



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR



MAESTRÍA EN CIENCIAS EN RECURSOS ACUÁTICOS

DESARROLLO GONADAL DE *Merluccius productus* (Gadiformes, Merlucciidae) DEL CENTRO Y ALTO GOLFO DE CALIFORNIA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS EN RECURSOS ACUÁTICOS

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

PRESENTA:

Lizette Miroslava Garay Valdez

DIRECTORAS DE TESIS:

Dra. Rebeca Sánchez Cárdenas

Dra. Dana Isela Arizmendi Rodríguez

Mazatlán, Sinaloa, México, diciembre del 2023.



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

Merluccius productus forma agregaciones reproductivas en el centro y alto Golfo de California (CAGC) durante invierno-primavera, donde se pesca y es objeto de continua investigación para apoyar el manejo de su pesquería. Un estudio de esta especie demostró que los diagnósticos de las fases gonadales (FG) a partir de una escala morfocromática (EM) generalizada para peces tenían error de hasta el 100% en algunas fases, por lo que la información era inapropiada para propósitos de evaluación y manejo. La EM permite obtener información del estatus gonadal de forma rápida y a bajo costo, facilitando la gestión pesquera oportuna, sin embargo, su precisión depende de la consideración de características específicas y validación histológica de las FG. Por ende, el objetivo de este trabajo es diseñar y validar una EM para el diagnóstico del estatus gonadal de *M. productus* en el CAGC. Durante la temporada de pesca en febrero y marzo de 2019 en el CAGC, se registraron las longitudes total y patrón de 799 peces y las características morfocromáticas (CM) de sus gónadas, estas, fueron fotografiadas y fijadas en solución Davidson. En laboratorio, las gónadas se fotografiaron nuevamente, se procesaron con metodología histológica y se realizó el diagnóstico. *M. productus* presenta ovarios y testículos bilobulados con diferencia morfológica entre sexos. A nivel histológico se clasificaron seis fases y seis subfases ováricas, y cinco fases y cuatro subfases testiculares. Se realizaron biometrías de las gónadas a partir de las imágenes digitales y se estimó el índice gonadoalométrico (IGA); los análisis sugieren que al utilizar las medidas de la longitud del lóbulo gonadal mayor en hembras y el ancho del lóbulo gonadal derecho en machos, aporta información objetiva para la distinción de las FG. Para la EM se definieron cinco tipos morfocromáticos, validados para la representación de las FG denominadas como inmaduro, desarrollo, madurez, desove parcial/eyaculación parcial y postdesove/posteyaculación.

Palabras clave: Merluza del Pacífico, Escala morfocromática, validación histológica, gónadas, Índice Gonadoalométrico.

ABSTRACT

Merluccius productus forms reproductive aggregations in the central and upper Gulf of California (CUGC) during winter-spring, where it is fished and is the subject of continuous research to support the management of its fishery. A study of this species showed that diagnoses of gonadal phases (GP) from a generalized morphochromatic scale (MS) for fish had errors of up to 100% in some phases, making the information inappropriate for evaluation purposes and management. MS allows information on gonadal status quickly and cheaply, facilitating fishing management; however, its accuracy depends on the consideration of specific characteristics and histological validation of the GP. Finally, this work aims to design and validate an morphochromatic scale to diagnose the gonadal status of *M. productus* in CUGC. During the fishing season in February and March 2019 at the CUGC, the total and standard length of 799 fish and the morpho-chromatic characteristics (MC) of their gonads were recorded, which were photographed and fixed in the Davidson solution. In the laboratory, the gonads were photographed again, processed with histological methodology and the diagnosis was made. Pacific Hake (*M. productus*) presents bilobed ovaries and testes with morphological differences between sexes. At the histological level, six ovarian phases and six subphases were classified, and also five testicular phases and four subphases. Biometrics of the gonads were performed from the digital images and the gonadoallometric index (GAI) was estimated; The analysis suggests that using the measurements of the length of the longest gonadal lobe in females and the width of the right gonadal lobe in males, it provides objective information for the distinction of GP. For the MS, five morphochromatic types were defined, validated for the representation of the GP called immature, development, maturity (only females), spawning/ejaculation and post-spawning/post-ejaculation.

Keywords: Pacific Hake, Morphochromatic scale, histological validation, gonadoallometric index.

DEDICATORIA

A quien amo con todo mi ser, mi mamá

Karina

A mis abuelitos

María Isabel y Manuel Rodolfo

A mi mejor amigo y compañero de vida

Alexis

A mis queridos amigos y a los lectores de este trabajo

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia a la Facultad de Ciencias del Mar (FACIMAR) de la Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS) y el personal que hace que la FACIMAR siga progresando y recibiéndonos para seguir creciendo profesionalmente.

Al Laboratorio de Ecología de Pesquerías (LEP) y el Laboratorio de Histología, donde fue un gusto aprender nuevas metodologías y estar en compañía de personas muy talentosas.

Al proyecto Dinámica poblacional de merluza (*Merluccius productus*), en aguas marinas del Golfo de California 2019-2023 del Centro Regional de Investigación Acuícola y Pesquera de Guaymas (CRIAP-Guaymas), del Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (INAPESCA) por brindar las muestras colectadas del Buque de Investigación Pesquera (BIP XI), reconozco el esfuerzo de todos los participantes, además de la labor del personal de instituto por contribuir en la investigación para evaluar el estado salud de este y más recursos.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el apoyo económico proporcionado (CVU: 771923).

A la Dra. Rebeca Sánchez y Dra. Dana Arizmendi, mis maestras y guías, gracias por las valiosas charlas en las que siempre despejaron mis dudas. Gracias por llevarme a mi primer crucero de investigación y poder contemplar las maravillas del mar y el trabajo a bordo, por permitirme conocer la parte académica como la del sector pesquero, gracias por tenerme paciencia, sus palabras y consejos me inspiran a seguir esforzándome. Finalmente, gracias por confiar en mí, e incluirme en un proyecto tan especial, en el que muchos colaboran con el objetivo de un oportuno aprovechamiento de los recursos para hoy y el futuro de las nuevas generaciones, el poder contribuir y dejar una pizca más de información es muy gratificante.

A mi comité asesor, Dra. Nurenkaya, Dr. Luis Salcido, Dr. Manuel Nevárez, cada asesoría, aporte y hasta lo que “pareciera” un mínimo detalle, fueron muy valiosos para mi desempeño y este trabajo, los admiro mucho.

Al equipo del LEP, que al final de la pandemia si los pude conocer y gracias por el apoyo en el Laboratorio de histología, Jenny, Nurens, María, Juan, Cindy, Elenita, Moni, Kimberly y los alumnos de licenciatura que llegaron al laboratorio.

A mis compañeros de crucero que me enseñaron mucho, Alejandro, Paola y personal del BIP XI. Gracias al equipo del CRIAP-Guaymas que me han apoyado en mi estadía, me han dado hogarcito, la comedera y buenos momentos, Dana, María, Violeta, Almita, Ángeles, Pepe, son personas muy trabajadoras e inteligentes también los admiro mucho.

Agradezco a mi familia por la fuerza y la luz que siempre me mandan, los amo con toda mi existencia y los añoro aún más. A mis amigos, Gladys, Vale, Carito, Cris, Ale, Tania, Daisy, Moni, Cindy, Yahir, Manuel, Rafa, Kat, Juanma, Karen, Pedro, Liz, Miryam, CJ, Jorge, que tal vez sin saberlo, también me han animado y abrazado con sus palabras durante este caminito lleno de aprendizajes, en el que creo firmemente seguiremos creciendo y llenándonos de virtudes, los quiero mucho y espero verlos pronto.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1 Características generales de <i>Merluccius productus</i>	4
2.2 Distribución y hábitat de <i>Merluccius productus</i>	5
2.3 Modo reproductivo de <i>Merluccius productus</i>	8
2.4 Atributos ontogénicos	10
2.5 Composición histológica y ciclo ovárico en peces	10
2.6 Composición histológica y ciclo testicular en peces	13
2.7 Evaluación gonádica en peces	14
2.8 Escalas morfocromáticas para el diagnóstico del estatus gonadal	16
2.9 La pesquería de merluza en México	20
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	22
4. HIPÓTESIS	23
5. OBJETIVOS	24
5.1 General	24
5.2 Particulares	24
6. ÁREA DE ESTUDIO	24
7. MATERIALES Y MÉTODOS	26
7.1 Muestreos	26
7.2 Descripción del aparato reproductor	27
7.3 Proceso histológico	28
7.4 Diagnóstico histológico	30
7.5 Descripción de ciclo ovárico y testicular	32
7.6 Índice gonadoalométrico con respecto a las fases ováricas y testiculares	32
7.7 Descripción morfocromática de las fases ováricas	36
7.8 Descripción morfocromática de las fases testiculares	37
8. RESULTADOS	42
8.1 Descripción del aparato reproductor de <i>Merluccius productus</i>	42

8.2 Desarrollo de los ovocitos de <i>Merluccius productus</i>	45
8.3 Descripción de las fases ováricas a nivel histológico en <i>Merluccius productus</i>	48
8.4 Descripción de las fases testiculares a nivel histológico de <i>Merluccius productus</i>	52
8.5 Ciclo ovárico de <i>Merluccius productus</i>	54
8.6 Ciclo testicular de <i>Merluccius productus</i>	59
8.7 Exploración individual de los índices gonadoalométrico, con respecto a las fases ováricas y testiculares	61
8.8 Fases morfocromáticas de desarrollo ovárico de <i>M. productus</i>	76
8.9 Fases morfocromáticas de desarrollo testicular de <i>Merluccius productus</i>	84
8.10 Escala morfocromática del desarrollo gonadal de <i>Merluccius productus</i>	88
9. DISCUSIONES	91
9.1 Descripción del aparato reproductor de <i>Merluccius productus</i>	91
9.2 Desarrollo de los ovocitos de <i>Merluccius productus</i>	92
9.3 Fases histológicas de desarrollo ovárico	93
9.4 Fases histológicas de desarrollo testicular	97
9.5 Ciclo ovárico	99
9.6 Ciclo testicular	103
9.7 Índice gonadoalométrico, con respecto a las fases ováricas y testiculares	105
9.8 Fases morfocromáticas de desarrollo ovárico	108
9.9 Fases morfocromáticas de desarrollo testicular	112
10. CONCLUSIONES	115
11. LITERATURA CITADA	117
12. ANEXOS	125

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Fotografía de la merluza del Pacífico (*Merluccius productus*) tomada durante el crucero de prospección acústica y pesca exploratoria 2023, en el Golfo de California. 5
- Figura 2. Distribución de *Merluccius productus*, imagen re-editada del catálogo comentado e ilustrado de las merluzas conocidas, FAO de Lloris *et al.* (2005). 6
- Figura 3. Área de estudio y trayecto durante el crucero de prospección acústica y pesca exploratoria de la merluza del Pacífico (*Merluccius productus*), en el Golfo de California, de febrero-marzo de 2019. Línea roja indica el trayecto del crucero y las flechas azules el orden de trayecto. 25
- Figura 5. Fotografías de (A) ovarios de *Merluccius productus* en fresco (B) ovarios fijados con solución Davidson y flechas punteadas y sólidas con las medidas registradas en Sigma Scan Pro 5.0. 34
- Figura 6. Fotografías de testículos de *Merluccius productus*. (A) testículo en fresco, (B) testículo fijado con solución Davidson y flechas punteadas y sólidas con las medidas registradas en Sigma Scan Pro 5.0. 34
- Figura 8. Ubicación de los ovarios y órganos dentro de la cavidad visceral de *Merluccius productus* del centro y alto Golfo de California. 43
- Figura 9. Ubicación de los testículos dentro de la cavidad visceral de *Merluccius productus* del centro y alto Golfo de California. 44
- Figura 10. Ovario (A) y testículo (B) de *Merluccius productus* del centro y alto Golfo de California. Las barras verticales indican medidas desde la parte superior a la inferior A= 17.2 cm, B=12.6 cm. Asociadas a la parte posterior y anterior del pez respectivamente. 45
- Figura 11. Estadios de desarrollo del ovocito en *Merluccius productus*. La barra representa 100 μm en microfotografías a 4x. A, Cromatina nucleolar; B, Perinucleolar; C, Alvéolo cortical grado 1; D, Alvéolo cortical grado 2; E, Vitelogénico grado 1; F, Vitelogénico grado 2; G, Vitelogénico grado 3; H, Núcleo migratorio; I, Fusión de vitelo; J, Hidratado. 46
- Figura 12. Ciclo ovárico de *Merluccius productus* del centro y alto Golfo de California. 58
- Figura 13. Atresia folicular mayor en ovario fase madurez. a) características morfocromáticas del ovario (barra de escala 1 cm); b) ovario fijado en solución Davidson (barra de escala 1 cm); c) corte transversal del ovario d) lámina histológica

