



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR**



**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN RECURSOS ACUÁTICOS**

**Desarrollo gonádico de la sardina crinuda**  
***Opisthonema bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre***  
**del sureste del Golfo de California, México**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN RECURSOS ACUÁTICOS**

**EN EL ÁREA DE APROVECHAMIENTO SUSTENTABLE DE RECURSOS**  
**PESQUEROS**

**PRESENTA:**

**Diana Laura Cervantes Rendón**

**DIRECTORES DE TESIS:**

**Dra. Rebeca Sánchez Cárdenas**

**Dra. Mercedes Laura Jacob Cervantes**

Mazatlán, Sinaloa, México, enero del 2022.



Dirección General de Bibliotecas  
Ciudad Universitaria  
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios  
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.  
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57  
dgbuas@uas.edu.mx

## UAS-Dirección General de Bibliotecas

### Repositorio Institucional Buelna

#### Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial  
Compartir Igual, 4.0 Internacional



## RESUMEN

La sardina es un recurso masivo que se distribuye en zonas costeras y forma grandes cardúmenes, lo que ha propiciado a que sea aprovechado de manera industrial y es la pesquería más importante a nivel nacional en cuanto a volumen de captura. Se lleva a cabo en el noroeste del país, y actualmente en la zona centro y sur del Golfo de California se cuenta con una certificación internacional por la MSC (Marine Stewardship Council) como pesquería sustentable. Para el manejo de esta y cualquier pesquería uno de los aspectos más importantes a considerar son los aspectos reproductivos, entre ellos el diagnóstico del desarrollo gonádico (DDG). Para ello, la histología es el método más preciso, pero es tardado y costoso. Por lo cual, en pesquerías como la de sardina crinuda (*Opisthonema bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) donde se realizan miles de observaciones anualmente, el DDG se ha realizado a partir de la escala de Nikolsky (1963), modificada por Cisneros-Mata (1987), en la que se incluyen características morfocromáticas (CM), a pesar de dificultades debido a la necesidad de validar la interpretación de algunos rasgos. En ese sentido, el objetivo del presente estudio es describir el desarrollo gonádico (DG) de la sardina crinuda mediante CM, sustentado en un análisis histológico. Un total de 745 ejemplares fueron obtenidos de la costa de Mazatlán de julio de 2018 a septiembre de 2019. Las gónadas fueron extraídas, pesadas, fotografiadas, sus CM en fresco fueron registradas, se realizó un diagnóstico morfocromático preliminar y se fijaron en formalina al 10%. Se procesaron a partir de técnicas histológicas, se realizó el diagnóstico histológico (DH) y se definió una escala donde el desarrollo gonádico fue dividido en fases. La interpretación de las CM fue validada mediante cotejo y se evaluó la precisión de la escala ya existente con las descritas mediante histología. Las gónadas se posicionan en la parte media inferior de la cavidad visceral, sostenidas por un mesenterio, son bilobuladas y su DG se clasificó en siete fases para hembras (♀) y cinco para machos (♂): desarrollo inicial (DI)<sub>♀,♂</sub>, desarrollo avanzado (DA)<sub>♀,♂</sub>, madurez (M)<sub>♀</sub>, desove parcial/eyaculación con desarrollo (DP)<sub>♀,♂</sub>, desove/eyaculación (D)<sub>♀,♂</sub>, recuperación (Rc)<sub>♀</sub> y reposo (Rp)<sub>♀,♂</sub>. El ciclo gonádico inicia con DI, y evoluciona continuando con DA, M, DP, D, Rc, R y reiniciando en DI, con rutas alternas como la secuencia periódica de M, DP, M antes de cambiar a D en las hembras por ser desovadores parciales. Se presentaron 0.79% de anomalías en *O. libertate*. No se encontraron diferencias interespecíficas ni se logró distinguir a escala morfocromática la atresia masiva. El porcentaje de asertividad y el nivel de concordancia entre la designación con la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987) y lo observado histológicamente fueron en su mayoría de “leve” a “aceptable” de acuerdo al índice de Kappa. Se hizo una propuesta de rediseño de la escala de DG para la sardina crinuda del sureste del Golfo de California, en la que se agregan más detalles en las CM, así como imágenes representativas para cada fase.

**Palabras clave:** Clupeidae, gónadas, escala morfocromática, gametogénesis, análisis histológico.

## ABSTRACT

The thread herring is a massive resource that is distributed in coastal areas and forms large schools, which has led to its being exploited industrially and is the most important fishery at the national level in terms of catch volume. It takes place in the northwest of the country, and currently in the central and southern Gulf of California there is an international certification by the MSC (Marine Stewardship Council) as a sustainable fishery. For the management of this and any fishery, one of the most important aspects to consider are the reproductive aspects, including the diagnosis of gonadal development (DDG). For this reason, in fisheries such as the thread herring (*Opisthonema bulleri*, *O. libertate* and *O. medirastre*) where thousands of observations are made annually, the DDG has been carried out using the Nikolsky scale (1963), modified by Cisneros-Mata (1987), in which morphochromatic characteristics (CM) are included, despite difficulties due to the need to validate the interpretation of some traits. In this sense, the objective of this study is to describe the gonadal development (GD) of the thread herring by means of MC, supported by a histological analysis. A total of 745 specimens were obtained from the coast of Mazatlán from July 2018 to September 2019. The gonads were extracted, weighed, photographed, their fresh MC were recorded, a preliminary morphochromatic diagnosis was performed and they were fixed in 10% formalin. They were processed from histological techniques, the histological diagnosis (HD) was made and a scale was defined where the gonadic development was divided into phases. The interpretation of the MC was validated by comparison and the accuracy of the existing scale was evaluated with those described by histology. The gonads are positioned in the lower middle part of the visceral cavity, supported by a mesentery, they are bilobed and their DG was classified into seven phases for females (♀) and five for males (♂): initial development (ID)<sub>♀,♂</sub>, advanced development (AD)<sub>♀,♂</sub>, maturity (M)<sub>♀</sub>, partial spawning/ejaculation with development (PS)<sub>♀,♂</sub>, spawning/ejaculation (S)<sub>♀,♂</sub>, recovery (Rc)<sub>♀</sub> and resting (Rp)<sub>♀,♂</sub>. The gonadal cycle begins with ID, and evolves continuing with AD, M, PS, S, Rc, R and restarting at ID, with alternate routes such as the periodic sequence of M, DP, M before changing to D in females due to being partial spawners. There were 0.79% abnormalities in *O. libertate*. No interspecific differences were found, nor was it possible to distinguish massive atresia on a morphochromatic scale. The percentage of assertiveness and the level of concordance between the designation with the Nikolsky scale (1963) modified by Cisneros-Mata (1987) and what was observed histologically were mostly from "mild" to "acceptable" according to the Kappa index. A proposal to redesign the GD scale for the thread herring from the southeastern Gulf of California was made, in which more details are added in the MC, as well as representative images for each phase.

**Keywords:** Clupeidae, gonads, morphochromatic scale, gametogenesis, histological analysis.

## *Dedicatoria*

**A Dios, a mis padres Elsa Yolanda, José Luis y a mi hermano Luis Arturo, porque han estado en cada paso de mi vida, guiándome, cuidándome y apoyándome en cada decisión, son el pilar más importante de mi vida.**

**A mi novio Fabián, que desde que llegó a mi lado ha sabido ser un excelente compañero de vida, con su apoyo incondicional y creyendo en mí tanto como yo creo en él.**

**Gracias a todos por estar siempre para mí y por alentarme a crecer como persona y como profesional, ustedes son mi más grande tesoro y todos mis logros son para ustedes.**

**Los amo♥**

**A todos los que se adelantaron en el camino, en especial a mi querido amigo Omar Arce y a mi abuelita Paula †♥**

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Autónoma de Sinaloa por darme una vez más la oportunidad de seguir creciendo académicamente.

Al laboratorio de pelágicos menores del Centro Regional de Investigaciones Acuícolas y Pesqueras (CRIAP) del Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (INAPESCA) de Mazatlán, al Laboratorio de Ecología de Pesquerías y al Laboratorio de Histología de la Facultad de Ciencias del Mar por hacer posible este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico brindado (CVU-931459).

A mis directoras de tesis, la Dra. Rebeca Sánchez Cárdenas y la Dra. Mercedes Jacob Cervantes, gracias por confiar en mi para la elaboración de este proyecto, por compartir conmigo sus conocimientos, su tiempo y su amistad. Son dos mujeres muy trabajadoras y apasionadas por su trabajo que quiero y admiro.

A mis sinodales el Dr. Luis Antonio Salcido, el Dr. Jorge Saúl Ramírez y el Dr. Eber Enrique Orozco, gracias por su apoyo, su tiempo y sus contribuciones durante toda esta etapa. Un agradecimiento especial a la Dra. Mónica Nurenskaya Vélez, por su tiempo y sus valiosas aportaciones a este trabajo, la estimo mucho.

A mis hermanitos de laboratorio de Ecología de Pesquerías, que hicieron este camino más ameno y divertido: María, Isabel, Juan y Josué, a la hermanita adoptiva Sonia, y a Nayeli y Jenny que siempre serán parte del LEP. A mi amigo Jorge, que llevamos casi diez años recorriendo juntos esta bonita carrera. Gracias a todos y espero la vida nos siga juntando, los quiero.

A mi prima Tania, que ha sido siempre un apoyo fundamental en mi vida.

Un agradecimiento muy especial a Conradito, pescador de la Isla de la Piedra por brindarme todas las muestras que requerimos para este estudio, gracias por estar al pendiente. Y al equipo de trabajo del programa de pelágicos menores del CRIAP Mazatlán por el apoyo en la identificación de las especies y la capacitación para los muestreos.

## ÍNDICE

<b>1.</b>	<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>ANTECEDENTES .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1</b>	<b>Generalidades del complejo <i>Opisthonema</i>.....</b>	<b>4</b>
<b>2.2</b>	<b>Taxonomía.....</b>	<b>5</b>
<b>2.3</b>	<b>Reproducción.....</b>	<b>8</b>
<b>2.4</b>	<b>Estudios a nivel histológico.....</b>	<b>11</b>
<b>3.</b>	<b>HIPÓTESIS .....</b>	<b>15</b>
<b>4.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
<b>4.1</b>	<b>General .....</b>	<b>15</b>
<b>4.2</b>	<b>Particulares .....</b>	<b>15</b>
<b>5.</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>16</b>
<b>5.1</b>	<b>Muestreos.....</b>	<b>16</b>
5.1.1	Identificación taxonómica .....	17
<b>5.2</b>	<b>Descripción del aparato reproductor .....</b>	<b>18</b>
<b>5.3</b>	<b>Proceso histológico.....</b>	<b>18</b>
<b>5.4</b>	<b>Diagnóstico histológico .....</b>	<b>21</b>
5.4.1	Estadio de crecimiento de ovocitos.....	21
5.4.2	Estadio de los ovocitos .....	22
<b>5.5</b>	<b>Descripción del ciclo ovárico y testicular .....</b>	<b>23</b>
<b>5.6</b>	<b>Precisión de la escala de Nikolsky (1963) modificada por cisneros-mata (1987). .....</b>	<b>23</b>
<b>5.7</b>	<b>Rediseño de la escala morfocromática .....</b>	<b>25</b>
5.6.1	Valores de color RGB .....	25
5.6.2	Índice gonadosomático .....	25
5.6.3	Índice gonadoalométrico.....	26
<b>5.7</b>	<b>Análisis estadísticos .....</b>	<b>27</b>
<b>6.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>28</b>
<b>6.1</b>	<b>Composición de la muestra .....</b>	<b>28</b>
6.1.1	Proporción de fases ováricas y testiculares .....	30
<b>6.2</b>	<b>Aparato reproductor .....</b>	<b>32</b>
6.2.1	Anatomía y posición de ovarios y testículos .....	32
6.2.2	Anomalías .....	36
<b>6.3</b>	<b>Desarrollo gonádico .....</b>	<b>40</b>

6.3.1 Hembras.....	40
6.3.1.1 Estadio de crecimiento de ovocitos y su diámetro .....	40
6.3.1.2 Estadio de los ovocitos .....	43
6.3.1.3 Fases de desarrollo ovárico.....	45
6.3.1.4 Diámetro de los ovocitos por fase ovárica .....	49
6.3.1.5 Pared de los ovarios.....	51
6.3.2 Machos.....	53
6.3.2.1 Fases de desarrollo testicular .....	53
<b>6.4 Ciclo gonádico .....</b>	<b>58</b>
6.4.1 Ciclo ovárico.....	58
6.4.2 Ciclo testicular .....	59
<b>6.5 PRECISIÓN DE LA ESCALA de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987).....</b>	<b>61</b>
6.5.1 Porcentaje de asertividad en hembras.....	61
6.5.2 Índice de Kappa en hembras .....	63
6.5.3 Porcentaje de asertividad en machos .....	64
6.5.4 Índice de Kappa en machos .....	66
<b>6.6 Rediseño de la escala morfocromática .....</b>	<b>67</b>
6.6.1 Hembras.....	68
6.6.1.1 Caracterización morfocromática .....	68
6.6.1.2 Índice gonadosomático e índice gonadoalométrico en hembras.....	73
6.6.2 Machos.....	76
6.6.2.1 Caracterización morfocromática .....	76
6.6.2.2. Índice gonadosomático e índice gonadoalométrico en machos .....	79
6.6.2.3 Representación de fases por sexo.....	82
<b>7. DISCUSIÓN .....</b>	<b>85</b>
<b>7.1 Aparato reproductor .....</b>	<b>85</b>
<b>7.2 Desarrollo gonádico .....</b>	<b>86</b>
7.2.1 Diagnóstico histológico .....	92
7.2.2 Anomalías .....	95
7.2.3 Índices .....	97
<b>7.3 Ciclo ovárico y testicular.....</b>	<b>99</b>
<b>7.4 Precisión de la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros- Mata (1987).....</b>	<b>100</b>
<b>7.5 Rediseño de la escala morfocromática .....</b>	<b>102</b>
<b>8. CONCLUSIONES.....</b>	<b>104</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>105</b>
<b>10. ANEXOS / PRODUCTOS DE LA TESIS.....</b>	<b>I</b>



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Especies de sardina crinuda presentes en la pesquería de pelágicos menores del sur del Golfo de California. A) *Opisthonema libertate*, B) *O. bulleri*, C) *O. medirastre* (Imágenes tomadas de Fisher *et al.*, 1995). ..... 4
- Figura 2.** Arco branquial de sardina crinuda, las flechas indican el inicio y el final de la sección ceratobranquial. (Imagen tomada de Berry y Barrett, 1963)... 6
- Figura 3.** Forma de la base de las branquiespinas ceratobranquiales de la sardina crinuda. A) base recta, B) base oblicua. (Imágenes tomadas de Torres-Ramírez, 2004). ..... 7
- Figura 4.** Abundancia de espículas en el cuerpo de las branquiespinas ceratobranquiales de la sardina crinuda. (Imágenes tomadas de Torres-Ramírez, 2004). ..... 7
- Figura 5.** Área de estudio; sureste del Golfo de California. .... 16
- Figura 6.** Prueba de homogeneidad del desarrollo testicular y ovárico a lo largo de las gónadas de sardina crinuda (*Opisthonema* spp.). Machos (A), hembras (B). ..... 19
- Figura 7.** Secuencia y tiempos de exposición de tejido gonadal de *Opisthonema bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre* durante el proceso de deshidratación, aclarado e impregnación en parafina, basado en Buesa y Peshkov (2009). ..... 20
- Figura 8.** Reactivos y tiempos de exposición para el proceso de tinción hematoxilina-eosina (Humason, 1979; Muñetón-Gómez *et al.*, 2000). ..... 21
- Figura 9.** Ciclo ovárico y testicular de *Peprilus medius*. ..... 23
- Figura 10.** Distribución de tallas de la muestra obtenida de *Opisthonema libertate*. n, número total de la muestra; M, machos; H, hembras; NS, no sexado. .... 29
- Figura 11.** Distribución de tallas de la muestra obtenida de *Opisthonema medirastre*. n, número total de la muestra; M, machos; H, hembras; NS, no sexado. .... 29
- Figura 12.** Distribución de tallas de la muestra obtenida de *Opisthonema bulleri*. n, número total de la muestra; M, machos; H, hembras; NS, no sexado. .... 30
- Figura 13.** Proporción por especies de la muestra total de la sardina crinuda obtenidas de julio de 2018 a septiembre de 2019 en el sureste del Golfo de California. .... 31
- Figura 14.** Anatomía gonadal de *Opisthonema* spp. A) ovario, B) testículo. CA, conexión arterial; AP, arteria principal; LI, lóbulo izquierdo; LD, lóbulo derecho; Ov, oviducto; Ep, espermiducto. La barra de escala indica 10 mm. .... 32

- Figura 15.** Descripción gráfica de la morfología longitudinal y transversal de ovarios y testículos de la sardina crinuda (*Opisthonema bulleri*, *O. libertate* y *O. mediraastre*) del sureste del Golfo de California. (Dibujo propio). ..... 34
- Figura 16.** Posición de la gónada dentro de la cavidad visceral de la sardina crinuda *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California. (Imagen propia).....35
- Figura 17.** Posición extendida de las gónadas en fase avanzada por toda la cavidad visceral de la sardina crinuda *Opisthonema* spp. A) macho, B) hembra. AP, área posterior; AA, área anterior; LI, lóbulo izquierdo; LD, lóbulo derecho. (Imagen propia). ..... 35
- Figura 18.** Características morfocromáticas e histológicas de ovario de *Opisthonema libertate* con anomalías, con hermafroditismo anormal. A) ovario con agente blanco (la barra de escala indica 10 mm); B) corte histológico del agente blanco (la barra de escala indica 100  $\mu$ m; tinción HE). AB, agente blanco; Sz, espermatozoides; Eg, espermatogénesis; VE, vaso eferente; LO, lamela; Ocp, ovocitos en crecimiento primario. .... 37
- Figura 19.** Ovario de *Opisthonema libertate* con anomalías: semifusión. A) características morfocromáticas (la barra indica 10 mm), B) características histológicas del lóbulo izquierdo, C, D y E) características histológicas del lóbulo derecho de la parte superior, media e inferior, respectivamente (la barra indica 100  $\mu$ m; tinción HE). LI, lóbulo izquierdo; LD, lóbulo derecho; Vg3, ovocito en vitelogénesis 3. .... 38
- Figura 20.** Ovario de *Opisthonema libertate* con anomalías: puntos oscuros. A) características morfocromáticas (la barra indica 10 mm), B y C) características histológicas (la barra indica 100  $\mu$ m; tinción HE). PO, puntos oscuros; EA, estructura amarilla; Vg2, ovocito en vitelogénesis 2; Cn, cromatina nucleolar. .... 39
- Figura 21.** Diámetro de los ovocitos por estadio de crecimiento. Las letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )..... 44
- Figura 22.** Fases microscópicas de desarrollo ovárico de *Opisthonema* spp. A) inmaduro, B) desarrollo inicial, C) desarrollo avanzado, D) madurez, E) desove parcial, F) recuperación, G) reposo, H) reposo. TG, tejido germinal; PO, pared ovárica; Cn, cromatina nucleolar; Ac, alveolo cortical; Vg1, vitelogénesis 1; Vg2 viteloénesis 2; Vg3, vitelogénesis 3; Nm, núcleo migratorio; At, atresia, FPOh, folículo postovulatorio de menos de 24 horas; FPO1, folículos postovulatorios de más de un día; Ga, gránulos amarillos. De la imagen A a la G la barra de escala indica 100  $\mu$ m, en la imagen H la barra de escala indica 50  $\mu$ m. Tinción HE..... 48

- Figura 23.** Ovarios de sardina crinuda (*Opisthonema libertate*) en estado de atresia mayor. At, atresia. La barra de escala indica 100  $\mu\text{m}$ . Tinción HE. 48
- Figura 24.** Diámetro promedio por fase de desarrollo ovárico de *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California. La barra muestra el error estándar y las letras las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la prueba post-hoc de Scheffer.....50
- Figura 25.** Promedio del ancho de la pared ovárica por fases de desarrollo de *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California. La barra muestra el error estándar y las letras las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la prueba post-hoc de Scheffer ..... 52
- Figura 26.** Fases microscópicas de desarrollo testicular de *Opisthonema* spp. A) inmaduro, B) desarrollo inicial, C) desarrollo avanzado, D) eyaculación con desarrollo, E) eyaculación, F) reposo, . Eg, espermatogénesis; Ez, espermatozoides; CE, canal de eyaculación; PT, pared testicular. La barra de escala indica 100  $\mu\text{m}$ ..... 56
- Figura 27.** Ciclo ovárico de la sardina crinuda *Opisthonema* spp. en el sureste del Golfo de California. La línea punteada muestra las rutas alternas. .... 59
- Figura 28.** Ciclo testicular de la sardina crinuda *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California..... 60
- Figura 29.** Desarrollo ovárico morfocromático y valores de color RGB de la sardina crinuda *Opisthonema* spp. en el sureste del Golfo de California. A) inmaduro, B) desarrollo inicial, C) desarrollo avanzado, D) madurez, E) desove parcial, F) recuperación, G) reposo. La barra de escala indican 10 mm. .... 72
- Figura 30.** Promedio del índice gonadosomático (IGS) e índice gonadoalométrico (IGA) de *Opisthonema* spp. por fase ovárica con error estándar. .... 74
- Figura 31.** Fases testiculares a nivel morfocromático de *Opisthonema* spp. en el sureste del Golfo de California. A) inmaduro, B) desarrollo inicial, C) desarrollo avanzado, D) eyaculación con desarrollo, E) eyaculación final, F) reposo. La barra de escala indica 10 mm. .... 78
- Figura 32.** Promedio del índice gonadosomático (IGS) e índice gonadoalométrico (IGA) de *Opisthonema* spp. por fase testicular. .... 80
- Figura 33.** Proporción por fases ováricas de la sardina crinuda (*Opisthonema* spp.) de julio 2018 a septiembre 2019, del sureste del Golfo de California..... 82
- Figura 34.** Proporción por fases testiculares de la sardina crinuda (*Opisthonema* spp.) de julio 2018 a septiembre 2019, del sureste del Golfo de California.83

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla I.</b> Escala morfocromática del desarrollo gonádico de la sardina crinuda modificada a partir de la de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987).....	<b>10</b>
<b>Tabla II.</b> Valores de coeficiente de Kappa. ....	<b>24</b>
<b>Tabla III.</b> Descripción y caracterización de ovocitos por estadio de crecimiento.....	<b>41</b>
<b>Tabla IV.</b> Promedio del diámetro de los ovocitos por estadio de crecimiento...	<b>43</b>
<b>Tabla V.</b> Prueba de comparación del diámetro de los ovocitos por estadio de crecimiento (Kruskal-Wallis, post-hoc Scheffer, $\alpha=0.05$ ).....	<b>44</b>
<b>Tabla VI.</b> Descripción microscópica del desarrollo ovárico de <i>Opisthonema</i> spp. en el sureste del Golfo de California. ....	<b>45</b>
<b>Tabla VII.</b> Diámetro promedio de los ovocitos por fase de desarrollo ovárico de <i>Opisthonema</i> spp. del sureste del Golfo de California. ....	<b>49</b>
<b>Tabla VIII.</b> Comparación del diámetro promedio de los ovocitos entre fases de desarrollo ovárico de <i>Opisthonema</i> spp. del sureste del Golfo de California.....	<b>51</b>
<b>Tabla IX.</b> Promedio del ancho de la pared ovárica por fases ováricas de <i>Opisthonema</i> spp. del sureste del Golfo de California. ....	<b>52</b>
<b>Tabla X.</b> Comparación del ancho de la pared del ovario entre fases ováricas de <i>Opisthonema</i> spp. del sureste del Golfo de California. ....	<b>53</b>
<b>Tabla XI.</b> Descripción microscópica del desarrollo testicular de la sardina crinuda <i>Opisthonema</i> spp. en el sureste del Golfo de California. ....	<b>55</b>
<b>Tabla XII.</b> Porcentaje de asertividad en la designación de fases ováricas a partir de la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987).....	<b>62</b>
<b>Tabla XIII.</b> Atributos distintivos y dificultades en el diagnóstico de las fases ováricas de <i>Opisthonema</i> spp. del sureste del Golfo de California. ....	<b>62</b>
<b>Tabla XIV.</b> Resultados del índice de Kappa por fase ovárica de la sardina crinuda <i>Opisthonema</i> spp. del sureste del Golfo de California. ....	<b>64</b>
<b>Tabla XV.</b> Porcentaje de asertividad en la designación de fases testiculares a partir de la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987) Mazatlán.....	<b>65</b>
<b>Tabla XVI.</b> Atributos distintivos y dificultades en el diagnóstico de las fases testiculares de <i>Opisthonema</i> spp. del sureste del Golfo de California. ....	<b>66</b>
<b>Tabla XVII.</b> Resultados del índice de kappa por fase testicular de la sardina crinuda <i>Opisthonema</i> spp. del sureste del Golfo de California. ....	<b>67</b>

<b>Tabla XVIII.</b> Descripción morfo cromática del desarrollo ovárico de la sardina crinuda <i>Opisthonema</i> spp. en el sureste del Golfo de California. ....	<b>69</b>
<b>Tabla XIX.</b> Promedio del índice gonadosomático (IGS) e índice gonadoalométrico (IGA) de <i>Opisthonema</i> spp. por fase ovárica. ....	<b>73</b>
<b>Tabla XX.</b> Comparación del índice gonadosomático entre fases ováricas de <i>Opisthonema</i> spp. del sureste del Golfo de California. ....	<b>75</b>
<b>Tabla XXI.</b> Comparación del índice gonadoalométrico entre fases ováricas de <i>Opisthonema</i> spp. del sureste del Golfo de California. ....	<b>76</b>
<b>Tabla XXII.</b> Descripción morfo cromática de las fases testiculares de la sardina crinuda <i>Opisthonema</i> spp. en el sureste del Golfo de California. ....	<b>77</b>
<b>Tabla XXIII.</b> Promedio del índice gonadosomático (IGS) e índice gonadoalométrico (IGA) de <i>Opisthonema</i> spp. por fase testicular. ....	<b>79</b>
<b>Tabla XXIV.</b> Comparación del índice gonadosomático entre fases testiculares de <i>Opisthonema</i> spp. del sureste del Golfo de California. ....	<b>81</b>
<b>Tabla XXV.</b> Comparación del índice gonadoalométrico entre fases testiculares de <i>Opisthonema</i> spp. del sureste del Golfo de California. ....	<b>81</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

La pesquería de sardina en México está dirigida a un grupo de peces pelágicos menores que habitan en aguas costeras y forman grandes cardúmenes, lo que ha propiciado llevar esta pesquería a nivel industrial (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 1996). Este recurso es aprovechado principalmente en el noroeste del país, en la costa del Pacífico occidental en la Península de Baja California y dentro del Golfo de California, incluyendo Sonora, Sinaloa y Nayarit (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 1996). Actualmente, la pesquería de sardina se posiciona en el primer lugar de producción pesquera en México en cuanto a volumen de captura, obteniendo cifras de hasta 721,571 toneladas de peso vivo en el 2017 (SAGARPA, 2017). Su volumen de producción contribuye hasta un 30% a la producción pesquera total anual a nivel nacional y un 10% en cuanto a valor económico (D.O.F., 11/06/18).

La sardina es una importante fuente de energía y proteínas de calidad, además de su valor económico tiene un importante valor ecológico, ya que es consumidor primario y se coloca en los niveles básicos de la red alimentaria, que es consumida por algunas especies de mamíferos marinos, grandes pelágicos, tiburones, aves, etc. (Merino *et al.*, 2014). Por parte de la industria, aprovechan su alto valor proteico, la mayor proporción de las capturas es destinada para la elaboración de harinas y aceites de pescado, comercializados para la industria avícola, acuícola y porcina. Y sólo 25% aproximadamente es procesado para el consumo humano, ya sea enlatado o congelado (D.O.F., 11/06/18). Otro uso que se le da a las sardinias es en la pesca deportiva como carnada y en los ranchos de engorda de atún como alimento fresco (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 1996; Del Moral-Simanek *et al.*, 2010).

Esta pesquería es multiespecífica, ya que dentro de los catalogados como pelágicos menores podemos encontrar gran variedad de especies (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 1996; Martínez-Zavala *et al.*, 2010). En México, esta pesquería está conformada por alrededor de doce especies que presentan hábitos y parámetros poblacionales similares y son del mismo interés comercial (D.O.F., 11/06/18). Las

que se extraen en mayor proporción son la sardina monterrey (*Sardinops sagax*) que representa un 38% de la captura nacional total, seguida de la sardina crinuda (Complejo *Opisthonema*: *O. bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) con el 28.1% y la sardina bocona (*Cetengraulis mysticetus*) con un 17.5% (D.O.F., 11/06/18). La composición de las especies en la captura, así como su abundancia y disponibilidad varía de acuerdo a las zonas de pesca y a la variabilidad ambiental (D.O.F., 11/06/18).

En Mazatlán Sinaloa, desembarcan las capturas de sardina del sur del Golfo de California, que incluye áreas de pesca en el sur de Sinaloa y parte de Nayarit. Estas capturas están constituidas principalmente por sardina crinuda en un 71% de la captura total y el resto por sardina bocona (Jacob-Cervantes *et al.*, 2012).

En sí, el género *Opisthonema* está compuesto por cinco especies de peces que se encuentran solamente en aguas tropicales y subtropicales en ambas costas del continente americano (Berry y Barrett, 1963). En las costas del Pacífico mexicano se encuentran el denominado en la zona como complejo *Opisthonema*, el cual está integrado por tres especies (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) que son fenotípicamente muy similares, aparecen entremezcladas y su distribución comprende desde México hasta Perú (Berry y Barrett, 1963). Para su identificación taxonómica a nivel especie, la forma más inmediata es por medio del conteo de branquiespinas con relación a la longitud del pez (Berry y Barrett, 1963). Además, también se emplean otras claves de identificación como la forma de inserción de la branquiespina en la base del segmento ceratobranquial y la cantidad de espículas en el cuerpo de la branquiespina (Torres-Ramírez, 2004), la forma de la base de las branquiespinas (Pérez-Quiñónez, 2014) y más recientemente mediante métodos genéticos (Pérez-Quiñónez *et al.*, 2020).

Actualmente, de acuerdo a la última actualización de la Carta nacional pesquera, el estatus de esta pesquería se encuentra como aprovechado al máximo sustentable (D.O.F., 11/06/18). A pesar de que el manejo de esta pesquería ha sido todo un reto, debido a la gran variabilidad de las capturas que se ven afectadas por los factores ambientales (Lluch-Belda *et al.*, 1986). Sin embargo, se han logrado

establecer medidas de manejo efectivas, tanto que en el año 2016 se logró certificar la pesquería de sardina como una pesquería sustentable y bien manejada bajo los estándares de la MSC (Marine Stewardship Council), en el norte y sur del Golfo de California (Pérez-Ramírez *et al.*, 2015).

Son muchos los aspectos a considerar en el manejo y evaluación de las pesquerías, y uno de los más importantes son los estudios sobre sus aspectos reproductivos debido a que estos se relacionan directamente con la ecología y la dinámica de las poblaciones (García-Cagide *et al.*, 1994). Estudios como el desarrollo gonádico, maduración sexual, ciclo reproductivo y fecundidad, son indispensables para el mejoramiento del manejo de los recursos. La base para la evaluación de estos aspectos es el desarrollo gonádico, para lo que la técnica de mayor precisión es la histología (West, 1990; Lowerre-Barbieri *et al.*, 2011). Sin embargo, esta técnica no es muy práctica ya que consume mucho tiempo y es costosa (West, 1990), por lo que algunos investigadores optan por utilizar escalas generalizadas para peces basadas en la forma, tamaño y coloración de los órganos reproductores y una de las más utilizadas en peces es la propuesta por Nikolsky (1963). Este tipo de escalas tiene un uso práctico en campo, no obstante, se ha demostrado que esas escalas si no son específicas y no están validadas histológicamente podrían causar errores de interpretación de hasta el 100% (Denton-Castillo, 2018). Esto debido a que cada especie presenta sus particularidades, además que el diagnóstico es muy subjetivo. Por tales motivos, es necesario realizar análisis histológicos cuando se requiere la información para la toma de decisiones en el manejo de los recursos pesqueros. Lo cual se ha tenido que hacer en la pesquería de sardina crinuda.

Debido a esto, el presente trabajo de investigación tiene como objetivo diseñar una escala morfocromática de desarrollo gonádico validada histológicamente para las tres especies de sardina crinuda (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) del sureste del Golfo de California, ya que actualmente se utiliza una escala generalizada no validada. Esto con la finalidad de obtener una herramienta



sencilla de usar en campo, pero que representa mayor certeza para la evaluación del recurso.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 GENERALIDADES DEL COMPLEJO *OPISTHONEMA*

En México, se conocen comúnmente como sardina crinuda a las tres especies del género *Opisthonema* que se pueden encontrar en el país. Este género pertenece a la familia Clupeidae y comprende cinco especies, de las cuales una habita en el océano Atlántico occidental y las otras cuatro en el océano Pacífico (Berry y Barrett, 1963). De ellas, *Opisthonema berlangai* es encontrada únicamente en las islas Galápagos y las otras tres especies (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) se distribuyen desde México hasta Perú, incluyendo el Golfo de California (Berry y Barrett, 1963; WoRMS, 2020) (Figura 1).

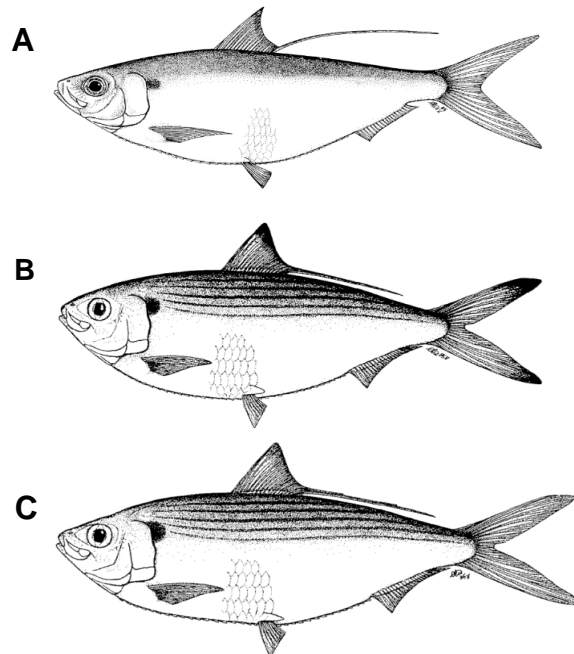


Figura 1. Especies de sardina crinuda presentes en la pesquería de pelágicos menores del sur del Golfo de California. A) *Opisthonema libertate*, B) *O. bulleri*, C) *O. medirastre* (Imágenes tomadas de Fisher *et al.*, 1995).

Estas tres especies conocidas también como complejo *Opisthonema* son la especie objetivo en la pesquería de pelágicos menores en el sur del Golfo de California (D.O.F., 11/06/18). Presentan características fenotípicas muy parecidas y suelen presentarse traslapes en las características merísticas y morfométricas, además de que se encuentran entremezcladas, lo cual dificulta su identificación a nivel especie (Berry y Barrett, 1963).

## 2.2 TAXONOMÍA

Reino: Animalia

Filum: Chordara

Clase: Actinopterygii

Orden: Clupeiformes

Familia: Clupeidae

Género: *Opisthonema*

Especies: *Opisthonema bulleri*

*Opisthonema libertate*

*Opisthonema medirastre*

(World Register of Marine Species (WoRMS): <http://www.marinespecies.org>)

Debido a esas similitudes se han realizado estudios como el de Pérez-Quiñónes *et al.* (2017), en el que muestra que las tres especies presentan diferencias morfométricas, principalmente entre *O. bulleri* con respecto a *O. libertate* y *O. medirastre*. Al igual que Pérez-Quiñónes *et al.* (2020) propone un nuevo método para la identificación genética de las tres especies del sur del Golfo de California.

Sin embargo, en el sentido práctico estos métodos requieren de mucho tiempo y dinero, por lo que para la discriminación de las especies en los estudios actuales se siguen utilizando las claves de identificación a partir de caracteres merísticos, principalmente la de Berry y Barrett (1963) y la de Torres-Ramírez (2004).

En la clave de Berry y Barrett (1963) se realiza la discriminación de las tres especies a partir de la extracción del primer arco branquial y el conteo de branquiespinas que se encuentran dentro de la sección ceratobranquial, con relación a la longitud del pez (Figura 2). En ese sentido, *O. bulleri* es la que presenta menor cantidad de branquiespinas ceratobranquiales, de 1 a 39, *O. medirastre* de 40 a 75 y *O. libertate* es la que presenta más, de 76 a 120.

