged light intervals. *Progr. Fish Cult.* 13: 111-116.

Allen, G. H. 1958. Notes on the Fecundity of Silver Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) *Prog. Fish-Culturist*, 20:163-169.

Allen, G. H. y G. A. Sanger. 1960. Fecundity of rainbow trout from actual count of eggs. 3:260-261.

Alvarez, M. 1985. Climatologia de la Sierra San Pedro Mártir. *Proceed. Desert. Fishes Council*, XIII-XV-B:331-342.

Bagenal, T. B. 1957. The breeding and fecundity of the long rough dab *Hippoglossoides platessoides* (fabr.) and the associated cycle in condition. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 36:339-375.

----- 1969. The relationship between food supply and fecundity in brown trout *Salmo trutta* L. *J. Fish Biology*, 1:167-182.

-----, 1978. Methods for assessment of fish production in fresh waters. 3rd. ed. (International Biological Programme. Handbooks: No. 3). 365 pp.

Billard, R. 1992. Reproduction in rainbow trout: sex differentiation, dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gametes. *Aquaculture*, 100:263-298.

Bromage, N., P. Hardiman, J. Jones, J. Springate, y V. Bye 1990. Fecundity, egg size and total egg volume differences en 12 stocks of rainbow trout. *Oncorhynchus mykiss* Richardson. *Aquac. Fish. Manang.*, 21:269-284.

Brown, C. J. D., y G. C. Kamp. 1942. Gonad measurements and egg counts of brown trout *Salmo trutta* from the Madison River, Montana. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 71:195-200.

Brown, M. E. 1946. The growth of brown trout (*Salmo trutta* Linn.). *J. of Exp. Biol.* 22:118-155.

Carlander, K. D. 1969. Handbook of freshwater fishery biology. The Iowa State University Press. Vol. I:752 pp.

Carlson, A.R., y J.G. Hale. 1973. Early maturation of brook trout in the laboratory. *Progr. Fish. Cult.*, 35:150-153.

- Donaldson, L. R., y P. R. Olson. 1955. Development of rainbow trout brood stock by selective breeding. Trans. Am. Fish. Soc., 85: 93-101.
- Evermann, B.W. 1908. Descriptions of a new species of trout *Salmo nelsoni* and a new cyprinodont *Fundulus meeki* with notes on the other fishes from Lower California. Proc. Biol. Soc. Washington, XXI:10-30.
- Foerster, R. E., y A. L. Pritchard. 1941. Observations on the relation of egg content to total length and weight in the sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* and the pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha*. Trans. Roy. Soc. Can., 35(5):51-60.
- Follett, W. I. 1960. The freshwater fishes their origins and affinities. En: Symposium the biogeography of Baja California and adjacent seas. Systematic Zoology, 9(3/4):212-232.
- Frizell, V. A. 1984. The geology of the Baja California: an introduction. En: Geology of the Baja California Peninsula. (V.A. Frizell, ed.). Pacific Section. S.E.P.M., 39:1-7.

- Galkina, Z. I. 1962. Dependence of egg size on the size and age of female Salmon *Salmo salar* (L) and rainbow trout *Salmo irideus* (Gib.). State Res. Inst. for Lake and River Fish (Gosniorkh), Leningrad. 625-632.
- Hanson, J. A., y R. H. Wickwire. 1967. Fecundity and age at maturity of lake trout, *Salvelinus namaycush* (Walbaum), in Lake Tahoe. Calif. Fish and Game, 53(3):154-164.
- Hardy, C. J. 1967. The fecundity of brown trout (*Salmo trutta*) from six Canterbury streams. New Zeland Marine. Department Fisheries Technical Report.. 22, 1-14.
- Helle, J. H. 1970. Biological characteristics of intertidial and freshwater spawning pink salmon at Olsen Creek, Prince Williams Sound, Alaska, 1962-63. Special Scientific Report Fisheries, 602:1-19.
- Henderson, N. E. 1963. Extent of atresia in maturing ovaries of the eastern brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill). J. Fish. Res. Bd. Can., 20(4):899-908.
- Hoover, E. E., y H. E. Hubbard. 1937. Modification of the sexual cycle in trout by control of light. Copeia, 4:206-212.

- Islam, M. A., Y. Nose, y F. Yasuda. 1973. Egg characteristics and spawning season of rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 39(7):741-751.
- Kato, T. 1975. The relation between the growth and reproductive characters of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Bull. Freshwater Fish. Res. Lab. Tokyo. 25(2):83-109.
- Knapp, R. A., y T. L. Dudley. 1990. Growth and longevity of golden trout, *Oncorhynchus aguabonita*, in their native streams. Calif. Fish and Game, 76(3):161-173.
- Kwain, W. 1971. Life history of rainbow trout *Salmo gairdneri* in Batchawana Bay, Eastern Lake Supanton. J. Fish. Res. Bd. Can. 28(5):771-775.
- Lagler, K. F. 1978. Freshwater fishery biology. WM.C. Brown Company Publishers, Dubuque, Iowa. 421 pp.
- Lagler, K. F., J. E. Bardach, R. R. Miller, y D. R. M. Passino. 1984. Ictiología. Primera edición. Ed. AGT. 489 pp.