(barra de escala 100 μm). Estados de atresia (**AT** α) alfa, (**AT** β) beta, (**AT** δ) gamma, (H) ovocito hidratado remanente, (TC) tejido conjuntivo, (PO) pared ovárica. 58

Figura 14. Ciclo testicular de *Merluccius productus* del centro y alto Golfo de California 61

Figura 15. IGA usando el ancho lobular izquierdo para la distinción de las fases ováricas. Las letras diferentes (a, b, c) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico. 62

Figura 16. IGA usando el ancho lobular derecho para la distinción las fases ováricas. Las letras (a, b, c) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico. 63

Figura 17. IGA usando la longitud lobular mayor para la distinción de las fases ováricas. Las letras (a, b, c) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico. 64

Figura 18. IGA usando la longitud lobular menor para la distinción de las fases ováricas. Las letras (a, b, c) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico. 65

Figura 19. IGA usando el ancho lobular izquierdo para la distinción de las fases testiculares. Las letras (a, b, c) muestran diferencias significativas entre fases ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. 66

Figura 20. IGA usando el ancho lobular derecho para la distinción de las fases testiculares. Las letras (a, b, c) muestran diferencias significativas entre fases ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. 67

Figura 21. IGA usando la longitud lobular mayor para la distinción de las fases testiculares.. Las letras (a, b, c) muestran diferencias significativas entre fases ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas

sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico. 68

Figura 22. IGA usando la longitud lobular menor para la distinción de las fases testiculares. Las letras (a, b, c) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico 69

Figura 23. IGA usando el ancho lobular izquierdo de gónadas fijadas para la distinción de las fases ováricas. Las letras (a, b, c, d, e) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico. 70

Figura 24. IGA usando el ancho lobular derecho de gónadas fijadas para la distinción de las fases ováricas. Las letras (a, b, c, d, e) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico. 70

Figura 25. IGA usando la longitud lobular mayor en gónadas fijadas para la distinción de las fases ováricas. Las letras (a, b, c, d, e) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico. 72

Figura 26. IGA usando la longitud lobular mayor en gónadas fijadas para la distinción de las fases ováricas. Las letras (a, b, c, d, e) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico. 72

Figura 27. IGA usando el ancho lobular izquierdo en testículos fijados para la distinción de las fases testiculares. Las letras (a, b, c, d) muestran diferencias significativas entre fases ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico. 74

Figura 28. IGA usando el ancho lobular derecho en testículos fijados para la distinción de las fases testiculares. Las letras (a, b, c, d) muestran diferencias significativas entre fases ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico. 74

Figura 29. IGA usando la longitud lobular menor para la distinción de las fases testiculares. Las letras (a, b, c, d) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico. 75

Figura 30. IGA usando la longitud lobular menor para la distinción de las fases testiculares. Las letras (a, b, c, d) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico. 76

Figura 31. Ovarios de *Merluccius productus* en fase inmaduro. a) ovario inmaduro sin fallas en su desarrollo, b) ovario inmaduro con fallas en los ovocitos. Barra de escala 1 cm. 77

Figura 32. Ovarios de *Merluccius productus* en fase de desarrollo. a) subfase desarrollo inicial antecedente de un reposo, b) desarrollo inicial que procede de inmaduro, c) desarrollo intermedio d) desarrollo avanzado. Barra de escala 1 cm. 79

Figura 33. Ovarios de *Merluccius productus* en fase madurez. a) madurez morfotipo uno, b) madurez morfotipo dos, c) madurez morfotipo tres. Barra de escala 1 cm. 81

Figura 34. Ovarios de *Merluccius productus* en fase desove parcial. a) subfase desove parcial, b) subfase postdesove parcial c) subfase desove final. Barra de escala 1 cm. 82

Figura. 35. Ovarios de *Merluccius productus* en fase recuperación. Barra de escala 1 cm. 83

Figura 36. Ovario de *Merluccius productus* en fase reposo. Barra de escala 1 cm. 83

Figura 37. Testículo de *Merluccius productus* en fase inmaduro. Barra de escala 1 cm. 84

Figura 38. Testículo de *Merluccius productus* en fase desarrollo. a) subfase desarrollo inicial b) subfase desarrollo avanzado c) subfase desarrollo avanzado tipo morfocromático 2. Barra de escala 1 cm. 86

Figura 39. Testículo de *Merluccius productus* en fase eyaculación. A) subfase eyaculación intensa b) subfase eyaculación con desarrollo. Barra de escala 1 cm. 87

Figura 40. Testículo de *Merluccius productus* en fase recuperación. Barra de escala 1 cm. 88

Figura 41. Testículo de *Merluccius productus* en fase reposo. Barra de escala 1 cm. 88

Figura 42. Ciclo ovárico de la merluza del Pacífico (*Merluccius productus*) del centro y alto Golfo de California con todos sus fenotipos morfocromáticos 125

Figura 43. Ciclo testicular de la merluza del Pacífico (*Merluccius productus*) del centro y alto Golfo de California con todos sus fenotipos morfocromáticos. 126

LISTA DE TABLAS

- Tabla I. Tiempos de inmersión para proceso de deshidratación, aclarado con isopropanol y aceite mineral e impregnación en parafina que se aplicará a las gónadas de *Merluccius productus* (Buesa y Peshkov, 2009). 44
- Tabla II. Reactivos y tiempos de exposición para el proceso de tinción hematoxilina-eosina (adaptado de: Humason, 1979; Muñetón-Gómez *et al.*, 2000). 45
- Tabla III. Comparación de las características morfocromáticas de las fases ováricas de diferentes escalas validadas histológicamente para *Merluccius productus* Foucher y Beamish (1977), la escala con fases adaptables y validadas histológicamente (Brown-Peterson *et al.*, 2011) y la escala de *M. gayi peruanus* (Perea *et al.*, 2015). 30
- Tabla IV. Comparación de las características morfocromáticas de las fases testiculares de diferentes escalas. Escala adaptada para merluzas de Botha (1986) la escala con fases adaptables y validadas histológicamente de Brown-Peterson *et al.*, (2011) y la escala de fases testiculares de *M. gayi peruanus* Perea *et al.*, (2015). 32
- Tabla V. Fases ováricas de *Merluccius productus* descritas a nivel histológico. Barra de escala 100 μm . 40
- Tabla VI. Fases testiculares de *Merluccius productus* descritas a nivel histológico. Barra de escala 100 μm . 44
- Tabla VII. Escala morfocromática de desarrollo ovárico y testicular de *Merluccius productus* del centro y alto Golfo de California. 71

1. INTRODUCCIÓN

El recurso pesquero merluza del Pacífico (*Merluccius productus*) es parte de las pesquerías comerciales establecidas en Canadá, Estados Unidos (Hamel *et al.*, 2015) y México (Ramírez-Rodríguez, 2017; D.O.F., 11/06/2018). La merluza del Pacífico es un pez demersal, con hábitos pelágicos (Alverson y Larkins, 1969; Cohen *et al.*, 1990). Se encuentra en aguas poco profundas de la plataforma hasta profundidades de 1000 m (Cohen *et al.*, 1990). Las concentraciones comerciales se encuentran entre los 50 y 500 m de profundidad (Alverson y Larkins, 1969; Cohen *et al.*, 1990) formando parte importante de los ecosistemas marinos en la región del sistema de la corriente de California (Bailey *et al.*, 1982). La pesquería mexicana de *M. productus* fue reconocida formalmente por la Carta Nacional Pesquera publicada el 11 de junio de 2018 (D.O.F., 2018) y también se creó el proyecto de norma NOM-020-SAG/PESC-2019 publicado el 27 de noviembre del 2019 con las especificaciones para regular su aprovechamiento (D.O.F., 2019), por lo cual ha sido objeto de creciente investigación biológica pesquera para apoyar al manejo de su pesquería. Su zona de captura abarca las aguas marinas del Golfo de California, donde la biomasa se concentra principalmente en el centro, norte y en la costa occidental de Baja California, con potencial de aprovechamiento en la costa occidental de la Península Baja California Sur, frente a Bahía Magdalena (D.O.F., 11/06/18).

La sincronización de las actividades pesqueras con los procesos reproductivos de las especies, así como su predictibilidad en tiempo y espacio constituyen información robusta, pertinente y útil en el diseño para el manejo de los recursos donde se incorporen las interacciones del desove y la pesca (Erisman *et al.*, 2012), con el propósito de evitar la sobreexplotación. Dentro de los objetivos de las investigaciones pesqueras, algunos autores como Lowerre-Barbieri *et al.* (2011) mencionan se debe tener un amplio conocimiento del proceso reproductivo de las especies y una mayor comprensión de los factores internos y externos que

determinan el éxito reproductivo, a su vez, proponen hacer uso de análisis y terminologías estandarizadas.

En el caso de la merluza del Pacífico (*M. productus*) es necesario analizar las características de desove, ya que en el Golfo de California se captura de diciembre a mayo en presencia de agregaciones específicamente por procesos de reproducción (Denton-Castillo, 2018). Las agregaciones son objetivos atractivos para la pesca por ser reuniones masivas de organismos en tiempos y lugares predecibles, sin embargo, cuando la pesca se lleva a cabo sin ninguna medida de protección o regulación pueden ser altamente vulnerables, es por ello que muchas especies de peces de importancia comercial que exhiben agregaciones de desove han sufrido graves disminuciones debido a la sobrepesca y falta de regulación (Sadovy, 2016). Además, las agregaciones tienen importancia a escala ecosistémica, lo que obliga a que las áreas de reproducción de peces sean un punto focal para el manejo pesquero y la conservación marina a nivel global (Erisman y Fulton, 2018).

Por lo visto, es de enorme interés conocer la biología reproductiva y la serie de cambios en ovarios y testículos reflejados en las fases gonádicas que ocurren durante el año en las especies objetivo de la pesca, ya que tienen aplicación directa en proporcionar conocimientos fundamentales de la población (Holden y Raitt, 1975) y por ende generar información que pueda contribuir en las evaluaciones del recurso.

Para dichas evaluaciones se pueden utilizar escalas morfocromáticas de maduración gonádica las cuales son formatos textuales que describen y asignan las fases del desarrollo ovárico y testicular del organismo, con base en la distinción visual entre cada fase gonadal mediante atributos de forma (morfo) y color (cromáticas) característicos de los cambios que se van presentando en los ovarios y testículos conforme al ciclo reproductivo gonadal (Rodríguez-Gutiérrez, 1992). Cabe mencionar, que es necesario agregar la asignación visual mediante

fotografías de cada fase de las gónadas para ayudar en la distinción entre cada una de las fases de desarrollo gonadal en hembras y machos.

Sin embargo, estas escalas morfocromáticas pueden ser poco precisas al ser generalizadas y basarse solo en características como tamaño, forma y coloración de las gónadas, por esto son apoyadas con análisis histológico para validarlas de acuerdo a los procesos microscópicos que ocurren en el estroma gonadal de cada fase ovárica y testicular, utilizando criterios con base en la presencia de un tipo o estadio de célula aliada a un grupo de características tisulares de la gónada que indicarán que el órgano sexual ha entrado en una particular fase gonadal (Rodríguez-Gutiérrez, 1992).