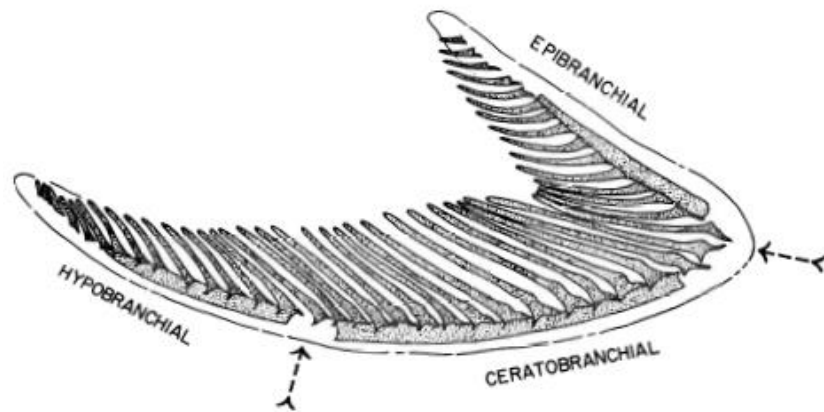


Figura 2. Arco branquial de sardina crinuda, las flechas indican el inicio y el final de la sección ceratobranquial. (Imagen tomada de Berry y Barrett, 1963).

Por su parte, Torres-Ramírez en el 2004 propone una nueva clave de identificación de la sardina crinuda en la que se pone cierto énfasis en la forma de intersección de las branquiespinas en su base y la presencia/abundancia o ausencia de espículas en las mismas. Menciona que *O. libertate* y *O. medirastre* presentan base recta de las branquiespinas y *O. bulleri* base oblicua (Figura 3).

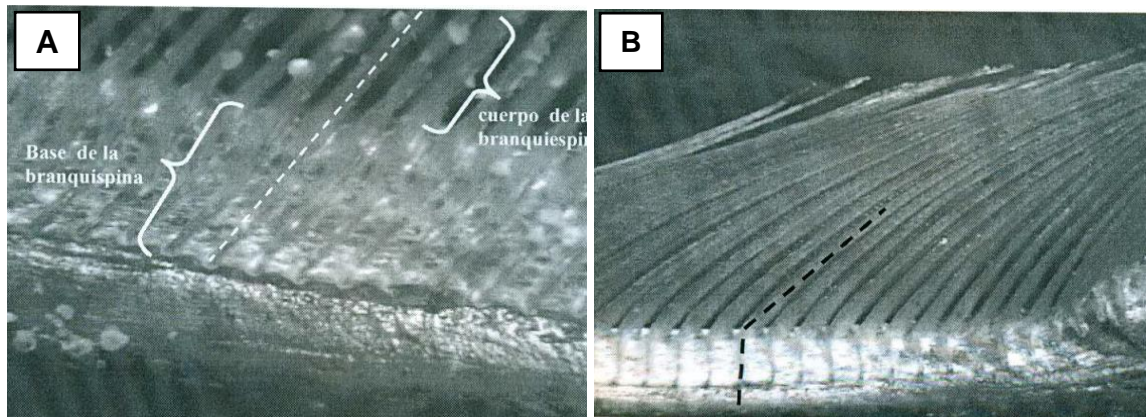


Figura 3. Forma de la base de las branquiespinas ceratobranquiales de la sardina crinuda. A) base recta, B) base oblicua. (Imágenes tomadas de Torres-Ramírez, 2004).

Con respecto a la presencia de espículas en el cuerpo de las branquiespinas *O. medirastre* presenta pocas, *O. bulleri* presenta muchas y *O. libertate* carece de ellas (Torres-Ramírez, 2004) (Figura 4).

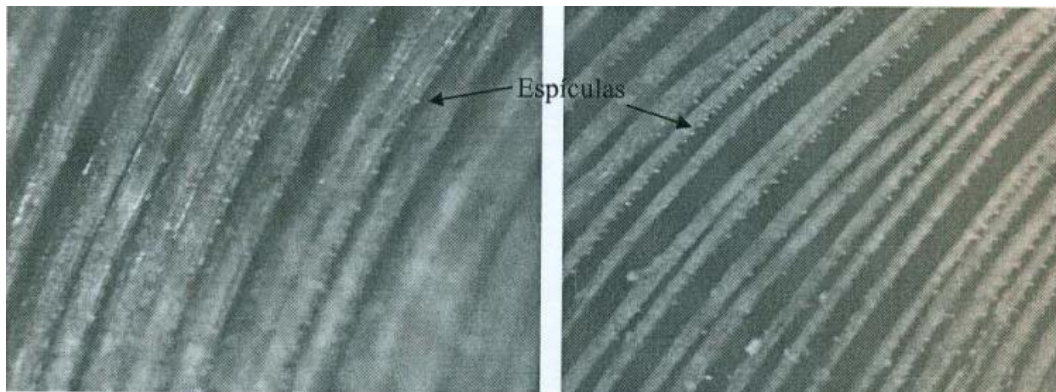


Figura 4. Abundancia de espículas en el cuerpo de las branquiespinas ceratobranquiales de la sardina crinuda. (Imágenes tomadas de Torres-Ramírez, 2004).

La sardina crinuda o complejo *Opisthonema* son peces de hábitos pelágicos que habitan en aguas costeras tropicales y subtropicales, que se distribuye verticalmente en la columna de agua de los 0 a los 50-70m de profundidad, forma generalmente grandes cardúmenes (Lluch-Belda et al., 1995, Fishbase, 2020). Se alimentan principalmente por medio de filtración, aunque también tienen la facultad de alimentarse por ingesta (Jacob-Cervantes et al., 1992). La talla máxima ( $T_{max}$ ) varía por especie, se ha reportado una  $T_{max}$  de 210 mm para *O. libertate* en el sur del Golfo de California (Ruiz-Domínguez, 2015), de 220 mm para *O. medirastre* y 196 mm para *O. bulleri* en el Golfo de California (Fisher et al., 1995).

### 2.3 REPRODUCCIÓN

De manera general Ganas et al. (2014) mencionan que las sardinas y anchovetas son desovadores parciales, tienen periodos prolongados de desove en los que van liberando ovocitos por lotes. La familia de los Clupeiidos ha sido muy estudiada debido a la importancia que tiene como recurso pesquero. Existen antecedentes acerca de aspectos reproductivos de *Clupea harengus pallasii* (Hay et al., 1987), *Opisthonema oglinum* (García-Abad et al., 1998), *Sardinella aurita* (Guzmán et al., 2001), *Sardina pilchardus sardina* (Ganas et al., 2004), *Clupea harengus* (Bucholtz et al., 2008), *Herengula clupeiola*, *H. humeralis* (Peña-Alvarado et al., 2008) y *Sardinops sagax* (Torres-Villegas et al., 2007; Coterro-Altamirano et al., 2015) en los que hablan sobre desarrollo gonádico, época reproductiva y tallas de madurez.

De manera particular para las especies objetivo del presente trabajo, se han realizado pocos estudios sobre aspectos reproductivos. Páez-Barrera (1976) realizó un estudio específicamente para *O. libertate* en la zona de Mazatlán Sinaloa, en el que determinó la madurez, el desarrollo gonadal, el desove y la fecundidad, basándose en análisis histológico de las gónadas. Así como también estableció una talla de primera madurez de 140 mm de longitud estándar para esta especie. Por otro lado, se ha reportado que la sardina crinuda del norte del Golfo de California se

reproduce en primavera-verano con observaciones ocasionales en otoño, sin embargo, se menciona que la muestra se compuso básicamente de *O. libertate*, dejando a entender que se pudo tomar muestra a nivel complejo y no específico (Cisneros-Mata *et al.*, 1989; Martínez-Zavala *et al.*, 2000). En la región del sureste del Golfo de California, particularmente en Mazatlán, se ha reportado que *O. libertate* desova en los meses de verano-otoño, mientras que *O. bulleri* lo hace en primavera-verano. No así para *O. medirastre*, ya que hasta el momento no se conoce su época reproductiva, se ha sugerido que posiblemente es en invierno (Rodríguez-Domínguez, 1987; Lyle-Fritch *et al.*, 1997). Sin embargo, los estudios sobre época reproductiva que se han realizado para sardina crinuda del Golfo de California se han realizado por medio de índices y utilizan para el diagnóstico de desarrollo gonádico escalas morfocromáticas generalizadas no validada histológicamente.

En la pesquería de sardina crinuda del sur del Golfo de California se han realizado esfuerzos por mejorar la calidad de los diagnósticos de desarrollo gonádico que se realizan sistemáticamente en la evaluación y manejo de la pesquería. Cisneros-Mata (1987) basándose en la escala morfocromática generalizada para peces propuesta por Nikolsky (1963), realizó modificaciones en las que se incorporó información para que esta escala fuera más específica para la sardina crinuda. Actualmente, esta escala es la utilizada por parte del Centro Regional de Investigaciones Acuícolas y Pesqueras (CRIAP) de Mazatlán para esta pesquería de acuerdo a Jacob-Cervantes (2010) y que ha funcionado de manera correcta hasta el momento, a pesar de no estar validada histológicamente. Sin embargo, con el objetivo de sentar las bases para la mejora de esta escala y reducir más la subjetividad de los diagnósticos realizados, se realizó un ejercicio para incorporar información adicional a la escala con base al conocimiento empírico de los técnicos a cargo del diagnóstico del desarrollo gonádico en la pesquería. Esto se realizó en un taller de capacitación para observadores abordaje de embarcaciones sardineras por medio del programa de pelágicos menores del CRIAP Mazatlán, con

la finalidad de detallar más la descripción del desarrollo ovárico e incorporar atributos del desarrollo testicular (Tabla I).

En esta escala se siguen manteniendo las seis fases de desarrollo gonádico de la escala de Nikolsy (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987), las cuales son: la fase 0 que es indiferenciado, fase I inmaduro, fase II desarrollo, fase III en proceso de maduración, fase IV predesove y fase V postdesove. No obstante, estas escalas no están validada histológicamente ni se basa en un estudio sistemático enfocado para tal fin y cuenta con variaciones de coloración intrafase que podrían deberse a diferencias interespecíficas debido a que son tres especies (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) y que es necesario aclarar y evidenciar para mayor precisión en el diagnóstico.

**Tabla I.** Escala morfocromática del desarrollo gonádico de la sardina crinuda modificada a partir de la de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987).

Fase	Longitud CRLCA	Color externo	Ovocitos visibles	Emana semen	Otras
0	$\frac{1}{4}$ (o menos)	Blanco (sexo indefinido).	NO	NO	Lóbulos delgados con apariencia de hilo.
I	$\frac{1}{4}$ (o < $\frac{1}{2}$ )	Rojizo, beis traslúcido <b>O</b> beis-traslúcido con áreas rojizas (ovarios y testículos).	NO	NO	
II	$\frac{1}{3}$ a $\frac{1}{2}$	Ovarios: rojo <b>O</b> rosáceo Testículos: blanco-opaco, blanco-grisáceo <b>O</b> blanco-beis	NO	NO	La parte anterior de los testículos es más ancha que la parte posterior
III	$\frac{1}{2}$ (o mayor)	Ovarios: rosáceo-pálido, amarillo-paja <b>O</b> naranja-pálido. Testículos: blancos	<b>SI</b>	NO	si los testículos son cortados transversalmente y presionados emanan una pequeña cantidad de líquido
IV	$\frac{3}{4}$ (o mayor)	Ovarios: amarillo-brillante, naranja-brillante <b>O</b> rojo-brillante (intensos). Testículos: blanco-lechoso <b>O</b> blanco-brillante.	<b>SI</b> (mayor tamaño) y libres en el lumen.	<b>SI</b>	Los ovocitos están hidratados. Si se presiona ligeramente el ovario, los ovocitos se emanan fácilmente.
V	mayor de $\frac{1}{2}$	Ovarios: amarillo-oscuro, naranja-oscuro <b>O</b> rojo-oscuro. Testículos: blanco-amorinado <b>O</b> blanco-oscurecido.	<b>SI</b>	NO	Al abrir el lóbulo del ovario se observan remanentes de ovocitos hidratados en el lumen y al hacer un raspado de los remanentes se observan ovocitos en diferentes tamaños.

Sin embargo, debido a la gran variedad de estrategias reproductivas y peculiaridades de cada especie se ha demostrado que utilizar escalas

generalizadas para peces, basadas únicamente en características morfocromáticas sin validación histológica podría conllevar grandes errores de interpretación y comprometer el futuro estado de un recurso (García-Cagide *et al.*, 1994; Helfman *et al.*, 2009).

Un ejemplo para ello, es el caso del estudio realizado por Denton-Castillo (2018) para la merluza del Pacífico (*Merluccius productus*). En este estudio se designaron fases de desarrollo gonádico de acuerdo a características morfocromáticas, utilizando la escala generalizada de Nikolsky (1963). Al realizar los análisis histológicos sus resultados mostraron que las designaciones tuvieron errores de hasta del 100% en algunas fases (madurez y reposo), lo que implica que las decisiones de manejo que se puedan tomar para la pesquería de merluza a partir de dicha información podrían no ser adecuadas. Otro ejemplo, es el estudio de Cotero-Altamirano *et al.* (2015), quienes trabajaron con sardina monterrey (*Sardinops sagax*), encontrando diferencias significativas entre la asignación de la madurez gonádica de manera visual con respecto a la asignada histológicamente.

De ahí radica la importancia de realizar estudios específicos para cada especie ya que los aspectos reproductivos tienen una influencia directa sobre la dinámica de las poblaciones y por ende el futuro de una pesquería (García-Cagide *et al.*, 1994). En ese sentido, algunos autores coinciden en que la técnica de mayor precisión para evaluar el desarrollo gonádico es la histología (West, 1990; Lowerre-Barbieri *et al.*, 2011).

## 2.4 ESTUDIOS A NIVEL HISTOLÓGICO

Se han realizado algunos estudios histológicos sobre el desarrollo gonádico de algunos clupeidos, tal es el caso de la sardina monterrey *S. sagax* en el cual se describieron cinco fases de desarrollo ovárico y testicular, las cuales son inmaduro, madurando, maduro sin desove, maduro con desove y recuperación o reabsorción para hembras e inmaduro, madurando, maduro sin liberación, maduro con liberación y recuperación para machos en la costa occidental de Baja California,



México (Cotero-Altamirano *et al.*, 2015). Sin embargo, en este estudio no se presenta el análisis morfo cromático de las gónadas.

Bucholtz *et al.* (2008) realizaron un manual para la determinación de la madurez gonadal del arenque común *Clupea harengus*, en el cual determinaron por medio de macroscopía e histología el ciclo gonádico y las fases de desarrollo gonadal para hembras y machos (juvenil, maduración temprana, maduración media, maduración final, preparado para desovar, desove, gasto-recuperación y adicionalmente gónadas anormales), realizando una aparente validación entre ambos métodos.

Por su parte, Maldonado-Amparo *et al.* (2017) realizaron un estudio sobre el desarrollo gonádico de *Peprilus medius* en Mazatlán que es pez de hábitos epipelágicos con historia de vida similar a la de la sardina crinuda. En él, se realizó una escala morfo cromática de desarrollo gonádico, validada histológicamente, demostrando que los patrones morfológicos y colorimétricos de la gónada de *P. medius* son buenos indicadores de la fase de madurez. Se describieron cinco fases de desarrollo testicular (inmaduro, desarrollo, eyaculación, eyaculada y reposo), presentándose una baja incidencia de reposo (menor al 5 %). Para ovarios, se describen seis fases de desarrollo que se pueden diferenciar mediante sus características morfo cromáticas (inmaduro, desarrollo, madurez, desove, postdesove y recuperación) y adicionalmente dos subfases a nivel histológico para la fase de desarrollo: desarrollo inicial y desarrollo avanzado; y para la fase de desove: desove parcial y postdesove parcial. Cabe mencionar que la subfase postdesove parcial (diapausa) no se puede distinguir del desove parcial a nivel morfo cromático.

De la misma manera, Sánchez *et al.* (2013), realizaron una escala de madurez gonadal del jurel *Trachurus murphyi*, en Perú. En dicho estudio se realizó la validación de las fases macroscópicas de desarrollo gonádico mediante histología. Las fases propuestas por el autor son: virginal, reposo, en maduración, maduro, desovante y en recuperación para hembras y virginal, reposo, en maduración, maduro, expulsante y postexpulsante para machos. Este tipo escalas

se han realizado también para otras especies de peces con historias de vida diferentes a las de la sardina crinuda, en donde evidentemente las gónadas presentan un patrón morfocromático que lo hace idóneo para identificar las fases de desarrollo gonádico. Como ejemplo, está el estudio realizado por Sánchez-Cárdenas (2007) para *Sphoeroides annulatus* y el de Denton-Castillo (2016) para *Occidentarius platypogon*.

Por otro lado, se ha documentado acerca de que algunos peces de la familia Clupeidae pueden verse altamente afectados por los cambios de las condiciones ambientales (Lluch-Belda *et al.*, 1986; Torres-Villegas *et al.*, 2007). Uno de las consecuencias que se ha reportado que podría ser provocada por dichos cambios es el fenómeno de atresia mayor. Este consiste en que más del 50 % de los ovocitos de cada ovario entran en atresia, es decir, reabsorción, y si esto se presenta cuando los ovocitos aún no han entrado en el estadio de madurez, puede traer como consecuencias falla en el reclutamiento, baja productividad en la población, por lo tanto, una baja en el potencial pesquero (Torres-Villegas *et al.*, 2007). Este fenómeno se presentó en la temporada de pesca de sardina monterrey (*Sardinops sagax*) de 1999 al 2000 en Bahía Magdalena, Baja California Sur y se realizó el estudio al detectar alta incidencia de organismos menores a la talla de primera madurez (< 150 mm) en las capturas (Torres-Villegas *et al.*, 2007). Con base a los análisis histológicos se encontraron altas frecuencias de ovarios en atresia mayor, indicando que la temporada reproductiva finalizó, siendo interrumpida, sin poder diferenciar el daño en las gónadas a nivel morfocromático (Torres-Villegas *et al.*, 2007). Sin embargo, los mismos autores mencionan que la atresia mayor se puede considerar normal en frecuencias menores al 2 % en temporada reproductiva de sardina monterrey, y mayor al 6% indican el final de la temporada (Torres-Villegas, 1997 en Torres-Villegas *et al.*, 2007).

Cabe mencionar que la posibilidad de identificar *in-situ* a la “atresia mayor” podría generar información adicional y trascendental durante las evaluaciones pesqueras en vías a comprender las altas fluctuaciones de la biomasa que ha caracterizado a este recurso y la dinámica del reclutamiento.

Los múltiples estudios que hay de peces en donde se desarrollan escalas de maduración ha llevado a una gran diversificación de términos para llamar a las fases de desarrollo gonádico, por lo que Brown-Peterson *et al.* (2011) hacen unas recomendaciones para tratar de estandarizar los términos a nivel mundial. Recomienda utilizar terminología simple y universal, que sean pocas fases y que se resalten las características más distintivas. Propone las fases de inmaduro, desarrollo, capacidad de desove, regresión y regeneración y junto con ello un modelo conceptual del ciclo gonádico.

Como datos complementarios a la parte descriptiva y para entender mejor el proceso del desarrollo gonádico, algunos autores describen las características anatómicas de los órganos reproductores, así como su ubicación. Coteró-Altamirano *et al.* (2015), describen que tanto ovarios como testículos de *S. sagax* son bilobulados, de morfología alargada y fusiforme. Se encuentran en la cavidad abdominal, entre la vejiga natatoria y el intestino, unidos a la pared celómica por mesenterio y se unen en el extremo posterior a los conductos por los que serán expulsados los gametos. Bucholtz *et al.* (2008) mencionan que *C. harengus* presenta gónadas bilobuladas, el lóbulo izquierdo es más grande que el lóbulo derecho, de manera normal y presentan características distinguibles como la arteria principal que une a los dos lóbulos en la parte media-superior y en la parte inferior se encuentran los conductos ováricos y espermáticos. Por su parte, Maldonado-Amparo *et al.* (2017), mencionan que las gónadas de *P. medius* están compuestas de dos lóbulos y en fases avanzadas se logra diferenciar que uno es más ancho que el otro y documentaron una deformidad que se presentó en el lóbulo inferior de un ovario. Además, las gónadas están unidas al poro genital en la parte media ventral de la cavidad abdominal y se desarrollan hacia la parte posterior del pez, y se desarrollan más hacia lo ancho que hacia lo largo debido a la morfología del pez.

Hasta el momento no existen estudios sobre desarrollo gonádico específico para sardina crinuda a nivel histológico.

### **3. HIPÓTESIS**

1. Los patrones de coloración de las gónadas son diferentes entre las tres especies de sardina crinuda (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*).
2. La sardina crinuda presenta diapausa (postdesove parcial) y puede presentar atresia mayor y estos fenómenos son indistinguibles a escala morfocromática.
3. La sardina crinuda presenta un bajo porcentaje de reposo (<5%).
4. El diagnóstico morfocromático es preciso para distinguir las fases gonádicas: inmaduro, desarrollo, en proceso de maduración, predesove y postdesove en la sardina crinuda; a partir de la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987).

### **4. OBJETIVOS**

#### **4.1 GENERAL**

Estudiar el patrón de desarrollo de los órganos reproductores de la sardina crinuda (*Opisthonema bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) del sureste del Golfo de California.

#### **4.2 PARTICULARES**

1. Describir el aparato reproductor de hembras y machos.
2. Describir histológicamente las fases ováricas y testiculares.
3. Describir el ciclo ovárico y testicular.
4. Estimar la precisión del desarrollo gonádico a partir de la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987).
5. Rediseñar la escala morfocromática para el diagnóstico de las fases ováricas y testiculares.

## 5. MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.1 MUESTREOS

Se realizaron muestreos mensuales de un promedio de 60 organismos durante un ciclo anual. Los especímenes se obtuvieron con apoyo de pescadores que operan en la lonja pesquera de la Isla de la Piedra, la cual opera en la zona costera de Mazatlán, Sinaloa (Figura 5). Los organismos se trasladaron inmediatamente al laboratorio de Biología Pesquera de la Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Autónoma de Sinaloa para su procesamiento.

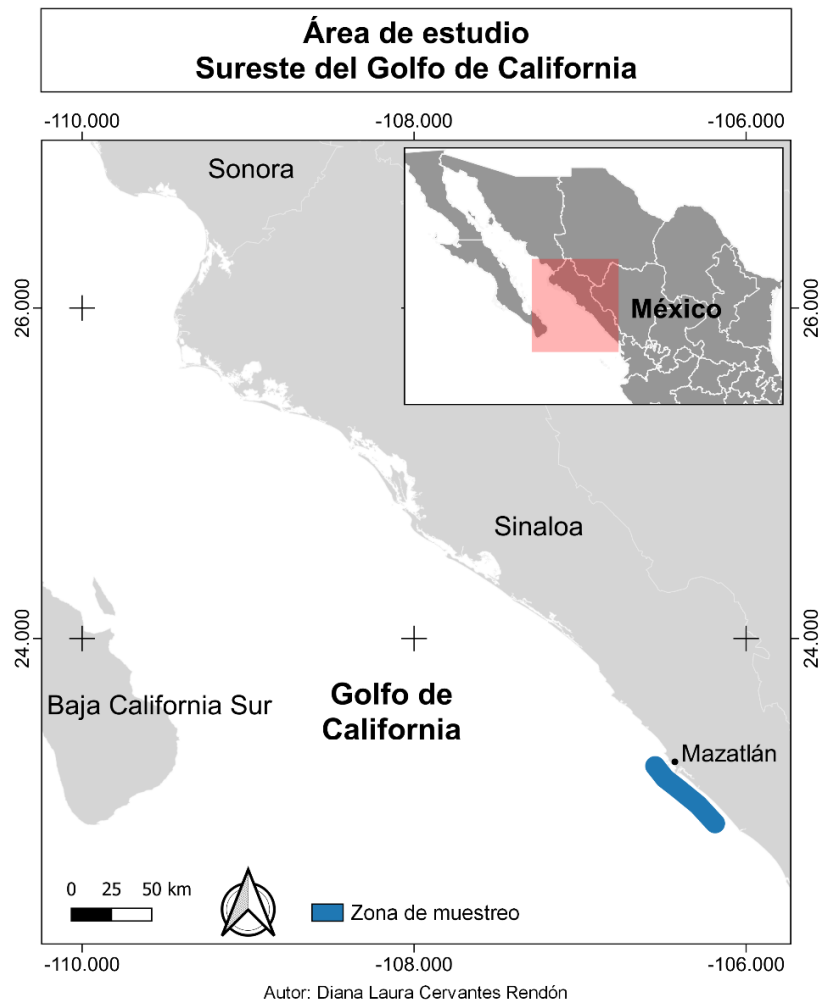


Figura 5. Área de estudio; sureste del Golfo de California.

Una vez en laboratorio, se procedió a realizar el muestreo masivo y posteriormente el biológico, de acuerdo al protocolo de muestreo estandarizado para pelágicos menores establecido por el CRIAP-Mazatlán. El muestreo masivo consistió en medir la longitud patrón de todos los organismos de la muestra y separarlos por intervalos de tallas de 5 mm. Ya separados todos los ejemplares se registró el número de organismos encontrado en cada intervalo, así como la cantidad total. Posteriormente, se seleccionaron diez organismos de cada intervalo para realizar el muestreo biológico, el cual consistió en tomar las mediciones biométricas estándar, es decir la longitud total y longitud patrón de cada individuo a una precisión de 1 mm, y el peso total con una precisión de 0.1 g. Además, se extrajeron las gónadas de cada organismo, se pesaron, se identificó el sexo y se asigna una fase de desarrollo gonádico a partir de las características morfo cromáticas de acuerdo a la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987).

Adicionalmente al protocolo establecido, se diseñó una bitácora en donde se registraron datos de interés sobre las características morfo cromáticas de las gónadas, tales como coloración, consistencia, apariencia y vascularización y se tomaron fotografías de cada gónada junto a una regla milimétrica. Finalmente, las gónadas se fijaron en formalina al 10 % y transcurridas 72 h se lavaron en agua corriente y se conservaron en alcohol etílico al 50 % hasta su posterior procesamiento histológico.

### **5.1.1 Identificación taxonómica**

Para la identificación taxonómica de las especies se extrajo el primer arco branquial de cada ejemplar durante el muestreo biológico, se preservaron en seco con su debida etiqueta y se trasladaron al departamento de pelágicos menores del CRIAP-Mazatlán para el diagnóstico de acuerdo a distintas claves taxonómicas como la de Berry y Barrett (1963) y Torres-Ramírez (2004).

## 5.2 DESCRIPCIÓN DEL APARATO REPRODUCTOR

Se describió la estructura morfológica y anatómica de ovarios y testículos, su posición dentro de la cavidad visceral, órganos adyacentes y sus conexiones mediante observación directa y se obtuvieron fotografías. Como referencia se utilizaron los documentos de Bucholtz *et al.* (2008), Helfman *et al.* (2009), Cotero-Altamirano *et al.* (2015), Maldonado-Amparo *et al.* (2017), entre otros.

Se realizaron diagramas sobre la morfología de los órganos reproductores mediante el programa CoreIDRAW 2020.

## 5.3 PROCESO HISTOLÓGICO

Se realizaron pruebas del proceso histológico completo, en el cual se realizaron cortes transversales en la parte anterior, media y posterior de quince ovarios y quince testículos. Esto con la finalidad de observar si el desarrollo gonádico es homogéneo a lo largo de todo el órgano y seleccionar la sección para analizar en el resto de las gónadas, así como ajustar los tiempos de exposición del tejido a los diferentes reactivos durante el procesamiento. Con los resultados de las pruebas se comprobó que el desarrollo es homogéneo a lo largo del órgano (Figura 6), lo que nos permitió trabajar el resto de las muestras con la sección media transversal de uno de los lóbulos de las gónadas.

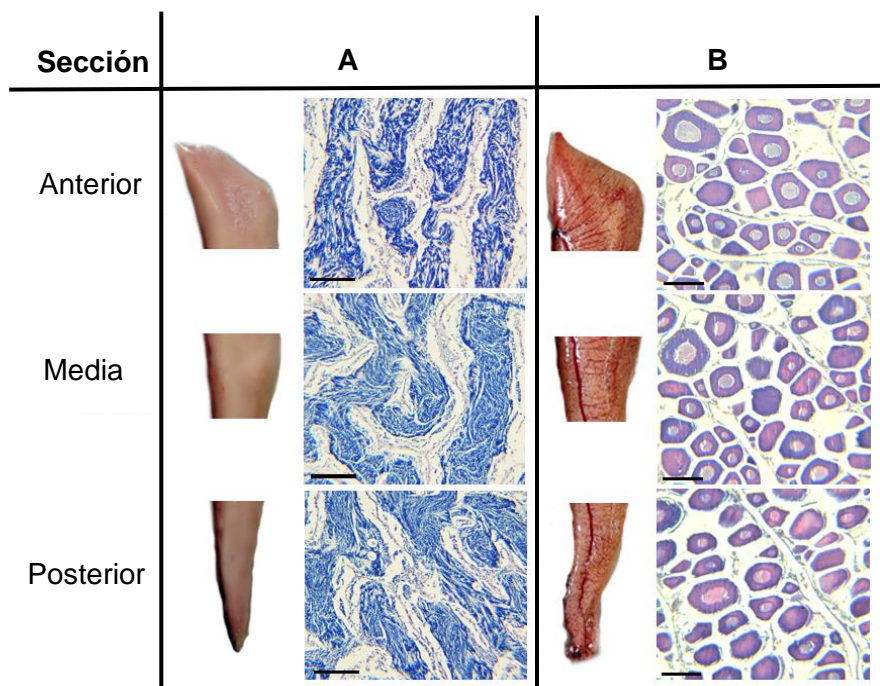
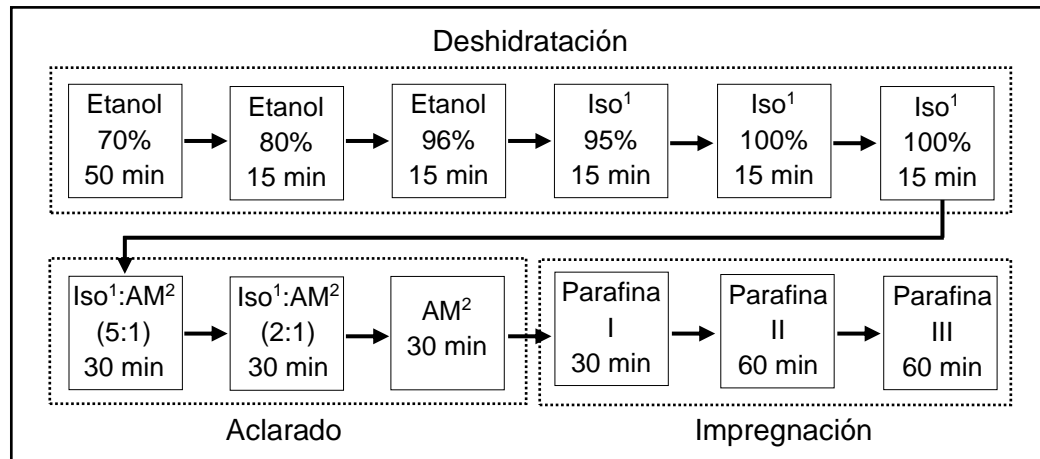


Figura 6. Prueba de homogeneidad del desarrollo testicular y ovárico a lo largo de las gónadas de sardina crinuda (*Opisthonema* spp.). A) Machos, B) hembras.

La sección media de ovarios y testículos sometieron al proceso de deshidratación mediante cambios graduales con concentraciones de menor a mayor de alcohol etílico e isopropílico, se aclararon con aceite mineral y finalmente se impregnaron en parafina (Humason, 1979; Buesa y Peshkov, 2009) (Figura 7).





<sup>1</sup> Isopropanol, <sup>2</sup> Aceite mineral

Figura 7. Secuencia y tiempos de exposición de tejido gonadal de *Opisthonema bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastrae* durante el proceso de deshidratación, aclarado e impregnación en parafina, basado en Buesa y Peshkov (2009).

Una vez impregnadas las muestras en parafina, se colocaron en moldes para su inclusión en bloques. Posteriormente se realizaron cortes histológicos de 5µm de espesor mediante un microtomo semiautomático, se colocaron en flotación en agua con grenetina en baño maría, a una temperatura de alrededor de 35°C y se recibieron con un porta objetos.

Los cortes se tiñeron mediante la técnica de tinción hematoxilina-eosina, con su previa desparafinación en xilol (Humason, 1979; Muñetón-Gómez et al., 2000) (Figura 8). Finalmente, los cortes teñidos se montaron en resina sintética para su preservación y posterior análisis.

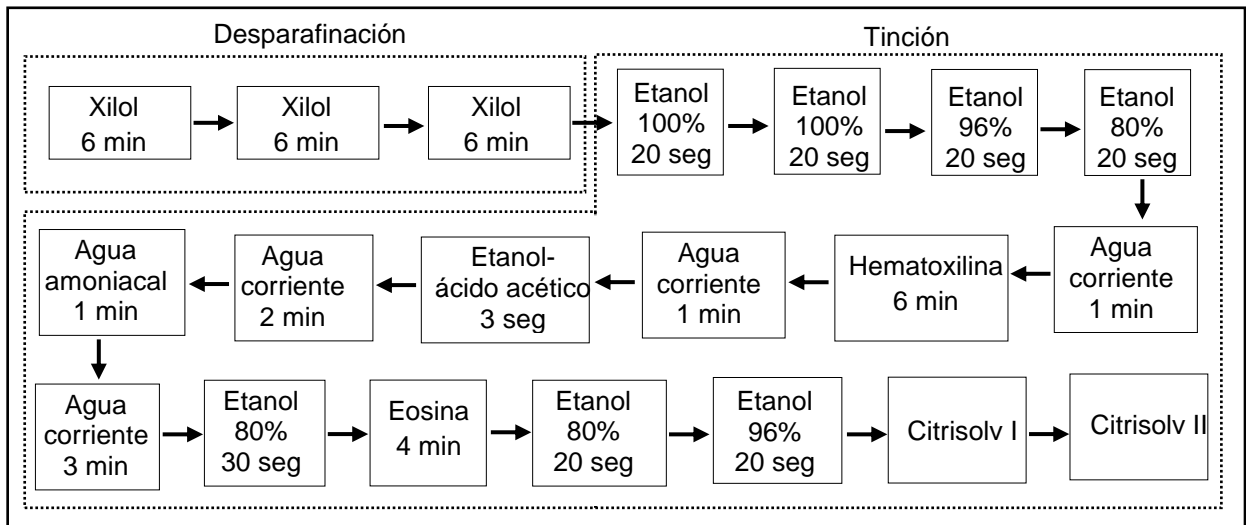


Figura 8. Reactivos y tiempos de exposición para el proceso de tinción hematoxilina-eosina (Humason, 1979; Muñetón-Gómez *et al.*, 2000).

#### 5.4 DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO

Se realizaron observaciones de los cortes histológicos mediante un microscopio óptico, se describieron las características celulares y tisulares más distintivas de ovarios y testículos y se dividió el desarrollo en fases.

Para la designación de las fases de desarrollo ovárico y testicular se tomó en cuenta la presencia, ausencia y/o abundancias de las células gametogénicas, así como los criterios de autores como Torres-Villegas *et al.* (2007) y Cotero-Altamirano *et al.* (2015) para *Sardinops sagax*, además de los trabajos de Wallace y Selman (1981), Schulz *et al.* (2010), Ganas *et al.* (2014) y Reading *et al.* (2017). Con respecto la terminología se tomó en cuenta los trabajos de Brown-Peterson *et al.* (2011) y Lowerre-Barbieri *et al.* (2011).

##### 5.4.1 Estadio de crecimiento de ovocitos

Se identificaron y clasificaron los estadios de crecimiento de los ovocitos, en los que se consideran las características observadas y tomando en cuenta los

estudios realizados por Ganas *et al.* (2014), Cotero-Altamirano *et al.* (2015), Maldonado-Amparo *et al.* (2017) y Reading *et al.* (2017).

#### 5.4.2 Estadio de los ovocitos

Se digitalizaron fotografías de todos los cortes histológicos de ovarios mediante el software digiCamControl y una cámara Nikon (D5200) adaptada a microscopio. A partir de las imágenes se midió el área de cien ovocitos por mes con núcleo claramente distinguible en diferentes estadios de crecimiento a través del software SigmaScan Pro (versión 5.0). Las áreas obtenidas se transformaron a diámetro despejando el radio de la fórmula general del área de una circunferencia ( $A=\pi \cdot r^2$ ) (Thema, 2003) y posteriormente se multiplicó por dos para obtener el diámetro:

$$D = \sqrt{\frac{A}{\pi}} * 2$$

donde: D es el diámetro; A es el área y  $\pi$  es igual a 3.1416. Se calculó la desviación estándar por estadio de crecimiento de los ovocitos.

El cálculo del diámetro de los ovocitos hidratados se estimó a partir del perímetro, el cual nos permitió calcular el radio y finalmente el diámetro con las siguientes fórmulas:

$$r = \frac{p}{2*\pi} \quad D = 2r$$

donde: r es el radio; p es el perímetro; D es el diámetro y  $\pi$  es igual a 3.1416.

Adicionalmente, se midió el ancho de la pared de los ovarios, con la finalidad de comparar entre fases y conocer si existe diferencia entre ellas, con ayuda del mismo programa.

## 5.5 DESCRIPCIÓN DEL CICLO OVÁRICO Y TESTICULAR

Se definió la secuencia de las fases de desarrollo que experimentan los ovarios y testículos, considerando la secuencia lógica del desarrollo gonádico en congruencia con la gametogénesis (Wallace y Selman, 1981; Schulz *et al.*, 2010; Reading *et al.*, 2017). Además, se realizaron las lecturas de los cortes histológicos siguiendo un orden temporal para establecer las diferentes rutas que puede tomar el desarrollo circunstancialmente.