- MacCrimmon, H. R. 1971. World distribution of rainbow trout *Salmo gairdneri*. J. Fish. Res. Bd. Can., 28:663-704.
- Maitland, P.S. 1980. Guía de los peces de agua dulce de Europa. Omega, Barcelona. 258 pp.
- Mc. Fadden, J. T., E. L. Cooper, y J. K. Anderson. 1965. Some effects of environment on eggs production in brown trout (*Salmo trutta*). Limnology and Oceanography, 10:89-95.
- Moore, G.A. 1937. The germ cells, of the trout (*Salmo irideus* Gibbons). Trans. Amer. Microscop. 56 (1):105-112.
- Naevdal, G., M. Holm., R. Leroy, y D. Moller. 1979. Individual growth rate and age at sexual maturity in rainbow trout. Kisk. Dir. Skr. Ser. Havunders., 17:1-10.
- Neave, F. 1984. Fecundity and mortality in pacific salmon. Trans. Royal Soc. Can. 42, Ser.3, Sec.5:97-105.
- Needham, P. R., y A. C. Taft. 1934. Observations on the spawning of steelhead trout. Amer. Fish. Soc., 64:332-339.

- Needham, P.R. 1938. Notes on the introduction of *Salmo nelsoni* Evermann into California from México. Amer. Fish. Soc., 67:139-146.
- Nicholls, A. G. 1958. The egg yield from brown and rainbow trout in Tasmania. Aust. J. Freshwater Res., 9(4):526-536.
- Nomura, M. 1963. Studies on reproduction of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, with special reference to eggs taking-IV. The fecundity or number and weight of eggs taken. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 29(4):325-335.
- Oota, I., K. Yamamoto, K. Takano, y T. Sakaguchi. 1965. Studies on the maturing process of the rainbow trout, *Salmo gairdneri irideus*-II Maturation of the testis of a one year old fish. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 31:597-605.
- Pérez, S. L. A. 1982. Piscicultura: Ecología, explotación, higiene. Ed. El Manual Moderno, México. 154 pp.
- Pratt, V. S. 1954. Fish mortality caused by electrical shocks. Trans. Am. Fish. Soc., 84:93-96.

Rounsefell, G. A. 1957. Fecundity of North American Salmonidae Fish. Bull., 57(122):451-468.

----- . 1962. Relationships among North American Salmonidae. Fish. Bull., 209(62):235-269.

Rubin, R. R. 1976. La piscifactoría: cría industrial de los peces de agua dulce. C.E.C.S.A. México. 191 pp.

Ruiz-Campos, G. 1989. Repoblación natural por trucha arcoiris *Salmo gairdneri nelsoni* en un transecto del Arroyo San Rafael, Noroeste de la Sierra San Pedro Mártir, Baja California. The Southwestern Naturalist. 34(4):552-556.

----- . 1991. Distribución y bionomía de la trucha de la Sierra San Pedro Mártir (*Oncorhynchus mykiss nelsoni*), como especie potencialmente cultivable en Baja California. Informe técnico Final, DGICSA, Sec. de Educación Pública; México.

----- y J. Gomez-Ramirez. 1991 Age And growth of San Pedro Mártir rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss nelsoni* Evermann from Arroyo San Rafael, Baja California, México. Proc. Desert Fishes Council, 21: 141-161.

- Saila, S. B., C. W. Recksiek, y M. H. Prager 1988. Basic fishery science programs: a compendium of microcomputer programs and manual operation. Elsevier, Amsterdam. 230 pp.
- Scott, D.P. 1962. Effect of food quantity on fecundity of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Fish. Res. Bd. Can. 19(4):715-731.
- Sakun, O. F. 1966. Transition to meiotic divisions of the oocytes with incomplete vitellogenesis under the influence of hormonal stimulation in the Atlantic Salmon *Salmo salar* (L.) Dokl, Akad. Nauk SSSR, 169(1):-4
- Shapovalov, L., y A. C. Taft. 1954. The life histories of the steelhead rainbow trout (*Salmo gairdneri gairdneri*) and silver salmon (*Oncorhynchus kisutch*) with special reference to Waddell Creek, California, and recommendations regarding their management, Calif. Dep. Fish, and Game Fish. Bull. 98:1-375.
- Smith, G. R., y R. F. Stearley. 1989. The classification and scientific names of rainbow and cutthroat trout. Fisheries (Bethesda), 14(1):4-10.

- Smith, R. H. 1991. Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. En: Trout (Judith Stolz and Judith Schnell, eds.). The wildlife series, Stackpole Books, Harrisburgh. 304-323.
- Snyder, J. O. 1926. The trout of the Sierra San Pedro Martir, Lower California. Univ. of Calif. Pub. in Zoology, 21(17):419-426.
- Sokal, R. R., y F. J. Rohlf. 1979. Biometría: principios y metodos estadísticos en la investigación biológica. H. Blume, Madrid. 832 pp.
- Svardson, G. 1949. Natural selection and egg number in fish. Fish. Bd. Sweden, Inst. Freshwater Res. Drottningholm, Rept. No. 29:115-122.
- Takashima, F., R. Patino, y M. Nomura. 1980. Histological studies on the sex differentiation in rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 46(11):1317-1322.
- Tapia, O. M. 1984. Manual de técnicas histológicas. Ed. Inst. Nacional de Pesca, México. 32 pp.
- Taube, C. M. 1976. Sexual maturity and fecundity in brown trout of the Platte River, Michigan. Trans. Am. Fish. Soc., 4:529-533.