Es por esto, que, la evaluación del desarrollo gonádico y el diagnóstico a partir de escalas morfocromáticas validadas de las gónadas en las especies es particularmente útil en investigaciones cuando se requiere aportar información rápida y precisa que apoye la toma de decisiones de manejo pesquero, esto durante los monitoreos pesqueros a largo plazo para detectar cambios en los patrones reproductivos (Maldonado-Amparo *et al.*, 2017).

En la evaluación de la merluza del Pacífico en el Golfo de California, se ha venido utilizando la escala morfocromática gonadal generalizada para peces de Nikolsky (1963), basada en la coloración, la textura y en el espacio ocupado por las gónadas en la cavidad abdominal para definir sus fases ováricas y testiculares, sin embargo y en marco de las mismas evaluaciones se concluyó que las designaciones basadas en la escala de Nikolsky (1963) pueden tener error de hasta el 100% en algunas fases (Denton-Castillo, 2018). Por lo cual, actualmente la generación de esta información para propósitos de toma de decisiones para su pesquería depende completamente de los análisis histológicos, ello para evitar errores de designación de las fases gonadales. Cabe mencionar que el análisis histológico es considerado el método más preciso para el diagnóstico de las fases gonadales, no obstante, estos análisis suelen ser costosos y tardados (Lowerre-

Barbieri *et al.*, 2011) como para realizarse en cada prospección pesquera del recurso.

La alternativa al análisis histológico es contar con una escala morfocromática con detalles precisos, diseñada específicamente para *M. productus* y validada, que permita realizar un diagnóstico histológico *in situ* con una precisión técnica adecuada para la evaluación del recurso y una oportuna toma de decisiones. Por tal motivo, en el presente estudio se diseñará una escala morfocromática de desarrollo gonádico validada histológicamente para la merluza del Pacífico (*M. productus*) del centro y alto Golfo de California. Misma que será utilizada para los muestreos de merluza y en embarcaciones durante las evaluaciones del recurso que anualmente realiza el Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (INAPESCA) para sustentar el manejo de la pesquería.

2. ANTECEDENTES

2.1 Características generales de *Merluccius productus*

La Merluza del Pacífico (*Merluccius productus*) nombrada por primera vez en 1855 por William Orville Ayres (Ayres, 1855), es color gris plateado del dorso y tiene el vientre blanquecino, con una cabeza ligeramente alargada y dientes puntiagudos, presenta de 18 a 23 branquiespinas en el primer arco branquial, son largas, delgadas y con terminación en punta, presenta dos aletas dorsales, la primera corta con una espina y 9 a 12 radios, la segunda dorsal y la aleta anal presentan base larga con 39 a 44 radios, las aletas pectorales terminan casi en el origen de la aleta anal y su aleta caudal es cóncava (Cohen *et al.*, 1990; Lloris *et al.*, 2003;2005). Su crecimiento es relativamente rápido, especialmente durante los primeros cuatro años con posibilidades de llegar a vivir hasta los 15 años aproximadamente (Cohen *et al.*, 1990), en el centro y norte del Golfo de California se han encontrado que las merluzas presentan dimorfismo sexual siendo las hembras más robustas y redondas en comparación con los machos (Alvarez-Trasviña *et al.*, 2022), presenta dieta carnívora, alimentándose de pequeños crustáceos, peces pelágicos, e incluso

canibalismo al depredar sobre organismos juveniles de su misma especie (Alverson y Lankin 1969; Lloris *et al.*, 2003; 2005).

Las merluzas en su jerarquía taxonómica pertenecen al filo de los cordados, superclase Osteichthyes, subclase Actinopterygii, superorden Paracanthopterygii, del orden Gadiformes (Nelson *et al.*, 2016); en los niveles inferiores la merluza pertenece a la familia Merlucciidae y al único género *Merluccius*, al cual se integran 13 especies (Lloris *et al.*, 2003; 2005) (Figura 1).



Figura 1. Fotografía de la merluza del Pacífico (*Merluccius productus*) tomada durante el crucero de prospección acústica y pesca exploratoria 2023, en el Golfo de California.

2.2 Distribución y hábitat de *Merluccius productus*

La merluza del Pacífico vive asociada a la Corriente de California (Bailey *et al.*, 1982; Lloris *et al.*, 2005) se presenta tanto en áreas oceánicas como costeras, es un pez demersal con presencia hasta los 1000 metros de profundidad y de hábitos pelágicos (Alverson y Larkins, 1969; Cohen *et al.*, 1990; Hamel *et al.*, 2015). De acuerdo a Lloris *et al.* (2005), se distribuye en el Pacífico Oriental: Canadá, Estados Unidos y parte del Golfo de California, México, hasta los 16° latitud norte (Golfo de Tehuantepec) (Figura 2).

Estudios moleculares y morfométricos descritos de cuatro morfotipos de merluzas del Pacífico Nororiental y Central (Silva-Segundo *et al.*, 2011) demostraron la presencia de una sola especie de *M. productus*, desde el estado de

Washington Estados Unidos hasta Costa Rica, con diferentes sub-unidades de población consideradas como “stocks”.

García-De León *et al.* (2018) demostraron que *M. productus* tiene una estructura genética con componentes de población tanto migratoria como residente. Sus resultados indicaron que hay tres poblaciones genéticamente discretas, la primera llamada costera, distribuida por la costa este del Océano Pacífico (Washington, Oregón, Eureka, San Francisco, Vizcaíno, hasta la Península de Baja California Sur), otra población en el estrecho de Puget (Puget Sound) Washington, Estados Unidos y, una tercera población de merluzas pertenecientes al norte del Golfo de California, que presentan una agregación en las que puede producirse una posible área de refugio (Silva-Segundo *et al.*, 2011).

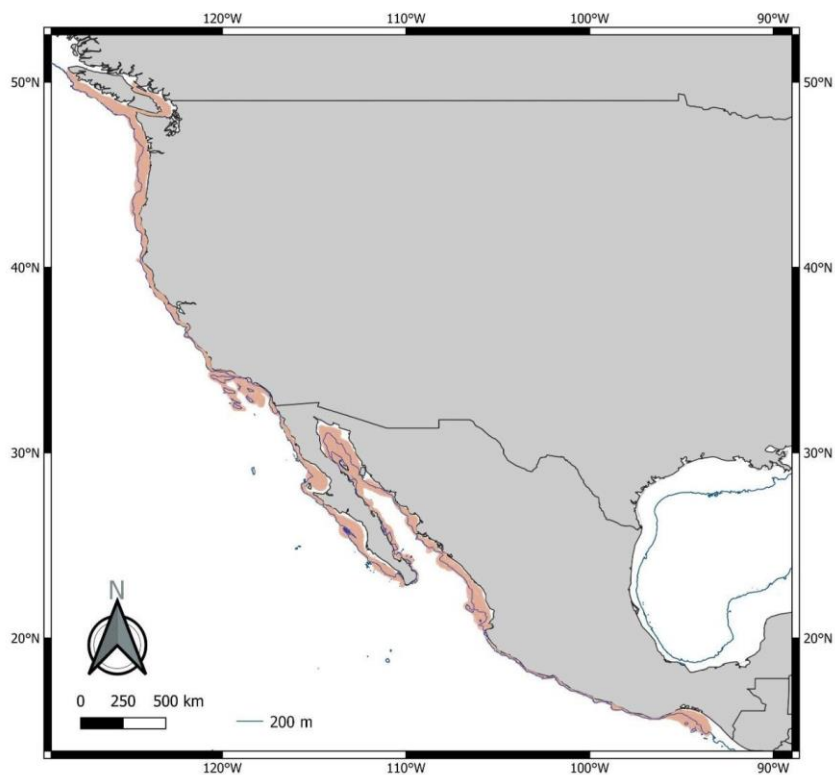


Figura 2. Distribución de *Merluccius productus*, imagen re-editada del catálogo comentado e ilustrado de las merluzas conocidas, FAO (del inglés “Food and Agriculture Organization”) de Lloris *et al.* (2005).

Dentro del rango geográfico ocupado por la población costera de merluza del Pacífico, el segmento adulto de la población exhibe un movimiento migratorio de norte a sur en temporada de invierno, originado de (Alaska) y de gran escala para dar inicio al desove en aguas adyacentes al sur de California y Baja California, México, congregándose en cardúmenes de densidad uniforme a profundidades de 200 a 500 m, de acuerdo con Alverson y Larkins (1969).

Se ha evidenciado un comportamiento característico de elevación y dispersión de las merluzas durante la noche en temporada de verano, durante la estadía de organismos adultos en aguas de la plataforma continental, los estudios de ecografía sugieren que los movimientos comienzan entre las 18:00 y las 21:00 horas y para las 23:00 horas ya se encuentran muy dispersas en el agua y durante el día se congrega en cardúmenes y pueden descender a aguas más profundas (Alverson y Larkins, 1969).

La dispersión nocturna puede estar relacionada con los hábitos alimentarios de la especie, ascienden y se dispersan en la columna de agua cerca de la superficie a 20 m para alimentarse, en la parte norte de su área de distribución geográfica, la merluza adulta se alimenta de *Thysanoessa spinifera* y *Euphazcsia pacifica*, dos especies de eufáusidos conocidos comúnmente como krill (Alverson y Larkins, 1969). También es importante mencionar que la sección de merluza en agregación reproductiva no presenta el tipo de movimiento vertical observado en la plataforma continental, sin embargo, se menciona que aparentemente hay algún movimiento de peces casi maduros y la mayor parte de esta migración diaria ocurre a profundidades de 180 a 400 m (Alverson y Larkins, 1969).

Padilla-García y de la Campa (1981) encontraron larvas de *M. productus* a una profundidad de 36 m a 221 m y a una temperatura de 16.2°C en la zona norte del Golfo de California, y a través de colectas diurnas, dedujeron que los datos son de un posible desove de merluzas en agregación realizado a principios de febrero, mes con mayor actividad reproductiva según Denton-Castillo (2018). Estudios recientes de Alvarez-Trasviña *et al.* (2022) encontraron que los centros de abundancia fueron en febrero de 2019 entre los 200 m y 300 m de profundidad y las

menores abundancias en octubre en 2014 a 100 m y 150 metros de profundidad en el Golfo de California a temperaturas de fondo de 13°C y 14°C. Y de acuerdo a Hamel *et al.* (2015), la población costera de merluza del Pacífico es la más abundante en la Corriente de California.

2.3 Modo reproductivo de *Merluccius productus*

Los peces tienen una gran variedad de formas o modelos reproductivos, el modo reproductivo frecuente en las especies de teleósteos es por fecundación cruzada externa mediante sexos separados también nombrado gonocorismo, asimismo, y también, se pueden clasificar de acuerdo a las veces en las que se reproducen en su vida, ya sea como semélparos si se reproducen una sola vez o como iteróparos si realizan su reproducción repetidas veces (Wootton, 1990; Saborido, 2004). En el caso de la merluza desde sus primeros estudios (Foucher y Beamish, 1977) a los más actuales (Denton-Castillo, 2018) muestran que *M. productus* tiene fertilización externa y presentan gonocorismo ya que sus órganos reproductores están diferenciados entre hembra y macho, además de ser un organismo iteróparo ya que se reproduce repetidas veces durante su ciclo de vida. Denton-Castillo (2018) describió la distinción de los órganos sexuales de la merluza; en hembras los ovarios están compuestos por dos lóbulos funcionales alargados, en ocasiones uno de estos lóbulos presenta una forma asimétrica y en machos los testículos están conformados por dos lóbulos alargados, cuyos márgenes exteriores presentan ondulaciones.