Se tomaron en cuenta los criterios de algunos autores como Bucholtz *et al.* (2008), Brown-Peterson *et al.* (2011) y se representó el ciclo mediante un diagrama como el propuesto por Maldonado-Amparo (2017) (Figura 9).

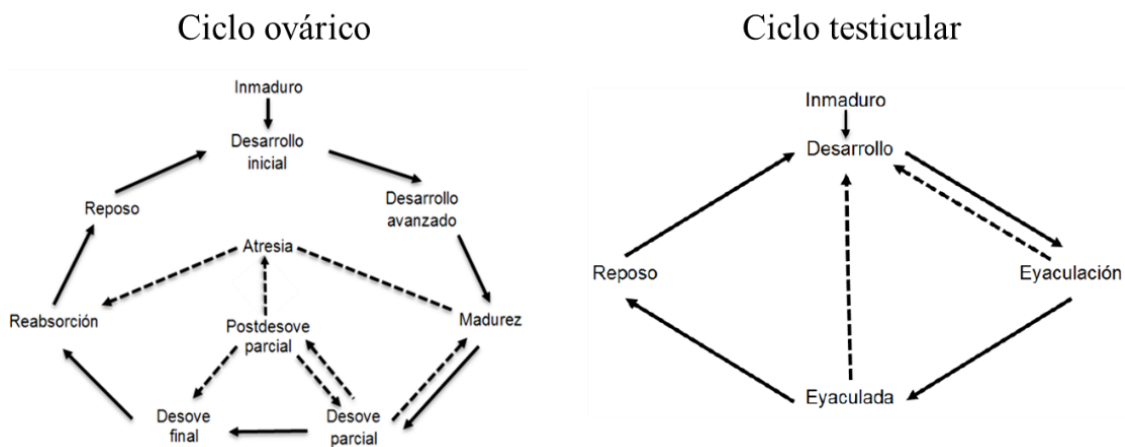


Figura 9. Ciclo ovárico y testicular de *Peprilus medius*.

## 5.6 PRECISIÓN DE LA ESCALA DE NIKOLSKY (1963) MODIFICADA POR CISNEROS-MATA (1987).

Durante el muestreo se realizaron designaciones previas al diagnóstico histológico de acuerdo a la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987). Estas designaciones se compararon con las fases definidas a partir del diagnóstico histológico para evaluar la precisión en la distinción de los tipos

morfo cromáticos a partir de la escala que se había estado aplicando sin validación histológica.

Se calculó el porcentaje de asertividad para cada fase por sexo, de acuerdo al número de organismos asignados inicialmente con la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987) que concordaran con la fase histológica observada, con la fórmula:

$$\text{Asertividad} = \frac{\text{No. de organismos que concordaron entre ambas escalas}}{\text{No. total de organismos de la fase}} * 100$$

Además, se estimó el índice de Kappa para la evaluación de la concordancia entre las fases asignadas previamente con la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987) y las observadas mediante los análisis histológicos, a partir de la siguiente ecuación (Cerdeja y Villarroel, 2008):

$$K = \frac{PA - PE}{1 - PE}$$

Donde: PA es la proporción de concordancia y PE es la probabilidad hipotética de concordancia por azar.

La interpretación del índice de kappa se realizó mediante los criterios establecidos por Landis y Koch (1997) y Cerdeja y Villarroel (2008) (Tabla II).

**Tabla II.** Valores e interpretación del coeficiente de Kappa.

Coeficiente de Kappa	Nivel de concordancia
0.00	Pobre
0.01-0.20	Leve
0.21-0.40	Aceptable
0.41-0.60	Moderada
0.61-0.80	Considerable
0.81-1.00	Casi perfecta

## 5.7 REDISEÑO DE LA ESCALA MORFOCROMÁTICA

Para el rediseño de la escala se utilizaron como base las propuestas por otros autores como Bucholtz *et al.* (2008) para *Clupea harengus L.*, Denton-Castillo (2016) para *Occidentarius platypogon* y Maldonado-Amparo *et al.* (2017) para *P. medius*. Además, se tomó en cuenta la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987) para reconsiderar los atributos morfo cromáticos que se han venido utilizando.

Adicionalmente se obtuvieron los valores de color RGB y se calcularon el índice gonadosomático y el índice gonadoalométrico para añadirlos a las descripciones de cada fase de desarrollo mediante los siguientes métodos:

### 5.6.1 Valores de color RGB

Se obtuvieron los valores de color RGB (Red, Green and Blue) a partir de las fotografías de las gónadas tomadas durante los muestreos, mediante la herramienta de goteo del software de edición Photoshop Cs6, (Maldonado-Amparo *et al.*, 2017). Se dividieron las imágenes en los canales RGB para obtener los respectivos valores en cada canal

Con base a los valores de color RGB obtenidos se realizó un ajuste manual y se creó un gradiente de colores en el software Excel.

### 5.6.2 Índice gonadosomático

El índice gonadosomático (IGS) indica el incremento de tamaño en peso de la gónada conforme su estado de desarrollo, tomando en cuenta el peso del organismo, el cual se calculó mediante la siguiente fórmula (Lasker y Giese, 1983):

$$\text{IGS} = \frac{\text{PG}}{\text{PE}} (100)$$

donde: PG es igual al peso de la gónada y PE es igual al peso eviscerado del organismo. Se calculó la desviación y error estándar por fase de desarrollo gonádico.

### **5.6.3 Índice gonadoalométrico**

Al igual que el IGS el índice gonadoalométrico (IGA) indica el incremento en tamaño de las gónadas, pero en este caso con respecto a la longitud de la gónada y su grado de desarrollo, tomando en cuenta la longitud patrón del organismo.

Se estimó la longitud y el ancho de las gónadas a partir de las imágenes de las gónadas en fresco obtenidas durante el muestreo, con el software SigmaScan Pro (versión 5.0).

Se calculó el IGA de manera independiente para cuatro variantes de medición; longitud del lóbulo izquierdo, longitud del lóbulo derecho, ancho del lóbulo izquierdo y ancho del lóbulo izquierdo mediante la siguiente fórmula:

$$\mathbf{IGA} = \frac{\mathbf{MG}}{\mathbf{LPO}} (100)$$

donde: MG se refiere a la medición de la gónada seleccionada y LPO es igual a la longitud patrón del organismo. Se calculó de esta manera sustituyendo los valores de MG, con la longitud del lóbulo izquierdo, longitud del lóbulo derecho, ancho del lóbulo izquierdo y ancho del lóbulo derecho.

Se calculó el promedio del todos los índices estimados por fase de desarrollo ovárico y testicular, junto con su desviación estándar. Se realizaron análisis de comparación de los índices entre fases y se graficó todo de manera independiente en el software SigmaPlot 11.0.

Finalmente se creó una tabla en donde se describieron a detalle los atributos morfocromáticos más representativos y que más aportan a la discriminación de cada fase a nivel morfocromático junto con fotografías, índice gonadosomático, índice gonadoalométrico, los valores de color RGB y su gradiente de color.

Como información adicional se calculó el porcentaje de cada fase ovárica y testicular con respecto al total de las muestras colectadas durante todos los meses de muestreo (julio 2018 a septiembre de 2019).

### 5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los datos cuantitativos (diámetro de los ovocitos e índices) fueron comparados entre fases gonádicas. Con el paquete estadístico Statistica versión 7.0 se aplicaron pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. Debido a que algunos de los datos no cumplieron con el supuesto estadístico de normalidad, se procedió a aplicar una prueba no paramétrica de comparaciones de Kruskal-Wallis y el Post-hoc con la prueba de Scheffer, todo con un nivel de significancia de 0.05. Los resultados se graficaron mediante el software SigmaPlot versión 11.0.



## 6. RESULTADOS

### 6.1 COMPOSICIÓN DE LA MUESTRA

Se realizaron catorce meses de muestreo, de julio de 2018 a septiembre de 2019, excepto en el mes de febrero de 2019 debido a la indisponibilidad de la muestra. Se obtuvo un total de 745 ejemplares, de los cuales 680 fueron identificados a nivel especie y 65 no.

La especie de mayor abundancia en la muestra fue *O. libertate* con 526 organismos, seguida de *O. medirastre* con 113 y la menos abundante fue *O. bulleri* con 41 ejemplares. A pesar de las dificultades de adquirir especímenes suficientes de *O. medirastre* y *O. bulleri*, se lograron obtener muestra de las tres especies representadas en la mayoría de las tallas (Figuras 10, 11 y 12).

Se obtuvieron organismos de *O. libertate* en tallas desde los 120 mm hasta los 215 mm, de los cuales 165 fueron machos, 360 hembras y 1 no sexado (Figura 10). De *O. medirastre* también se obtuvieron ejemplares de entre los 120 mm, pero hasta los 225 mm, de los cuales 47 fueron machos, 50 hembras y 16 no sexados (Figura 11). Finalmente, de la especie menos abundante *O. bulleri*, se obtuvieron ejemplares desde los 120 mm a los 210 mm, de ellos 8 fueron machos, 23 hembras y 10 no sexados (Figura 12). Las hembras fueron más abundantes en la muestra.

Los organismos no sexados se refieren a posibles organismos inmaduros en los que no fue posible extraer las gónadas debido a diversos factores, principalmente a su diminuto tamaño.

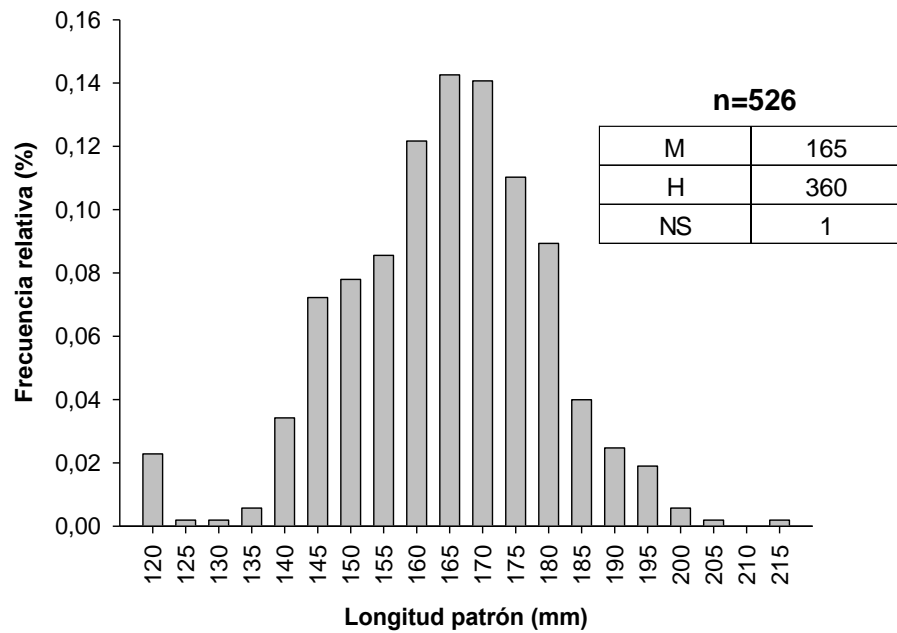


Figura 10. Distribución de tallas de la muestra obtenida de *Opisthonema libertate*. n, número total de la muestra; M, machos; H, hembras; NS, no sexado.

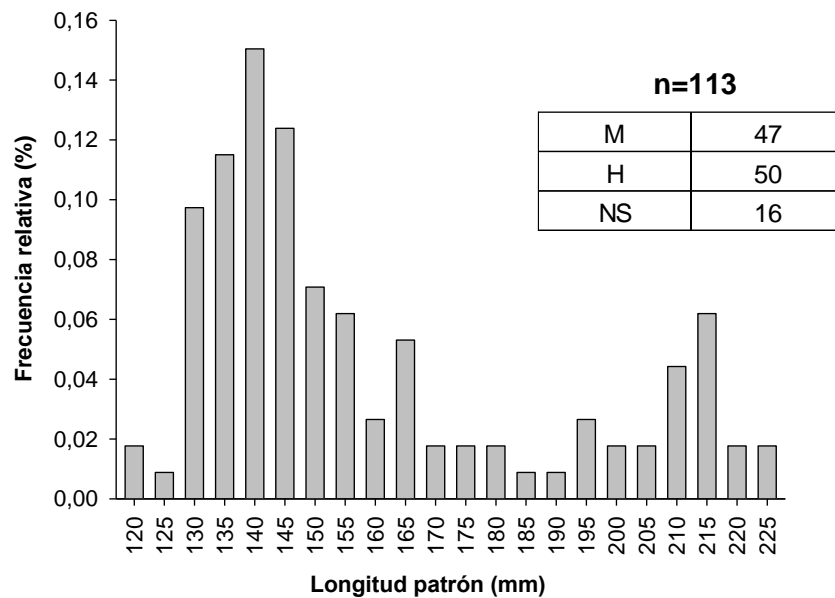


Figura 11. Distribución de tallas de la muestra obtenida de *Opisthonema medirastre*. n, número total de la muestra; M, machos; H, hembras; NS, no sexado.

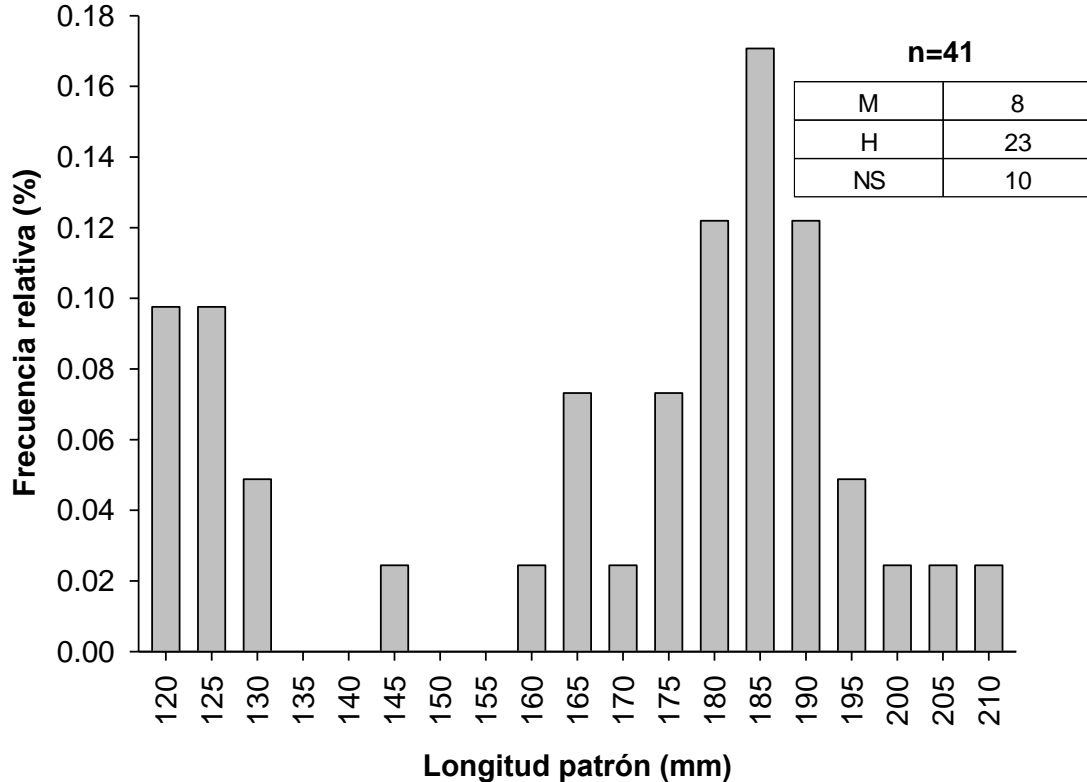


Figura 12. Distribución de tallas de la muestra obtenida de *Opisthonema bulleri*. n, número total de la muestra; M, machos; H, hembras; NS, no sexado.

### 6.1.1 Proporción de fases ováricas y testiculares

Se realizó el cálculo de la frecuencia total de las fases ováricas y testiculares de los 704 organismos sexados en el muestreo que fue de julio de 2018 a septiembre de 2019, en el sureste del Golfo de California.

Se registraron un total de 470 hembras, de las que el 76.6 % fueron *O. libertate*, seguido de *O. medirastre* con el 10.6 % y *O. bulleri* con el 4.9 %. En machos, se registraron 248 organismos, los cuales presentó el mismo orden de abundancia por especie, variando los porcentajes de 66.5, 19 y 3.2 % respectivamente (Figura 13).

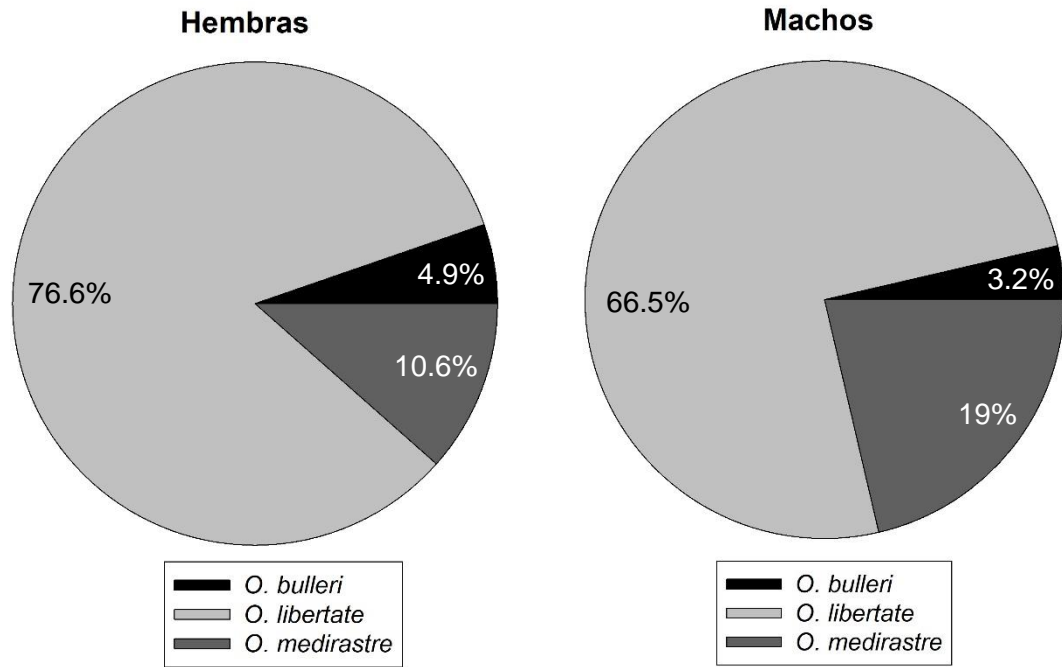


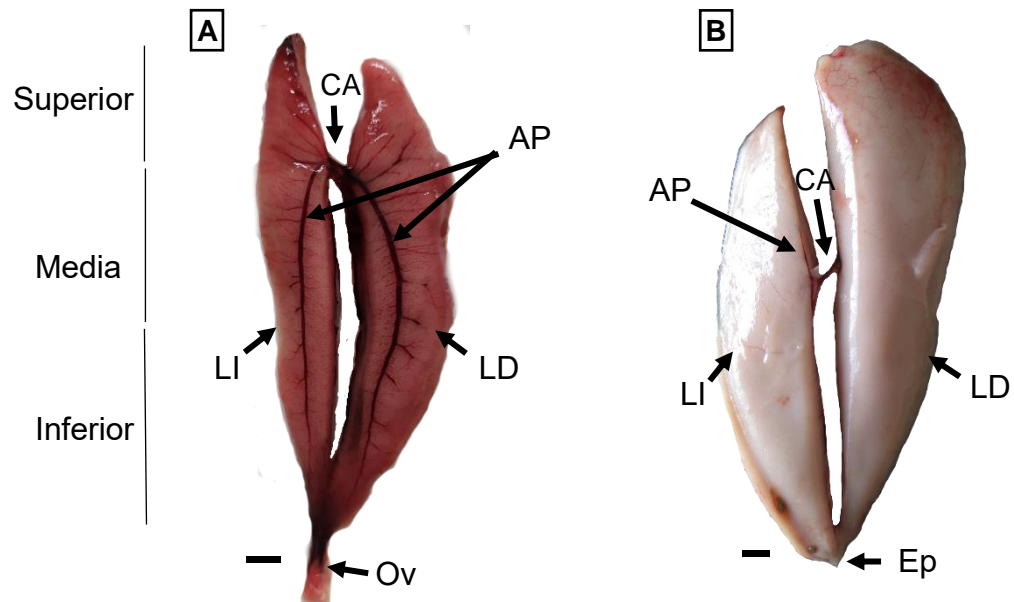
Figura 13. Proporción por especies de la muestra total de la sardina crinuda obtenida de julio de 2018 a septiembre de 2019 en el sureste del Golfo de California.

## 6.2 APARATO REPRODUCTOR

### 6.2.1 Anatomía y posición de ovarios y testículos

Los ovarios y los testículos de *Opisthonema* spp. son bilobulados, es decir, se conforman por dos lóbulos o sacos ováricos o espermáticos, en donde se lleva a cabo la gametogénesis. Los lóbulos son tubulares y son ligeramente asimétricos con respecto a su grosor, siendo por lo regular el lóbulo derecho más ancho que el izquierdo. Ambos lóbulos están unidos en la parte media-superior por medio de la arteria principal, junto con el canal de eyaculación (en machos), la cual es más evidente en fases de desarrollo avanzadas (Figura 14).

En la parte inferior se unen mediante los gonoconductos, es decir, oviducto en hembras y espermi ducto en machos, y que a su vez finalizan en el poro genital, por donde son expulsados los gametos al medio (Figura 14).



Se puede identificar entre ovarios y testículos debido a que presentan en su apariencia características que permiten diferenciarlos entre sí a simple vista. La principal y más evidente característica es la coloración, las hembras presentan tonalidades por lo regular brillantes que van de rojo, anaranjado, rosáceo y amarillo, además de que en la mayoría de las fases se pueden observar los ovocitos a simple vista.

En los machos los colores varían muy poco entre fase, siendo principalmente color beige, blanco y/o rosáceo claro, con presencia en ocasiones de manchas oscuras. Sin embargo, cuando los ovarios y los testículos son muy pequeños suelen presentar tonalidades parecidas, principalmente rojizas y por lo general estas gónadas son clasificadas como indiferenciados. No obstante, las gónadas también presentan características morfológicas que los hacen distintos entre sí y de las cuales es muy útil su observación debido a que podrían ayudarnos a clasificar esas gónadas como ovarios inmaduros o testículos inmaduros y no como indiferenciados.

Esas características se basan principalmente en la forma de los lóbulos gonadales, a pesar de que en ambos casos el lóbulo derecho está más desarrollado que el izquierdo, las hembras presentan una prominencia en la parte media-superior con forma triangular, mientras que en los machos es más redondeada.

Otra característica a observar la forma del túbulo, es decir, los lóbulos de las hembras suelen ser más cilíndricos y en los machos son más planos, disminuyendo su grosor de más grueso a más delgado en dirección al borde exterior derecho. De modo que si realizamos un corte transversal se puede observar que los ovarios forman un óvalo o círculo, mientras que los machos tienen una forma triangular o semi triangular (Figura 15).

Esta última característica es muy evidente y es observable desde los organismos inmaduros, junto con que los lóbulos de hembras suelen ser más traslúcidas incluso sin color y los machos no suelen ser traslúcidos. Sin embargo, algunos casos donde las gónadas son extremadamente pequeñas es difícil evaluar su forma y por lo cual no es posible distinguir el sexo.

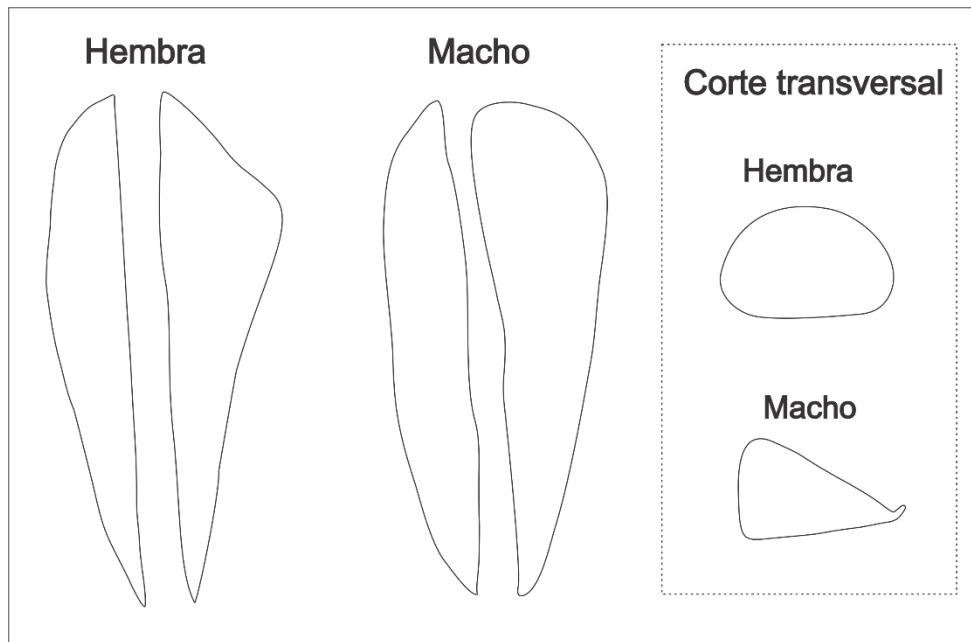


Figura 15. Descripción gráfica de la morfología longitudinal y transversal de ovarios y testículos de la sardina crinuda (*Opisthonema bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) del sureste del Golfo de California. (Dibujo propio).

En cuanto a la ubicación, podemos encontrar a ovarios y testículos posicionados dentro de la cavidad visceral, en la parte media de la cavidad y adheridas a la pared celómica, sostenidas por el mesenterio y paralelos a los intestinos (Figura 16). Conforme las gónadas van creciendo se van extendiendo por toda la cavidad, principalmente hacia la parte posterior, culminando en el poro genital, en donde desemboca el gonoconducto (Figura 16).

Asimismo, cuando el desarrollo gonádico es muy avanzado, la gónada puede abarcar la mayor parte de la cavidad visceral, extendiéndose a todo lo largo, topando en la parte anterior con el estómago, hígado y la vesícula biliar y en la parte posterior con la vejiga natatoria (Figura 17).

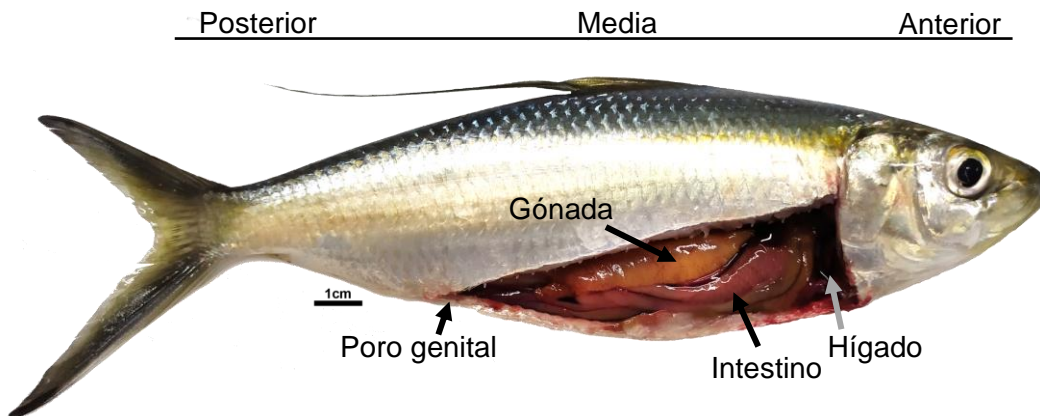


Figura 16. Posición de la gónada dentro de la cavidad visceral de la sardina crinuda *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California. (Imagen propia).

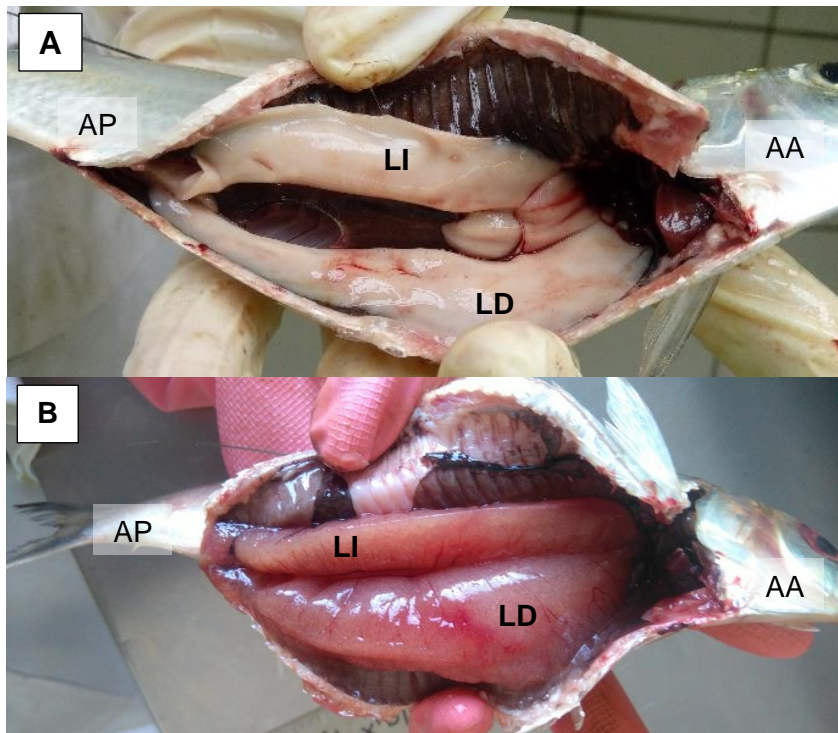


Figura 17. Posición extendida de las gónadas en fase avanzada por toda la cavidad visceral de la sardina crinuda *Opisthonema* spp. A) macho, B) hembra. AP, área posterior; AA, área anterior; LI, lóbulo izquierdo; LD, lóbulo derecho. (Imagen propia).



## 6.2.2 Anomalías

Se encontró un 1.99 % de anomalías en ovarios de *O. libertate* con diferentes características que se describen a continuación.

La primera de ellas se presentó en un ovario con un peso de 0.66 g y 5.05 cm de longitud. El ovario presentó características morfocromáticas típicas de una hembra en postesove, sin embargo, presentó un agente blanco dentro del mismo tejido del lóbulo izquierdo, en la parte media-superior (Figura 18A).

Se realizaron análisis histológicos de la zona y se demostró que ese agente blanco se trataba de tejido masculino, es decir, era tejido conformado por vasos eferentes con presencia de espermatogénesis y espermatozoides (Figura 18B). Sólo se encontró un ovario con estas características, por lo cual podríamos denominar a este caso como un hermafroditismo anormal.

Cabe mencionar que la presencia del tejido testicular a nivel histológico sólo se encontró en la parte en donde se observó el agente blanco, no así en el resto del ovario, ya que se desarrolló normalmente como hembra en esos momentos en reposo.

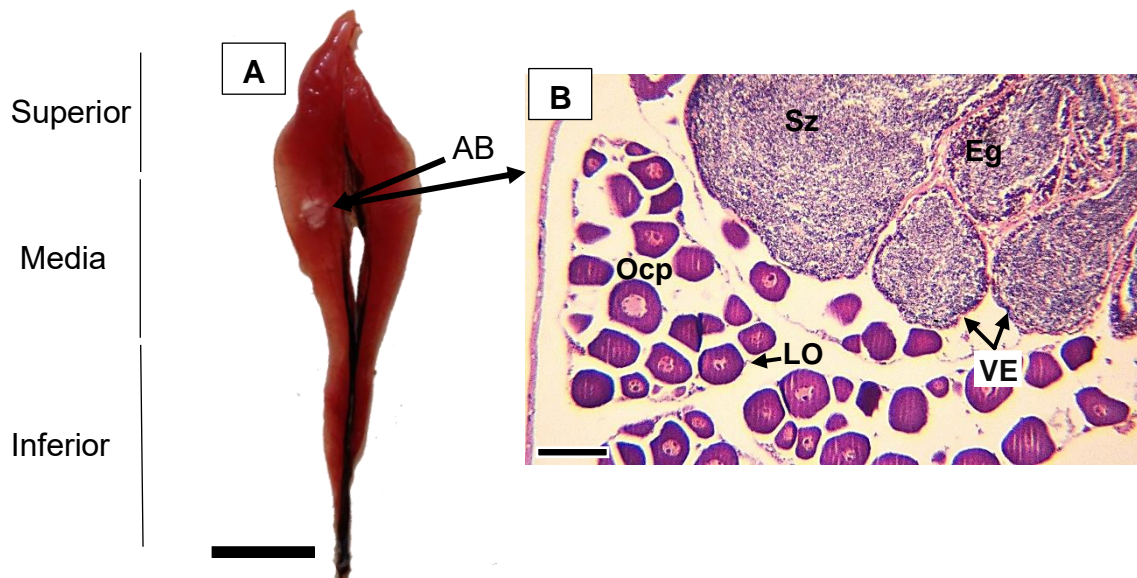


Figura 18. Características morfocromáticas e histológicas de ovario de *Opisthonema libertate* con anomalías, con hermafroditismo anormal. A) ovario con agente blanco (la barra de escala indica 10 mm); B) corte histológico del agente blanco (la barra de escala indica 100  $\mu$ m; tinción HE). AB, agente blanco; Sz, espermatozoides; Eg, espermatogénesis; VE, vaso eferente; LO, lamela; Ocp, ovocitos en crecimiento primario.

Otra de las anomalías encontradas fue un ovario de 9.28 g, y 13.12 cm de longitud, este presentó apariencia completamente deforme, ambos lóbulos se encontraban semifusionados, el izquierdo mucho más pequeño que el derecho y con aparentes divisiones como si estuviera ligado. Se lograban ver ovocitos a simple vista, pero su consistencia era muy dura (Figura 19A). A nivel histológico se realizaron cortes en el lóbulo izquierdo y de la parte superior, media y posterior del lóbulo derecho (Figura 19 B, C, D y E).

Los resultados muestran que el ovario se desarrolló como en condiciones normales en todo el órgano, con abundantes ovocitos en vitelogénesis tres, a poco de pasar a la madurez, a pesar de que se pensara lo contrario. Sin embargo, se lograron observar algunas atresias iniciales en la periferia de ovario, lo que podría indicar que probablemente ese ovario pasaría posteriormente a reabsorberse completamente, pues aparentemente no se observó un oviducto por donde pudiera desovar.