- Titarev, Y. F. 1974. Acceleration of maturation in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) under the influencia of increased water temperatura. Poundfish Farming. Moscow. VYSSHAYA Shkola Press. 23-25.
- Van den Hurk, R., y G. A. Sloff. 1981. A morphological and experimental study of gonadal sex differentiation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Cell Tissue Res., 218:487-497.
- Vladykov, V. D. 1956. Fecundity of wild speckled trout (*Salvelinus fontinalis*) in Quebec Lakes. J. Fish. Res. Bd. Can., 13(6):799-841.
- , y V. Legendre. 1940. The determination of the number of eggs in ovaries of brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Copeia, 4:218-219.
- Vicent, R. 1971. River electrofishing, and fish population estimates. Prog. Fish. Cult., 33:163-169.
- Whitehead, C., N. R. Bromage, J. R. Foster, y A. J. Matty 1978 The effect of alterations in photoperiod on ovarian development and spawning time in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys., 18:1035-1043.

- Wydoski, R. S., y E. L. Cooper. 1966. Maturation and fecundity of brook trout from infertile streams. J Fish. Res. Bd. Can. 23(5):623-649.
- Yamamoto, K., I. Oota, K. Takano, y T. Ishikawa. 1965. Studies on the maturing process of the rainbow trout, *Salmo gairdneri irideus*- I. Maturation of the ovary of a one year old fish. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 31(2):123-132.
- Yruretagoyena, C. U. 1985. Reseña sobre los estudios de los peces de las aguas continentales en Baja California, con especial referencia en la trucha de San Pedro Mártir (*Salmo nelsoni*, Evermann, 1908). Proc. Desert Fishes Council, XIII-XV-B, 164-176.

APENDICE I

TECNICA DE DESCALCIFICACION.

1.- Solución concentrada de Citrato.

Solución concentrada de Citrato de Sodio	100 g
Agua destilada	500 ml

2.- Acido fórmico concentrado.

Acido fórmico	250 ml
Agua destilada	250 ml

Se mezclan las dos soluciones en partes iguales. Este líquido se cambia todos los días (1 a 2 días para descalcificar; se lavan las muestras con agua de 4 a 8 horas, y posteriormente se deshidratan.

APENDICE II

1.- FIJACION.

Se utilizó formaldeído neutralizado como fijador. Para la eliminación de dicho fijador, se lavaron con agua corriente por un tiempo de 24 horas.

2.- DESHIDRATACION.

El proceso de deshidratación de la gónada se realizó en tres cambios, utilizando alcohol etílico en orden creciente de concentración, a partir del 30% hasta el alcohol absoluto; dicho procedimiento se realizó durante 30 minutos en cada uno de los cambios.

3.- TRANSPARENTACION.

Cloroformo I	10 minutos
Cloroformo II	10 minutos
Cloroformo III	10 minutos

4.- INCLUSION EN PARAFINA.

Parafina I (53-55 °C)	90 minutos
Parafina II (56-58 °C)	90 minutos
Parafina III (60-62 °C)	90 minutos

La inclusión definitiva se realizó en parafina 60-62 °C utilizando un aparato Embedding Center Tissue-Tek II.

5.- OBTENCION DE LA MUESTRA.

CORTES.

Se efectuaron cortes seriados en un microtomo de rotación American Optical de 5-7 μ de espesor. Estas fueron

montadas en un portaobjetos con la ayuda de un baño de flotación modelo Lab-Line a una temperatura de 56-58 °C.

APENDICE III

TECNICA DE COLORACION.

Se utilizó la técnica topográfica Hematoxilina-Eosina.

1.- DESPARAFINACION.

Xileno I	5 minutos
Xileno II	5 minutos
Xileno III	5 minutos

2.- HIDRATACION.

Alcohol etílico 95%	5 minutos
Alcohol etílico 80%	5 minutos
Alcohol etílico 70% I	5 minutos
Alcohol etílico 70% II	5 minutos
Lavado en agua de la llave.	

3.- TINCION.

Hematoxilina de Harris.	3 minutos
Lavado con agua de la llave	
Diferenciar en agua ácida	3 segundos
Lavado con agua destilada	
Virar en agua amoniacal	3 segundos
Lavado con agua destilada	1 minuto
Tinción con eosina alcohólica	5 minutos

4.- DESHIDRATACION.

Alcohol etílico 70%	1 minuto
Alcohol etílico 80%	1 minuto
Alcohol etílico 96% I	1 minuto
Alcohol etílico 96% II	1 minuto

Aclarar en xileno I 5 minutos

Aclarar en xileno II 5 minutos

Montar en resina sintética.

RESULTADOS:Núcleos en azul.

Citoplasma en rosa.