Otro atributo reproductivo es, si presentan dimorfismo sexual (Wootton, 1990) y recientemente los investigadores del trabajo de Alvarez-Trasviña *et al.* (2022) catalogaron que *M. productus* presenta dimorfismo sexual, del cual sugieren las hembras se diferencian de los machos por ser más robustas y con forma redonda, presentan tallas y peso en masa mayor que los machos (tallas reportadas de 105 cm de longitud total y 7500 gramos).

Balon (1990), basa la trayectoria evolutiva de los peces ubicándolos de acuerdo a la combinación de criterios morfológicos, de desarrollo, comportamiento

y ecológicos, dando lugar a un sistema jerárquico que comprende de tres secciones etológicas, los “no protectores”, “protectores” e “incubadores” con tendencias de estilos en el cuidado de la descendencia de menor a mayor protección y dividiéndolos en grupos ecológicos y gremios específicos.

La merluza del Pacífico comprende la sección etológica de los “no protectores” debido a la falta de protección y cuidado de las crías en su proceso de reproducción, mismo que ocurre en agregaciones de densidad uniforme a profundidades entre los 200 a los 500 m (Alverson y Larkins, 1969). Las hembras y machos liberan los gametos a una profundidad de 130 a 150 m para que ocurra la fecundación externa, sin embargo, en la columna de agua flotan de 40 a 60 m hacia la base de la capa de agua mezclada y si no existe una picnoclina fuerte, los gametos, huevos y las larvas pueden distribuirse a través de la capa de mezcla (Ahlstrom y Counts, 1959 en Bailey *et al.*, 1982). De la misma forma, Padilla-García y de la Campa (1981) reportaron presencia de larvas de *M. productus* a una profundidad de 36 a 221 m en la zona norte del Golfo de California. Y es considerada un desovador pelágico con múltiples desoves (MacGregor, 1966 en Alverson y Larkins, 1969) por lo tanto *M. productus*, pertenece al grupo ecológico de los dispersadores y al gremio de los pelagófilos (Balon, 1990).

Foucher y Beamish (1977) determinaron que las hembras tienen una alta variación en el número, tamaño y porcentajes de grupos de ovocitos retenidos y liberados para ser fertilizados. Por lo cual, se reveló que los ovocitos tienen un desarrollo asincrónico, lo que sugiere que no todos los ovocitos se liberarán al mismo tiempo en la columna de agua como gametos viables, solo la porción de ovocitos con mayor tamaño de diámetro llevará a cabo la hidratación y serán los desovados para su fecundación (Foucher y Beamish, 1980). Esta información concuerda con el estudio de Denton-Castillo (2018), realizado en el centro y norte del Golfo de California, donde *M. productus* presenta ovarios con desarrollo asincrónico, y potencial para desovar de tres a cuatro veces durante una temporada reproductiva.

2.4 Atributos ontogénicos

Merluccius productus presenta una morfogénesis con base en el desarrollo de los periodos de huevo, larva, juvenil, adulto y senescente, los cuales pertenecen al desarrollo indirecto “altricial” que se caracteriza por presentar el periodo de larva que lo distingue de otros modelos ontogénicos (Balon, 1990).

Ahlstrom y Counts (1955), citado en Nelson y Larkins, (1970) describen las fases de huevo y larva de *M. productus*. Los huevos son pelágicos, esferas lisas, translúcidas y tienen una sola gota de aceite. Su metamorfosis larvaria requiere más de un mes para la formación, la aleta pectoral se completa a una longitud de 3.04 a 3.55 cm, cuando se alcanza el total de los radios pectorales. El crecimiento en longitud parece ser lento y constante durante los primeros 20 días, después se acelera (Bailey *et al.*, 1982).

En cuanto a la fase juvenil (1 a 3 años) hay poca información, se desconoce la edad a la que las larvas abandonan su vida pelágica, en zonas costeras se han capturado merluzas juveniles de 11.93 a 35.05 cm de largo aproximadamente (Nelson y Larkins, 1970). En el estudio de Denton-Castillo (2018) en la merluza del Pacífico en aguas del Golfo de California se ha encontrado un amplio intervalo de tallas de organismos adultos compuesto con un 10% de tallas pequeñas con machos desde los 12.50 cm de longitud total (LT) y hembras de 19.50 cm de LT, y un 90% de tallas mayores de hembras hasta poco más de los 70.3 cm de LT y machos desde los 66.37 cm, resultados que, a su vez, revelan que las hembras presentan mayor longitud total que los machos.

2.5 Composición histológica y ciclo ovárico en peces

De acuerdo a Foucher y Beamish (1977) el desarrollo ovárico se rige a partir de las características microscópicas que están relacionadas a procesos como la división mitótica y proliferación de los ovocitos haploides, las transformaciones de las células foliculares dentro del ovario en las lamelas ovígeras y el suministro de por vida de las ovogonias.

La composición y desarrollo de los ovarios en peces está relacionada con factores externos como luz, temperatura, alimentación entre otros, que activan los mecanismos del eje endocrinológico para la estimulación hormonal (Nagahama 1983; Valdebenito *et al.*, 2011). Los ovarios se encuentran dentro de la cavidad abdominal del pez con coloraciones amarillentas a naranja debido al vitelo de los ovocitos. La pared del ovario está formada por tres capas: la externa compuesta por el epitelio cúbico-ciliar; la capa media de tejido conectivo en donde se localizan los vasos sanguíneos que la irrigan y la más interna de naturaleza compacta y fibrosa (Rodríguez-Gutiérrez, 1992). La estructura interna del ovario comprende del estroma ovárico, en el que yacen las lamelas ovígeras desde la periferia al centro llamado "lumen" y son las que contienen a los gametos femeninos o folículos ováricos (Nagahama, 1983).

En el trabajo de Foucher y Beamish (1977) mencionan que el proceso de formación y suministro de ovocitos en el ovario comienza con la división mitótica de las ovogonias, las cuales darán origen a los ovocitos primarios diploides. Durante este crecimiento primario, cada ovocito inicialmente se rodea de una capa de células foliculares y con el crecimiento de los ovocitos las células foliculares se multiplican y forman una capa folicular de granulosa completa (capa interna de granulosa), a su vez, también se forma una capa externa de envoltura formada por elementos de tejido conjuntivo (capa externa tecal) la cual está conectada a las lamelas ovígeras (Nagahama, 1983).

Por lo tanto, los ovocitos se componen de dos capas celulares principales, las cuales además de brindar protección, funcionan como intermediarias de la producción de sustancias esteroideas para el crecimiento y maduración de los ovocitos, producidas bajo la influencia de las gonadotropinas (Nagahama, 1994).

En *M. productus*, los ovocitos primarios clasificados en estadio cromatina nucleolar y perinucleares, al tener influencia de las hormonas gonadotropinas, inician el proceso de meiosis con el apareamiento de cromosomas homólogos y comienza la etapa de crecimiento, la cual deja en pausa la meiosis para generar el tamaño óptimo cambiando de estadio a alveolo cortical y consecuente ovocitos en

vitelogenesis (Foucher y Beamish 1977) y así continuar el proceso de ovogénesis, convergiendo en su respectiva madurez, que es, cuando concluye la primera etapa de la meiosis justo cuando el ovocito entra en estadio de núcleo migratorio y consecuentemente en fusión de vitelo (fusión de la membrana vitelina), donde expulsa al primer cuerpo polar que se absorberá (Fulton, 1898 como se citó en Saborido, 2004).

Después los ovocitos tienen una segunda división de la meiosis para producir un ovocito haploide mediante el proceso de hidratación del ovocito (al final de la segunda división quedan en total tres cuerpos polares que son reabsorbidos). Cuando los ovocitos están hidratados es indicativo que habrá un desove en horas, en el cual serán expulsados al lumen ovárico y luego fuera del ovario por acción del desprendimiento del folículo (también llamado folículo post-ovulatorio) y este queda en el ovario para ser reabsorbido por células de la capa granular y continuar con el ciclo ovárico (Foucher y Beamish 1977; Nagahama, 1983).

Además, dentro del ovario se pueden producir procesos de interrupción en el crecimiento de los ovocitos individualmente o en grupos por atresia folicular la cual es una degeneración y permite el reciclaje de energía, puede suceder en cualquier momento durante el ciclo ovárico; los procesos de atresia folicular en peces se pueden clasificar en cinco etapas de degeneración progresivas: alfa, beta, gamma, delta y épsilon (Khoo, 1975; Nagahama, 1983; Saidapur, 1978; Valdebenito *et al.*, 2011). La atresia folicular es un fenómeno común en los ovarios de los peces teleósteos (Saidapur, 1978), sin embargo, también puede ser un proceso patológico o interrumpir el desove en los ovarios (Valdebenito, *et al.*, 2011).

Algunos autores como Brown-Peterson *et al.* (2011) han propuesto un ciclo ovárico en peces con cinco fases histológicas (inmaduro, desarrollo, capaz de desovar, regresión, regeneración), las cuales son distinguibles y generalizadas con base en los procesos de las células y tejidos presentes durante esos eventos, lo cual también permite identificar individualmente subfases de acuerdo al estudio de la especie objetivo. Esas etapas cíclicas concuerdan con los trabajos de Foucher y Beamish (1977) y Denton-Castillo (2018) referentes a *M. productus*.

2.6 Composición histológica y ciclo testicular en peces

Los testículos pueden tener diferentes morfologías, sin embargo, en una gran cantidad de peces óseos, son órganos pares alargados que se encuentran dentro de la cavidad abdominal unidos a la pared dorsal por una membrana llamada mesorquio o mesenterio (Billard, 1986; Uribe *et al.*, 2014).

Histológicamente, están organizados por dos compartimentos separados por una membrana basal. El compartimento germinal, lo conforman las células germinales (espermatogonias, espermatocitos, espermátidas y espermatozoides) y las células epiteliales somáticas (células de Sertoli) (Nagahama, 1983; 1994; Uribe *et al.*, 2014).

Y el otro compartimento es el intersticial conformado por tejido conjuntivo y células de Leydig y es encargado del sostén y resistencia, contiene fibroblastos, células que se encargan de la difusión de nutrientes, fibras nerviosas y vasos sanguíneos que están cercanos a las células de Leydig productoras de testosterona, además los elementos del tejido conectivo son continuos con la túnica albugínea que es la pared del órgano testicular (Nagahama, 1983; 1994; Koulis *et al.*, 2002 en Schulz *et al.*, 2010; Uribe *et al.*, 2014).

Asimismo, el testículo se puede clasificar por sus estructuras en lobular y tubular (Nagahama, 1983; Billard, 1986; Rodríguez-Gutiérrez, 1992). En los testículos lobulares, se han referenciado dos tipos de arreglos estructurales espaciales dentro del testículo que se basan en la distribución de las células germinales. En el caso uno, la distribución espermatogénica es no restringida, en donde las espermatogonias pueden estar distribuidas a lo largo de los lóbulos, esto específicamente en peces neoteleósteos. Por el contrario, en la distribución espermatogénica restringida, los lóbulos tienen un orden estructural de las células germinales en desarrollo con las espermatogonias establecidas en la periferia testicular, estilo de los peces atermorfos. Aunque, también parece existir una combinación entre la distribución restringida y no restringida como con los peces del orden Gadiformes (Schulz *et al.*, 2010; Uribe *et al.*, 2014).

En el caso de *M. productus*, presenta estructura tipo lobular (Denton-Castillo, 2018). Rodríguez-Gutiérrez (1992) señala que este tipo de estructura está compuesta por numerosos lóbulos, los cuales están separados unos de otros por una delgada capa de fibras de tejido conectivo y dentro de esos lóbulos las células especializadas realizan el ciclo espermatogénico.