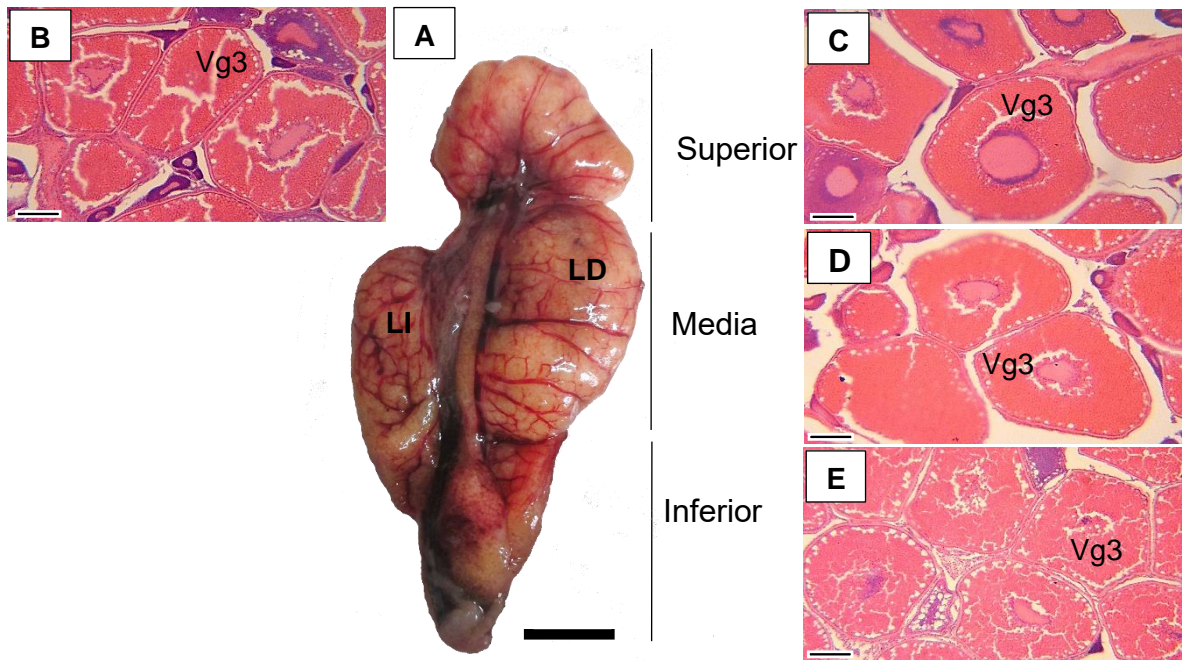
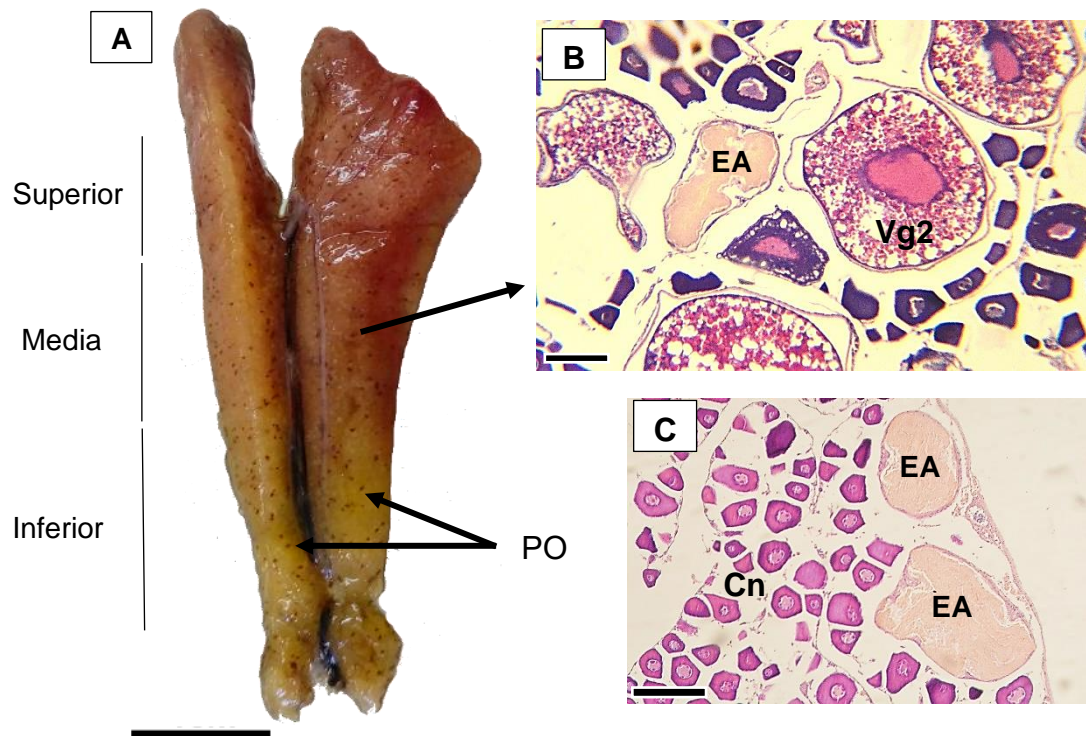


Figura 19. Ovario de *Opisthonema libertate* con anomalías: semifusión. A) características morfocromáticas (la barra indica 10 mm), B) características histológicas del lóbulo izquierdo, C, D y E) características histológicas del lóbulo derecho de la parte superior, media e inferior, respectivamente (la barra indica 100  $\mu$ m; tinción HE). LI, lóbulo izquierdo; LD, lóbulo derecho; Vg3, ovocito en vitelogénesis 3.

Se encontraron cinco ovarios de *O. libertate* (1.42 %) con la presencia de pequeños puntos oscuros (rojizo-negro) distribuidos en toda la gónada y se lograban distinguir a simple vista (Figura 20A). Los cinco ovarios observados presentaron características morfocromáticas típicas de la fase en la que se encontraban y adicionalmente los puntos. Dos de los ovarios se encontraban en la fase de desarrollo avanzado, otros dos en reposo y el quinto en madurez.

El resultado de los análisis histológicos mostró que la mayor proporción de ovocitos presentes en los ovarios se encontraron en buen estado, sin embargo, se observó la presencia de atresias comunes (de pocas a muchas) y otras estructuras de apariencia ovalada o redonda bordeado por una capa de células que lo cubre, la parte interna tiene apariencia poco granular y de color amarilloso con tinción hematoxilina-eosina (Figura 20B y C). Estos cuerpos se observaron por lo regular

cercanos a la pared del ovario, por lo que es posible que se trate de los puntos oscuros que se observaron a escala morfocromática. Por la presencia de atresias comunes, estos ovarios podrían estar entrando al fenómeno de atresia mayor, y la presencia de puntos en su apariencia externa podría ser un atributo ocasional que permita distinguir este fenómeno a escala morfocromática, sin embargo, no es un atributo preciso ya que no se observaron en todos los ovarios atrésicos encontrados.



**Figura 20.** Ovario de *Opisthonema libertate* con anomalías: puntos oscuros. A) características morfocromáticas (la barra indica 10 mm), B y C) características histológicas (la barra indica 100  $\mu$ m; tinción HE). PO, puntos oscuros; EA, estructura amarilla; Vg2, ovocito en vitelogénesis 2; Cn, cromatina nucleolar.

## **6.3 DESARROLLO GONÁDICO**

### **6.3.1 Hembras**

Para definir las fases de desarrollo ovárico de la sardina crinuda (*Opisthonema* spp.) fue necesario identificar previamente los estadios de crecimiento de los ovocitos a partir de las características histológicas, pues su presencia, ausencia y/o abundancia son uno de los principales criterios a considerar al designar la fase de desarrollo en la que se encuentre el ovario. Como resultados se logró identificar ocho estadios de crecimiento de los ovocitos y se describen más a detalle más adelante.


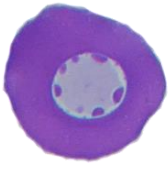
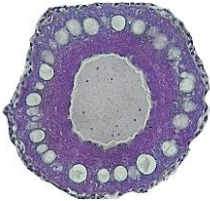
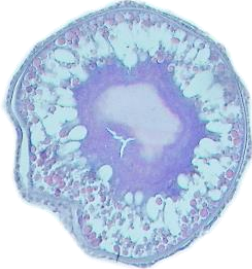
Asimismo, se lograron identificar otras estructuras que ayudaron a la clasificación de las fases de desarrollo ovárico como los folículos postovulatorios recientes y antiguos que indican un desove y los gránulos amarillos que indican una recuperación y reposo.


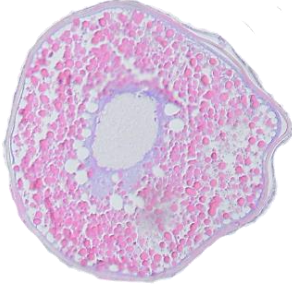
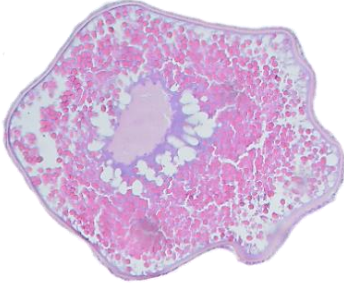
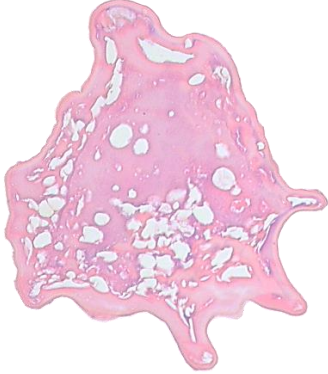
#### **6.3.1.1 *Estadio de crecimiento de ovocitos y su diámetro***

El crecimiento de los ovocitos involucra una serie de cambios estructurales que permiten diferenciarlos entre ellos y se pueden dividir en tres grupos, 1) crecimiento primario, 2) crecimiento secundario y 3) maduración final. El crecimiento primario consta de tres estadios (cromatina nucleolar, perinucleolar y alveolo cortical), el crecimiento secundario de otros tres estadios más (vitelogénesis 1, 2 y 3) y finalmente los ovocitos se preparan para ser ovulados a través de la maduración final, mediante los estadios de núcleo migratorio, fusión de vitelo e hidratación.

Estos últimos dos estadios (fusión de vitelo e hidratación) ocurren tan rápido que es muy difícil observarlos. Los estadios encontrados en el presente estudio se describen más a detalle en la Tabla III.

**Tabla III.** Descripción y caracterización de ovocitos por estadio de crecimiento.

	<b>Estadio</b>	<b>Diámetro promedio</b>	<b>Descripción</b>
<b>Crecimiento primario</b>	Cromatina nucleolar (CN)	 $52.24 \pm 0.76 \mu\text{m}$	Son los ovocitos más pequeños después de los ovogonias, presentan citoplasma basófilo el cual se tiñe intensamente de morado. Presenta un gran núcleo con abundante cromatina y un nucleolo visible altamente basófilo. Tinción HE.
	Cromatina perinucleolar (CP)	 $89.62 \pm 0.89 \mu\text{m}$	Ovocito de mayor tamaño con respecto a CN, sigue siendo basófilo y con un gran núcleo. Dentro del núcleo, en la periferia contiene múltiples nucleolos pequeños y altamente basófilos. Tinción HE.
	Alveolo cortical (AC)	 $151.74 \pm 2.14 \mu\text{m}$	El ovocito aumenta de tamaño, es menos basófilo por lo que el morado ya no es tan intenso, aún conserva el gran núcleo y los nucleolos periferales se distinguen muy poco. Dentro del citoplasma, en la periferia del ovocito se presentan unas estructuras circulares sin teñir. En este estadio comienzan a ser evidentes la zona radiata y las células foliculares. Tinción HE.
<b>Crecimiento secundario</b>	Vitelogénesis 1 (Vg1)	 $226.31 \pm 2.81 \mu\text{m}$	A partir de este estadio se logra observar gránulos de vitelo en el citoplasma de los ovocitos. En este ovocito las estructuras circulares sin teñir aumentan de tamaño y abundancia, y entre ellas se logran distinguir los gránulos de vitelo más acidófilos (teñido rosa). El núcleo sigue siendo grande pero de menor tamaño con respecto a los estadios anteriores y la zona radiata y células foliculares son claramente identificables. Tinción HE.

	Vitelogénesis 2 (Vg2)	 <p>293.65±2.0 µm</p>	En este estadio el ovocito ya alcanza casi el doble de diámetro de AC y el color se vuelve más rosa (acidófila) por la presencia de gránulos de vitelo en mayor cantidad. Se siguen observando las estructuras circulares sin teñir en la periferia del ovocito y núcleo. Ya se observa claramente las capas de la teca y granulosa. Tinción HE.
	Vitelogénesis 3 (Vg3)	 <p>369.33±2.29 µm</p>	Este ovocito es alrededor de 21 % más grande que Vg2, la abundancia de gránulos de vitelo aumenta, cubriendo casi todo el citoplasma. Las estructuras circulares sin teñir se observan únicamente alrededor del núcleo. La zona radiata, la teca y la granulosa son evidentes. Tinción HE.
<b>Maduración final</b>	Núcleo migratorio (NM)	 <p>438.87±4.74 µm</p>	El ahora ovocito comienza su maduración final. El tamaño es aproximadamente 15 % más grande que Vg3, el citoplasma se encuentra cubierto casi en su totalidad de gránulos de vitelo que comienzan a fusionarse. Las estructuras circulares sin teñir se acumulan alrededor del núcleo, principalmente en la parte baja y juntos comienzan a migrar hacia el polo animal de la célula. Tinción HE.
	Hidratado (Hd)	 <p>739.52±23.75</p>	Ovocito de mayor tamaño, aproximadamente 50 %, sin embargo, por la deshidratación del proceso histológico pierden forma y tamaño. Dentro del citoplasma se puede observar el vitelo fusionado y/o algunas vacuolas, pero por lo regular los óvulos se observan comprimidos. Tinción HE.

### 6.3.1.2 *Estadio de los ovocitos*

El diámetro de los ovocitos varió evidentemente entre estadio de crecimiento, yendo desde el ovocito más pequeño, cromatina nucleolar ( $52.24 \pm 0.76 \mu\text{m}$ ) hasta el de mayor grado de madurez encontrado en buen estado, es decir, núcleo migratorio ( $438.87 \pm 4.74 \mu\text{m}$ ). También se calculó el diámetro de los ovocitos hidratados ( $739.52 \pm 23.75 \mu\text{m}$ ) a partir de otro método debido a que estos ovocitos al ser sometidos a la deshidratación en el proceso histológico pierden forma y tamaño, obteniendo así una estimación más acercada a la medida real (Tabla IV). Se encontró diferencia estadísticamente significativa del diámetro de los ovocitos entre todos los estadios de crecimiento, excepto entre vitelogénesis tres y núcleo migratorio ( $p < 0.05$ ) (Tabla IV y V) (Figura 21).

**Tabla IV.** Promedio del diámetro de los ovocitos por estadio de crecimiento.

<b>Estadio</b>	<b>Diámetro promedio (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Error estándar</b>
<b>Cromatina nucleolar</b>	52.25	0.76
<b>Cromatina Perinucleolar</b>	89.62	0.89
<b>Alveolo cortical</b>	151.74	2.14
<b>Vitelogénesis 1</b>	226.31	2.81
<b>Vitelogénesis 2</b>	293.65	2.00
<b>Vitelogénesis 3</b>	369.33	2.29
<b>Núcleo migratorio</b>	438.87	4.74
<b>Hidratado</b>	739.52	23.75



**Tabla V.** Prueba de comparación del diámetro de los ovocitos por estadio de crecimiento (Kruskal-Wallis, post-hoc Scheffer,  $\alpha=0.05$ ). CN, cromatina nucleolar; CP, cromatina perinucleolar; AC, alveolo cortical; Vg1, vitelogénesis uno; Vg2, vitelogénesis dos; Vg3, vitelogénesis tres; Nn, núcleo migratorio; Hd, hidratado.

Estadio	CN	CP	AC	Vg1	Vg2	Vg3	Nm
CN		0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*
CP	0.00*		0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*
AC	0.00*	0.00*		0.01	0.00*	0.00*	0.00*
Vg1	0.00*	0.00*	0.01*		0.02*	0.00*	0.00*
Vg2	0.00*	0.00*	0.00*	0.02*		0.00*	0.00*
Vg3	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*		1.00
Nm	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	1.00	

(\*) representa las diferencias significativas ( $p<0.05$ ).

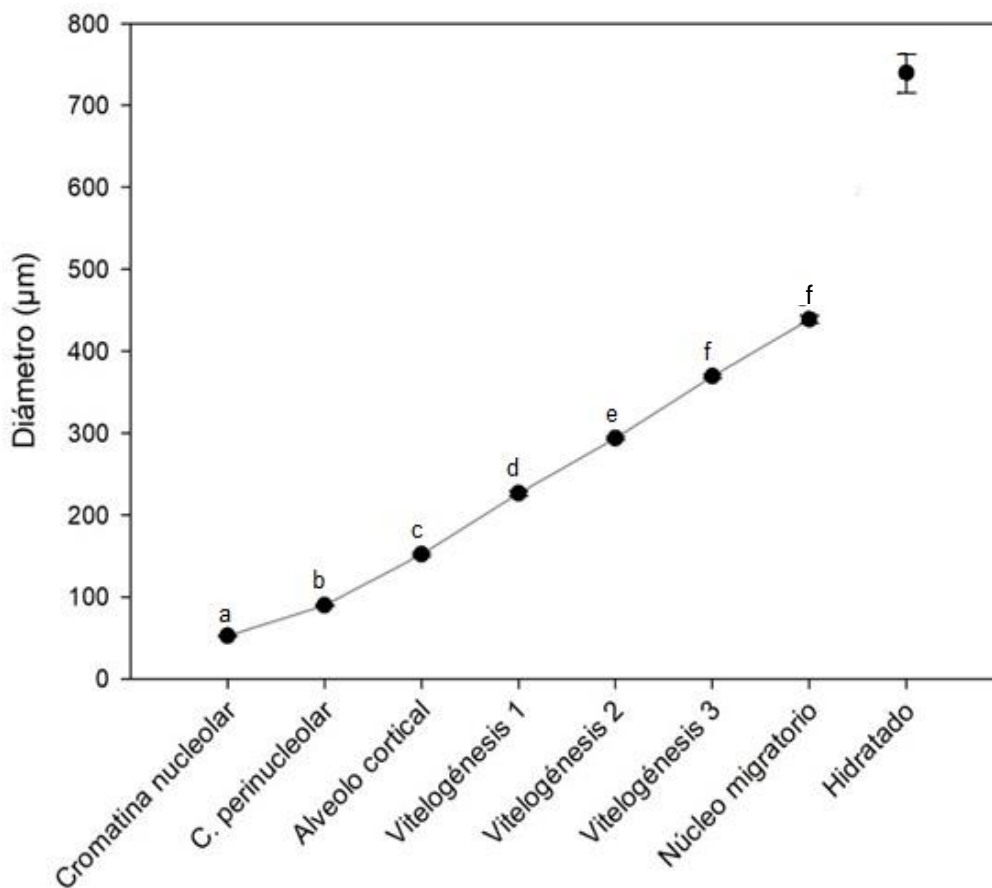


Figura 21. Diámetro de los ovocitos por estadio de crecimiento. Las letras indican diferencias significativas ( $p<0.05$ ).

### 6.3.1.3 Fases de desarrollo ovárico

Con base a las características histológicas se encontró que los ovarios de la sardina crinuda (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) presentan desarrollo asincrónico debido a que es posible observar más de una cohorte de ovocitos en sus diferentes estadios al mismo tiempo (CN, CP, AC, Vg1, Vg2, Vg3). La predominancia de los diferentes estadios de los ovocitos, las características estructurales y tisulares, así como el ancho de la pared del ovario fue lo que nos permitió definir las fases de desarrollo, dividido en desarrollo inicial y desarrollo avanzado, madurez, desove parcial, recuperación y reposo. Las características histológicas de cada fase se describen más a detalle en la tabla VI.

Cabe mencionar que existe similitud en las características de algunas fases, sobre todo en la etapa de transición de la gónada entre una fase y la siguiente. Al igual que entre la fase de inmaduro y reposo, ya que en ambos casos el ovario se encuentra inactivo, pero gracias a la presencia de algunas estructuras y a la medición de la pared del ovario fue posible sostener la diferencia a nivel histológico entre las dos fases. Otra de las características es que es posible observar un gran vaso sanguíneo unido al tejido de la pared gonadal sobre el extremo anterior del lóbulo, y esto se puede distinguir casi siempre desde que las gónadas son inmaduras hasta en las que ya pasaron por al menos un evento reproductivo.

**Tabla VI.** Descripción microscópica del desarrollo ovárico de *Opisthonema* spp. en el sureste del Golfo de California. CN, cromatina nucleolar; CP, cromatina perinucleolar; AC, alveolo cortical; Vg1, vitelogénesis uno; Vg2, vitelogénesis dos; Vg3, vitelogénesis tres; Nm, núcleo migratorio; Hd, hidratado.

Fase	Descripción histológica
Inmaduro	Ovario comprimido con la presencia únicamente de ovocitos en crecimiento primario, principalmente en el estadio de cromatina nucleolar y perinucleolar, pero puede haber presencia de pocos ovocitos en alveolo cortical. La pared del ovario es delgada ( $10.66\pm 1.34 \mu\text{m}$ ), apenas aparente y las lamelas ováricas están bien definidas (Figura 22A).
Desarrollo inicial	Abundantes ovocitos en cromatina nucleolar, perinucleolar, pocos alveolos corticales y pocos ovocitos en vitelogénesis 1 y 2. La pared ovárica se encuentra más engrosada con respecto a la fase anterior ( $23.72\pm 2.27 \mu\text{m}$ ) (Figura 22B).
Desarrollo avanzado	Pocos ovocitos en crecimiento primario con respecto a los ovocitos de crecimiento secundario (Vg1 Vg2 y Vg3). Se observan al menos tres cohortes de ovocitos, principalmente Vg2 y Vg3. No hay presencia de ovocitos maduros (Nm, fusión de vitelo o Hd) ni folículos postovulatorios (pared del ovario $24.94\pm 1.50 \mu\text{m}$ ) (Figura 22C).
Madurez	Se pueden observar varias cohortes de ovocitos, principalmente Vg3, de pocos a muchos ovocitos en núcleo migratorio y/o hidratados. Lamelas ováricas poco ensanchadas, ovocitos comprimidos y no hay presencia de folículos postovulatorios (pared del ovario $21.20\pm 1.12 \mu\text{m}$ ) (Figura 22D).
Desove parcial	Abundantes folículos postovulatorios recientes, mucho espacio intraovárico y lamelas no muy definidas. Se pueden observar otras cohortes de ovocitos en crecimiento primario y secundario y Nm (pared del ovario $25.65\pm 2.42 \mu\text{m}$ ) (Figura 22E).
Recuperación	Abundantes ovocitos en crecimiento primario, principalmente cromatina nucleolar. Se pueden observar de pocos a muchos folículos postovulatorios de más de 24 horas, ovocitos vitelogénicos remanentes y/o atresias. Pueden o no comenzar a aparecer gránulos amarillos (pared del ovario $28.92\pm 2.86 \mu\text{m}$ ) (Figura 22F).
Reposo	Esta fase presenta características similares a los inmaduros. Abundancia de ovocitos en cromatina nucleolar y perinucleolar y muy pocos o nulos alveolos corticales y ausencia de atresias y folículos postovulatorios. Sin embargo, las características que lo distinguen de la fase de inmaduro son: restiramiento de las lamelas, presencia de pocos o muchos gránulos amarillos entre el tejido y los ovocitos (Figura 16H) y el engrosamiento de la pared del ovario, que es aproximadamente el doble de gruesa ( $20.56\pm 1.24 \mu\text{m}$ ), lo que indica que estos organismos ya pasaron por previos eventos reproductivos (Figura 22G).

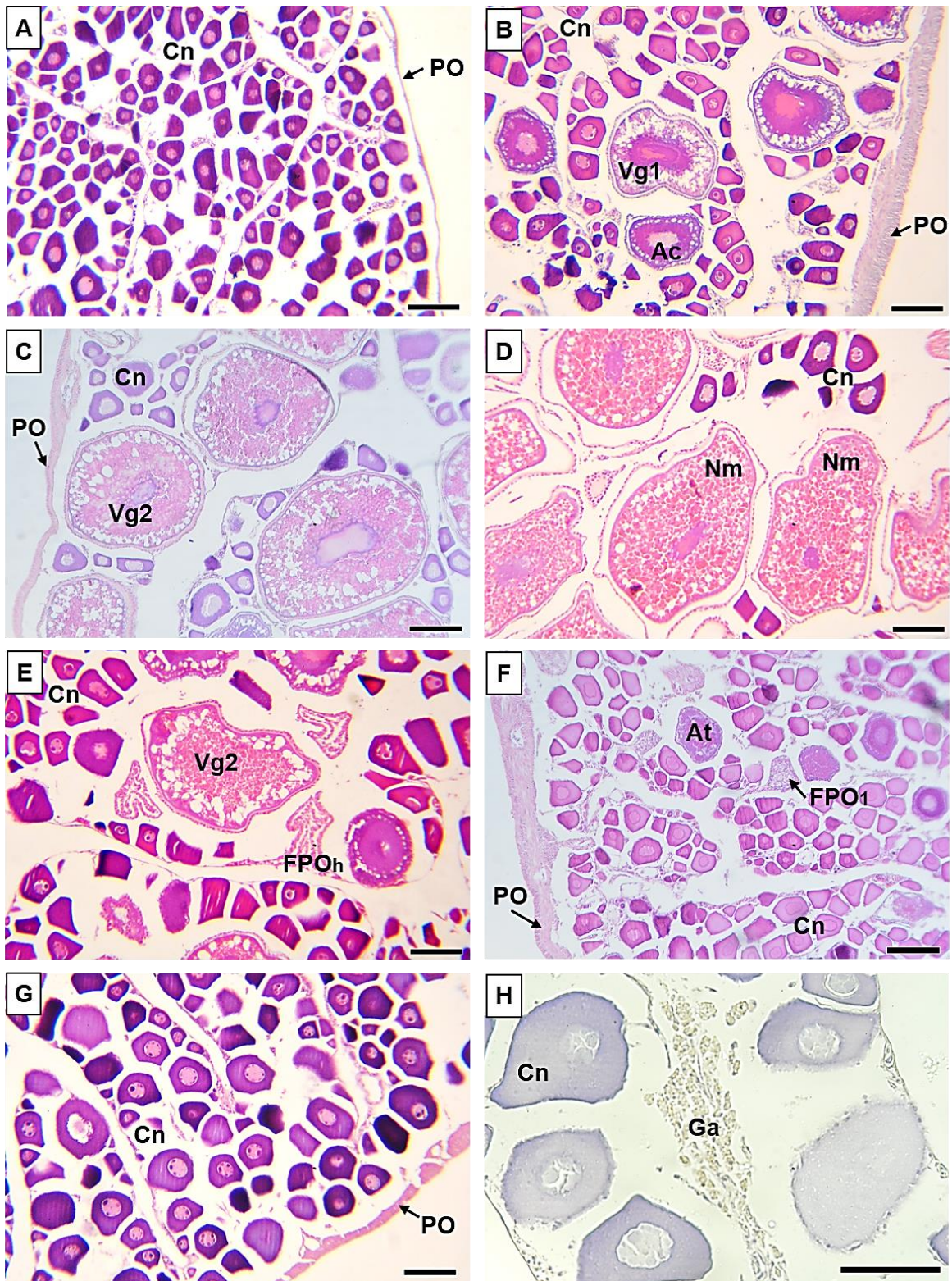


Figura 22. Fases microscópicas de desarrollo ovárico de *Opisthonema* spp. A) inmaduro, B) desarrollo inicial, C) desarrollo avanzado, D) madurez, E) desove parcial, F) recuperación, G) reposo, H) reposo. TG, tejido germinal; PO, pared ovárica; Cn, cromatina nucleolar; Ac, alveolo cortical; Vg1, vitelogénesis 1; Vg2 viteloénesis 2; Vg3, vitelogénesis 3; Nm, núcleo migratorio; At, atresia, FPOh, folículo postovulatorio de menos de 24 horas; FPO1, folículos postovulatorios de más de un día; Ga, gránulos amarillos. De la imagen A a la G la barra de escala indica 100  $\mu$ m, en la imagen H la barra de escala indica 50  $\mu$ m. Tinción HE.

Adicionalmente se encontró un bajo porcentaje de ovarios en estado de atresia mayor (0.92 %), en el que el 50 % o más de los ovocitos en estadio avanzado se encontraban en reabsorción, sin la presencia de folículos postovulatorios ni evidencia de desove reciente (Figura 23).

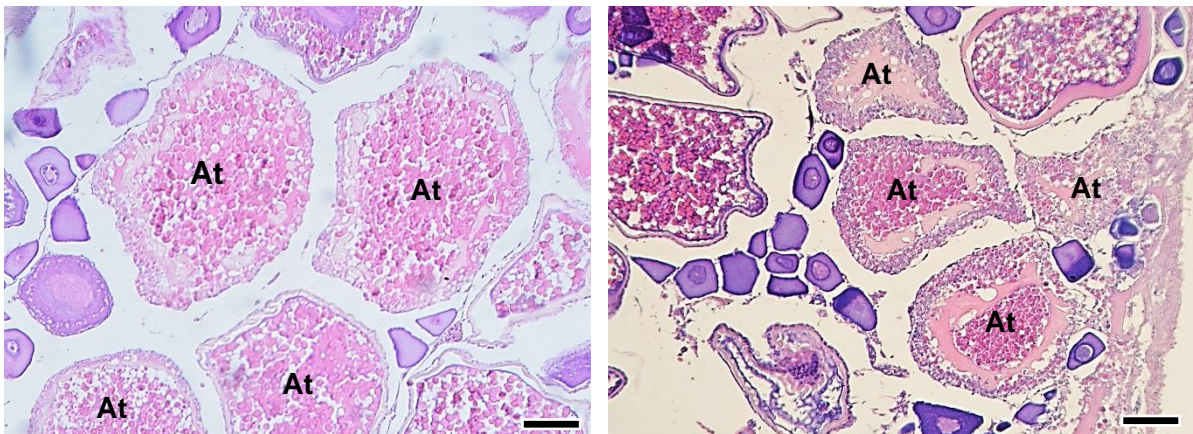


Figura 23. Ovarios de sardina crinuda (*Opisthonema libertate*) en estado de atresia mayor. At, atresia. La barra de escala indica 100  $\mu$ m. Tinción HE.

#### 6.3.1.4 Diámetro de los ovocitos por fase ovárica

Se calculó el diámetro promedio de los ovocitos en las diferentes fases de desarrollo ovárico, los valores más altos se presentaron en las fases de desarrollo avanzado ( $139.61 \pm 4.48$ ) y madurez ( $151.55 \pm 3.33$ ), mientras que los más bajos fueron en inmaduro ( $48.48 \pm 5.15$ ) y reposo ( $41.90 \pm 0.78$ ) (Tabla VII y Figura 24).

**Tabla VII.** Diámetro promedio de los ovocitos por fase de desarrollo ovárico de *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California.

Fase	Diámetro ( $\mu\text{m}$ )	Desviación estándar	Error estándar
Inmaduro	85.92	46.57	9.13
Desarrollo inicial	179.81	71.60	8.27
Desarrollo avanzado	247.44	113.31	7.95
Madurez	317.45	192.49	8.77
Desove parcial	204.59	85.53	8.31
Recuperación	129.66	73.30	8.82
Reposo	74.27	25.66	1.40

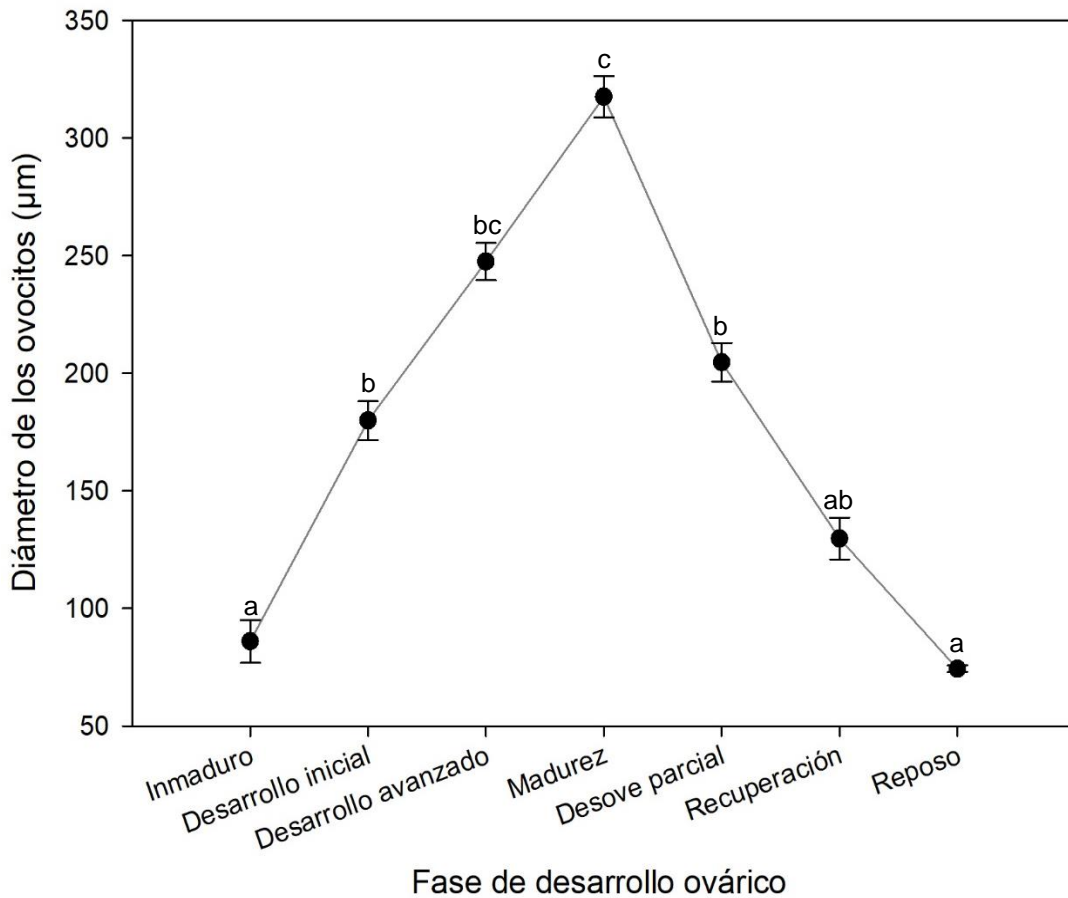


Figura 24. Diámetro promedio por fase de desarrollo ovárico de *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California. La barra muestra el error estándar y las letras las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la prueba post-hoc de Scheffer.

En la comparación del diámetro de los ovocitos entre fases de desarrollo ovárico se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre la fase de madurez con todas las fases excepto desarrollo avanzado; desarrollo avanzado con todas menos con madurez y desove parcial; desove parcial con todos menos con desarrollo inicial; inmaduro con todos menos con recuperación y reposo (Tabla VIII y Figura 24).

**Tabla VIII.** Comparación del diámetro promedio de los ovocitos entre fases de desarrollo ovárico de *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California.

Fases	Inmaduro	Desarrollo inicial	Desarrollo avanzado	Madurez	Desove parcial	Recuperación	Reposo
Inmaduro		0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	1.00	1.00
Desarrollo inicial	0.00*		0.06	0.00*	1.00	0.08	0.00*
Desarrollo avanzado	0.00*	0.06		0.05	0.56	0.00*	0.00*
Madurez	0.00*	0.00*	0.05		0.00*	0.00*	0.00*
Desove parcial	0.00*	1.00	0.56	0.00*		0.00*	0.00*
Recuperación	1.00	0.08	0.00*	0.00*	0.00*		0.00*
Reposo	1.00	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	0.00*	

Valores de probabilidad de la prueba post-hoc de Scheffer. (\*) representa diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

### 6.3.1.5 Pared de los ovarios

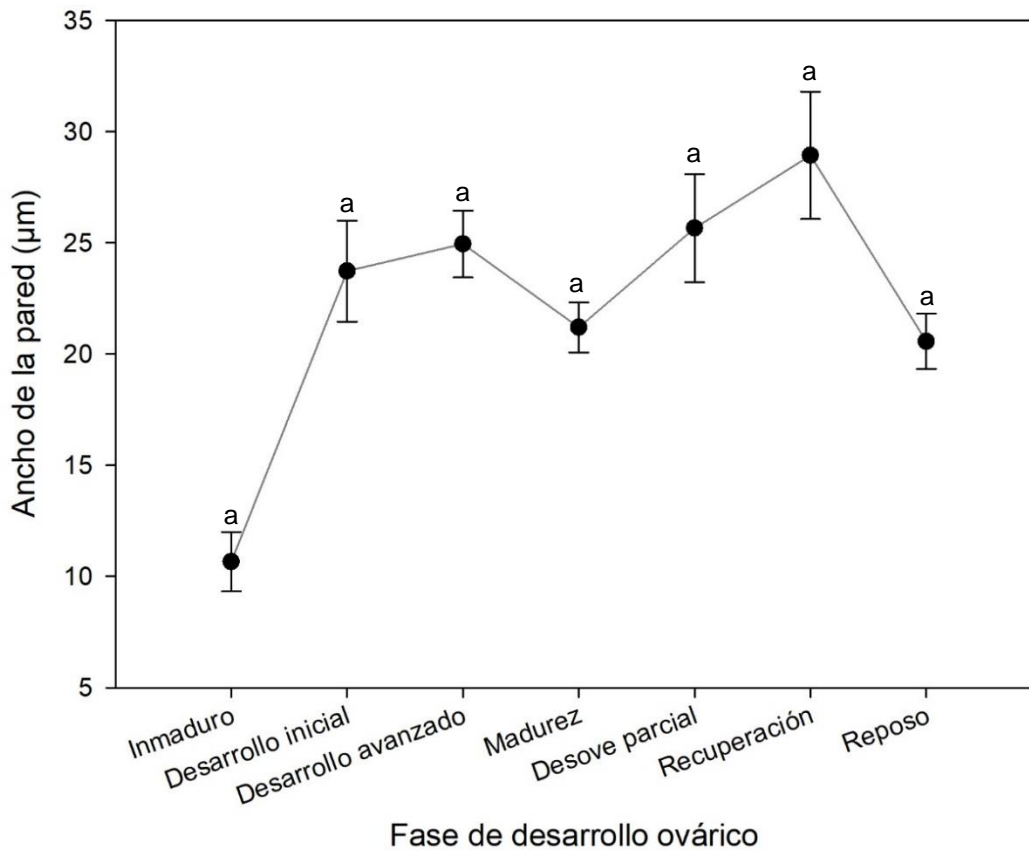
Con respecto a la pared de los ovarios, el ancho promedio varió poco entre las fases de desarrollo ovárico, oscilando entre 20.6 y 28.9  $\mu\text{m}$ , excepto la fase de inmaduro, la cual fue la que obtuvo mayor diferencia con respecto a las otras fases presentando el valor más bajo (10.7  $\mu\text{m}$ ) (Figura 22A).

El ancho promedio de la pared de los ovarios inmaduros representa alrededor de un 50% menos de lo que mide la fase de reposo, la cual presentó en promedio la segunda longitud de la pared más baja después de él (20.6  $\mu\text{m}$ ) (Figura 22G) (Tabla IX y Figura 25).



**Tabla IX.** Promedio del ancho de la pared ovárica por fases ováricas de *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California.

Fase	Ancho pared promedio ( $\mu\text{m}$ )	Desviación estándar	Error estándar
Inmaduro	10.7	2.7	1.3
Desarrollo inicial	23.7	8.2	2.3
Desarrollo avanzado	24.9	10.4	1.5
Madurez	21.2	8.9	1.1
Desove parcial	25.7	8.0	2.4
Recuperación	28.9	10.3	2.9
Reposo	20.6	10.2	1.2



**Figura 25.** Promedio del ancho de la pared ovárica por fases de desarrollo de *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California. La barra muestra el error estándar y las letras las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la prueba post-hoc de Scheffer

Sin embargo, la prueba de comparación no mostró diferencias significativas entre el diámetro de los ovocitos por fase de desarrollo ovárico, en ninguno de los casos. A pesar de que aparentemente existe una diferencia del doble de ancho entre la pared de los ovarios inmaduros entre el resto de las fases, no se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) (Tabla X), pero de manera visual es un buen indicador para diferenciar a nivel microscópico ovarios inmaduros y en reposo, los cuales a nivel morfocromático pueden causar confusión.

**Tabla X.** Comparación del ancho de la pared del ovario entre fases ováricas de *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California.

Fases	Inmaduro	Desarrollo inicial	Desarrollo avanzado	Madurez	Desove parcial	Recuperación	Reposo
Inmaduro		0.70	0.59	0.84	0.55	0.32	0.88
Desarrollo inicial	0.70		1.00	0.99	1.00	0.97	0.97
Desarrollo avanzado	0.59	1.00		0.87	1.00	0.94	0.70
Madurez	0.84	0.99	0.87		0.91	0.49	1.00
Desove parcial	0.55	1.00	1.00	0.91		1.00	0.83
Recuperación	0.32	0.97	0.94	0.49	1.00		0.37
Reposo	0.88	0.97	0.70	1.00	0.83	0.37	

Valores de probabilidad de la prueba post-hoc de Scheffer.

### 6.3.2 Machos

#### 6.3.2.1 Fases de desarrollo testicular

Con base a las características histológicas se sustenta que la sardina crinuda (*Opisthonema* spp.) presenta desarrollo testicular asincrónico, con presencia de eyaculaciones parciales pues se observó testículos con eyaculación y proliferación espermatogénica simultáneamente. A partir de las observaciones fue posible identificar cinco fases de desarrollo testicular; la fase de desarrollo, la cual se dividió en desarrollo inicial y desarrollo avanzado y las fases de eyaculación con desarrollo, eyaculación y reposo. Sus características más relevantes se muestran más a detalle en la table XI.

Al igual que en las hembras, es posible observar un gran vaso sanguíneo cercano al borde interior del testículo, casi junto al canal de eyaculación. Se puede ver el vaso con células sanguíneas desde que el testículo es inmaduro hasta cuando ya ha pasado eventos reproductivos. También es posible identificar los vasos eferentes (en donde se lleva a cabo la proliferación de la espermagénesis) desde que los testículos son inmaduros, presentando una arquitectura que permite diferenciarlo fácilmente de los ovarios.

Con respecto al canal de eyaculación, este suele ser difícil de ubicar a pesar de estar cerca del vaso sanguíneo, pero no es completamente distinguible con respecto a los vasos eferentes a menos que se encuentren espermatozoides dentro de él, es posible que mientras esté vacío este se comprima, además de que abarca una proporción muy pequeña del testículo.

**Tabla XI.** Descripción microscópica del desarrollo testicular de la sardina crinuda *Opisthonema* spp. en el sureste del Golfo de California.

Fase	Características microscópicas
Inmaduro	Sólo se observan células en los estadios iniciales de la gametogénesis, principalmente espermatogonias. En general el testículo es pequeño, comprimido, los túbulos seminíferos compactos y la pared muy delgada (Figura 26A).
Desarrollo inicial	Pared de los túbulos seminíferos o vasos eferentes muy engrosados por la abundancia de espermatogonias, espermatocitos primarios y secundarios y espermatidas, con pocos espermatozoides. No se observa el canal de eyaculación (Figura 26B).
Desarrollo avanzado	Paredes de los vasos eferentes delgadas con poca espermatogénesis, mayor abundancia de espermatozoides en todos los túbulos seminíferos. No se ve el canal de eyaculación o está vacío (Figura 26C).
Eyaculación con desarrollo	Pared de los túbulos seminíferos algo engrosados por la presencia principalmente de espermatidas y abundantes espermatozoides. El canal de eyaculación ya contiene abundantes espermatozoides (Figura 26D).
Eyaculación	Paredes de los túbulos seminíferos delgadas, poca o nula presencia de espermatocitos y abundante cantidad de espermatozoides. Canal de eyaculación lleno de espermatozoides y túbulos seminíferos anteriores con dirección al canal (Figura 26E).
Reposo	Testículo comprimido con un poco de estiramiento evidente de una anterior eyaculación, al igual que se pueden presentar o no pocos espermatozoides remanentes en los túbulos seminíferos y en el canal de eyaculación. Las paredes de los vasos eferentes están engrosadas de tejido germinal, con espermatogonias y espermatocitos y la pared del testículo es gruesa (Figura 26F).

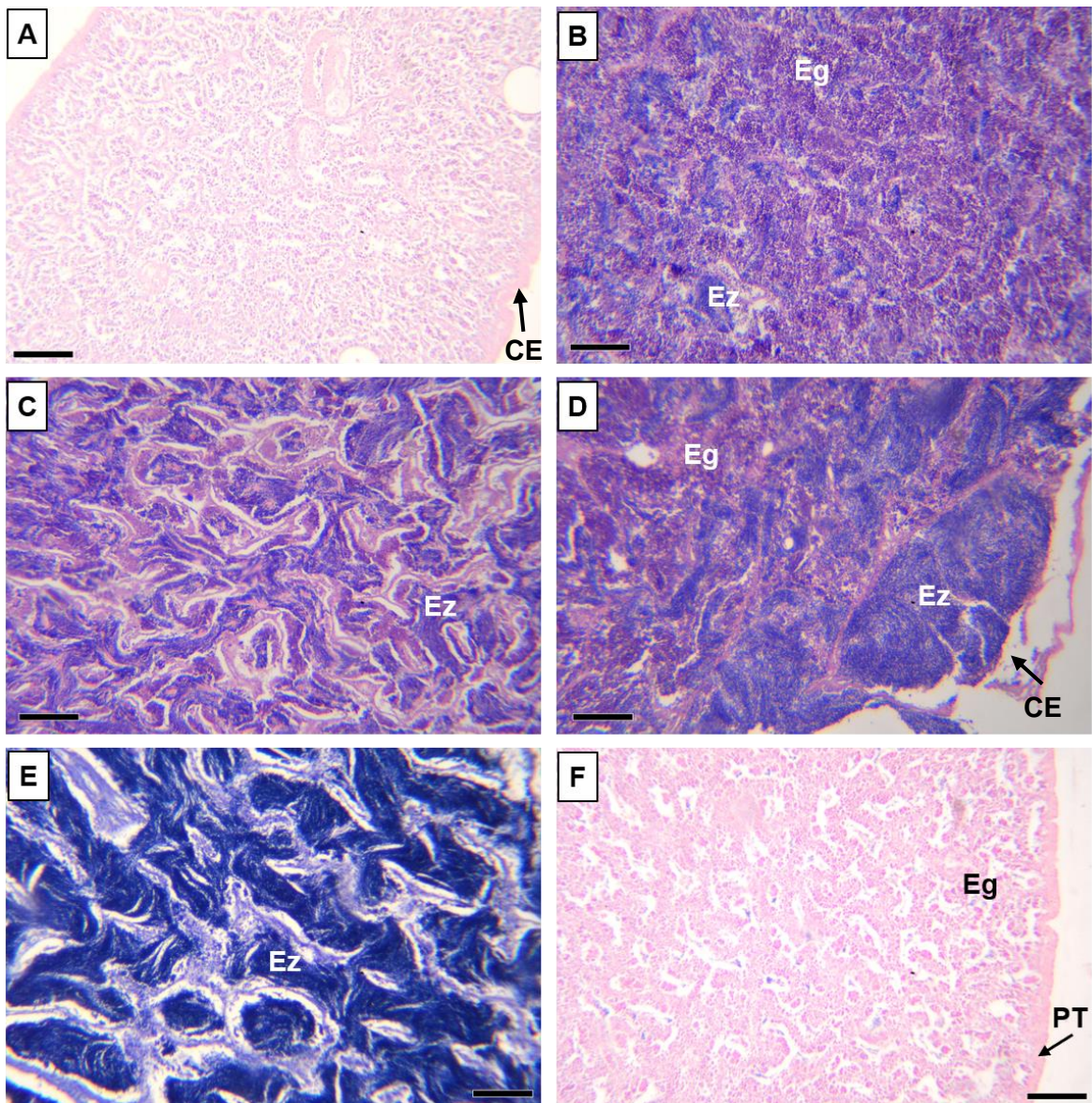


Figura 26. Fases microscópicas de desarrollo testicular de *Opisthonema* spp. A) inmaduro, B) desarrollo inicial, C) desarrollo avanzado, D) eyaculación con desarrollo, E) eyaculación, F) reposo, . Eg, espermatogénesis; Ez, espermatozoides; CE, canal de eyaculación; PT, pared testicular. La barra de escala indica 100  $\mu$ m.

Finalmente, las fases descritas para hembras (inmaduro, desarrollo inicial, desarrollo avanzado, madurez, desove parcial, recuperación y reposo) y machos (inmaduro, desarrollo inicial, desarrollo avanzado, eyaculación con desarrollo, eyaculación y reposo) de la sardrina crinuda (*Opisthonema* spp.) basadas en sus características microscópicas fueron diferentes a las descritas en la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987) (inmaduro, desarrollo, en proceso de maduración, predesove y postdesove). Se lograron definir más fases a través del análisis histológico dado que permite observar mayores detalles en relación al ciclo gonádico y dividirlo en más etapas.

## 6.4 CICLO GONÁDICO

### 6.4.1 Ciclo ovárico

El ciclo ovárico de la sardina crinuda (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. mediraastre*) comienza en la transición de pasar de organismos juveniles sexualmente inmaduro a adultos sexualmente maduros a partir de la proliferación y activación de la gametogénesis dando como resultado el desarrollo inicial. Conforme el grado de desarrollo de los ovocitos aumente, el ovario pasa a la fase de desarrollo avanzado y posteriormente a la madurez (Figura 27).

Una vez que el ovario esté maduro continúa el ciclo al realizar su primer desove parcial, el cual se caracteriza por liberar una primer cohorte de ovocitos maduros y contener otras cohortes de ovocitos en diferentes grados de desarrollo, entre ellas en vitelogénesis avanzada, indicando que el ovario podrían entrar al proceso de maduración para desovar nuevamente. Debido a que se observan más de dos cohortes de ovocitos vitelogénicos es posible que el ovario pueda tener más de dos desoves parciales (Figura 27).

Una vez que ya no hay evidencia de que el ovario pueda presentar otro desove, es cuando continúa el ciclo y pasa a la fase de recuperación, caracterizada por presentar remanentes de ovocitos y atresias. Una vez culminada la recuperación el ovario pasa a un estado de reposo, en el cual la actividad gametogénica está inactiva. Consecutivamente, el ciclo se reinicia de nuevo cuando la gametogénesis se activa y pasa de la fase de reposo a desarrollo inicial (Figura 27).

Cabe destacar que podrían presentarse rutas alternas e interrumpirse la evolución del ciclo antes descrito, ya que se observó una proporción muy baja en la cual los ovarios entran en una estado de atresia mayor (0.94 %), en el que más del 50% de los ovositos se encuentran en atresia, y el cual puede provenir de la fase del desove parcial, del desarrollo avanzado o de la madurez, interrumpiendo el ciclo y posiblemente pasando después directo a la fase de recuperación, es decir, no desovar (Figura 27).

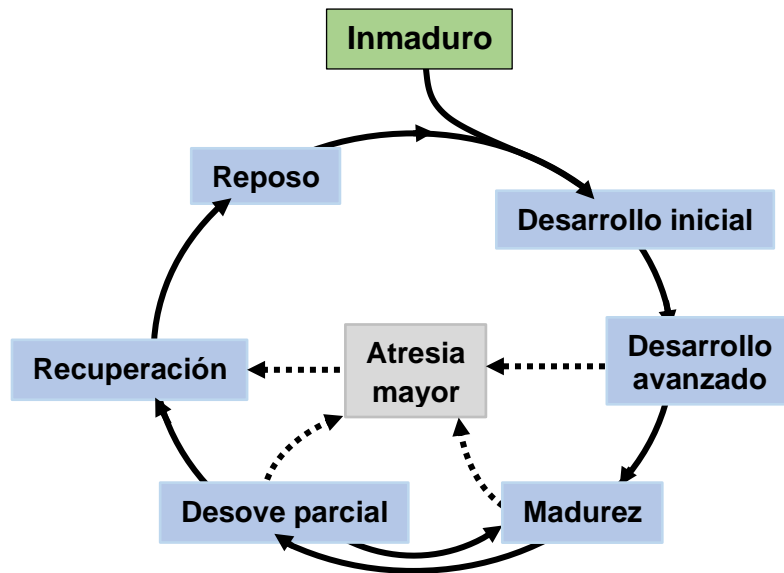


Figura 27. Ciclo ovárico de la sardina crinuda *Opisthonema* spp. en el sureste del Golfo de California. La línea punteada muestra las rutas alternas.

#### 6.4.2 Ciclo testicular

En el caso de los machos, el desarrollo testicular inicia a partir de que el testículo pasa de ser inmaduro (juveniles) a su primer desarrollo inicial (adultos), en el que se observa el inicio de la espermatogénesis con la notable proliferación de espermatoцитos y espermátidas, incluyendo espermatozoides, pero en pequeñas concentraciones. Consecutivamente el testículo pasa al desarrollo avanzado donde la cobertura de espermatoцитos y espermátidas es menor con respecto a la gran cantidad de espermatozoides, que se concentra en los vasos eferentes, sin embargo no así en el canal de eyaculación. Una vez que los espermatozoides abundan en el canal de eyaculación se puede decir que el testículo entró en eyaculación (Figura 28).

Sin embargo, se observaron dos fases de eyaculación, la primera que es eyaculación con desarrollo y es cuando los espermatozoides abundan en el canal de



eyaculación pero en la pared de los vasos eferentes sigue habiendo abundancia de espermatocitos y espermátidas, por lo que esta fase podría equivaler a una eyaculación parcial puesto que el testículo mantiene la producción de espermatozoides para posteriores eyaculaciones de forma simultánea con los eventos de eyaculación (Figura 28).

La siguiente fase es la eyaculación y es cuando el testículo se encuentra completamente lleno de espermatozoides incluyendo el canal de eyaculación y sin proliferación de espermatocitos y espermátidas en los vaso eferentes, por lo que no hay evidencia de que pueda volver a eyacular posteriormente. Adicionalmente se podría presentar como ruta alterna el pase del desarrollo avanzado a la eyaculación, dando fin al proceso de producción de espermatozoides (Figura 28).

Una vez ocurrida la eyaculación, el testículo entra en una fase de reposo, en la que ya no hay gametogénesis activa y sólo se observan remanentes de espermatozoides y así permanece para después reiniciar el ciclo con la fase de desarrollo inicial una vez dadas las condiciones óptimas para ello (Figura 28).

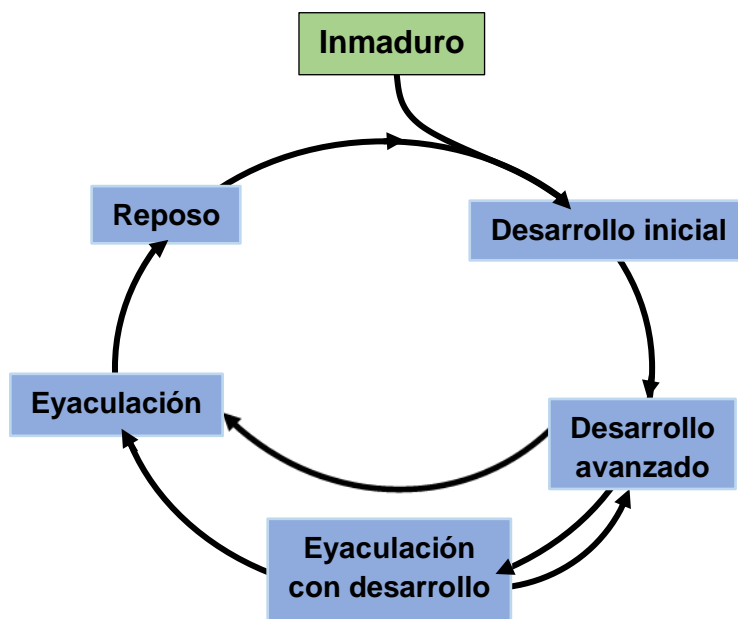


Figura 28. Ciclo testicular de la sardina crinuda *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California.

## **6.5 PRECISIÓN DE LA ESCALA DE NIKOLSKY (1963) MODIFICADA POR CISNEROS-MATA (1987)**

### **6.5.1 Porcentaje de asertividad en hembras**

Se realizó una comparación entre las fases gonádicas asignadas previo al análisis histológico y basado en los criterios utilizados en la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987), encontrando los mayores porcentajes de asertividad en los organismos inmaduros (95 %) gónadas en desarrollo (84.2 %) y en madurez (42.2 %) (Tabla XVI) . En el resto de las fases se encontraron bajos porcentajes, sin embargo estos errores no tienen gran repercusión debido a que las fases con las que fueron confundidas son las fases subsecuentes, por lo tanto presentan características similares, sobre todo en el proceso de transición de una fase a la otra (por ejemplo desarrollo inicial y desarrollo avanzado) y en procesos de re-maduración debido a que son organismos de desove parcial. Los organismos desovan una vez, y continúan desarrollando y madurando más cohortes de ovocitos, por lo tanto se dificulta diferenciar claramente entre fases, porque en realidad están ocurriendo ambos procesos, el de postdesove (ya que a nivel histológico se observan folículos postovulatorios) y el de desarrollo (porque siguen creciendo las siguientes cohortes de ovocitos (Tabla XII).

En el caso con menor porcentaje de asertividad fue el de reposo o post desove, en donde únicamente el 3.5 % de las muestras fueron catalogadas correctamente con respecto a su análisis histológico, y el 80.3 % fue confundido con desarrollo inicial, esto tiene sentido debido a que los organismos en reposo, es decir, que ya se reprodujeron al menos una vez, conservan la forma y un poco del tamaño de las gónadas con respecto a los inmaduros, es por ello que la fase con las características más similares son con las gónadas en desarrollo inicial (Tabla XII).

**Tabla XII.** Porcentaje de asertividad en la designación de fases ováricas a partir de la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987).

Hembras								
Fase histológica	n	Escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987)					Correcto	Incorrecto
		Inmaduro	Gónadas en desarrollo	En proceso de maduración	Pre-desove	Post-desove		
Inmaduro	20	95*	5				95	5
Desarrollo inicial	19	5.3	84.2*			10.5	84.2	15.8
Desarrollo avanzado	81		65.4	9.9*	18.5	6.2	9.9	90.1
Madurez	102		32.4	16.7	42.2*	8.8	42.2	57.8
Desove parcial	20		90	5		5*	5	95
Recuperación	55	3.6	72.7		7.3	16.4*	16.4	83.6
Reposo	142	15.5	80.3	0.7		3.5*	3.5	96.5

(\*) porcentaje acertado.

Asi mismo, a continuación se muestran algunas de las características más distintivas que podría ayudar a discriminar entre fases con mayor asierto, sin embargo siempre existira el factor de la subjetividad (Tabla XIII).

**Tabla XIII.** Atributos distintivos y dificultades en el diagnóstico de las fases ováricas de *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California.

HEMBRAS			
Fase histológica	Escala Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987)	Atributos distintivos y dificultades en el diagnóstico	%
Inmaduro	Inmaduro	La transparencia es un atributo importante para diferenciar a una hembra en este caso, al igual que la dimensión tubular de los lóbulos (en el caso de la confusión con indiferenciado).	95
		En caso de la confusión con el desarrollo inicial es sobre todo en la transición de una fase a la otra, sin embargo, un diferenciado es la apariencia granular, de pocos a muchos de ovocitos visibles.	
		Habrán casos en los que no se pueda distinguir el sexo por el tamaño tan diminuto, en forma de hilo.	
Desarrollo inicial	Gónadas en desarrollo	Visibilidad de ovocitos.	84.2
		Los ovarios son un poco más claros y amarotados que los de recuperación.	

Desarrollo avanzado	En proceso de maduración	Confundida principalmente con desarrollo inicial, y presentan características muy similares sobre todo porque la transición es larga.	9.9
		Apariencia muy granular y consistencia firme.	
Madurez	Pre-desove	La característica que más lo distingue es el tamaño y en ocasiones desprendimiento de ovocitos.	42.2
		Es posible que en ocasiones presente características de los ovarios en desarrollo o recuperación debido a que como es desovador parcial en la segunda, tercera, etc. Vez que madura se pierde tamaño.	
Desove parcial	Pre-desove / Post-desove	Difícil de distinguir, puede parecer cualquiera de los dos desarrollos porque en realidad si tiene ovocitos en desarrollo avanzado en lo que desova, pero al tocarlo podrían sentirse en partes como bolsa vacía.	5
Recuperación	Post-desove	Regularmente más largos y traslúcidos que los en desarrollo que son con los que más se confunden.	16.4
		Son más largos y amoratados que los de desarrollo inicial.	
Reposo	Post-desove	Traslúcida y sin ovocitos aparentes.	3.5
		Más largos que los inmaduros.	

### 6.5.2 Índice de Kappa en hembras

Se calculó el índice de Kappa por fase de desarrollo ovárico para evaluar la concordancia entre las fases asignadas a los ovarios con la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987) y las observadas mediante los cortes histológicos y se clasificaron de acuerdo a los criterios establecidos.

Los valores del coeficiente del índice de Kappa ( $k$ ) fueron bajos en la mayoría de las fases ováricas, siendo la fase de inmaduro la que presentó un mayor nivel de concordancia ( $k=0.54$ ), categorizado como “moderado”. La fase de madurez fue la segunda que presentó mejor nivel de concordancia ( $k=0.40$ ) clasificada como “aceptable”, seguido de desarrollo inicial, desarrollo avanzado y recuperación, las cuales presentaron valores de  $k$  de entre 0.01 y 0.20, catalogadas en el nivel de

concordancia como “leve”. Finalmente, las fases de desove parcial y reposo presentaron un nivel “pobre” (Tabla XIV).

**Tabla XIV.** Resultados del índice de Kappa por fase ovárica de la sardina crinuda *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California.

<b>HEMBRAS</b>		
<b>Fase histológica</b>	<b>k</b>	<b>Nivel de concordancia</b>
Inmaduro	0.54	Moderada
Desarrollo inicial	0.03	Leve
Desarrollo avanzado	0.06	Leve
Madurez	0.40	Aceptable
Desove parcial	-0.06	Pobre
Recuperación	0.13	Leve
Reposo	-0.08	Pobre

### 6.5.3 Porcentaje de asertividad en machos

En el caso de los machos, la asertividad en la designación de las fases testiculares con la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987) con respecto al diagnóstico histológico fue del 100 % en la fase de inmaduro, seguido de desarrollo inicial con testículos en desarrollo con 50 %. Las fases histológicas de eyaculación y eyaculación con desarrollo (postdesove en la escala de Nikolsky, 1963, modificada por Cisneros-Mata, 1987) fue entre 34.9 y 37.3 % (Tabla XV). Finalmente los porcentajes más bajos fue la fase de reposo, la cual fue confundida principalmente con inmaduro y testículos en desarrollo, y con 0 % la fase de desarrollo avanzado fue en proceso de maduración, sin embargo el mayor porcentaje (66.7 %) fue catalogado como testículos en desarrollo, por lo que se podría tomar como parte del mismo proceso, solo que las características

morfo cromáticas no son tan distinguibles sobre todo cuando se encuentran en transición de una fase a la otra (Tabla XV).

**Tabla XV.** Porcentaje de asertividad en la designación de fases testiculares a partir de la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987) Mazatlán.

Machos								
Fase histológica	n	Escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987)					Correcto	Incorrecto
		Inmaduro	Gónadas en desarrollo	En proceso de maduración	Pre-desove	Post-desove		
Inmaduro	17	100*					100	0
Desarrollo inicial	10		50*	20	10	20	50	50
Desarrollo avanzado	12		66.7	0*		33.3	0	100
Ey con desarrollo	83	1.2	41.0	20.5	24.1*	13.2*	37.4	62.6
Eyaculación	63	1.6	36.5	4.8	22.2	34.9*	34.9	65.1
Reposo	29	48.3	34.5		6.9	10.3*	10.3	89.7

(\*) porcentaje acertado.

Algunas de las características que ayudan a la discriminación de las fases testiculares comparando ambas escalas se encuentra a continuación, en donde se resaltan los atributos clave para la distinción entre fases con características morfo cromáticas parecidas (Tabla XVI).

**Tabla XVI.** Atributos distintivos y dificultades en el diagnóstico de las fases testiculares de *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California.

<b>MACHOS</b>			
<b>Designación histológica</b>	<b>Escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987)</b>	<b>Atributos distintivos y dificultades en el diagnóstico</b>	<b>%</b>
Inmaduro	Inmaduro	Testículos plano y no traslúcido	100
Desarrollo inicial	Gónadas en desarrollo	Similitud con los testículos en reposo pero estos más rojizos	50
Desarrollo avanzado	En proceso de maduración	En apariencia podría ser muy similar al desarrollo inicial que sea difícil diferenciar entre los dos.	0
Eyaculación con desarrollo	Pre-desove	Al confundirla con un post desove (recuperación o reposo) pues también puede depender de cuantas eyaculaciones lleve (aunque siga desarrollando y expulsando).	37.3
		Se podría confundir con gónadas en desarrollo porque en realidad también está en ese proceso, pero se va perdiendo tamaño.	
		Es la fase de mayor tamaño y es lechosa.	
Eyaculación	Post-desove	Tamaño medio, superficie amoratada.	34.9
Reposo	Post-desove	Parecido a desarrollo inicial pero poco más beige.	10.3

#### 6.5.4 Índice de Kappa en machos

Los valores del coeficiente  $k$  del índice de Kappa para el desarrollo testicular se encontraron en los niveles más bajos, entre pobre, leve y aceptable. La fase de inmaduro fue la que presentó mejor nivel de concordancia ( $k=0.65$ ), catalogado como “considerable”, seguido de eyaculación ( $k=0.24$ ) como “aceptable”. Las siguientes fueron las fases de desarrollo inicial y eyaculación con desarrollo que

presenta valores de  $k$  de entre 0.01 y 0.20, es decir, concordancia “leve”. El resto de las fases (desarrollo avanzado y reposo) presentaron un nivel de concordancia “pobre” (Tabla XVII).

**Tabla XVII.** Resultados del índice de Kappa por fase testicular de la sardina crinuda *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California.

<b>MACHOS</b>		
<b>Fase histológica</b>	<b>k</b>	<b>Nivel de concordancia</b>
Inmaduro	0.65	Considerable
Desarrollo inicial	0.02	Leve
Desarrollo avanzado	-0.08	Pobre
Eyaculación con desarrollo	0.02	Leve
Eyaculación	0.24	Aceptable
Reposo	-0.09	Pobre

## 6.6 REDISEÑO DE LA ESCALA MORFOCROMÁTICA

Las características microscópicas y macroscópicas de ovarios y testículos de la sardina crinuda (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) no presentaron diferencias entre especies, por lo que se describen las características más distintivas de cada fase para hembras y para machos en general, es decir a nivel complejo y se describen detalladamente más adelante. Además, se añadió el índice gonadosomático, el índice gonadoalométrico, los valores de color RGB de cada fase, y su respectivo análisis de comparación entre fases. Adicionalmente se añadieron fotografías de cada fase como apoyo visual.



## **6.6.1 HEMBRAS**

### **6.6.1.1 *Caracterización morfocromática***

Siete fases ováricas fueron descritas a partir de la escala morfocromática con su correspondiente validación histológica. Las fases son: inmaduro, desarrollo inicial, desarrollo avanzado, madurez, desove parcial, recuperación y reposo, y sus características más distintivas como tamaño, color, apariencia y consistencia se describen a detalle para cada fase en la tabla XVIII y figura 29.

Morfocromáticamente se encontraron algunas similitudes entre fases, sobre todo en las fases de desarrollo inicial con reposo, desarrollo avanzado con madurez, desove parcial con desarrollo y reposo con recuperación, las cuales podrían ser confundidas a simple vista, sin embargo es posible diferenciarlas si se pone atención en las características específicas.

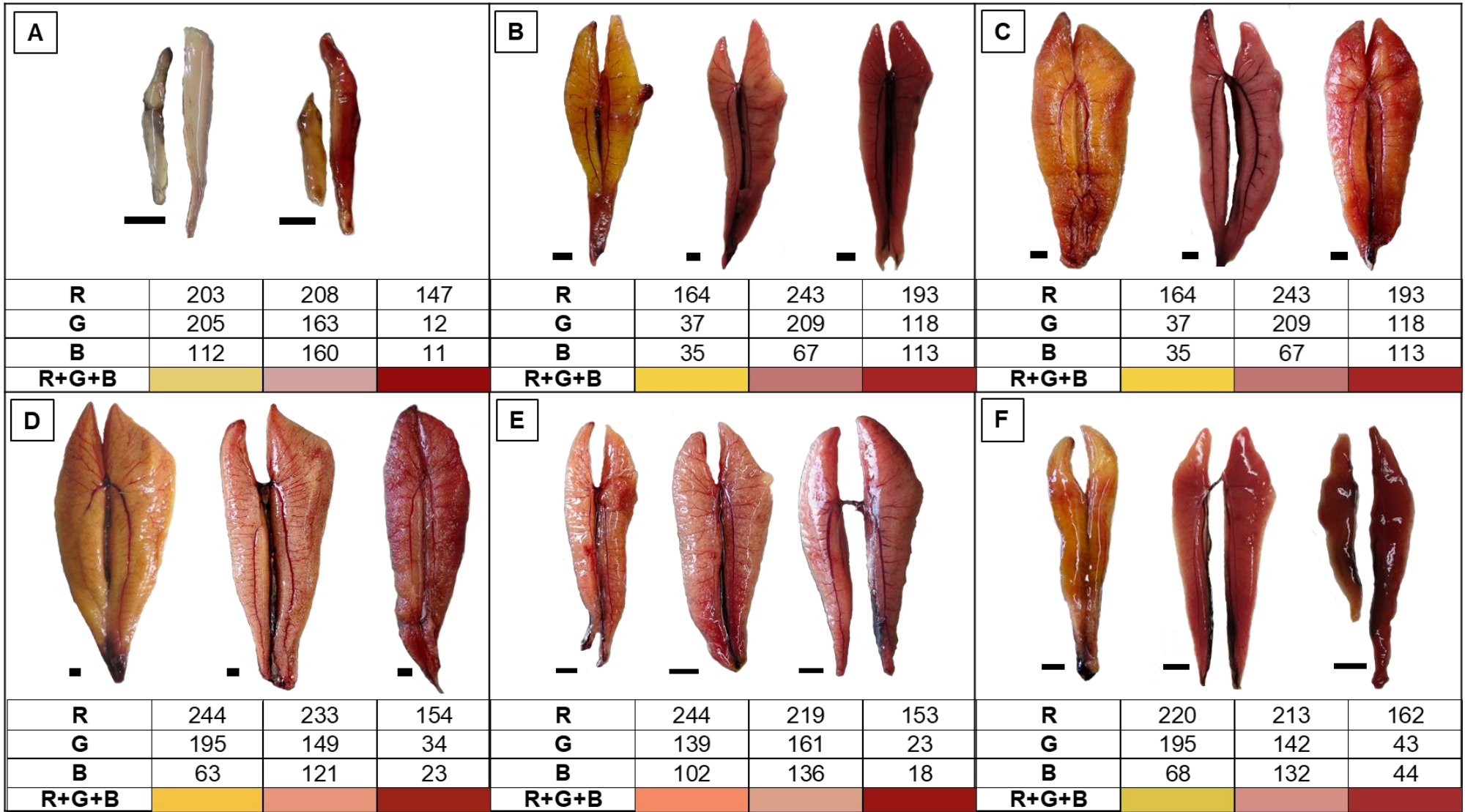
Con respecto al tamaño, las hembras inmaduras pesaron menos de 0.01 gramos, y el peso mínimo una vez entrando al desarrollo inicial fue de 0.24 g y el máximo de 30 g en un ovario en fase de madurez.

Adicionalmente se realizó una escala de desarrollo gonádico resumida con fines prácticos para su uso en campo la cual se encuentra en el Anexo I.

**Tabla XVIII.** Descripción morfocromática del desarrollo ovárico de la sardina crinuda *Opisthonema* spp. en el sureste del Golfo de California.

Fase	Descripción morfocromática	Índices
Inmaduro	Gónadas pequeña y delgada, podría presentar características morfológicas de gónadas de adultos, es decir, el lóbulo derecho más engrosado que el izquierdo con una leve prominencia en la parte superior derecha. Son de color rojo-rosa o amarillo y son traslúcidas. Tienen consistencia firme o ligeramente flácida, no hay ovocitos visibles y la vascularización es nula o poco evidente (Figura 29A).	IGS=0.5±0.12 IGA=1.9±0.16
Desarrollo inicial	Gónadas de mayor tamaño y pigmentación que las inmaduras, por lo regular son de tono rojo o rosa oscuro, pero también presentan tonos amarillos o distintos colores en la misma gónada y en ocasiones pueden presentar translucidez. La consistencia es de flácida a firme, puede presentar unas partes más firmes que otras. Se puede observar la presencia ovocitos y la vascularización es de poco a muy evidente, sobre todo la arteria principal (Figura 29B).	IGS=1.2±0.07 IGA=2.9±0.10
Desarrollo avanzado	Gónadas de tamaño medio a muy grande, de color rojo, rosáceo, anaranjado o amarillo, a menudo presentan dos o más colores en la misma gónada, principalmente las que son color claro podrían presentar enrojecimiento. Generalmente de consistencia firme, pero podría presentar secciones menos firmes. Es de apariencia granular, los ovocitos son visiblemente grandes y la vascularización es evidente, sobre todo la arteria principal (Figura 29C).	IGS=2.9±0.19 IGA=3.5±0.07
Madurez	Gónadas de gran tamaño, tanto en largo como en ancho. Presenta colores brillantes como amarillo, rosáceo o rojo, pero también se pueden presentar varios colores en la misma gónada como amarillo rojizo. Es de consistencia firme, apariencia granular (se observan ovocitos de gran tamaño) y puede haber desprendimiento de ovocitos. La vascularización suele ser evidente, sobre todo la arteria principal, pero podría no distinguirse en algunos casos (Figura 29D).	IGS=4.78±0.16 IGA=3.9±0.08

<b>Desove parcial</b>	Ovarios delgados y regularmente largos. Presentan tonalidades oscuras, principalmente rojo, pero también puede ser amarillo, anaranjado o rosáceo y pueden aparecer manchas oscuras, sin transparencias. Son de consistencia de firme a flácida, o podría ser firme con partes flácidas o podría presentar ambas consistencias a lo largo del ovario. Es de apariencia lisa con pocos ovocitos visibles y vascularización evidente (Figura 29E).	IGS=1.9±0.15 IGA=3.2±0.07
<b>Recuperación</b>	Ovarios largos y delgados de color rojo o anaranjado oscuro o amarillo rojizo y se puede observar cierta transparencia. De consistencia regularmente flácidos o ligeramente firme, de apariencia lisa, con sin ovocitos visibles. La vascularización es de poco a nada evidente (Figura 29F).	IGS=1.1±0.8 IGA=3.0±0.07
<b>Reposo</b>	Gónada de menor grosor que la de recuperación, de color rojo, rosa-anaranjado o amarillo. Presenta ligera traslucidez principalmente en los contornos. Son de consistencia flácida, apariencia lisa sin ovocitos visibles y con vascularización no evidente o poco evidente (Figura 29G).	IGS=0.8±0.04 IGA=2.9±0.04



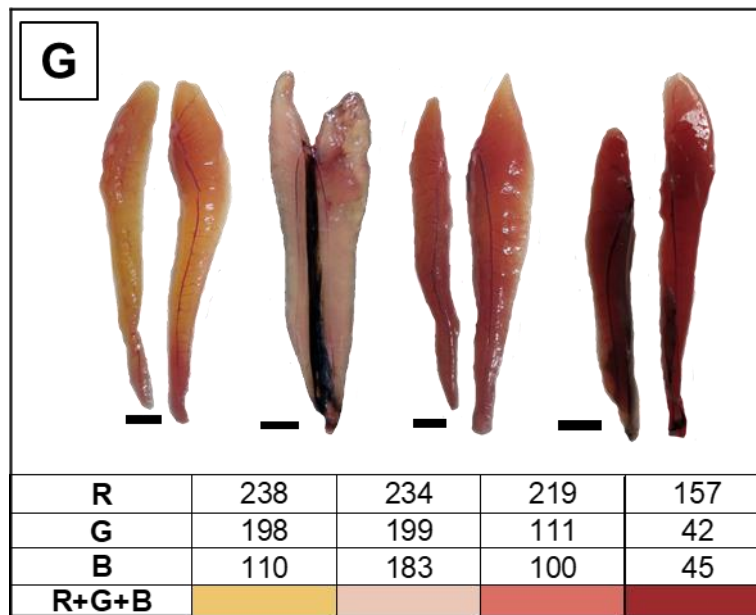


Figura 29. Desarrollo ovárico morfocromático y valores de color RGB de la sardina crinuda *Opisthonema* spp. en el sureste del Golfo de California. A) inmaduro, B) desarrollo inicial, C) desarrollo avanzado, D) madurez, E) desove parcial, F) recuperación, G) reposo. La barra de escala indican 10 mm.