Las células especializadas en los testículos que inician el ciclo reproductivo son las espermatogonias y en sus primeras etapas presentan morfología ovoide con un núcleo grande y redondo, en el estadio de proliferación se vuelve pequeño y redondo para transformarse en espermatocito primario y dar inicio con los estadios de meiosis I con la primera división de maduración, en donde el espermatocito primario reduce su tamaño, se transforma en secundario y continua a su segunda división meiótica dando origen a la espermátida la cual ya no tiene división celular y solo realiza la espermiogénesis que consiste en formar el espermatozoide (Rodríguez-Gutiérrez, 1992).

Los testículos presentan cambios morfológicos durante el ciclo reproductivo, los cuales se ven reflejados por diversos componentes que determinan estacionalidades (Billard, 1986) y durante ese ciclo se puede evidenciar histológicamente fases de desarrollo. Algunos autores mencionan que se pueden utilizar ciclos de desarrollo delimitados a cinco fases: I-retrocedido, II-maduración temprana, III-maduración media, IV-maduración tardía y V-regresión, con base en análisis histológico (Uribe *et al.*, 2014).

Particularmente en *Merluccius productus*, en el trabajo más reciente (Denton-Castillo, 2018) se identificaron histológicamente cinco fases de desarrollo testicular y cuatro subfases que incluyen inmaduro (subfases: inmaduro inactivo e inmaduro activo), desarrollo (subfases: desarrollo inicial y desarrollo avanzado), madurez, eyaculación y reposo.

2.7 Evaluación gonádica en peces

Las poblaciones de peces con aprovechamiento pesquero requieren de constante monitoreo y análisis para proporcionar conocimientos fundamentales que

contribuyan a la evaluación del estado de salud poblacional. Los aspectos de la biología reproductiva de las especies pueden emplearse para establecer la edad y talla a la que los peces alcanzan la madurez sexual y adquirir información desde el desarrollo gametogénico hasta el momento de desove y lugar de la reproducción (Holden y Raitt, 1975).

Existen distintas formas para evaluar la madurez gonadal en peces, un método práctico son las escalas morfocromáticas de desarrollo gonadal, que se establecen con base en la maduración de los productos sexuales, el crecimiento y cambios de las gónadas en la cavidad visceral. Se utilizan para evaluar y estimar el periodo de reproducción, proporción de machos y hembras en una población, permitiendo calcular la talla en la que se reproducen, sin embargo, pueden ser poco precisas al ser generalizadas y basarse solo en características como el tamaño, forma y coloración de las gónadas durante muestreos cíclicos (Rodríguez-Gutiérrez, 1992). Es por eso, que son apoyadas con otros métodos como el análisis histológico, el más recomendado, además de agregar otros estos métodos cuantitativos como los índices corporales que pueden ser usados como indicadores del estado fisiológico de las características fenotípicas de cada fase de desarrollo (Rodríguez-Gutiérrez, 1992).

Algunos de estos índices son, el índice gonadosomático (IGS) (Rossenblum *et al.* 1987; Rodríguez-Gutiérrez, 1992) y el índice gonadoalométrico (IGA) (Cervantes-Rendón, 2022) utilizado para describir la actividad reproductiva indicando el incremento en peso y en largo de la gónada respectivamente, conforme a su estado de desarrollo (Rodríguez-Gutiérrez, 1992). El índice gonadosomático utilizado en esos estudios para correlacionar el estado fisiológico con los cambios cíclicos ha resultado favorable, por lo tanto, se podría agregar más precisión y objetividad a los estudios de evaluación gonadal al utilizar índices que corroboren la distinción de cada fase de desarrollo ovárico y testicular.

La mayoría de las escalas morfocromáticas no incluyen esta información como referencia adicional y específica para distinguir las fases. Sin embargo, el trabajo de Maldonado-Amparo *et al.* (2017), en el cual se diseñó y validó una escala

para *Peprilus medius* (Stromateidae), incluye el IGS de cada fase, además de apoyo visual y los valores RGB (Red, Green, Blue) del color para mejorar las distinciones colorimétricas de las gónadas.

Cabe mencionar que en la merluza argentina (*M. hubbsi*) (Pájaro *et al.*, 2005), en la merluza del Pacífico (*M. productus*) (Denton Castillo, 2018; Salinas Mayoral, 2018) y en la merluza europea (*M. merluccius*) (Carbonara *et al.* 2019; Candelma *et al.* 2021) han utilizado el IGS con estudios histológicos para indicar cambios en el desarrollo de las gónadas y patrones en su actividad reproductiva, cuyas tendencias en valores altos indican procesos de madurez y en valores bajos evidencian el fin del periodo reproductivo. Demostrando eficacia en definir patrones reproductivos.

Sin embargo, otra alternativa al IGS que se ha utilizado cuando no hay posibilidad de obtener el peso en masa de las gónadas es el índice gonadoalométrico (IGA) que se estima a partir de la longitud de la gónada con respecto a la longitud del pez, y que demostró éxito en los resultados del estudio de Cervantes-Rendon (2022). En el cual refleja las tendencias y diferencias en el crecimiento longitudinal de la gónada respecto al desarrollo ovárico-testicular, por lo cual puede ser una herramienta muy útil para los análisis *in situ* a bordo de barcos de prospección pesquera, donde es difícil pesar las gónadas debido al movimiento del barco y es posible tener sesgo en las mediciones, por lo tanto, un índice morfofisiológico validado y basado en la longitud, como el IGA, puede ser eficiente para complementar y robustecer de forma rápida el diagnóstico de campo.

2.8 Escalas morfocromáticas para el diagnóstico del estatus gonadal

Estas escalas, permiten comparar el desarrollo de los ovarios y testículos de un gran número de individuos de una misma población, de una manera más rápida y al analizarlos se puede conocer la época de desove (Rodríguez-Gutiérrez, 1992). Identificar los periodos de aumento de la actividad reproductiva de las especies de forma rápida podría generar propuestas para regular el esfuerzo pesquero en

tiempo real durante ese periodo el cual se considera de gran vulnerabilidad (Denton-Castillo, 2018).

En particular, Foucher y Beamish (1977) definieron una escala morfocromática para el diagnóstico del estatus de los ovarios de *M. productus* con base al análisis histológico de las estructuras ováricas y las células germinales, misma que cuenta con ocho fases y cuatro subfases, e incluye como características para distinguir las fases el tamaño de la gónada, el espacio que ocupa en la cavidad visceral, coloración, textura, visibilidad de los ovocitos y vascularización, sin embargo, no proporciona apoyo visual. Aunque la escala propuesta por Foucher y Beamish (1977) es un buen avance para el diagnóstico del estatus gonadal del *M. productus*, solo proporciona información de las hembras, y cabe mencionar que la información sobre el estatus reproductivo de los machos también es necesaria para comprender la ocurrencia del desove y el éxito reproductivo en función de la sincronía y la actividad reproductiva de ambos sexos, además la escala no cuenta con el análisis de índices corporales para mejorar las distinciones entre fases.

Asimismo, de manera esencial, para estudios reproductivos es ideal tener escalas que consideren un menor número de fases de descripción del estatus gonadal, para que sean prácticas y que tengan mayor utilidad (Brown-Peterson *et al.*, 2011).

En ese sentido distintos trabajos han utilizado la escala de Brown-Peterson *et al.* (2011), por ser una guía simple y universal para peces en la que propone las fases: inmaduro, desarrollo, capacidad de desove, regresión y regeneración. La escala tiene como supuesto que aun cuando la secuencia temporal de eventos durante el desarrollo de los gametos en cada fase puede variar entre especies, cada fase tiene marcadores histológicos y fisiológicos específicos considerándose una escala conceptualmente universal. Por lo que, los criterios o clases histológicas específicas de la especie se pueden incorporar dentro de cada una de las fases, lo que permite divisiones (subfases) más específicas al tiempo que se conserva la terminología reproductiva general con fines comparativos.

Debido a la amplia diversidad de especies y variedad de formas de reproducción, se requiere que la elaboración de escalas sea basada en criterios específicos de cada especie y validados histológicamente para que permitan la identificación de los diferentes estados de maduración y así proporcionar el mínimo error posible (Gonçalves *et al.*, 2004) o diferencias significativas de asignación de la madurez gonádica de manera visual con respecto a la asignada histológicamente.

Un ejemplo claro se presenta en el trabajo de Denton-Castillo (2018) donde analizaron las fases de desarrollo gonádico de acuerdo a las características morfo cromáticas, utilizando la escala generalizada de Nikolsky (1963) pero al realizar los análisis histológicos sus resultados mostraron que las designaciones tuvieron errores de hasta el 100% en algunas fases como inmaduro, 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.

Por lo tanto, Denton-Castillo (2018) definió y describió el estatus gonadal solo a partir de las características celulares y tisulares (histológicas) de los ovarios y testículos de *M. productus*, resultando seis fases con dos subfases ováricas [inmaduro, desarrollo (con dos subfases desarrollo inicial y avanzado), madurez, desove parcial, reabsorción y reposo] y cinco fases con cuatro subfases testiculares [Inmaduro (dos subfases inactivo, activo), desarrollo (dos subfases desarrollo inicial y avanzado), madurez, eyaculación y reposo]. Cabe mencionar que la escala de Nikolsky (1963) considera como características de diagnóstico el espacio que ocupan las gónadas en la cavidad abdominal, la coloración y la textura, las cuales son datos empíricos generalizados.

En otro estudio de *M. productus* enfocado en el stock denominado “enano” (Vrooman y Paloma, 1977), en la zona de la costa occidental de Baja California Sur, México, Salinas-Mayoral (2018) diseñó una escala macroscópica modificada de las escalas de Alarcón *et al.* (2008) y Perea *et al.* (2015). Dicha escala constó de siete fases descritas en la literatura para organismos del mismo género y no se realizó validación histológica, asimismo en esta escala como en otras se consideran características generales de diagnóstico como la coloración, tamaño de las

gónadas, grosor de la pared gonadal, turgencia, vascularización, visibilidad de los ovocitos y coloración en específicas áreas del testículo. Sin embargo, es preciso destacar que en el estudio hicieron uso del método cuantitativo del índice gonadosomático mensual para machos y hembras evidenciando la mayor época reproductiva de la especie, con una proporción de individuos maduros que fue mayor en noviembre y diciembre, con los mayores índices representados por las hembras.

Zamora-García *et al.* (2020) utilizaron la escala morfocromática generalizada de cinco etapas para reproductores parciales de Holden y Raitt (1975), esto para determinar la madurez de la merluza del Pacífico y modificaron las fases para describir el estatus gonadal a través de las siguientes categorías: inmadura (etapa 1), en desarrollo (etapa 2), madura (etapa 3), desove (etapa 4), y después del desove o gastado (etapa 5). Cabe mencionar que la escala original de Holden y Raitt (1975), no considera “desove” y se divide en las siguientes fases: I, Inmaduro; II, virgen madurando y recuperando; III, madurando; IV, maduro; y V, después de la puesta; y considera las características macroscópicas de tamaño de la gónada en la cavidad abdominal, coloración, visibilidad de los gametos, vascularización y flacidez para definir el estatus gonadal. Zamora-García *et al.* (2020) utilizaron la escala para diferenciar juveniles de adultos y consideraron que los peces que tenían signos de desove reciente, actual o inminente (etapas 3-5) eran adultos, mientras que los peces asignados a las etapas 1 y 2 se consideraron juveniles y no realizaron análisis histológicos para confirmar sus criterios y a su vez, al no aplicar algún índice morfofisiológico los resultados podrían carecer de precisión.

Cabe mencionar, que debido a la amplia distribución de la familia Merluccidae, y la gran variedad del género *Merluccius* (13 especies) (Lloris *et al.*, 2005) hay estudios disponibles de otras especies de merluza como *M. capensis* en Sudáfrica (Botha, 1986), donde utilizaron una escala adaptada de la Comisión Internacional para la Pesca del Atlántico Suroriental (International Commission for the Southeast Atlantic Fisheries ICSEAF) para definir las fases testiculares y ováricas de merluzas.

Botha (1986) utilizó características morfocromáticas más específicas que las generales para la distinción de las fases testiculares, como coloraciones en ciertas áreas del testículo, las formas testiculares como longitud, delgadez y abultamiento lobular o si hay procesos de distensión (testículos alargados sin rigidez) y en hembras, se usaron caracteres generalizados como el tamaño de ovarios, coloración, expulsión al presionar, la visibilidad de los ovocitos opacos o traslúcidos y el vaciado de ovocitos de los sacos lobulares, concluyendo que fue una forma de clasificación práctica y sin dificultad para los observadores, sin embargo, no especifican una validación histológica. En cambio, en el trabajo de Perea *et al.* (2015) para *M. gayi peruanus* realizaron una escala morfocromática para la distinción de las fases testiculares y ováricas donde utilizaron los atributos morfocromáticos mencionados anteriormente ya con su respectiva confirmación histológica por fase (0-inmaduro, I-reposo, II-en madurez, III-maduro, IV-desovante/expulsante y V- recuperación).

Por último, *M. productus* es un desovador parcial (Foucher y Beamish, 1977; Wallace y Selman, 1981; Denton-Castillo, 2018), significa que desova múltiples lotes de ovocitos durante la época de desove, por lo cual requiere de mayor precisión en la designación de las fases, ya que la construcción de una escala de desarrollo gonadal para los reproductores parciales es más difícil porque hay una variedad de etapas de desarrollo en una gónada individual en cualquier momento (los ovarios contienen ovocitos en diferentes estadios de desarrollo al mismo tiempo) y la diferenciación lograda podría ser menos precisa (Holden y Raitt, 1975). Es por esto que, al añadir a la escala, características morfocromáticas más específicas de las generales, validarla con análisis histológico y con métodos de cuantificación como los índices corporales, se podría considerar una escala más precisa y objetiva para los estudios de evaluación pesquera.

2.9 La pesquería de merluza en México

A inicios de la década de 1980 se confirmó la presencia de merluza en el alto Golfo de California, sin embargo, no fue sino hasta la década de 1990 cuando

empezó a ser reconocida como una especie de valor; previamente la merluza solía ser capturada incidentalmente en las pesquerías de tiburón o de escama y regularmente era descartada (Mathews *et al.*, 1974; Zamora-García y Stavrinsky-Suárez, 2018). Los volúmenes de captura de merluza como captura incidental incentivaron a los pescadores a desembarcar merluza para su venta en los puertos de San Felipe (Baja California) y Puerto Peñasco (Sonora), convirtiéndose en una alternativa económica para los pescadores industriales de la región (Zamora-García y Stavrinsky-Suárez, 2018). El caso de la merluza del Pacífico es de especial interés porque es una pesquería monoespecífica en desarrollo (Ramírez-Rodríguez, 2017).

Por ende, como resultado de la alta aparición y biomasa de este recurso en otras pesquerías, se formalizó su pesquería determinando el aprovechamiento de *M. productus* en aguas de jurisdicción federal del litoral del océano Pacífico y el golfo de California y se iniciaron los procesos de gestión del recurso en 2018 (D.O.F., 11/06/2018).

Actualmente, en México, las medidas de manejo para controlar el esfuerzo pesquero es limitar el número de permisos con un esfuerzo óptimo de máximo 80 embarcaciones mayores (D.O.F., 11/06/2018) y la aplicación del sistema de cuotas de captura biológicamente aceptable (D.O.F., 11/06/2018), (Alvarez-Trasviña *et al.*, 2020). Asimismo, está en proceso de elaboración el Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-020-SAG/PESC-2019 para este recurso, con especificaciones para regular el aprovechamiento de merluza (*Merluccius productus*) en aguas de jurisdicción federal del litoral del océano Pacífico y el Golfo de California (D.O.F. 27/11/2019) y también un Plan de Manejo Pesquero. Lo más reciente, fue la actualización de la ficha del recurso en la Carta Nacional Pesquera en el año 2022 (D.O.F. 26/07/2022). Además, parte de las tácticas de manejo consisten en la regulación del arte y método de captura, en el que se utiliza una embarcación mayor con 10 toneladas de arqueo neto, con red de arrastre escamero o doble aparejo hasta de 30 metros de longitud y tamaño de malla de 152 mm en las alas, 127 mm en cuerpo y 101.6 mm en el copo (D.O.F., 11/06/2018).

Para este recurso se realizan cruceros de prospección acústica y pesquera a bordo del Buque de Investigación Pesquera (BIP-XI). Estos son realizados por el Centro Regional de Investigación Acuícola y Pesquera de Guaymas, Sonora (CRIAP-Guaymas) del Instituto Nacional de la Pesca y Acuicultura (INAPESCA). Se realizan diversos estudios para describir las características relevantes de la pesquería y la biología de la merluza del Pacífico y obtener información que se pueda utilizar como base para las evaluaciones de stock y ordenación pesquera.

Finalmente, de acuerdo con las recomendaciones de Denton-Castillo (2018), para contribuir al manejo efectivo de la pesquería sobre las agregaciones de desove se requiere que a bordo de las embarcaciones que realizan evaluaciones del recurso se cuente con una escala morfocromática diseñada específicamente para la especie objetivo y validada. Esto, permitirá realizar un diagnóstico histológico *in situ* con una precisión técnica adecuada para la evaluación de ciertos aspectos, entre ellos la temporalidad de los procesos reproductivos del recurso para una oportuna toma de decisiones.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Investigaciones previas (Denton-Castillo, 2018) demostraron que los registros en relación al estado de las gónadas de la merluza del Pacífico y que se realizan en los monitoreos en el centro y alto Golfo de California a partir de escalas morfocromáticas generalizadas para el diagnóstico de fases gonádicas en peces, pueden llegar a tener hasta un 100% de error en algunas fases.

Además, en las escalas morfocromáticas específicas para el diagnóstico del estatus gonadal de *M. productus* de Foucher y Beamish (1977) y Salinas-Mayoral (2018), ambas tienen más fases (ocho y siete) de las recomendadas (cinco) lo que les resta practicidad para su aplicación, no presentan apoyo visual y solo la primera escala tiene validación histológica para hembras y no presenta algún método cuantitativo como el índice gonadosomático. Específicamente en el estudio de Zamora-García *et al.* (2020) utilizaron una escala morfocromática para *M. productus* generalizada para reproductores parciales (Holden y Raitt, 1975) y cambiaron las

designaciones morfocromáticas y las etapas de juvenil-adulto sin análisis histológicos, por lo cual los resultados podrían ser imprecisos.

Los trabajos mencionados consideran características de forma y coloración similares a las escalas generalizadas, lo que pone en duda la precisión en el diagnóstico. Además, sólo la escala morfocromática de Salinas-Mayoral (2018) presenta información de los índices morfofisiológicos mensuales de la especie, los cuales proveen distinción en los cambios durante el ciclo gonádico, pero no presenta validación histológica. Por lo cual, actualmente la evaluación del estatus gonadal del recurso depende únicamente del análisis histológico cuando se trata de tomar decisiones de manejo y a pesar que el diagnóstico es preciso, el proceso es tardado y costoso (Lowerre-Barbieri *et al.*, 2011), por ende, las decisiones pueden ser inoportunas y es difícil mantener un seguimiento sistemático.

Finalmente, al no contar con una escala morfocromática diseñada específicamente para *M. productus* y validada que permita realizar un diagnóstico histológico *in situ* con una precisión y practicidad técnica adecuada para ambos sexos en la evaluación del recurso actualmente podría ser riesgoso utilizar la información tomada directamente en los barcos, ya que puede llevar a la toma de decisiones de manejo inadecuadas y derivar en serias afectaciones en la pesquería. Más aun considerando que la pesquería de merluza del Pacífico opera sobre una agregación reproductiva, por lo cual es de particular interés dar seguimiento al desempeño reproductivo del stock para la toma de decisiones.

4. HIPÓTESIS

La escala morfocromática de fases gonádicas diseñada para *M. productus*, que considera características fenotípicas previamente utilizadas como tamaño, turgencia, visibilidad de los ovocitos, expulsión de gametos, vascularización, color predominante, en conjunto con nuevos atributos como estado de las paredes ováricas, formaciones u ornamentos prominentes, largo y grosor lobular, coloraciones específicas y el índice gonadoalométrico, permite una distinción clara de las fases gonádicas en machos y hembras.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Diseñar una escala morfocromática específica e histológicamente validada para el diagnóstico del estatus gonadal de la merluza del Pacífico *Merluccius productus* que forma agregaciones en el centro y alto Golfo de California.

5.2 Particulares

1. Describir el aparato reproductor de hembras y machos.
2. Definir y describir histológicamente las fases ováricas y testiculares.
3. Describir el ciclo ovárico y testicular.
4. Explorar individualmente los índices gonadoalométrico, con respecto a las fases ováricas y testiculares.
5. Describir morfocromáticamente las fases ováricas y testiculares.

6. ÁREA DE ESTUDIO

La ubicación del área de estudio está representada por los sitios de pesca de la merluza del Pacífico utilizados por la flota mayor en aguas marinas de Jurisdicción Federal del alto y centro Golfo de California, México. De acuerdo a la figura 3 se presenta el área de prospección en la cual el Buque de Investigación Pesquera BIP XI siguió un derrotero preestablecido dirigido hacia la parte norte de la costa de Sonora, la península de Baja California y las grandes islas (isla Tiburón e isla Ángel de la Guarda) entre los 112° y 114° O y entre los 29° y 31° N.

Merluccius productus es habitante de algunas zonas del Golfo de California, este cuerpo de agua marino puede ser considerado como un laboratorio natural, ya que cuenta con una gran variedad de fenómenos físicos y biológicos de diferentes escalas espaciales y temporales, derivado de esto se cuenta con una alta biodiversidad de organismos (Castro *et al.*, 2000; Lara-Lara *et al.*, 2008). Además, es un área de importancia pesquera, hidrológica, geológica y biológica por sus

características, convirtiéndolo en uno de los cuerpos de agua más estudiado de México (Castro-Aguirre *et al.*, 1995).

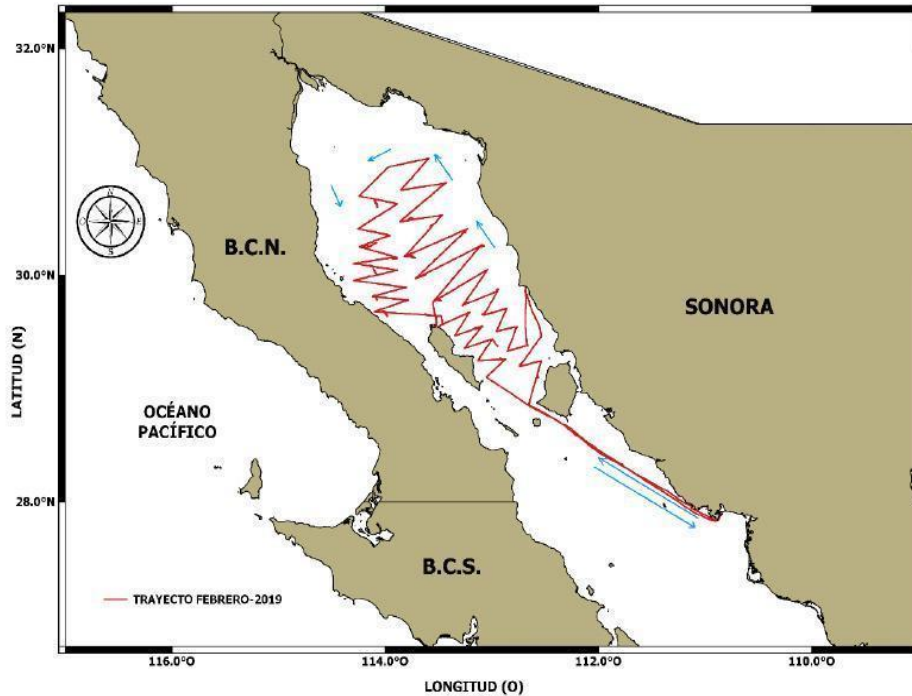


Figura 3. Área de estudio y trayecto durante el crucero de prospección acústica y pesca exploratoria de la merluza del Pacífico (*Merluccius productus*), en el Golfo de California, de febrero-marzo de 2019. Línea roja indica el trayecto del crucero y las flechas azules el orden de trayecto.