### 6.6.1.2 Índice gonadosomático e índice gonadoalométrico en hembras

Tanto el índice gonadosomático como el índice gonadoalométrico presentaron un comportamiento de ascenso con respecto a las fases ováricas tomando como punto de inicio el desarrollo inicial, un punto máximo la fase de madurez y posterior a el un descenso al acercarse al reposo (Tabla XIX y Figura 30).

**Tabla XIX.** Promedio del índice gonadosomático (IGS) e índice gonadoalométrico (IGA) de *Opisthonema* spp. por fase ovárica.

Fase de madurez	IGS	EE IGS	IGA	EE IGA
Inmaduro	0.5	0.12	2.0	0.16
Desarrollo inicial	1.2	0.07	3.0	0.10
Desarrollo avanzado	2.9	0.19	3.6	0.07
Madurez	4.7	0.34	3.9	0.08
Desove parcial	1.9	0.15	3.3	0.07
Recuperación	1.1	0.08	3.0	0.07
Reposo	0.8	0.04	3.0	0.05

(EE) representa el error estándar.

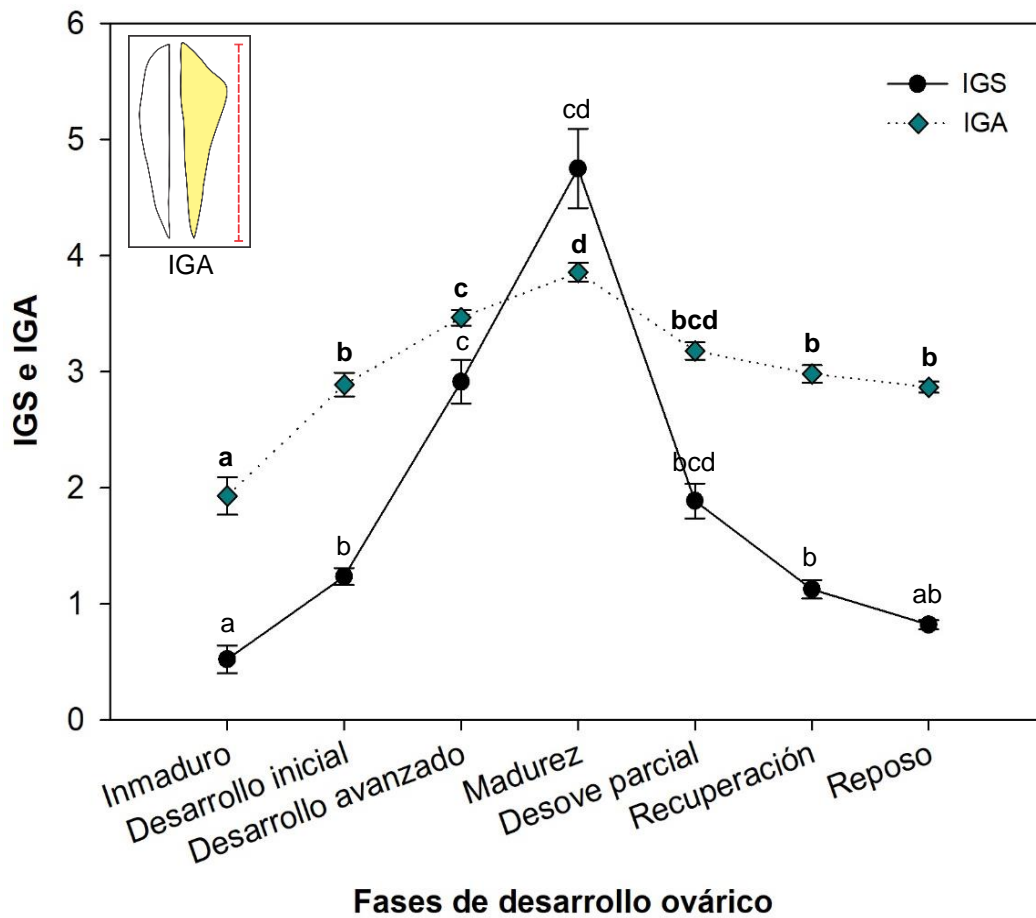


Figura 30. Promedio del índice gonadosomático (IGS) e índice gonadoalométrico (IGA) de *Opisthonema* spp. por fase ovárica con error estándar.

Los resultados de la comparación del IGS por fases ováricas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre la fase de desarrollo avanzado con madurez, recuperación y reposo, y la fase de madurez con todas las fases (Tabla XX).

**Tabla XX.** Comparación del índice gonadosomático entre fases ováricas de *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California.

Fase	Inmaduro	Desarrollo inicial	Desarrollo avanzado	Madurez	Desove parcial	Recuperación	Reposo
<b>Inmaduro</b>		0.01*	0.00*	0.00*	0.00*	0.02*	1.00
<b>Desarrollo inicial</b>	0.01*		0.01*	0.00*	1.00	1.00	0.07
<b>Desarrollo avanzado</b>	0.00*	0.01*		0.27	1.00	0.00*	0.00*
<b>Madurez</b>	0.00*	0.00*	0.27		0.14	0.00*	0.00*
<b>Desove parcial</b>	0.00*	1.00	1.00	0.14		0.11	0.00*
<b>Recuperación</b>	0.02*	1.00	0.00*	0.00*	0.11		0.19
<b>Reposo</b>	1.00	0.07	0.00*	0.00*	0.00*	0.19	

Valores de probabilidad de la prueba post-hoc de Scheffer. (\*) representa diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

El IGA se comportó muy similar que el IGS, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) de la fase de madurez con todas las fases, además de inmaduro con desarrollo avanzado y desarrollo avanzado con recuperación y reposo (Tabla XXI).



**Tabla XXI.** Comparación del índice gonadoalométrico entre fases ováricas de *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California.

Fases	Inmaduro	Desarrollo inicial	Desarrollo avanzado	Madurez	Desove parcial	Recuperación	Reposo
<b>Inmaduro</b>		0.047*	0.000*	0.000*	0.000*	0.002*	0.002*
<b>Desarrollo inicial</b>	0.047*		0.016*	0.000*	1.000	1.000	1.000
<b>Desarrollo avanzado</b>	0.000*	0.016*		0.040*	1.000	0.000*	0.000*
<b>Madurez</b>	0.000*	0.000*	0.040*		0.063	0.000*	0.000*
<b>Desove parcial</b>	0.000*	1.000	1.000	0.063		1.000	0.328
<b>Recuperación</b>	0.002*	1.000	0.000*	0.000*	1.000		1.000
<b>Reposo</b>	0.002*	1.000	0.000*	0.000*	0.328	1.000	

Valores de probabilidad de la prueba post-hoc de Scheffer. (\*) representa diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

## 6.6.2 MACHOS

### 6.6.2.1 Caracterización morfocromática

En el caso de los machos se describieron seis fases de desarrollo testicular, las cuales son: inmaduro, desarrollo inicial, desarrollo avanzado, eyaculación con desarrollo, eyaculación y reposo.

En los testículos el peso mínimo registrado después de los inmaduros (0.01 g) fue la fase de desarrollo inicial con 0.32 g y el máximo en la fase de eyaculación con desarrollo que fue de 13.83 g.

Las características morfocromáticas en los machos presenta menos variaciones que las de las hembras, por lo que es más propenso a confundir ciertas fases, sobre todo el desarrollo inicial con el reposo, sin embargo (Figura XXII).

**Tabla XXII.** Descripción morfocromática de las fases testiculares de la sardina crinuda *Opisthonema* spp. en el sureste del Golfo de California.

<b>Fase</b>	<b>Características macroscópicas</b>	<b>Índices</b>
<b>Inmaduro</b>	Testículos de color beige, rosáceo, rojizo o blanco enrojecido, con ligera transparencia. Morfológicamente es más largo y ancho que los inmaduros, con forma de testículos adultos, pero casi planos. Es de consistencia firme, apariencia lisa y con venas poco o nada evidente (Figura 31A).	IGS=0.5±0.36 IGA=1.1±0.16
<b>Desarrollo inicial</b>	Testículos de mayor tamaño, regularmente de color blanco con partes enrojecidas, o también puede presentar tonos beige o rosa. Es de consistencia firme con partes flácidas, de apariencia lisa sin vascularización evidente ni expulsión de semen (Figura 31B).	IGS=2.1±0.51 IGA=2.5±0.27
<b>Desarrollo avanzado</b>	Testículos de mayor tamaño y grosor, son de color blanco y puede presentar manchas rojizas o rosáceas. Son de consistencia firme, de apariencia lisa con vascularización poco evidente, sin expulsión de semen (Figura 31C).	IGS=2.3±0.30 IGA=3.3±0.16
<b>Eyaculación con desarrollo</b>	Testículos de gran tamaño, de colores blancos, beige o rosáceo, generalmente con la superficie enrojecida. Es de consistencia firme, apariencia lisa sin vascularización o muy poca y con posible expulsión de semen (Figura 31D).	IGS=3.9±0.25 IGA=4.1±0.40
<b>Eyaculación</b>	Testículo generalmente largo y con variación de grosor de medio a muy grueso. Es de color blanco, beige o rosáceo con posible enrojecimiento y/o con manchas rojo o gris oscuros. La consistencia varía entre firme y flácida o puede presentar ambas consistencias en el mismo testículo. Es de apariencia lisa sin vascularización evidente (Figura 31E).	IGS=1.8±0.23 IGA=2.9±0.10
<b>Reposo</b>	Testículos pequeños y delgados, de tonalidades rosáceas, beige, gris o ligeramente blancos, con posible transparencia, enrojecimiento o amoratamiento. Es de consistencia flácida o en algunos casos firme con partes flácidas, principalmente las zonas del enrojecimiento. En apariencia es liso, sin vascularización evidente ni emanación de semen (Figura 31F).	IGS=0.6±0.28 IGA=2.0±0.15

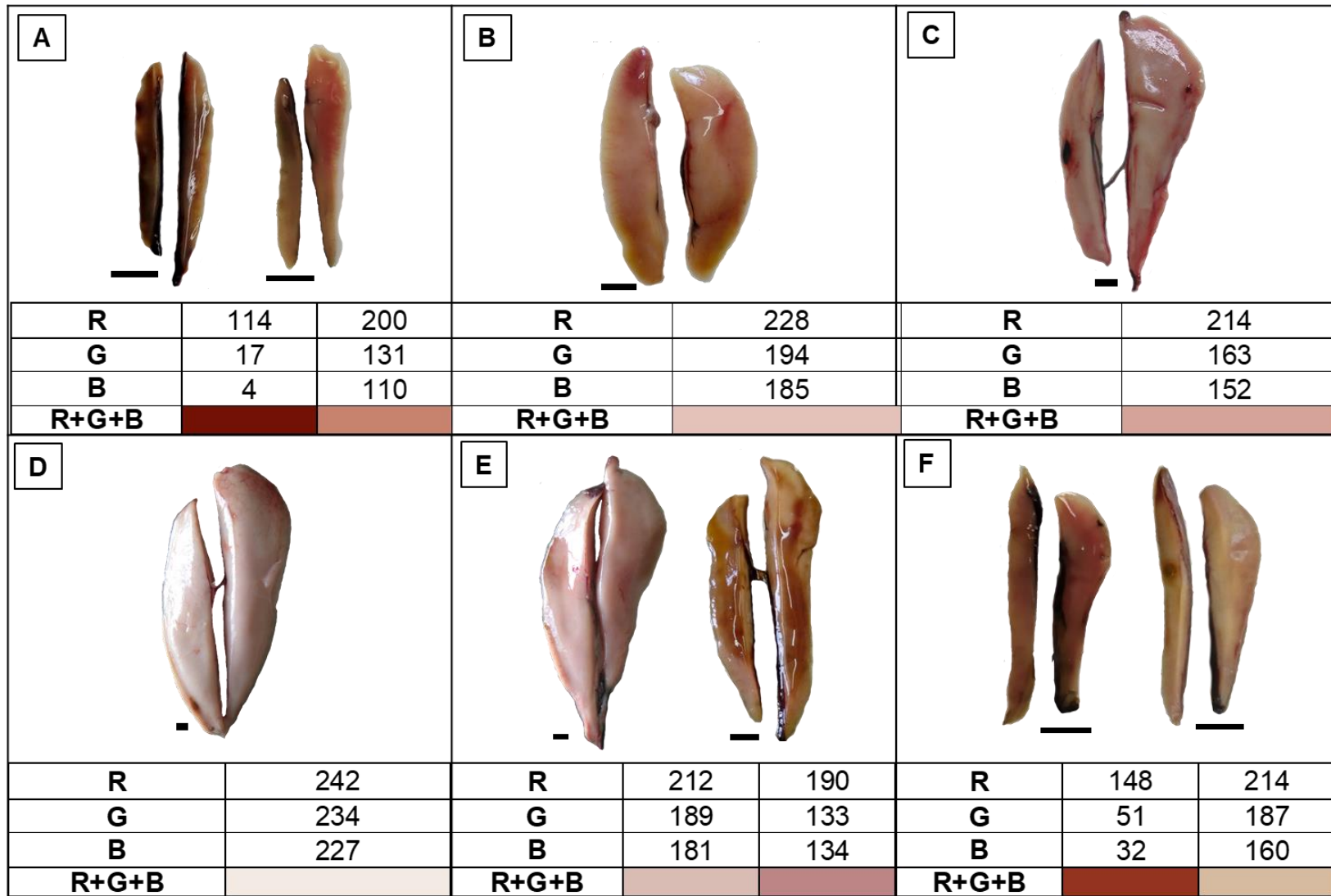


Figura 31. Fases testiculares a nivel morfocromático de *Opisthonema* spp. en el sureste del Golfo de California. A) inmaduro, B) desarrollo inicial, C) desarrollo avanzado, D) eyaculación con desarrollo, E) eyaculación final, F) reposo. La barra de escala indica 10 mm.

### 6.6.2.2. Índice gonadosomático e índice gonadoalométrico en machos

Al igual que en las hembras, los índices gonadosomático y gonadoalométrico se comportaron ascendentemente conforme avanza el grado de desarrollo testicular, obteniéndose los valores máximos en la fase de eyaculación con desarrollo ( $4.60 \pm 1.02$ ) y el más bajo en las fases de inmaduro ( $0.21 \pm 0.30$ ) y reposo ( $0.80 \pm 0.21$ ) (Tabla XXIII y Figura 32).

**Tabla XXIII.** Promedio del índice gonadosomático (IGS) e índice gonadoalométrico (IGA) de *Opisthonema* spp. por fase testicular.

Fase	IGS	EE IGS	IGA	EE IGA
<b>inmaduro</b>	0.5	0.36	1.1	0.16
<b>desarrollo inicial</b>	2.1	0.51	2.5	0.27
<b>desarrollo avanzado</b>	2.3	0.30	3.3	0.16
<b>eyaculación con desarrollo</b>	3.9	0.25	4.1	0.40
<b>eyaculación</b>	1.8	0.23	2.9	0.10
<b>Reposo</b>	0.6	0.28	2.0	0.15

(EE) representa el error estándar.

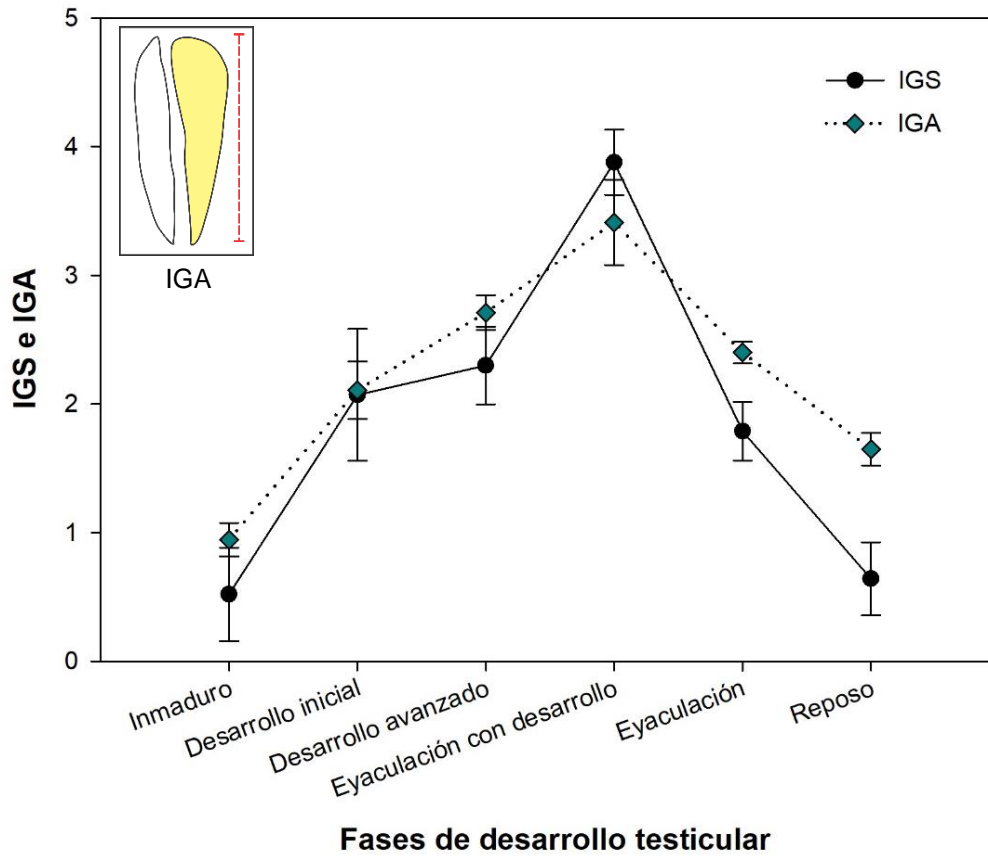


Figura 32. Promedio del índice gonadosomático (IGS) e índice gonadoalométrico (IGA) de *Opisthonema* spp. por fase testicular.

En cuanto a la comparación del IGS entre las fases testiculares, no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre las fases de inmaduro, desarrollo inicial y desarrollo avanzado con ninguna fase, pero si se encontraron diferencias ( $p < 0.05$ ) entre la fase eyaculación con desarrollo y las fases de desarrollo avanzado, eyaculación y reposo (Tabla XXIV).

**Tabla XXIV.** Comparación del índice gonadosomático entre fases testiculares de *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California.

Fases	Inmaduro	Desarrollo inicial	Desarrollo avanzado	Eyaculación con desarrollo	Eyaculación	Reposo
Inmaduro		1.00	0.35	0.00*	1.00	1.00
Desarrollo inicial	1.00		1.00	0.18	1.00	0.06
Desarrollo avanzado	0.35	1.00		0.97	1.00	0.00*
Eyaculación con desarrollo	0.00*	0.18	0.97		0.00*	0.00*
Eyaculación	1.00	1.00	1.00	0.00*		0.00*
Reposo	1.00	0.06	0.00*	0.00*	0.00*	

Valores de probabilidad de la prueba post-hoc de Scheffer. (\*) representa diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

En el caso del IGA no se encontraron diferencias significativas entre las fases testiculares ( $p > 0.05$ ) (Tabla XXV).

**Tabla XXV.** Comparación del índice gonadoalométrico entre fases testiculares de *Opisthonema* spp. del sureste del Golfo de California.

Fases	Inmaduro	Desarrollo inicial	Desarrollo avanzado	Eyaculación con desarrollo	Eyaculación	Reposo
Inmaduro		0.13	0.00*	0.00*	0.00*	1.00
Desarrollo inicial	0.13		1.00	0.04	1.00	1.00
Desarrollo avanzado	0.00*	1.00		1.00	1.00	0.02
Eyaculación con desarrollo	0.00*	0.04*	1.00		0.00*	0.00*
Eyaculación	0.00*	1.00	1.00	0.00*		0.01
Reposo	1.00	1.00	0.02*	0.00*	0.01*	

Valores de probabilidad de la prueba post-hoc de Scheffer. (\*) representa diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

### 6.6.2.3 Representación de fases por sexo

De manera general, la sardina crinuda (*Opisthonema* spp.) presentó siete fases de desarrollo ovárico, siendo la fase de reposo la de mayor abundancia (32.6 %), seguido de la madurez (23.1 %), desarrollo avanzado (18.1 %) y la recuperación (12.4 %). Las fases de inmaduro, desarrollo inicial y desove parcial se presentaron en porcentajes menores al 5 % cada una (Figura 33).

De manera particular, las hembras de *O. libertate* y *O. medirastre* presentaron las siete fases ováricas, mientras que en *O. bulleri* no se logró observar la fase de desarrollo inicial, pero si las otras seis.

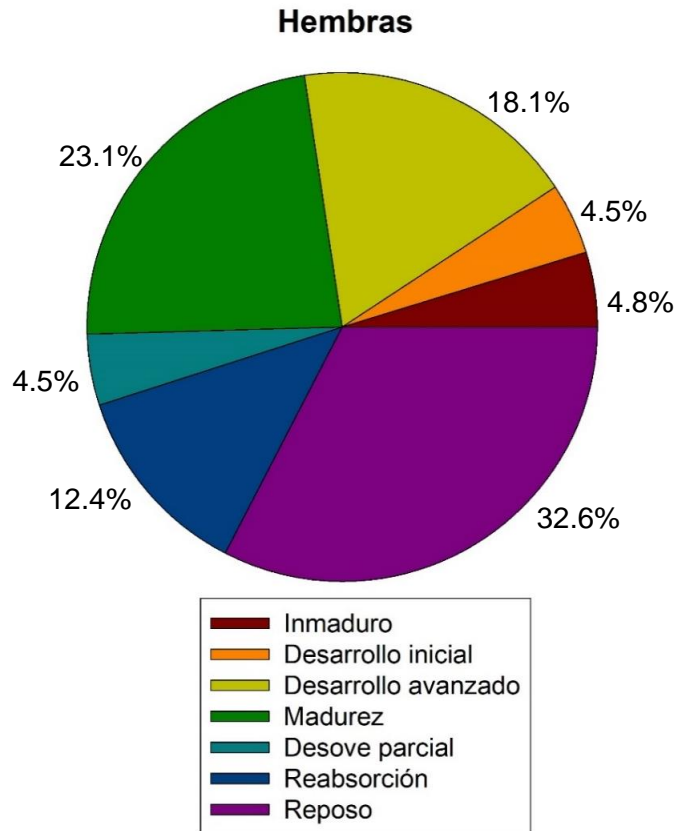


Figura 33. Proporción por fases ováricas de la sardina crinuda (*Opisthonema* spp.) de julio 2018 a septiembre 2019, del sureste del Golfo de California.

En el caso de los machos (*Opisthonema* spp.), se describieron seis fases testiculares, teniendo mayor representación la fase de eyaculación con desarrollo (40.7 %), seguida de eyaculación (29.4 %) y reposo (12.6 %). Las fases de inmaduro, desarrollo inicial y desarrollo avanzado se presentaron en porcentajes menores al 7 % cada una (Figura 34).

Particularmente, se encontraron todas las fases testiculares en *O. libertate* y *O. medirastre*, sin embargo en *O. bulleri* únicamente se observaron las fases de eyaculación con desarrollo y eyaculación.

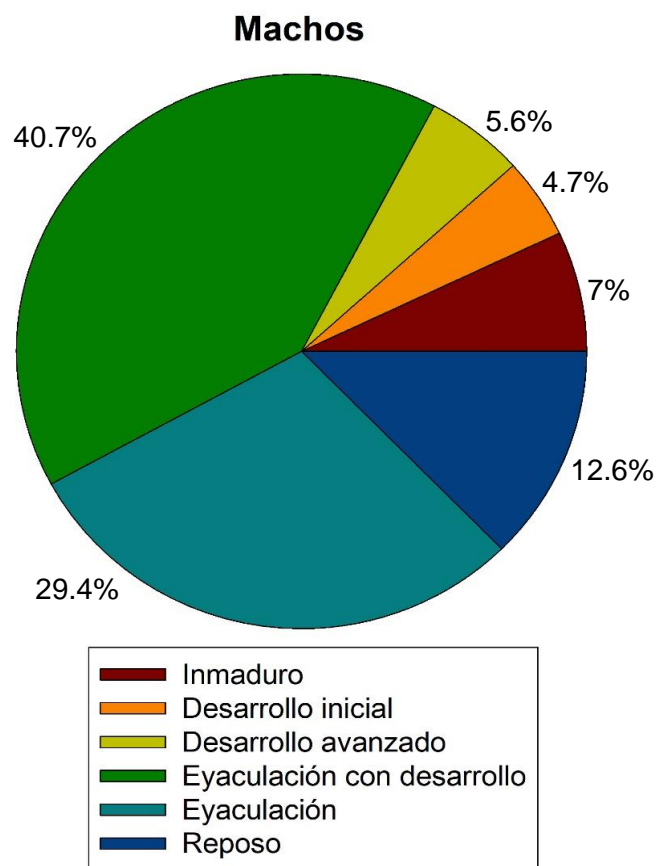


Figura 34. Proporción por fases testiculares de la sardina crinuda (*Opisthonema* spp.) de julio 2018 a septiembre 2019, del sureste del Golfo de California.



Por lo tanto, en ambos casos (hembras y machos), las fases de mayor grado de desarrollo, es decir, madurez en hembras y eyaculación con desarrollo en machos, fue la más abundante con respecto al resto de las fases de la sardina crinuda (*Opisthomena* spp.). Asimismo, el reposo en ambos sexos se presentó en altos porcentajes (32.6 % en hembras y 12.6 % en machos).

## 7. DISCUSIÓN

### 7.1 APARATO REPRODUCTOR

La sardina crinuda presenta gónadas bilobuladas fusiformes y alargadas con características de ovarios y testículos muy similares a la sardina monterrey *Sardinops sagax* (Cotero-Altamirano *et al.*, 2015). La posición de las gónadas en los clupeidos como *S. sagax* (Cotero-Altamirano *et al.*, 2015) y *C. harengus* (Bucholtz *et al.*, 2008) se encuentra en la parte ventral media, extendiéndose hacia la parte posterior del pez, de igual manera que en la sardina crinuda del presente trabajo. Por su parte, Simón-Díaz (2009) realizó un diagrama de la sardina *S. sagax* en donde se explica gráficamente cómo se lleva a cabo el crecimiento de la gónada dentro de la cavidad visceral y como va aumentando de tamaño y abarcando en la fase de máximo grado de desarrollo hasta aproximadamente el 95 % de la cavidad, tal como ocurre en las especies del presente estudio.

A diferencia de eso, *P. medius* (Maldonado-Amparo, 2017) aunque también presenta gónadas bilobuladas la posición de estas dentro de la cavidad visceral varía con respecto a la sardina crinuda, ya que esta se localiza más cercana a la parte anterior del pez y conforme el desarrollo se extiende hacia la parte dorsal, esto atribuido a la morfología del pez. Además, también se menciona que en *P. medius* en todos los casos el lóbulo izquierdo es considerablemente más pequeño que el derecho. Esto también se observó en el complejo de sardina crinuda, sin embargo, la variación en el tamaño de los lóbulos es menos evidente comparada con *P. medius*. La sardina crinuda presenta el lóbulo izquierdo más delgado que el derecho ya que este presenta una protuberancia en la parte superior que le da mayor grosor, y en *P. medius* la diferencia entre un lóbulo y otro es lo largo y no en el grosor. En los trabajos antes mencionados para *S. sagax* y *C. harengus* no se menciona que exista una diferencia en el tamaño de los lóbulos (Bucholtz *et al.*, 2008; Cotero-Altamirano *et al.*, 2015).

El acomodo y la ubicación de las gónadas podría indicar una estrategia en cuanto a eficiencia de espacio dentro de la cavidad visceral, desarrollándose

dependiendo la morfología de la especie para eficientizar espacio y que la gónada crezca lo más posible para cumplir su función reproductiva.

De manera general, las características anatómicas y morfocromáticas de las gónadas de sardina crinuda nos permitieron fácilmente diferenciar hembras de machos, sin embargo, bajo los criterios morfocromáticos no fue posible diferenciar entre especies

## 7.2 DESARROLLO GONÁDICO

Las fases de desarrollo gonádicas propuestas en la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987) carecen de claridad en relación a los términos utilizados para las fases, los cuales son poco representativos de lo que ocurre dentro de las gónadas a nivel celular. Por lo cual, fue complejo cotejar la escala morfocromática con respecto al diagnóstico histológico. La fase de inmaduro si se ve claramente homologada entre ambas escalas; la fase II - gónadas en desarrollo podría corresponder con la fase histológica de desarrollo inicial; la fase III (en proceso de maduración) corresponde con desarrollo avanzado; la fase IV (predesove) con madurez y desove parcial; y la fase V (postdesove) con las fases histológicas de desove parcial, recuperación y reposo. Un aspecto a considerar para comprender las variaciones que se pueden presentar en el diagnóstico de las fases gonádicas es que la sardina crinuda es un desovador parcial. Por lo cual podrían presentarse mayores similitudes entre las fases gonádicas, esto debido a que diferentes procesos que distinguen a una fase con respecto a otra podrían presentarse simultáneamente en una misma fase. Por ejemplo, el desove parcial de acuerdo con el diagnóstico histológico, identificado como postdesove en la escala morfocromática previa porque ya ovuló, pero a su vez está desarrollando y madurando otras cohortes de ovocitos por lo que también podría presentar características similares a un desarrollo, proceso de maduración o predesove.

Por su parte, Rodríguez *et al.* (1986) describieron en su estudio cuatro fases de desarrollo ovárico para la sardina *Opisthonema libertate* en el Golfo de Nicoya, Costa Rica, las cuales son: (I) sardina virgen, (II) sardina madura, (III) sardina en

desove y (IV) sardina desovada, y únicamente se describen a escala morfo cromática sin validación histológica. Las fases que Rodríguez *et al.* (1986) describieron son muy generales pero la mayoría de las características coinciden con lo observado en el presente estudio.

Cotero-Altamirano *et al.* (2015) definieron seis fases de desarrollo ovárico para *S. sagax* (inmaduro, madurando, maduro sin desove, maduro con desove y recuperación o reabsorción) en donde si se toma en cuenta que los organismos son de desove parcial, sin embargo, no se hace la descripción morfo cromática. Mientras que Simón-Díaz (2009) describió únicamente cuatro fases (inmadura, en maduración, madura y en reabsorción) para la misma especie (*S. sagax*) pero aquí si incluyendo la descripción macroscópica.

Para *C. harengus*, Bucholtz *et al.* (2008) fueron más detallistas en su trabajo pues describieron a nivel morfo cromático e histológico ocho fases de desarrollo gonádico. Las cuales para hembras fueron (I) juveniles, (II) maduración temprana, (III) maduración media, (IV) maduración tardía, (V) capacidad de desove, (VI) desove, (VII) gastada-recuperación y una octava que fueron las anormales. Esta descripción para *C. harengus* explica mejor lo encontrado en el presente trabajo para la sardina crinuda del sureste del Golfo de California, presentando prácticamente las mismas fases, incluso las anomalías.

Adicionalmente, se encontraron gónadas en estado de atresia folicular mayor, es decir, que más del 50 % de los ovocitos se encuentran en reabsorción (Torres-Villegas *et al.*, 2007; Valdebenito *et al.*, 2011). Cuando los ovarios llegan a ese estado de degradación se asume que la probabilidad de que esa hembra vuelva a desovar es casi nula, por lo que este fenómeno es común observarlo al final de la temporada reproductiva e indica el final de la producción de ovocitos (Hunter y Macewicz, 1985; Torres-Villegas *et al.*, 2007).

El estado de atresia mayor se ha descrito para peces pelágicos menores de la familia Clupeidae como *S. sagax* (Torres-Villegas *et al.*, 2007; Cotero-Altamirano *et al.*, 2015) en costas mexicanas, en el cual no se observaron cambios

morfocromáticos en los ovarios. No obstante, en ovarios de peces como la merluza del Pacífico (*M. productus*) sí presentan variación en la coloración de los ovocitos cuando el ovario se encuentran en atresia mayor, mostrándose oscuros (entre café y negro) y su consistencia al tacto se volvió dura. Cabe resaltar que la merluza del Pacífico es de hábitos muy distintos a los de la sardina crinuda, pues son peces de hábitos demersales.

En el presente estudio se encontró un bajo porcentaje (1.42 %) de ovarios de *O. libertate* (n=5) con puntos oscuros observados a simple vista y que se presentaron en dos ovarios en fase de desarrollo avanzado, uno en madurez y dos en reposo, que podría ser similar a los ovarios de *M. productus* reportado por Denton-Casillo (2018) y que se encontraban en estado de atresia generalizada. No obstante, los análisis histológicos mostraron resultados diferentes a los observados en atresia mayor reportados por Denton-Casillo (2018), Torres-Villegas *et al.* (2007) y Cotero-Altamirano *et al.* (2015). Así mismo, en el presente estudio se observó un 0.92 % de ovarios en atresia mayor que no presentaron cambios morfocromáticos ni la presencia de puntos oscuros. Es por ello que los resultados observados en los ovarios con presencia de puntos oscuros se catalogaron en el estado de anormales. Se aborda detalladamente más adelante en la sección de anomalías del diagnóstico histológico.

Dicho lo anterior, lo que se observa a simple vista (puntos oscuros) corresponde a las estructuras amarillas y no a las atresias comunes, además estas estructuras amarillas no se encontraron en cantidades masivas. Y si a esto le añadimos que se encontraron ovarios en atresia mayor y que no presentaron los puntos oscuros, no se puede concluir que el fenómeno de atresia mayor se pueda distinguir a simple vista. Por lo tanto, se acepta la segunda parte de la hipótesis dos en la que se menciona que el fenómeno de atresia mayor es indistinguible a escala morfocromática.

Por su parte, en el caso de los machos, es común encontrar descritas menor cantidad de fases de desarrollo testicular, como lo mencionan Maldonado-Amparo

*et al.* (2018), quienes reportan seis fases para hembras y cinco para machos en *P. medius*. La misma cantidad de fases encontradas en el presente estudio para la sardina crinuda (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*), aunque con algunas diferencias. Por su parte Sánchez-Cárdenas (2007) para *S. annulatus* y el de Denton-Castillo (2016) para *O. platypogon* también reportan más fases para hembras que para machos (seis fases de desarrollo ovárico y cuatro de desarrollo testicular). Esto se podría deber a que los cambios que se experimentan durante la ovogénesis son más distinguibles que los de la espermatogénesis, lo que nos permite establecer más fases.

Para peces de la familia Clupeidae como *C. harengus* (Bucholtz *et al.*, 2008), *S. sagax* (Simón-Díaz, 2009; Cotero-Altamirano *et al.*, 2015) y la misma escala de sardina crinuda (modificada a partir de la de Rodríguez-Domínguez, 1987 y de Cisneros-Mata, 1987), se describen la misma cantidad de fases para machos que para hembras. Incluso otros autores como Rodríguez *et al.* (1986) sólo se centran el desarrollo ovárico y dejan de prestar atención al desarrollo testicular y no los describen.

Otros de los procesos que nivel morfo cromático son difíciles de distinguir por su similitud son las fases de inmaduro y la fase de reposo, como lo reporta Maldonado-Amparo *et al.* (2018) y como lo que se encontró en el presente estudio. En la sardina crinuda se podrían distinguir únicamente por la apariencia un poco restirada, y en cuanto al tamaño, al menos en las hembras se podría discriminar a partir del IGA, ya que presentó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

Otro dato a resaltar es que al parecer no es común encontrar reposo en clupeidos. Cotero-Altamirano *et al.* (2015) no reporta reposos, únicamente reporta reabsorción o recuperación y Simón-Díaz (2009) describe reabsorción, ambos trabajos para *S. sagax*. Bucholtz *et al.* (2008) tampoco documenta una fase de reposo para *C. harengus* solo reporta la fase de gastado-recuperación. En ese sentido, se creía que la sardina crinuda al ser un organismo de hábitos pelágicos, desovador parcial y aparentemente época reproductiva larga tampoco presentaría la fase de reposo o en un bajo porcentaje ( $< 5\%$ ) como en *P. medius* (Maldonado-

Amparo, 2017). No obstante, en el presente estudio para la sardina crinuda (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) se encontró alto porcentaje de reposo en la muestra total del año muestreado, con 32.6 % en hembras y 12.6 % en machos. Esto podría deberse a que las muestras de sardina crinuda obtenidas en el presente estudio fueron colectadas en zonas muy costeras y debido a que se sabe que también desovan en zonas más pelágicas se podría dar una posible explicación de que quizás algunas sardinias se refugian en la zona costera mientras están en reposo, no obstante, no se puede comprobar debido a que también hay actividad reproductiva durante algunos meses en la zona de muestreo. Sin embargo, con base en estas observaciones se rechaza la hipótesis tres, en la que se menciona que la sardina crinuda presentaría un bajo porcentaje de reposo, menor al 5 %.