El Golfo de California es el único mar marginal del océano Pacífico oriental subtropical. Tiene forma de un largo rectángulo, que se extiende desde los 23° hasta los 32° de latitud norte, localizado en el noroeste de México, entre los estados de Sonora y Sinaloa y la península de Baja California en el oeste; hacia el sur, se comunica con el océano Pacífico, mide cerca de 1100 km de longitud y su ancho varía entre los 108 y 234 km (Castro-Aguirre *et al.*, 1995).

El alto Golfo de California está separado del resto del Golfo por dos grandes islas (Ángel de la Guarda y Tiburón) que, junto con una serie de pequeñas islas, son colectivamente llamadas la zona de las grandes Islas (Alvarez-Borrego, 1983).

Además, en esa región hay intensas corrientes de marea, las cuales crean procesos de surgencia exhibiendo altas concentraciones de nutrientes y las bajas temperaturas que se presentan son ideales para especies ícticas de origen boreal (Alvarez-Borrego, 1983; Castro-Aguirre *et al.*, 1995) y temperaturas de fondo de 13.2 °C a 14.0 °C son especiales para distinguir los centros de abundancia de la merluza del Pacífico y donde se puede encontrar a los organismos de tallas mayores (Alvarez-Trasviña *et al.*, 2022).

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Muestreos

Las muestras de *Merluccius productus* se tomaron del crucero de prospección de pesca del Buque de Investigación Pesquera BIP XI, colectados del Golfo de California de la zona centro y norte durante la temporada de pesca de 2019 en los meses de febrero y marzo, obteniendo 799 peces para analizar. Investigación referida dentro del proyecto “Dinámica poblacional de la merluza (*Merluccius productus*) en el Golfo de California” del CRIAP-Guaymas de INAPESCA.

Para llevar a cabo los lances primero se detectaron las agregaciones demersales a partir de la ecosonda científica SIMRAD EK60, equipado con dos transductores de 38 kHz y 120 kHz de mono haz dividido, posterior a esto se realizó la captura de los organismos utilizando una red de arrastre demersal largada por popa (33.8 m relinga superior con luz de malla de 6” en el cuerpo y 3½” en el copo), cada lance se realizó con un tiempo de duración aproximado de 30 minutos. Durante la captura se registró la temperatura y la profundidad *in situ* con ayuda de una sonda multiparamétrica (CTD), y además se obtuvieron las coordenadas de cada lance.

Una vez que la red liberó la captura a bordo de la embarcación se separó la fauna acompañante de la merluza. Se realizaron biometrías a cada merluza utilizando una cinta métrica flexible (± 1 cm) obteniendo la longitud total (LT, cm) y la longitud patrón (LP, cm), (Fig. 4). Posteriormente solo algunos organismos (debido a condiciones adversas) fueron pesados con una báscula de reloj (± 0.1 kg) para obtener el peso total (PT, en gramos).

Se realizó una incisión ventral desde el ano hacia la parte anterior de los especímenes, se extrajo la gónada, se identificó el sexo y se observaron y registraron las características morfocromáticas de las gónadas, tales como coloración, consistencia, apariencia y vascularización, se tomaron fotografías de algunas gónadas junto a una regla milimétrica. Además, algunos ovarios y testículos fueron pesados (cuando hubo oportunidad), y todas las muestras fueron fijadas en solución Davidson (Glicerina, formaldehído al 37%, alcohol etílico 96° y agua de mar filtrada) (Muñetón-Gómez *et al.*, 2000), finalmente fueron guardadas en bolsas de plástico con la relación 3:1 de fijador, etiquetadas con papel opalina marcadas con lápiz, para su posterior procesamiento histológico.

Cabe mencionar que la mayoría de las fotografías ejemplo del espécimen completo (Fig. 1 y 4), pierden una gran parte de sus escamas durante la operación del arrastre con la red, sin embargo, es evidente su coloración blanquecina del vientre y dorso plateado



Figura 4. Referencia de las biometrías realizadas a *Merluccius productus* del centro y alto Golfo de California. Longitud total (LT) y longitud patrón (LP). Barra de escala de 5 cm.

7.2 Descripción del aparato reproductor

Se realizaron disecciones a los especímenes de *M. productus* para examinar cuidadosamente el aparato reproductor y la cavidad visceral, también se tomaron fotografías. A partir de las observaciones se hizo una descripción de la estructura

morfológica de ovarios y testículos, su posición y conexiones en la cavidad visceral, forma de la cavidad visceral y órganos adyacentes. Como referencia se utilizó una serie de estudios sobre el aparato reproductor y desarrollo gonadal del género *Merluccius*, entre los que destacan Wallace y Selman (1981), Gonçalves *et al.* (2004), Macchi y Díaz (2013), Perea *et al.* (2015), Denton-Castillo (2018), Salinas-Mayoral (2018) y estudios de morfología ovárica en peces (Kobelkowsky, 2012). Esta descripción tiene el propósito de conocer a detalle macroscópico del aparato reproductor, de manera que se complemente la comprensión del potencial o limitación del desarrollo gonadal dentro de la cavidad visceral.

7.3 Proceso histológico

Para el análisis histológico las muestras que estaban preservadas en la solución Davidson fueron sacadas del fijador y lavadas con agua, y la solución fijadora se preservó en bidones para su respectivo desecho. Las muestras se colocaron por grupos de aproximadamente 30 a 80 gónadas en un sistema de circulación continua de agua y fueron lavadas durante ocho horas aproximadamente para eliminar la mayor parte del fijador. Después, se cortó una sección transversal de la parte media de un lóbulo gonadal de acuerdo a la metodología de Denton-Castillo (2018), específicamente del lóbulo izquierdo, misma que se colocó en casetes histológicos y se conservó en una solución de alcohol etílico al 70%. Posteriormente los tejidos se deshidrataron con isopropanol en concentraciones ascendentes y se procedió a aclarar los tejidos en una solución de isopropanol y aceite mineral puro a 50 °C y finalmente se impregnaron en parafina (Denton-Castillo, 2018; Buesa y Peshkov, 2009) (Tabla I) mediante el equipo procesador de tejidos Histoquinete Excelsior AS, Thermo Scientific.

Tabla I. Tiempos de inmersión para proceso de deshidratación, aclarado con isopropanol y aceite mineral e impregnación en parafina que se aplicó a las gónadas de *Merluccius productus* (Buesa y Peshkov, 2009).

Reactivo	Temperatura	Tiempo
Isopropanol 70%	35°C	45 min
Isopropanol 80%	35°C	45 min
Isopropanol 96%	35°C	45 min
Isopropanol 95%	35°C	45 min
Isopropanol puro	35°C	45 min
Isopropanol y aceite mineral (5:1)	50°C	90 min
Isopropanol y aceite mineral (2:1)	50°C	90 min
Aceite mineral	50°C	60 min
Parafina	68°C	45 min
Parafina	68°C	60 min
Parafina	68°C	60 min

Al terminar el proceso de deshidratación, aclarado e impregnación, las muestras se procesaron en el centro de inclusión de parafina HistoCore Arcadia H Leica, se colocaron en moldes plásticos y llenaron con parafina hasta obtener un bloque con el tejido posicionado en la parte central del molde. Para continuar, se realizaron cortes histológicos de 5 µm de espesor con un microtomo semiautomático Microm HM 355S Thermo Scientific. A los ovarios que tuvieron un alto grado de desarrollo se les aplicó el método de Baker (Gray, 1972) para realizar el corte de tejido en el microtomo. Para continuar los cortes histológicos se colocaron uno por uno en un baño de flotación para secciones de parafina Electrothermal MH8517 con agua filtrada y grenetina, a una temperatura alrededor de 35°C para lograr extender el tejido y se recogieron de manera ordenada con un portaobjeto etiquetado, en el cual se dejó secar el tejido a temperatura ambiente.

Antes de proceder a teñir los portaobjetos con el tejido se desparafinaron mediante calor dejándolos en la estufa a 70°C por 12 horas aproximadamente y la restante parafina de las muestras se eliminó con una solución de agua a 90°C con jabón lavatrastes al 1.7% (Buesa y Peshkov, 2009). Los cortes se tiñeron mediante la técnica de tinción hematoxilina-eosina (Humason, 1979; Muñetón-Gómez *et al.*,

2000), por último, los cortes teñidos se montaron en resina sintética (Cytoseal) para su preservación y posterior análisis (Tabla II).

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

Reactivo	Tiempo
Agua 90°C y jabón	1 min
Agua 90°C y jabón	1 min
Agua 90°C y jabón	1 min
Agua corriente 90°C	1 min
Agua corriente 45°C	1 min
Agua corriente	1 min
Hematoxilina	6 min
Agua corriente	1 min
Alcohol-ácido acético	3 seg
Agua corriente	1 min
Agua amoniacal	6 seg
Agua corriente	1 min
Alcohol 80%	30 seg
Eosina	4 min
Alcohol 80%	30 seg
Alcohol 96%	30 seg
Alcohol 100%	10 seg
Alcohol 100%	10 seg
Citrisolv I	1 min
Citrisolv II	1 min
Citrisolv III	1 min

7.4 Diagnóstico histológico

Consistió en observar y diagnosticar por medio de microscopía óptica las características y los procesos que se llevan a cabo a nivel celular y tisular de los tejidos de 400 ovarios y 329 testículos de *M. productus* procesados en las láminas

histológicas, y a partir de ello se designó la fase de desarrollo gonádico de hembras y machos.

Se realizó una base de datos con la descripción de las características histológicas de cada una de las láminas, identificando la estructura, composición y reconstitución del órgano, los estadios y la actividad de las células ováricas y testiculares con base en los trabajos de Wallace y Sellman (1981), Rodríguez-Gutiérrez (1992), Blazer (2002) Schulz *et al.* (2010), Brown-Peterson *et al.* (2011), Valdebenito *et al.* (2012) y Uribe, *et al.* (2014) y estudios específicos de la especie como Foucher y Beamish (1977; 1980) y la asignación histológica de merluzas hembras y machos del trabajo de Dentón-Castillo (2018).

Cabe mencionar que para las descripciones histológicas de hembras también se consideró la literatura de las diversas especies del género *Merluccius*, como la merluza argentina (*M. hubbsi*) (Macchi y Díaz, 2013; Rodrigues *et al.* 2018), de la merluza del Pacífico Sur (*M. gayi peruanus*) (Perea *et al.* 2015) y de la merluza europea (*M. merluccius*) Gonçalves *et al.* (2004), Carbonara *et al.* (2018) y Candelma *et al.* (2021). Es importante indicar que hay menor cantidad de literatura histológica con relación a las merluzas macho, por lo cual este trabajo contribuirá a las listas de referencias como las utilizadas en el diagnóstico histológico de este trabajo (Perea *et al.*, 2015; Alvarado *et al.*, 2015; Rodrigues *et al.*, 2018).

Con el propósito de presentar evidencia que apoye el diagnóstico histológico se tomaron microfotografías de los tejidos gonádicos con el microscopio Leica modelo DM750 con cámara digital Leica ICC50W y microscopio WESCO XSZ-107 E con cámara ocular modelo SCMOS05000KPA.

Se realizaron mediciones de las estructuras celulares de las microfotografías de los tejidos de los ovarios y testículos procesados con el programa Sigma Scan Pro 5.0. Se calibró cada microfotografía para medir la pared ovárica.