En cuanto al atributo de la coloración, las gónadas de las hembras fueron muy variado, se presentaron gónadas con diferentes colores y estando en la misma fase a nivel histológico, por ejemplo, organismos en desarrollo de color amarillo, otros en rojos y otros en rosaceo, a diferencia de otros trabajos que se han realizado en peces en los que se observa un solo patrón de coloración. Tal es el caso del trabajo elaborado por Maldonado-Amparo *et al.* (2017) para la Chabelita *P. medius*, en el que encontraron que la especie presenta un solo patrón de coloración en ovarios, que varió de entre tonos claros y oscuros de naranja. En el caso de *S. sagax* por Simón-Díaz (2009) también se respeta un patrón de coloración de rosa-rojizo al estar inmaduros anaranjado claro-medio en los maduros y amarillo oscuro o marrón después de los desoves. Por tal motivo, y con el factor que el presente estudio contempla tres especies del mismo género que no se pueden distinguir a simple vista se sospechaba que los diferentes tonos observados se pudrían deber a diferencias interespecíficas, es decir, que cada especie presentara su propio patrón de coloración, sin embargo, no fue así. Lo que concuerda por lo descrito en un manual de determinación de madurez gonádica elaborado por Bucholtz *et al.* (2008) para *C. harengus*, en donde si encontraron variación en los tonos que presentaron los ovarios incluso en las mismas fases, como lo observado para

sardina crinuda. No obstante, no se sabe a qué se puede deber esta variación en los colores de los ovarios. Por lo cual se rechaza la hipótesis uno, en la que se menciona que los patrones de coloración de las gónadas son diferentes entre las tres especies de sardina crinuda (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*).

En cuanto a la terminología utilizada, se observó que algunas de las fases de desarrollo gonádico descritas por distintos autores se pueden referir a los mismos procesos que ocurren a nivel celular, sin embargo, es importante considerar que termino utilizar para nombrar la fase, debido a que términos muy elaborados podría cambiar el sentido de percepción de lo descrito. En ese sentido, la escala morfocromática modificada en el taller de pelágicos menores a partir de la de Rodríguez-Domínguez (1987) y de Cisneros-Mata (1987) si explica de manera muy general y concreta lo que pasa a nivel morfocromático en los ovarios de la sardina crinuda, sin embargo, la terminología utilizada le cambia el sentido o no explica lo que en realidad está pasando en la gónada a nivel celular. Es por ello, que como Brown-Peterson *et al.* (2011) propone en su estudio, es mejor formular un cambio en la terminología que se utiliza en dicha escala respetando que sea una terminología simple y universal, que sean pocas fases y que se resalten las características más distintivas, como se realizó en el presente estudio.

Cabe mencionar, que como uno de los principales objetivos del presente estudio es aplicar los resultados directamente en las evaluaciones de la pesquería de la sardina crinuda de Mazatlán, Sinaloa, mediante los observadores a bordo de las embarcaciones sardineras, se propone una escala que fue adecuada a las necesidades y fines prácticos de su uso.



### 7.2.1 Diagnóstico histológico

A nivel microscópico la sardina crinuda presentó las células típicas de la ovogénesis: ovogonia, cromatina nucleolar, cromatina perinucleolar, alveolo cortical, vitelogénesis 1, 2 y 3, núcleo migratorio e hidratación y las de la espermatogénesis: espermatogonias, espermatocitos primarios y secundarios, espermatidas y espermatozoides, de acuerdo a las descripciones generales para peces que se han realizado en estudios como el de Wallace y Selman (1981) y Schulz *et al.* (2010). Al igual que con trabajos más específicos para peces de la familia Clupeidae como Ganas *et al.* (2014) para sardinas en general, Simón-Díaz (2009), Torres-Villegas *et al.* (2007) y Cotero-Altamirano (2015) para *S. sagax* y Bucholtz *et al.* (2008) para *C. harengus*.

Además, también se calculó el diámetro de los ovocitos agrupado por fase como un criterio más a la descripción, obteniendo que los ovarios en fase de inmaduro presentaron un diámetro promedio de  $85.92 \pm 9.13 \mu\text{m}$ , el desarrollo inicial  $179.81 \pm 8.27 \mu\text{m}$ , desarrollo avanzado  $247.44 \pm 7.95 \mu\text{m}$ , madurez  $317.45 \pm 8.77 \mu\text{m}$ , desove parcial  $204.59 \pm 8.31 \mu\text{m}$ , recuperación  $129.66 \pm 8.82 \mu\text{m}$  y reposo  $74.27 \pm 1.40 \mu\text{m}$ . Por su parte, Simón-Díaz (2009) también realizó mediciones del diámetro de los ovocitos de *S. sagax*, sin embargo, el utilizó para la medición ovocitos en fresco, tomando esas medidas como un criterio para la discriminación de las fases de desarrollo ovárico. El autor determinó que los ovarios en fase de inmaduros presentaban ovocitos con diámetros menores a  $200 \mu\text{m}$ , la fase de en maduración entre  $220$  y  $699 \mu\text{m}$ , la de madurez en  $700 \mu\text{m}$  y la de reabsorción alrededor de  $200 \mu\text{m}$ . En comparación con lo obtenido en el presente estudio para sardina crinuda en el que se calculó el diámetro promedio, se encontró que estos fueron menores a los reportados por Simón-Díaz (2009).

Si bien, el diámetro de los ovocitos si sigue la tendencia de la secuencia lógica de como a mayor madurez de la gónada mayor el tamaño del diámetro de los ovocitos y algunos de los diámetros calculados aquí concuerdan en el rango propuesto por Simón-Díaz (2009) (por ejemplo, la fase de madurez). La variación

de los valores entre un trabajo y otro se debe a que Simón-Díaz (2009) hizo sus mediciones en fresco, mientras que en el presente trabajo se midieron los ovocitos ya fijados en las láminas histológicas. Por lo tanto, tiene sentido que los diámetros calculados en el presente estudio sean menores que en el de Simón-Díaz (2009), debido a que, para llegar a obtener la lámina histológica, el tejido gonadal antes pasó por una serie de tratamientos de deshidratación e impregnación en parafina, lo que provoca una compactación y disminución en el tamaño de los tejidos debido a la pérdida de agua. Sin embargo, aunque el tamaño se vea modificado en el proceso, sigue siendo un buen indicador cuantitativo de lo que pasa a nivel celular y para la descripción y discriminación de las fases, siempre y cuando siempre se mida con el mismo método.

Cabe mencionar que, para obtener estos resultados se midió el área de los ovocitos a partir de imágenes histológicas, posteriormente se utilizó una fórmula para el cálculo del diámetro a partir del área en ovocitos desde cromatina nucleolar hasta núcleo migratorio, en el que la forma casi redonda permitió la toma de esa medida. Sin embargo, en el caso de los ovocitos hidratados en los que se perdió la forma completamente, pero la zona radiata está muy bien distinguida se decidió probar con la medición del perímetro, y a partir de este se estimó el diámetro. Esta manera de calcular el diámetro de los ovocitos aparentemente da un acercamiento más real a lo que podría ser un ovocito hidratado antes del proceso histológico, y hasta el momento no se ha documentado. En ese sentido, el diámetro promedio de los ovocitos hidratados calculados en el presente estudio fue de  $739.52 \pm 23.75 \mu\text{m}$ , sobrepasando un poco el valor máximo que reporta Simón-Díaz (2009) para su fase ovárica madura, que es de  $700 \mu\text{m}$ , tomando en cuenta que los ovocitos hidratados son el estadio de mayor tamaño, sustentando que las estimaciones a partir de perímetros en las láminas histológicas podrían ser muy aproximadas a las mediciones en fresco. Es por ello que en el presente estudio se propone utilizar la estimación del diámetro a partir del perímetro para tener una estimación más aproximada a las estructuras en fresco, siempre y cuando la forma de los ovocitos de la especie sea aproximadamente circular.

Por su parte, Matus-Nivón *et al.* (1989) en su descripción de los huevos de *O. libertate* en la que menciona que son huevos de forma esférica y de corion liso, estima un diámetro promedio máximo en los meses de verano (julio-agosto) de 1640  $\mu\text{m}$ , con un intervalo de entre 1340 y 1860  $\mu\text{m}$ , sin embargo, el también hizo las mediciones en fresco. Ganas *et al.* (2004) en su estudio obtuvo que el diámetro de los ovocitos hidratados de *Sardina pilchardus sardina*, está entre las 800 y 1000  $\mu\text{m}$  en fresco también, pero con solo cinco muestras.

Por otro lado, a nivel histológico se lograron observar gránulos amarillos en los ovarios en la fase de reposo, lo cual se ha reportado que es común pues puede tratarse de cuerpos residuales de desoves anteriores (Blazer, 2002). Dando esta característica como pauta para la separación de esta fase de reposo con un inmaduro (a nivel histológico) que es con la que comúnmente se confunde.

Otra de las características que nos permitieron discriminar mejor la fase de desarrollo ovárico fue el grosor de la pared del ovario, el cual se midió a partir de imágenes histológicas, y en donde si se observa una notable diferencia entre un ovario que ya pasó por alguna madurez y un ovario virgen, sin embargo, los análisis histológicos no mostraron diferencias significativas, pero si se recomienda usar el criterio como referencia visual. Esta observación se ha realizado en muchos otros trabajos como en el de Maldonado-Amparo (2017) para *P. medius* y Denton-Castillo (2018) para *M. productus*, sin embargo, no muestran datos de mediciones en micras, sólo quedó como observación.

Adicionalmente, Maldonado-Amparo *et al.* (2017) reportaron para *P. medius* una subfase ovárica adicional a las más comunes, llamada postdesove parcial o diapausa, en la que el ovario presenta folículos postovulatorios con alto grado de reabsorción, ovocitos en vitelogénesis inicial y ovocitos en desarrollo avanzado pero esta se en diapausa, sin signos de atresia ni maduración final. Esto no se observó en el presente estudio para la sardina crinuda, por lo que se rechaza la primera parte de la hipótesis dos en la que se menciona que la sardina crinuda presenta diapausa y se puede distinguir a escala morfocromática.

### 7.2.2 Anomalías

Bucholtz *et al.* (2008) en su estudio sobre desarrollo gonádico del arenque *C. harengus* menciona que es común encontrar anomalías en las gónadas de los peces, pero en porcentajes menores al 2 %, lo cual coincide con lo encontrado en *O. libertate* (0.78 %), que se encuentra dentro de lo común. Bucholtz *et al.* (2008) reporta en su estudio un ovario con características similares a las encontradas en un ovario de *O. libertate*. Un ovario con características típicas de la fase de reposo, pero con un agente blanco introducido en uno de los lóbulos. En el caso de Bucholtz *et al.* (2008) al igual que en el presente estudio encontraron un agente dentro de uno de los lóbulos de un testículo de *C. harengus*. En ambos casos ese demostró mediante los análisis histológicos que se agente extraño se trataba de tejido del sexo opuesto, es decir, en *O. libertate* el artefacto se trataba de tejido testicular con espermatogénesis activa y en el caso de *C. harengus* el artefacto era tejido femenino. Lo que da como resultado la presencia de hermafroditismo ocasional.

Por otro lado, la otra de anomalía encontrada podría tener parecido a lo encontrado por Bernet *et al.* (2004), en ovarios y testículos de *Coregonus* sp. en el lago Thun de Suiza. Los observaron macroscópicamente gónadas con constricciones, definiéndolas como una segmentación de los lóbulos. A nivel microscópico se observó que se comprimieron en la parte de la constricción y las paredes proliferaron. A diferencia del presente estudio, la mayor proporción de ovocitos se encontraron en buen estado, solamente se encontraron ovocitos atrésicos en la periferia pegadas a la pared del ovario.

Con respecto a los resultados histológicos obtenidos en los ovarios de *O. libertate* con puntos oscuros, se observaron dentro del tejido unas estructuras de medianas a grandes (hasta del tamaño de un ovocito avanzado), redondas u ovaladas, rodeado por capas y con relleno de color amarillento de apariencia semi-granular (con tinción hematoxilina-eosina). Se asume, que esas estructuras observadas en los análisis histológicos se tratan de los puntos oscuros observados a simple vista pues en los ovarios de apariencia normal no se observaron. Para

determinar de que se trataban estas estructuras se realizó una exhausta revisión bibliográfica y algunos ejercicios prácticos.

Primeramente, se realizó un sencillo ejercicio de morfología comparada a partir de imágenes histológicas capturadas de ovocitos sanos y dichas estructuras. De manera visual se hizo la comparación debido a que la estructura amarilla al igual que los ovocitos sanos, tiene capas que lo envuelven, y en algunos de ellos la capa era muy similar a la zona radiata de ovocitos sanos. Sin embargo, al observarlas en microscopio con un aumento de 100x, se detectó que aparentemente la zona radiata no está formada de la misma manera que la de los ovocitos sanos, no se lograron distinguir los poros que tiene la zona radiata por donde se lleva a cabo la absorción de nutrientes. Por lo que se descartó parcialmente que se tratara de una atresia, porque además las atresias comunes observadas presentan características diferentes, similares a las reportadas por Torres-Villegas *et al.* (2007), Simón-Díaz (2009) y Cotero-Altamirano *et al.* (2015) para la sardina monterrey *S. sagax*.

Otra de las posibilidades a considerar es que se traten de ovocitos residuales o cuerpos lúteos, aunque no se encontraron antecedentes de peces de la familia Clupeidae que los presenten. Por su parte, Flores-Quintana *et al.* (2012) muestra en su estudio realizado a ovarios de *Prachiladus lineatus* conocido comúnmente como sábalo en Sudamérica, unas imágenes de cuerpos residuales, las cuales presentan características similares, pero no idénticas a las estructuras observadas en *O. libertate*, sin embargo, no se puede asegurar de que se trate de lo mismo. En dicho trabajo, Flores-Quintana *et al.* (2012) mencionan que la última parte del proceso de atresia se integra de componentes residuales una vez que el citoplasma y el vitelo fueron reabsorbidos. Los autores nombran a estos cuerpos residuales como “cuerpos atrésicos multicelulares” y se observó que estos pueden permanecer en los ovarios por muchos meses. Otros autores (Hoar, 1969 en Flores-Quintana *et al.*, 2012) relacionan las características de estos cuerpos con la biosíntesis de esteroides, sin embargo, en otros trabajos no se ha encontrado evidencia de ello. Otra manera de que los ovocitos pueden ser reabsorbidos es mediante la formación

de quistes, los cuales son una forma tardía de reabsorción según lo documentado por Ganas *et al.* (2014) para el bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*) en donde se presentan como una forma tardía de reabsorción del ovocito. Sin embargo, las características de los quistes documentados por Ganas *et al.* (2014) no son similares a los cuerpos encontrados en *O. libertate*.

Una opción más que se decidió explorar es la posibilidad de que se tratara de parásitos, no obstante, los documentos son parásitos en gónadas de peces son muy escasos. Sitja-Bobadilla (2009) documenta la presencia de parásitos Myxozoa en la reproducción de peces y anfibios y si la presencia de estos podría comprometer el éxito reproductivo de ellos, enfocado principalmente a los cultivos acuícolas. Sitja-Bobadilla (2009) documentó la presencia de parásitos en el tejido germinal de gónadas, específicamente el parásito *Myxobolus dahomeyensis* en ovarios de tilapia, el cual produce la formación de caries y destrucción de los ovocitos. El ovario mantiene su integridad, pero la proliferación de parásito dentro de él conduce a un agotamiento y finalmente a la desintegración de su membrana y los gránulos de vitelo se reducen por completo hasta que queda invadido en su totalidad por etapas parasitarias de dimensiones incluso mayores a las de los ovocitos sanos. Estas descripciones, además de la comparación con sus imágenes histológicas nos indica que es poco probable que lo observado en *O. libertate* se trate de ese parásito.

Dicho lo anterior, se podría concluir con alto grado de incertidumbre que las estructuras amarillas que se encontraron en los ovarios de *O. libertate* podrían ser cuerpos residuales de una reabsorción tardía, sin embargo, hace falta continuar con la investigación para poder comprobarlo.

### **7.2.3 Índices**

Los índices morfofisiológicos han sido utilizados por muchos años como buenos indicadores de aspectos reproductivos en peces. El más utilizado es el índice gonadosomático (IGS) porque a partir de su estimación se puede conocer

parcialmente la época o temporadas reproductivas según sea su incremento y decremento. Estos métodos representan ventaja en cuanto a practicidad, tiempo y costo con respecto a otros métodos como los análisis histológicos, los cuales son más precisos, pero requieren de mucho tiempo y dinero (West, 1990; Lowerre-Barbieri *et al.*, 2011). Las alternativas de validar el índice para cada especie es la mejor opción si se quiere llevar a cabo una evaluación de los recursos más precisa.

En la mayoría de los trabajos reportados en los que se incluye el IGS se abordan desde un punto de temporalidad, con el cual validan que el índice concuerda con la temporada reproductiva al compararlo con el ciclo reproductivo en forma de la frecuencia relativa acumulada de las fases gonádicas por mes. Si los valores del IGS incrementan conforme se acumulan las fases de madurez y disminuyen conforme los desoves, se puede considerar que el IGS es válido. Tal es el caso del IGS estimado para *Sardinops sagax* (Torres-Villegas *et al.*, 2007; Simón-Díaz, 2009) y *P. medius* (Maldonado-Amparo, 2017), los cuales tienen historia de vida parecidas a las de la sardina crinuda (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) y para muchos otros peces con estilos de vida diferente como el de *M. productus* (Denton-Castillo, 2018), *O. platypogon* (Denton-Castillo, 2016), *Sphoeroides annulatus* (Sánchez-Cárdenas, 2008), etc.

Cabe mencionar que en el presente trabajo no se abordó la parte temporal, por lo que la validación del IGS se llevó a cabo bajo la comparación de los valores obtenidos con respecto a la fase gonádica. Obteniendo como resultado que, en efecto, se observa un aumento de IGS conforme las gónadas se encontraban en su fase de máxima madurez y un decaimiento del mismo cuando se comenzaron a presentar los desoves y reposos.

Otro indicador que se tomó en cuenta en el presente estudio y que ha sido muy poco o no aplicado es lo que se propone como índice gonadoalométrico (IGA), el cual funciona bajo el mismo principio que el IGS, pero se estima a partir de los valores de longitud de la gónada con respecto a la longitud patrón del pez y no utilizando medidas de peso como en el IGS. Obteniendo buenos resultados con un

comportamiento similar al del IGS, incremento del IGA con la máxima fase de madurez y decremento con los desoves y reposos. Es por eso que en el presente estudio se propone la implementación del uso del IGA como una herramienta útil para pesquerías como la de la sardina crinuda en la que constantemente se monitorea el estado de las poblaciones y se obtienen datos por medio de los observadores a bordo de las embarcaciones sardineras, en las cuales no se puede tomar el peso de las gónadas por el movimiento del barco, pero si se podría tomar la longitud de la gónada con un vernier. De igual manera se realizó el cálculo del IGA con el ancho de los lóbulos los cuales respetaron la misma tendencia y también podrían servir como indicador, sin embargo, el error aumenta de esta manera si la medición no se toma siempre en la misma sección de la gónada (Anexo II).

De manera adicional, se obtuvieron los valores de color RGB (rojo, verde y azul) como una medida cuantitativa de los colores que además nos permitió hacer una barra de colores que permite mostrar con mayor claridad un aproximado de las tonalidades que se pueden encontrar en las gónadas de sardina crinuda (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*). Esta metodología ya se ha utilizado en trabajos como el de *P. medius* por Maldonado-Amparo *et al.* (2017).

### 7.3 CICLO OVÁRICO Y TESTICULAR

Conocer el ciclo gonádico nos sirve para entender la secuencia general que siguen ovarios y testículos durante su vida reproductiva y es importante describirlo, aunque el objetivo es similar a la descripción de las características del desarrollo gonádico (Brown-Peterson *et al.*, 2011). La sardina crinuda (*O. bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) es un desovador parcial la cual se ve altamente afectada por factores ambientales tales como la temperatura, clorofila y fotoperiodo. Esto no se ha estudiado de manera directa, pero se ha visto reflejado en las variaciones históricas de la pesca de este recurso. Por lo cual, su ciclo ovárico y testicular, además de seguir el ciclo de: desarrollo inicial, desarrollo avanzado, madurez, desove parcial, volver a madurar los siguientes lotes las veces que sean necesarias para posteriormente pasar a la recuperación y el reposo, pueden tener variaciones como



pasar al estado de atresia mayor si las condiciones ambientales no son favorables a su reproducción. Como se ha documentado para otros peses de hábitos pelágicos como *Sardinops sagax* (Torres-Villegas *et al.*, 2007) y epipelágicos como la chabelita *P. medius* (Maldonado-Amparo, 2017) y muchos otros peces y de organismos acuáticos como crustáceos, moluscos, etc.

#### 7.4 PRECISIÓN DE LA ESCALA DE NIKOLSKY (1963) MODIFICADA POR CISNEROS-MATA (1987)

Se calculó la asertividad y el nivel de concordancia entre la asignación de fases previo al análisis histológico con los criterios de la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987) y lo resultado de los análisis histológicos. En los análisis de asertividad por fase ovárica, la fase de inmaduro fue la que obtuvo un mayor porcentaje (95 %), siendo la fase con menor error a la hora de designar con la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987). Esto es similar a lo reportado por Denton-Castillo (2018), quien realizó este ejercicio en gónadas de la merluza del Pacífico (*M. productus*) quien también encontró que en el caso de las hembras la fase de inmaduro fue la más acertada (100 %). Esto tiene coherencia debido a que por ser ovarios no desarrollados su característica principal suele ser un tamaño reducido. Sin embargo, en ambos casos esta fase suele ser confundida con las últimas del ciclo ovárico, como lo son recuperación y reposo. En el caso de *M. productus* el 95 % de los catalogados como reposo, en realidad eran inmaduros y el 15.5 % en el caso de la sardina crinuda.

Por otro lado, la fase de desarrollo inicial en ovarios de la sardina crinuda fueron la siguiente fase con mejor porcentaje de asertividad (84.2 %), y más bajo (46 %) en la merluza del Pacífico (Denton-Castillo, 2018). De la misma manera, la fase de madurez en sardina crinuda (42.2 %) obtuvo un mejor porcentaje de asertividad que lo reportado para *M. productus* (13 %). El resto de las fases ováricas en sardina crinuda presentaron porcentajes muy bajos, menores al 17 % al igual que en el trabajo de Denton-Castillo (2018).

Con respecto al índice de Kappa en hembras, la mayoría de las fases (desarrollo inicial, desarrollo avanzado y reposo) presentó un bajo valor del coeficiente  $k$  (0.01-0.20), que de acuerdo a los criterios de Landis y Koch (1997), es un nivel de concordancia “leve”. Dos fases más (desove parcial y reposo) tuvieron un nivel “pobre”, la madurez “aceptable” y la de mayor nivel de concordancia fue la fase de inmaduro (0.54) catalogado como “moderada”.

En general, los machos de sardina crinuda presentaron porcentajes de asertividad más altos que las hembras, eso puede ser porque los atributos morfo cromáticos de los testículos son más distinguibles entre fases. El porcentaje de asertividad fue mayor en la fase de inmaduro, con un 100 % de acierto, igual que en el caso de *M. productus* en hembras, pero no en machos, fue, al contrario, pues el 0 % fue correcto, no obstante, cabe mencionar que en ese estudio de Denton-Castillo (2018) solo dos organismos se encontraron en esa fase. La fase con mejor aceptabilidad en testículos de *M. productus* del estudio de Denton-Castillo (2018) fue el desarrollo con 46 %, parecido al porcentaje que resultó en el desarrollo inicial de la sardina crinuda (50 %).

Con el índice de Kappa en machos fue similar, se presentaron dos fases con nivel de concordancia “podre” (desarrollo avanzado y reposo), según los criterios de Landis y Koch (1997), otros dos (desarrollo inicial y eyaculación con desarrollo) con nivel “leve”, uno (eyaculación) “aceptable” y finalmente el de mayor nivel que fue el inmaduro como “considerable”.

De manera general en hembras y machos, el diagnóstico de las fases gonádicas a partir de la escala de de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987) presenta una precisión en general “leve” de acuerdo a los resultados del índice de Kappa. En ese sentido, se rechaza la hipótesis cuatro, en la que se menciona que el diagnóstico morfocromático es precisa para distinguir las fases gonádicas descritas en la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987). Sin embargo, la precisión moderada (hembras) y considerable (machos) en la fase de inmaduro, sustenta que la información que se ha obtenido a partir de la mencionada escala, es confiable para la distinción de los organismos juveniles y por lo tanto para el seguimiento de la madurez sexual en la población. Además, la precisión aceptable en la fase de madurez y eyaculación demuestra que la información también es fiable para dar seguimiento al periodo donde ocurre la mayor intensidad reproductiva. En ambos casos, es información importante para el manejo de la pesquería, y su generación sistemática a partir de las evaluaciones anuales ha apoyado a lograr el estatus actual de sustentable y bien manejada de la pesquería de sardina del Sur del Golfo de California.

Se espera que con las características que se describieron en la escala rediseñada ayuden a reducir la subjetividad y a mejorar la precisión de la designación morfocromática.

## 7.5 REDISEÑO DE LA ESCALA MORFOCROMÁTICA

Una de las ventajas de la escala morfocromática rediseñada es que, al no encontrarse diferencias morfocromáticas e histológicas entre las gónadas de las tres especies de sardina crinuda, la escala puede ser utilizada indiscriminadamente para el complejo compuesto por *Opisthonema bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*. Lo cual hará que su aplicación sea más práctica y factible ya que es muy difícil distinguir entre especies a simple vista, principalmente entre *O. libertate* y *O. medirastre*, las cuales se identifican mediante el conteo de branquiespinas y la forma de su inserción, usualmente haciendo uso de un microscopio estereoscópico

(Berry y Barrett,1963; Torres-Ramírez, 2004). Por lo cual sería casi imposible separarlas de manera rápida para poder hacer un diagnóstico a partir de escalas diferentes para cada especie.

Otra de las ventajas de la escala es que incluye características adicionales (IGS, IGA, RGB y apoyo visual) a las que presenta la escala de Nikolsy (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987), además de la descripción para machos. Por una parte, esto ayudará a mejorar nuestra comprensión en relación al desarrollo testicular, y por otra parte provee de puntos de referencia cuantitativos a partir de los cuales se podría apoyar el diagnóstico de las fases gonádicas para hacerlo más objetivo.

La escala rediseñada presenta la descripción de un mayor número de fases gonádicas (siete en hembras y seis en machos) con respecto a las fases que presentes en la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987) (solo cinco en hembras). Dadas las similitudes entre algunas fases, podría considerarse fusionar algunas, por ejemplo, el desarrollo avanzado con la madurez y la recuperación con el reposo en las hembras, y el desarrollo inicial con el desarrollo avanzado en machos. Lo cual sería consistente con lo que presenta la escala de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987), además, la escala se integraría por un menor número de fases, siendo esto más adecuado de acuerdo a las recomendaciones de Brown-Peterson *et al.* (2011), quienes proponen cinco fases generalizadas.

La descripción morfocromática de las fases gonádicas se presenta como una propuesta de escala rediseñada con validación histológica, cuyas descripciones tienen el propósito de ayudar a mejorar la precisión en el diagnóstico de las fases, y aunque algunas podrían ser confundidas a primera vista, se cree que con un adecuado entrenamiento es posible diferenciarlas.

## 8. CONCLUSIONES

- Los órganos reproductores de la sardina crinuda son bilobulados, tubulares y se encuentran sostenidos por el mesenterio en la parte central de la cavidad abdominal.
- Los patrones de coloración de las gónadas son similares entre las tres especies de sardina crinuda.
- Se presentaron anomalías en ovarios de *O. libertate* en un bajo porcentaje (0.79%).
- El desarrollo ovárico y testicular fue descrito a partir de siete y seis fases respectivamente, con atributos morfocromáticos e histológicos.
- Se encontró alto porcentaje de organismos en reposo reproductivo en hembras (32.6 %) y en machos (12.6 %).
- La sardina crinuda no presenta la fase de postdesove parcial (diapausa) durante la época de desove ni como parte de las etapas de su ciclo ovárico.
- La sardina crinuda presentó un bajo porcentaje (0.92 %) de ovarios en atresia mayor, proceso que podría presentarse a partir de los ovarios en desarrollo avanzado, madurez y desove parcial, interrumpiendo con ello la actividad reproductiva en el ciclo ovárico y cuyo estado no fue posible distinguir a nivel morfocromático.
- El diagnóstico de las fases gonádicas a partir de la escala morfocromática de Nikolsky (1963) modificada por Cisneros-Mata (1987) presenta una precisión en general "leve" de acuerdo al índice de Kappa.
- La descripción morfocromática de las fases gonádicas se presenta como una propuesta de escala rediseñada con validación histológica, cuyas descripciones tienen el propósito de ayudar a mejorar la precisión en el diagnóstico de las fases.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- Bernet, D., T. Wahli, C. Kueng y H. Segner (2004). Frequent and unexplained gonadal abnormalities in whitefish (central alpine *Coregonus* sp.) from an alpine oligotrophic lake in Switzerland. *Diseases of Aquatic Organisms*, 61: 137-148.
- Berry, F.H. y I. Barrett (1963). Análisis de las Branquiespinas y Denominación de las Especies del Arenque de Hebra *Opisthonema*. *Comisión Interamericana del Atún Tropical*, 7(2): 190.
- Blazer, V.S. (2002). Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes. *Fish Physiology and Biochemistry*, 26: 85-101.
- Brown-Peterson, N.J., D.M. Wyanski, F. Saborio, B.J. Macewicz y S.K. Lowerre-Barbieri (2011). A Standardized Terminology for Describing Reproductive Development in Fishes. *Marine and Coastal Fisheries*, 3(1): 52-70.
- Bucholtz, R.H., J. Tomkiewicz y J. Dalskov (2008) Manual to determine gonadal maturity of herring (*Clupea harengus* L.). DTU Aqua-report 197-08, Charlottenlund: National Institute of Aquatic Resources. 45.
- Buesa, R.J. y M.V. Peshkov (2009). Histology without xylene. *Annals of diagnostic pathology*, 13(4): 246-256.
- Cerda, J. y L. Villarroel Del (2008). Evaluación de la concordancia interobservador en investigación pediátrica: Coeficiente de Kappa. *Revista chilena de pediatría* , 79 (1): 54-58.
- Cisneros-Mata, M.A. (1987). Biología reproductiva de la sardina monterrey en la costa occidental de Baja California sur y costa de Sonora. En: M. Ramírez R. (ed.). *Memorias del Simposium sobre investigación en Biología y Oceanografía Pesquera en México*, SEP, CICIMAR, CONACYT, La Paz, B.C.S., 48-54.

- Cisneros-Mata, M.A., J. Estrada García, J.P. Santos Molina, A. Godínez Cota y C.E. Alvarado Sarabia (1989). Diagnóstico de la pesquería de sardina en el estado de Sonora. SEPESCA, Instituto Nacional de la Pesca, Centro Regional de Investigación Pesquera-Guaymas, 43pp. *En* INAPESCA (2012). Plan de Manejo Pesquero para la Pesquería de Pelágicos Menores (Sardinias, Anchovetas, Macarelas y Afines), Instituto Nacional de Pesca, 51.
- Cotero-Altamirano, C.E., H. Valles-Ríos y B. Venegas (2015). Biología reproductiva de la sardina del Pacífico *Sardinops sagax* de la costa occidental de Baja California, México. *Ciencia Pesquera*, 23(2): 25-43.
- D.O.F. (11/06/18). Ley General de Pesca y Acuacultura Sustentable. Diario Oficial de la Federación. Fecha de publicación 11 de junio de 2018.
- Del Moral-Simanek, R.J., J.G. Vaca-Rodríguez y M.D.C. Alcalá Álvarez (2010). Análisis socioeconómico e interrelación de las pesquerías de sardina y atún aleta azul en la región noroeste de México. *Región y sociedad*, 22(47): 09-29.
- Denton-Castillo, J. (2016). Aspectos Reproductivos de *Occidentarius platypogon* (Günther, 1864) (Ariidae) y Propuestas para el Manejo de la Pesquería de Mazatlán, México. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Sinaloa, Sinaloa, México. 69.
- Denton-Castillo, J. (2018). Agregaciones y Aspectos Reproductivos de la Merluza *Merluccius Productus* (Ayres, 1855) en el centro y norte del Golfo de California. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Sinaloa, Sinaloa, México. 109.
- Fisher, W., F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, KE. Carpenter y VH. Niem (1995). Guía FAO para la identificación de las especies para los fines de la pesca. Pacífico centro Oriental. Roma.

- Flores-Quintana, C., T. Blanco Cohene, R. Arbués, H. Domitrovic y J. Gonzáles (2012). Atresia folicular en ovarios de *Prochilodus lineatus*. *International Journal of Morphology*, 30(4): 1301-1308.
- Ganias, K., S. Somarakis, A. Machias y A. Theodorou (2004). Pattern of oocyte development and batch fecundity in the Mediterranean sardine. *Fisheries Research* (67): 13-23.
- Ganias, K., S. Somarakis y C. Nunes (2014). Reproductive Potential, p. 79-121. *En* Ganias, K. (ed). *Biology and Ecology of Sardines and Anchovies*. CRC Press, Greece. 382.
- García-Abad, M.C., A. Yáñez-Arancibia, P. Sánchez-Gil y M. Rapia-García (1998). Distribución, abundancia y reproducción de *Opisthonema oglinum* (Pisces: Clupeidae) en la plataforma continental del sur del Golfo de México. *Revista de Biología Tropical*, 46(2): 257-266.
- García-Cagide, A., R. Claro, y B.V. Koshelev (1994). Reproducción, p. 187-262. *En* Claro, R., (Ed.). *Ecology of the marine fishes of Cuba*. Instituto de Oceanología, Academia de Ciencias de Cuba; Centro de Investigaciones de Quintana Roo, México.
- Guzmán, R., F. Arocha y G. Gómez (2001). Tipo de desove de la sardina (*Sardinella aurita*, Valenciennes, 1847) en el nororiente de Venezuela: Resultados preliminares. *Zootecnia Tropical*, 19(2): 173-183.
- Hay, D.E., D.N. Outram, B.A. McKeown y M. Hurlburt (1987). 8987. Ovarian development and oocyte diameter as maturation criteria in Pacific herring (*Clupea harengus pallas*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 44: 1496-9 502.
- Helfman, G.S., B.B. Collette, D.E. Facey y B.W. Bowen (2009). The diversity of fishes. *Biology, Evolution and Ecology*. Wiley-Blackwell, E.U. 720 p.
- Humason, G.L. (1979). *Animal Tissue Techiques*, 4ta. Ed. W. H. Freeman y Co. San Francisco, 633.



- Hunter, J.R., B.J. Macewicz, N.C.H. Lo y C.A. Kimbrell (1992). Fecundity spawning, and maturity of females dover sole *Microstomus pacificus* with an evaluation of assumption and precision. *Fishery Bulletin*, 90: 101-128.
- Hoar, W. (1962). Reproduction. In: Hoar, W. S. y Randall, D. J. (Eds.). *Fish Physiology*. New York, Academic Press, 1969. pp.1-72. Vol. III. En Flores-Quintana C., T. Blanco Cohene, R. Arbués, H. Domitrovic y J. Gonzáles (2012). Atresia folicular en ovarios de *Prochilodus lineatus*. *International Journal of Morphology*, 30(4): 1301-1308.
- Jacob-Cervantes, M., M. Gallardo-Cabello, X. Chiappa-Carrara y A. Ruiz (1992). Régimen alimentario de la sardina crinuda *Opisthonema libertate* (Pisces: Clupeidae) en el Golfo de California. *Revista de biología tropical*, 40(2): 233-238.
- Jacob-Cervantes, M.L. (2010). La pesquería de peces pelágicos menores en el sur del Golfo de California. Análisis de la temporada de pesca 2008. *Ciencia Pesquera*, 18(2): 47-58.
- Jacob-Cervantes, M.L., M. Nevárez-Martínez, E. Márquez-García, M.A. Valdez-Ornelas, R.E. Gastelum-Villarreal, P. Valdez-Ledón y R. Vallarta-Zárate (2012). Análisis de la Pesquería de Pelágicos Menores en el sur del Golfo de California, Durante el 2011. Informe Final de Investigación 2011, Instituto Nacional de Pesca. Mazatlán, Sinaloa, México, 44.
- Landis, J.R. y G.G. Koch (1977) The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, 33: 159-174.
- Lasker, R. y A.C. Giese (1983). Nutrition of the sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus*. Hopkins Marine Station of Stanford University, Pacific Grove, California, 328-340.
- Lluch-Belda, D., F.J. Magallon y R.A. Schwartzlose (1986). Large Fluctuations in the Sardine Fishery in the Gulf of California: Possible Causes. *CalCOFI Reports*, 27: 136-140.

- Lowerre-Barbieri, S.K., N.J. Brown-Peterson, H. Murua, J. Tomkiewicks, D.M. Wyanski y F. Saborio-Rey (2011). Emerging issues and methodological advances in fisheries reproductive biology. *Marine and Coastal Fisheries*, 3: 32-57.
- Lyle-Fritch, L.P., O. Chapa-Morales, R. Gastélum, M.A. Valdez-Ornelas e I. López-Nuño (1997). Fluctuaciones, tallas, época reproductiva, flota y procesamiento industrial de la sardina crinuda (*Opisthonema* spp.) Informe de Investigación (documento interno). Instituto Nacional de la Pesca, Centro Regional de Investigación Pesquera-Mazatlán (1):1-19. *En* INAPESCA (2012). Plan de Manejo Pesquero para la Pesquería de Pelágicos Menores (Sardinas, Anchovetas, Macarelas y Afines), Instituto Nacional de Pesca, 51.
- Maldonado-Amparo, M.A. (2017). Aspectos de historia de vida de *Peprilus medius* (perciformes: stromateidae) capturada por la pesquería ribereña de Mazatlán, Sinaloa, México. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Sinaloa, Sinaloa, México. 85.
- Maldonado-Amparo, M.A., R. Sánchez-Cárdenas, L.A. Salcido-Guevara y J.S. Ramírez-Pérez (2017). Gonadal Development of *Peprilus medius* (Peters, 1869) (Perciformes: Stromateidae) from Southeast of the Gulf of California, Mexico. *International Journal of Morphology*, 35(1): 56-61.
- Martínez-Zavala, M.A., M.O. Nevárez-Martínez, M.L. Anguiano-Carrasco, J.P. Santos-Molina y A.R. Godínez-Cota (2010). Captura de peces pelágicos menores en el golfo de California, temporada de pesca 2007-2008. *Ciencia Pesquera* 18(2): 1-18.
- Merino, G., M. Barange y C. Mullon (2014). Role of Anchovies and Sardines as Reduction Fisheries in the World Fish Meal Production, p.285-307. *En* Ganas, K. (ed). *Biology and Ecology of Sardines and Anchovies*. CRC Press, Greece. 382.

- Muñeton-Gómez, M., M. Villalejo-Fuentes y G. García-Melgar (2000). Manual de Técnicas Histológicas Aplicadas a Organismos Marinos. Universidad Autónoma de Baja California Sur, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz, Baja California Sur, México, 80.
- Nikolsky, G.V. (1963). The ecology of fishes. Academic Press. New York, EUA. 352.
- Peña-Alvarado, N., M. Figuerola-Fernández y W. Torres-Ruiz (2009). Reproductive Biology of Three Important Baitfishes (Clupeidae) in Puerto Rico. 61st Gulf and Caribbean Fisheries Institute, 37-47.
- Páez-Barrera, F., 1976. Desarrollo gonadal, madurez, desove y fecundidad de sardina crinuda, *Opisthonema libertate* (Günther) de la zona de Mazatlán, basados en el análisis histológico de la gónada. In: Mem. Primer Simp. Nal. Recursos Pesqueros Masivos de México, SIC/Subsecretaría de Pesca. INP. Ensenada, B.C., México, 28-30 septiembre 1976, 207-263.
- Pérez-Ramírez, M., M. Castrejón, N.L. Gutiérrez y O. Defeo (2015). The Marine Stewardship Council certification in Latin America and the Caribbean: A review of experiences, potentials and pitfalls. Fisheries Research, xxx: xxx-xxx.
- Pérez-Quiñonez, C. I. (2014). Discriminación de las especies del género *Opisthonema* Gill, 1861 en el Sur del Golfo de California usando análisis morfométricos y genéticos. Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, 59.
- Pérez-Quiñonez, C. I., C. Quiñonez-Velázquez, J.S. Ramírez-Pérez, F.J. Vergara-Solana y F.J. García-Rodríguez (2017). Combining geometric morphometrics and genetic analysis to identify species of *Opisthonema* Gill, 1861 in the eastern Mexican Pacific. Journal of Applied Ichthyology, 33: 84-92.
- Pérez-Quiñonez, C. I., C. Quiñonez-Velázquez y F.J. García-Rodríguez (2020). A simple method for the genetic identification of commercially important species in the *Opisthonema* genus Gill, 1861 in the southern Gulf of California. Ciencias marinas, 46(3): 145-154.

- Reading, B.J., C.V. Sullivan y J. Schilling (2017). Vitellogenesis in Fishes. Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment, 1: 635-646.
- Rodríguez-Domínguez, G. (1987). Caracterización bioecológica de las tres especies de sardina crinuda (*Opisthonema libertate*, *O. bulleri* y *O. medirastre*) del Pacífico Mexicano. Tesis de Maestría, CICESE, Ensenada, Baja California, México. 139 p. En INAPESCA (2012). Plan de Manejo Pesquero para la Pesquería de Pelágicos Menores (Sardinias, Anchovetas, Macarelas y Afines), Instituto Nacional de Pesca, 51.
- Rodríguez-Sánchez, R., S. Hernández-Vázquez, D. Lluch-Belda, R. Félix-Uraga, S. Ortega-García, A. Villa-Arce, G. Ponce-Días y D. Lluch-Cota (1996). Pesquería de Pelágicos Menores (Sardinias y Anchovetas), p. 317-350. En Casas-Valdez, M. y G. Ponce Días (eds.). Estudio del Potencial Pesquero y Acuícola de Baja California Sur. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, Baja California Sur, México.
- Ruiz-Domínguez, M. (2015). Enfoque multimodelo en la descripción del crecimiento de la sardina crinuda (*Opisthonema libertate*) en la zona sur del Golfo de California. Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, 58.
- SAGARPA (2017). Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca, Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca, 293.
- Sánchez, J., A. Perea, B. Buitrón y L. Romero (2013). Escala de madurez gonadal del jurel *Trachurus murphyi* Nichols 1920. The Peruvian Journal of Biology, 20(1): 035-044.
- Sánchez-Cárdenas, R. (2007). Estrategia Reproductiva de *Sphoeroides annulatus* (Jenyns, 1842) (Tetraodontidae) en la costa de Mazatlán, Sinaloa, México. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Sinaloa, Sinaloa, México. 82pp.

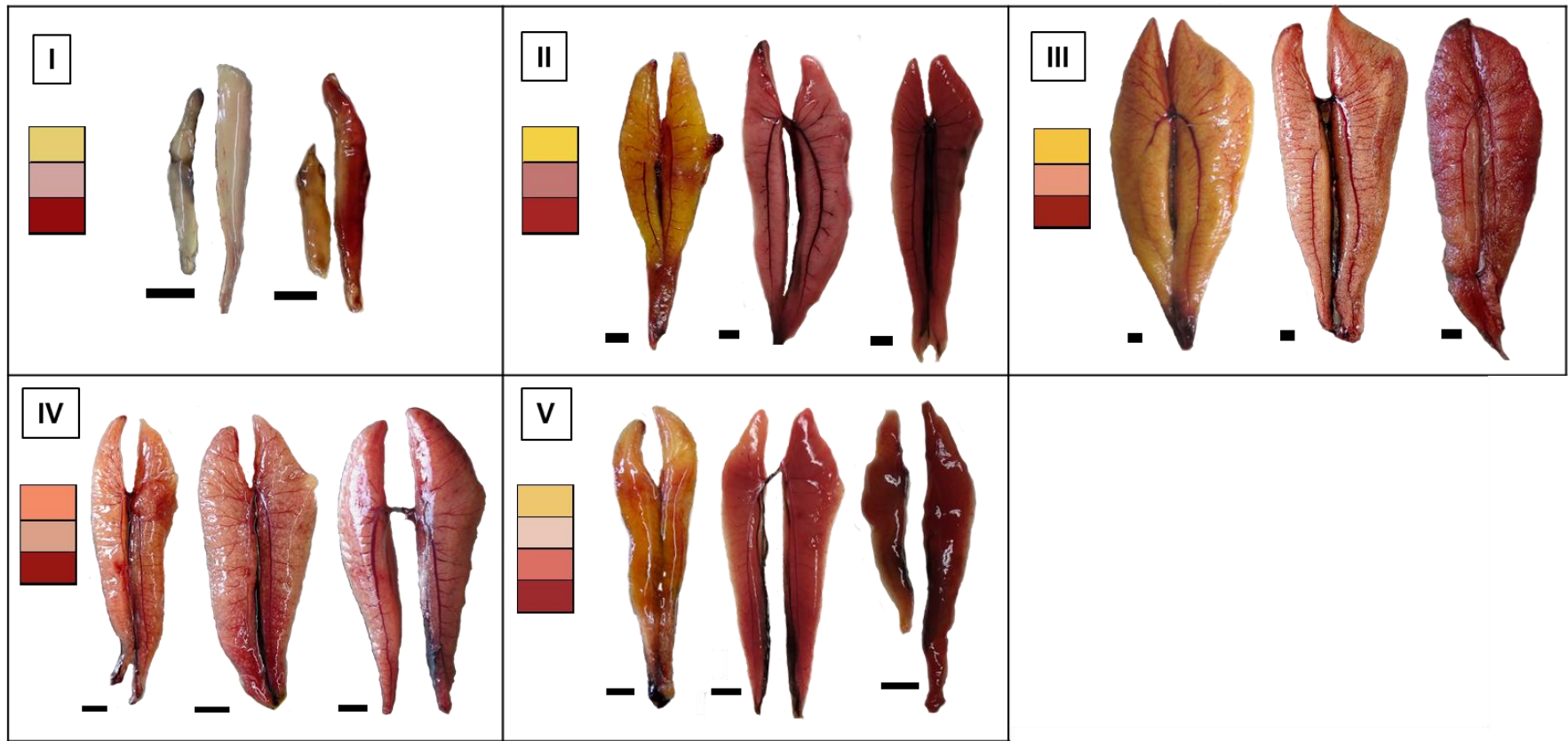
- Schulz, R.W., L.R. De França, J.J. Lareyre, F. LeGac, H. Chiarini-Garcia, R.H. Nobrega y T. Miura (2010). Spermatogenesis in fish. General and comparative endocrinology, 165(3): 390-411.
- Simón-Díaz, M. (2009). Maduración gonadal e inducción al desove de la sardina del Pacífico *Sardinops sagax caeruleus*. Tesis de maestría, Centro de Investigaciones Científicas y de Educación Superior de Ensenada, Ensenada Baja California, México. 110pp.
- Sitjà-Bobadilla, A. (2009). Can Myxosporean parasites compromise fish and amphibian reproduction. Biological Sciences, 276(1669): 2861-2870.
- Torres-Ramírez, M.N. (2004). Nueva clave de identificación para la sardina crinuda *Opisthonema* (Gil 1861) en el Pacífico Mexicano. Tesis de licenciatura, 19pp.
- Torres-Villegas, J.R., R.I. Ochoa-Báez, L. Perezgómez y G. García-Melgar (2007). Estimación de atresia mayor en la temporada reproductiva 1999-2000 en la sardina Monterrey (*Sardinops sagax*) en Bahía Magdalena, México. Revista de Biología Marina y Oceanografía, 42(3): 299-310.
- Valdebenito, L., L. Paiva y M. Berland (2011) Atresia folicular en peces teleósteos: una revisión. Archivos de Medicina Veterinaria, 43:11-25.
- Wallace, R.A. y K. Selman (1981). Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleost. American Zoologist, 21(1): 325-342.
- West, G. (1990). Methods of Assessing Ovarian Development in Fishes: a Review. Australian Journal of Marine and Freshwater Research, 41, 199-222.

## 10. ANEXOS / PRODUCTOS DE LA TESIS

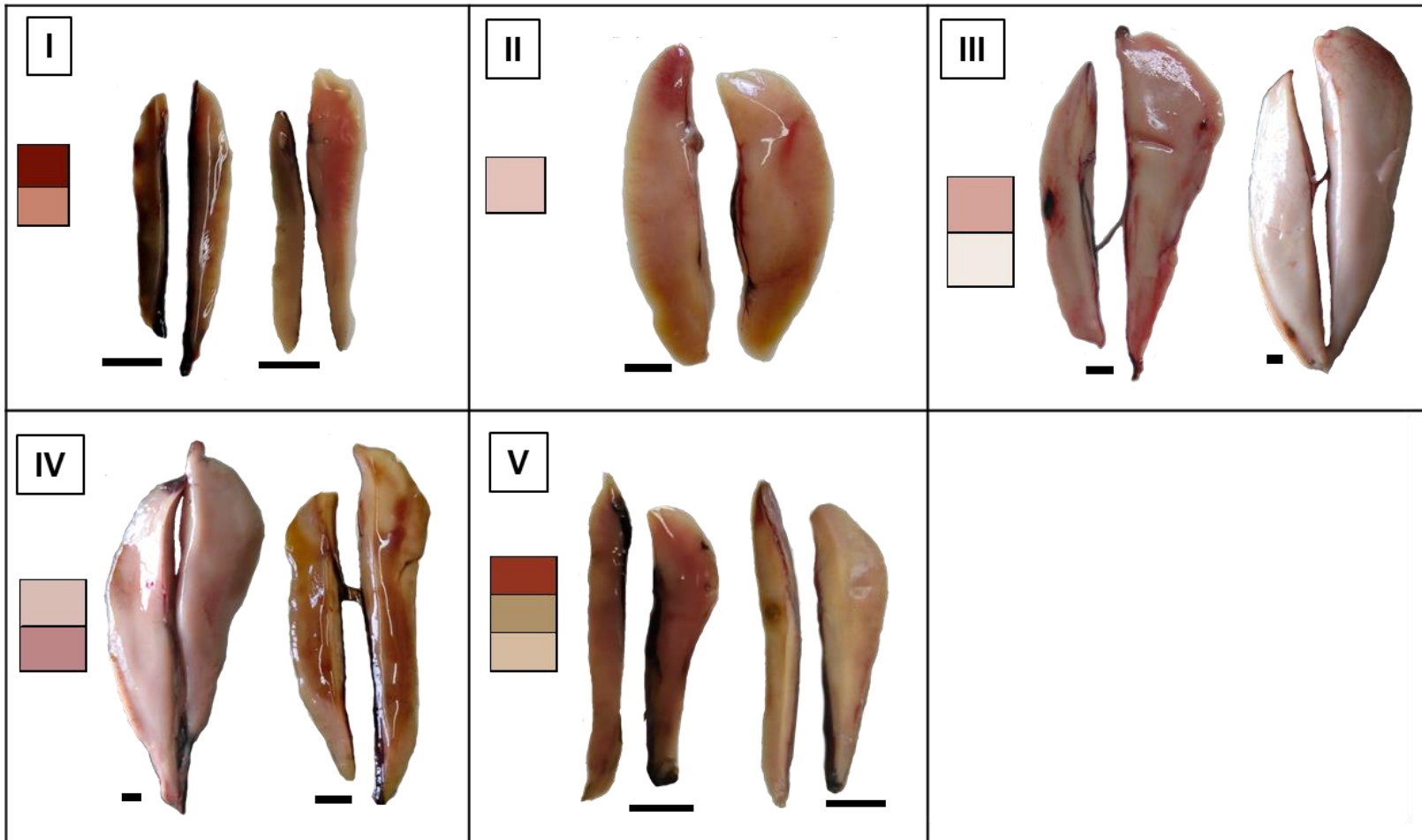
- I. Escala de desarrollo gonádico de la sardina crinuda (*Opisthonema bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) del sureste del Golfo de California.

Fase	LDCA	Sexo	Coloración	Ovocitos visibles/ Emanan semen	Consistencia
I	<1/4	H	Rojo-rosa o amarillo y son traslúcidas.	No	Flácida
		M	Beige, rosáceo, rojizo, poco traslúcidos.	No	Firme
II	1/4-1/2	H	Amarillos, naranja, rojo o más de un color en la misma gónada.	Pocos y muy pequeños	De flácida o ligeramente firme
		M	Beige, rosa o blanco con partes enrojecidas.	No	Firme con partes flácidas
III	>1/2-3/4	H	Rojo, rosáceo, anaranjado o amarillo.	Si, grandes, traslúcidos y puede haber desprendimiento	Firme
		M	Blanco y puede presentar manchas rojizas o rosáceas.	Poco	Firme
IV	>1/2	H	Amarillo, anaranjado o rosáceo, manchas oscuras.	Si, grandes, pero pocos	Firme con partes flácidas
		M	Blancos, beiges o rosáceo, con posible enrojecimiento o partes gris oscuro.	Si	Firme
V	>1/2	H	Rojo o anaranjado oscuro o amarillo rojizo, ligera transparencia.	Pocos o nulos	Flácido
		M	Rosáceo, beige, gris o ligeramente blancos, con posible transparencia y/o amoratamiento.	No	Flácidas o con partes firmes

H: Hembra ♀, M: macho ♂, LDCA: Longitud dentro de la cavidad abdominal. Fases: (I) inmaduro ♀♂, (II) desarrollo ♀♂, (III) madurez ♀, eyaculación con desarrollo ♂, (IV) desove parcial ♀ / eyaculación ♂, (V) postdesove ♀♂.



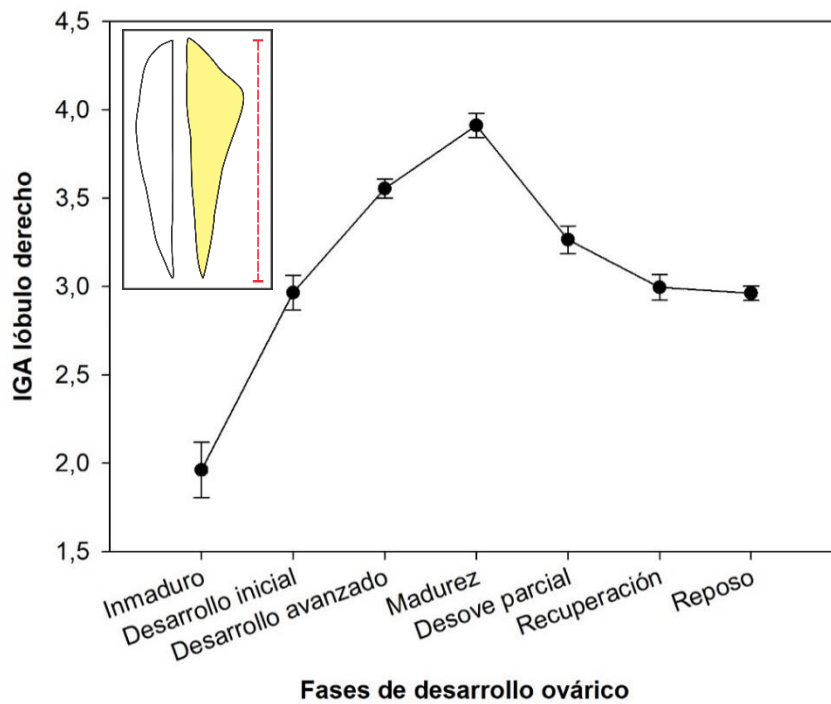
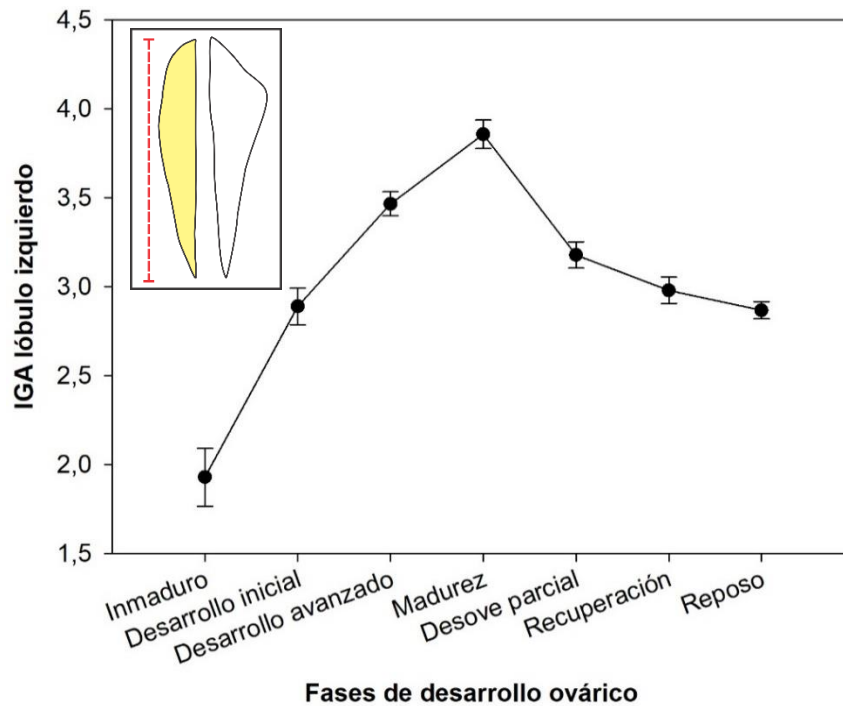
**Figura a.** Fases de desarrollo en hembras: (I) inmaduro, (II) desarrollo, (III) madurez, (IV) desove parcial y (V) postdesove. Apoyo visual, la escala representa 1 cm.

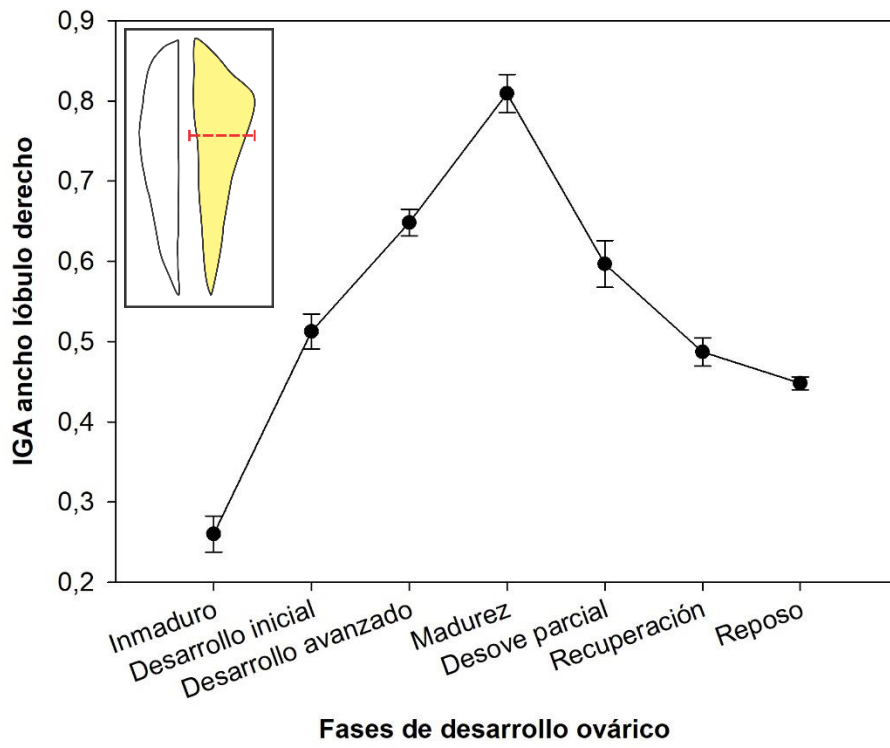
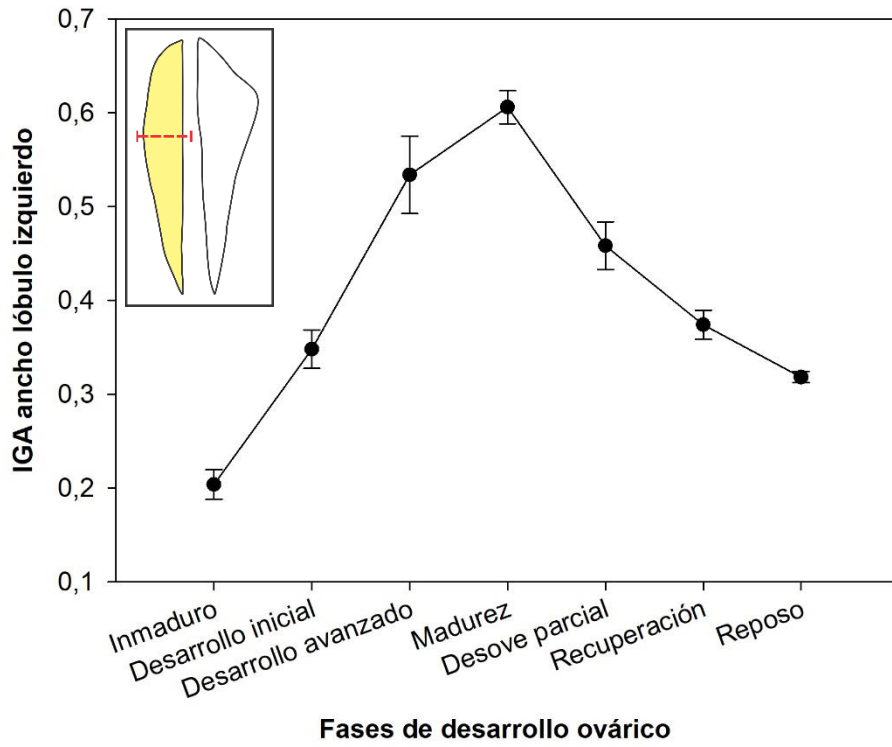


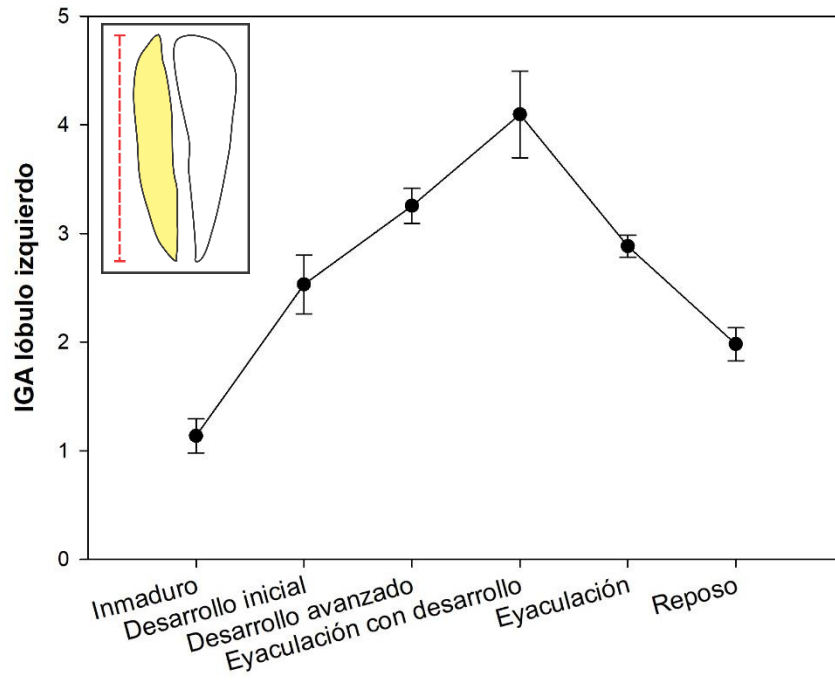
**Figura b.** Fases de desarrollo en machos: (I) inmaduro, (II) desarrollo, (III) eyaculación con desarrollo, (IV) eyaculación y (V) postdesove. Apoyo visual, la escala representa 1 cm.



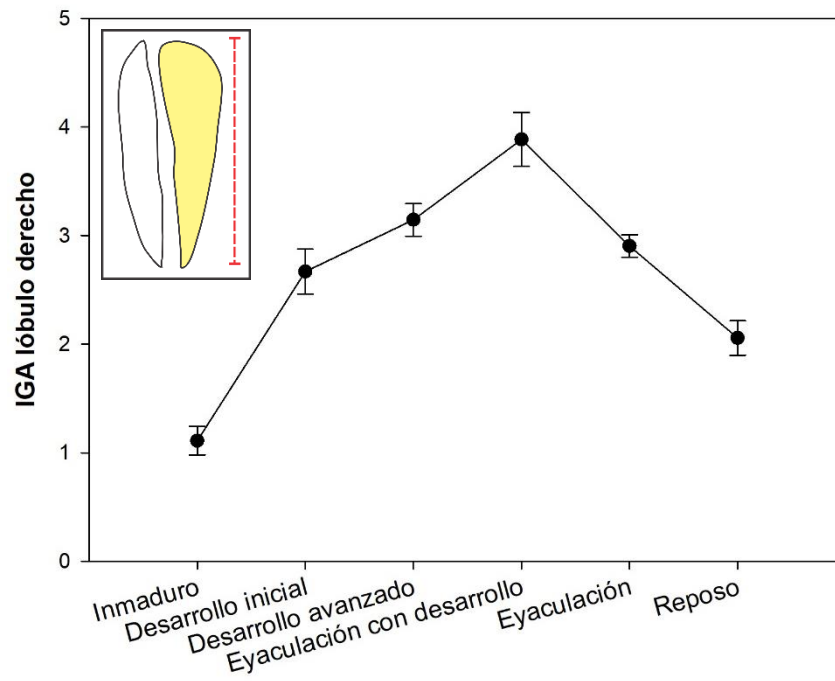
- II. Pruebas del índice gonadoalométrico (IGA) con la variable de longitud del lóbulo izquierdo, longitud del lóbulo derecho y ancho de la parte media superior de ambos lóbulos, en hembras y machos de *Opisthonema* spp.



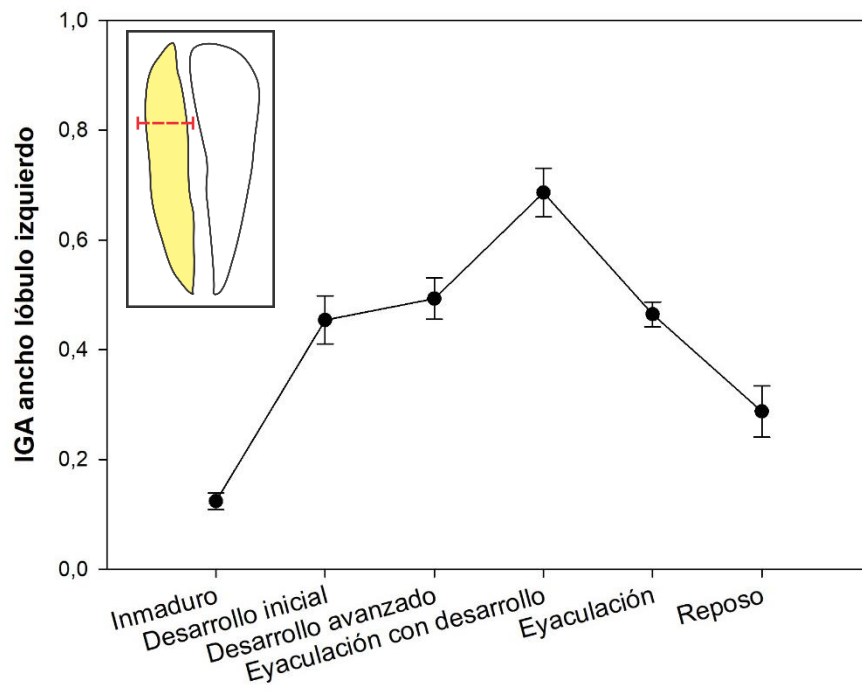




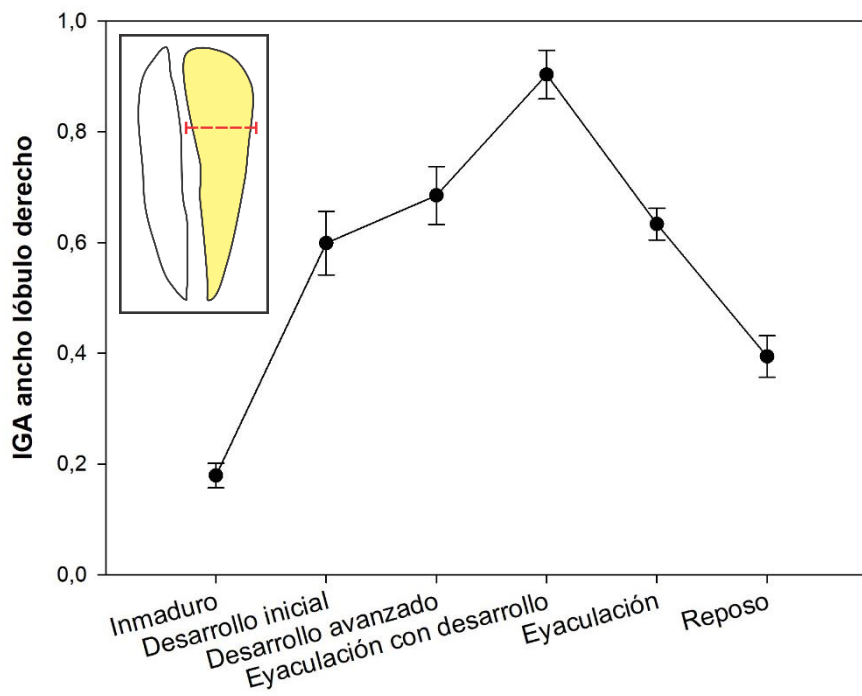
**Fases de desarrollo testicular**



**Fases de desarrollo testicular**



Fases de desarrollo testicular



Fases de desarrollo testicular

- III. Participación en el Congreso de la 9na Reunión de Estudiantes de Posgrado en Ciencias Agropecuarias con el tema “Desarrollo gonádico de la sardina crinuda (*Opisthonema spp.*) del sureste del Golfo de California, México”. Del 27 al 29 de mayo de 2019 en Culiacán, Sinaloa.



**Universidad Autónoma de Sinaloa**  
9na Reunión de Estudiantes de Posgrados en Ciencias Agropecuarias  
Colegio de Ciencias Agropecuarias  
otorgan la presente:



*Constancia*

a: **Diana Laura Cervantes Rendón**



Folio:035



GEN 021/19



Por su valiosa participación como **PONENTE**, en el **Congreso de la 9na Reunión de Estudiantes de Posgrados en Ciencias Agropecuarias** que se llevó a cabo del 27 al 29 de mayo del 2019, en las instalaciones de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Atentamente  
**“Sursum Versus”**  
Culiacán Rosales, Sinaloa; mayo del 2019.

  
Dr. Jorge Fabio Inzunza Castro  
Director de la Facultad de Agronomía  
Presidente del Colegio de Ciencias Agropecuarias

  
MC Jaime Eleazar Borbolla Ibarra  
Director de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
Secretario Académico del Colegio de Ciencias Agropecuarias

  
Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho  
Coordinadora del Posgrado en Ciencias Agropecuarias



- IV. Participación en el XXVII Taller de pelágicos menores con el tema “Desarrollo gonádico de la sardina crinuda (*Opisthonema libertate* y *O. medirastre*) del sureste del Golfo de California, México”. Del 11 al 13 de junio de 2019 en La Paz, Baja California Sur.



- V. Participación en el 2do. Congreso Nacional de Estudiantes de Posgrado en Ciencias Agropecuarias (CONAESCA, 2020) con el tema “Desarrollo gonádico de la sardina crinuda (*Opisthonema bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) del sureste del Golfo de California, México”. A 13 de marzo de 2021, en Culiacán, Sinaloa.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**  
**EL COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

Otorgan la presente:

# Constancia

**A: Diana Laura Cervantes Rendón**

Por su valiosa participación como **PONENTE** en el **2º Congreso Nacional de Estudiantes de Posgrado en Ciencias Agropecuarias (CONAESCA) (2020), (REPCA 10)** que se llevo a cabo del 11 al 13 de marzo del 2020, en las instalaciones de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

**ATENTAMENTE**  
**“Sursum Versus”**  
Culiacán, Sinaloa; 13 de marzo de 2020.

 Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho Coordinadora del Posgrado en Ciencias Agropecuarias	 MC. Jaime Eleazar Borbolla Ibarra Director de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia	 Dr. Jacobo Enrique Cruz Ortega Director de la Facultad de Agronomía
 MC. Saulo Talamantes Castorena Director de la Facultad de Agricultura del Valle del Carrizo	 Dr. Jorge Sául Ramírez Pérez Director de la Facultad de Ciencias del Mar	 Dr. Fernando Alberto Valenzuela Escoboza Director de la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte

- VI. Participación en el XXVIII Taller de pelágicos menores con el tema “Escala de desarrollo gonádico de la sardina crinuda (*Opisthonema libertate* y *O. medirastre*” del sureste del Golfo de California, México”. Del 12 al 13 de enero de 2021, Mazatlán, Sinaloa.

		<b>AGRICULTURA</b> <small>SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL</small>			<b>INAPESCA</b> <small>INSTITUTO NACIONAL DE PESCA Y ACUICULTURA</small>	
<b>AGRICULTURA-INAPESCA</b> <b>Centro Regional de Investigación Acuícola y Pesquera Mazatlán</b> <b>Comité Técnico para el Estudio de los Pelágicos Menores</b> Otorgan la presente <b>Constancia a:</b>						
<b>Diana Laura Cervantes-Rendón, Rebeca Sánchez-Cárdenas, Mercedes L. Jacob-Cervantes, Luis Antonio Salcido-Guevara, Jorge Saúl Ramírez-Pérez y Eber Enrique Orozco-Guillen.</b>						
Por haber participado en el XXVIII Taller de Pelágicos Menores con el trabajo:						
<b>ESCALA DE DESARROLLO GONÁDICO DE LA SARDINA CRINUDA (<i>Opisthonema bulleri</i>, <i>O. libertate</i> y <i>O. medirastre</i>) DEL SURESTE DEL GOLFO DE CALIFORNIA, MÉXICO.</b>						
						
M.C. Darío Chávez Herrera Encargado de las oficinas del INAPESCA en Mazatlán	B. M. Martín E. Hernández Rivas Presidente del comité técnico	Dra. Mercedes L. Jacob Cervantes Comité organizador				
<b>Mazatlán Sinaloa del 12 al 13 de enero de 2021</b>						