El diámetro de los diferentes estadios de los ovocitos pre-vitelogénicos y en vitelogénesis se estimó con el promedio resultante del diámetro con base en la medición del perímetro (Pr) del ovocito a partir de la ecuación $D = Pr/\pi$ con base la recomendación de Vélez-Arellano *et al.* (2022) para medir con mayor precisión el

contorno de los ovocitos en estadios de madurez (núcleo migratorio, fusión vitelo e hidratados) que presentan deformidad por acción de la técnica histológica. Se utilizaron algunas referencias para la comparación de medidas de ovocitos en otros estudios de *M. productus* (Foucher y beamish, 1980; Denton-Castillo, 2018) y de otras especies de merluza (Goncalves *et al.* 2004; Carbonara *et al.* 2018; Candelma *et al.* 2021).

7.5 Descripción de ciclo ovárico y testicular

Se describió el inicio y sucesión cíclica de las fases ováricas y testiculares de *Merluccius productus* con base en los procesos de ovogénesis y espermatogénesis respectivamente y con ello se definieron los evidentes cambios micro y macro estructurales de las gónadas considerando trabajos como Foucher y Beamish (1977; 1980), Wallace y Sellman (1981), Nagahama, (1983), Schulz *et al.* (2010), Uribe, *et al.* (2014) y se realizó la secuencia de los ciclos reproductivos en forma de diagrama como el presentado por Brown-Peterson *et al.* (2011) con marcadores universales histológicos que permitieron diseñar las subfases de acuerdo a los procesos microestructurales y celulares diagnosticados en los ovarios y testículos de la merluza del Pacífico.

7.6 Índice gonadoalométrico con respecto a las fases ováricas y testiculares

7.6.1 Índice gonadoalométrico (IGA)

Para mejorar la precisión y objetividad de la escala morfocromática se ha implementado el uso del índice gonadoalométrico (IGA) (Cervantes-Rendón, 2022) como un indicador del estado fisiológico de las características morfológicas de la gónada, que permiten distinguir el desarrollo gonadal basándose en la estimación de la proporción de la longitud o ancho de la gónada sobre la longitud patrón del pez para analizar si existe una relación en las tendencias morfológicas que permitan indicar la distinción de cada fase ovárica y testicular.

Es preciso mencionar que al ser gónadas bilobuladas regularmente se presenta asimetría y es importante aclarar si existe alguna tendencia conforme el desarrollo gonadal, por tal motivo se realizaron cuatro pruebas con el índice Gonadoalométrico (IGA) (Cervantes-Rendon, 2022), utilizando las medidas del ancho medio de las gónadas izquierda y derecha y la longitud mayor y menor de la gónada para hembras y machos utilizando los siguientes índices.

$$IGA = \frac{\text{Ancho izquierdo de la gónada}}{\text{Longitud Patrón del organismo}}(100)$$

$$IGA = \frac{\text{Ancho derecho de la gónada}}{\text{Longitud Patrón del organismo}}(100)$$

$$IGA = \frac{\text{longitud mayor de la gónada}}{\text{Longitud Patrón del organismo}}(100)$$

$$IGA = \frac{\text{Longitud menor de la gónada}}{\text{Longitud Patrón del organismo}}(100)$$

Los ovarios y testículos se midieron dos veces, primero mediante las imágenes digitales tomadas durante los muestreos a bordo del BIP XI (297 gónadas en fresco) y segundo con las imágenes digitales que se tomaron después de eliminar la solución Davidson de cada una de las gónadas que posteriormente fueron procesadas histológicamente (746 gónadas fijadas).

Se registraron las medidas del ancho medio del lóbulo izquierdo y derecho, así como la longitud menor y mayor de cada ovario y testículo en centímetros (figura 5 y figura 6). Todas las imágenes digitales fueron procesadas con el programa Sigma Scan Pro 5.0 y calibradas para la toma de medidas en centímetros con referencia a la regla milimétrica de cada fotografía.

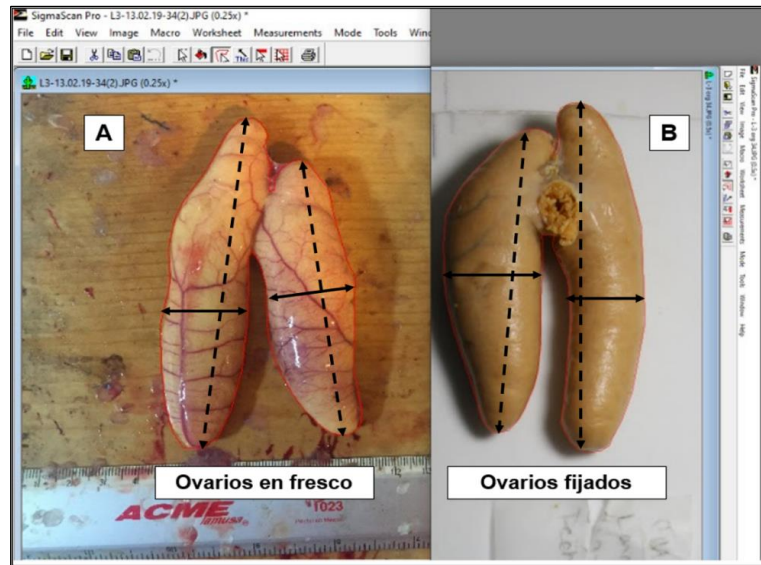


Figura 5. Fotografías de (A) ovarios de *Merluccius productus* en fresco (B) ovarios fijados con solución Davidson y flechas punteadas y sólidas con las medidas registradas en Sigma Scan Pro 5.0.

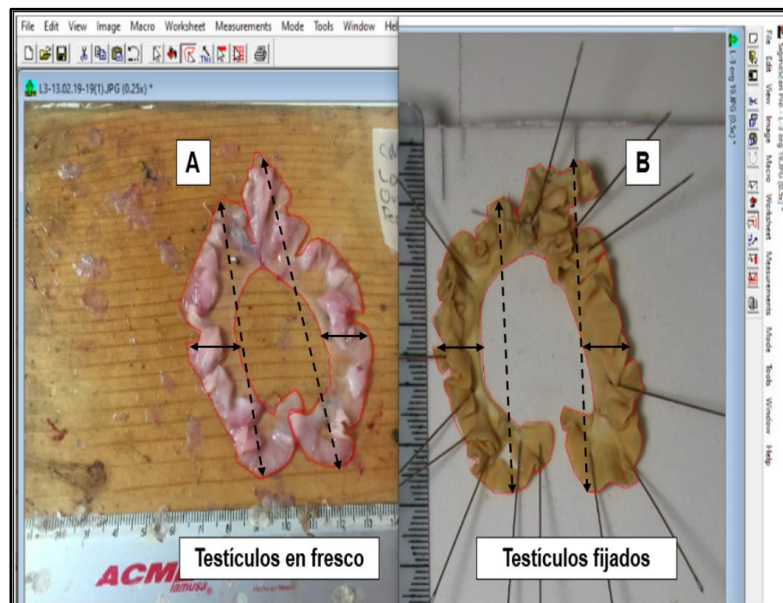


Figura 6. Fotografías de testículos de *Merluccius productus*. (A) testículo en fresco, (B) testículo fijado con solución Davidson y flechas punteadas y sólidas con las medidas registradas en Sigma Scan Pro 5.0.

Con el propósito de mantener el orden de visualización y determinación del lóbulo gonadal izquierdo y derecho de las gónadas para todos los observadores por igual, los ovarios y testículos se posicionaron con el oviducto y conducto espermático visibles hacia arriba, la gónada se posicionó horizontalmente a una regla milimétrica con la parte posterior sobre los 0 cm de la regla, determinando así que el lóbulo izquierdo será el que esté inmediato a la escala de la regla (Fig. 7).

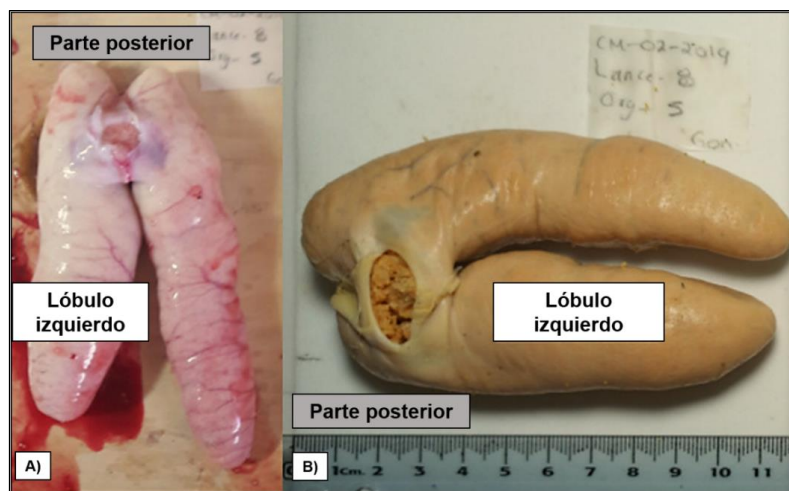


Figura 7. Ejemplo de la posición de las gónadas para la determinación de los lóbulos izquierdo y derecho de *Merluccius productus*. (A) Ovario en fresco, (B) ovario fijado con solución Davidson.

Se evaluó el efecto de las gónadas de hembras y machos respecto a la variable IGA utilizando el ancho lobular izquierdo y derecho, así como el IGA utilizando la longitud lobular mayor y la longitud lobular menor para la distinción de las fases ováricas y testiculares.

Para la distinción de las fases ováricas y testiculares utilizando los diferentes cálculos del IGA se examinó con gráficas de cajas y bigotes (“Boxplot”) con ayuda de los programas R-Project y Minitab para ello, primero se evaluó la normalidad y homocedasticidad de los datos residuales de las pruebas del IGA (ancho y longitud lobular), aplicando la prueba de Shapiro-Wilks y Bartlett, respectivamente. Posteriormente, de acuerdo con los resultados se realizaron pruebas no paramétricas (diferencias entre las mediana) de Mann-Whitney para evaluar las

diferencias estadísticas del IGA (ancho y longitud lobular) de hembras y machos, y Kolmogorov-Smirnov (KS-test) para evaluar el efecto en las distinción de las fases gonádicas respecto al IGA (ancho y longitud lobular); o paramétricas (diferencias entre las medias) como una t de Student o análisis de varianza (ANOVA), de haber diferencias significativas se procedió a pruebas de comparaciones de rangos medios (medianas) o comparaciones de medias múltiples (Zar 1999, Quinn y Keough 2002). Todas las pruebas se realizaron a un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

7.6.2 Atributos de color valores RGB y código hexadecimal (HEX) de las gónadas

Para la cuantificación del color de las gónadas se obtuvieron los valores RGB (Red, Green and Blue) y el código de color hexadecimal a partir de las fotografías de los ovarios y testículos mediante el software de edición paint.net, se realizaron ajustes manuales para definir los colores predominantes y fijarlos completamente por gónada o asignar varios colores para las partes lobulares internas y las externas característicos de cada fase ovárica y específica con base en el trabajo de Maldonado-Amparo et al. (2017).

De la misma forma, se registró el código de color hexadecimal (HEX) que está compuesto por seis caracteres alfa-numéricos derivados de los valores RGB que brinda el mismo software de edición paint.net, esto, como una manera más fácil de encontrar el color específico y su variedad de gamas, de acuerdo a los procesos de colorimetría de imagen digital (Digital Image Colorimetry DIC) ya que al “medir los colores” de las gónadas en este caso, se puede transformar esta información de color en valores numéricos que pueden tratarse como información analítica y permiten una estandarización de color (Fan et al., 2021).

7.7 Descripción morfocromática de las fases ováricas

Con la finalidad de distinguir las características morfocromáticas a simple vista de cada una de las fases ováricas y testiculares, se utilizaron las evidencias

fotográficas tomadas durante el muestreo biológico a bordo del BIP XI, antes de ser preservadas con solución Davidson, siendo un total de 187 ovarios fotografiados, los cuales cumplieron con la calidad adecuada y sus fases ováricas fueron previamente diagnosticadas histológicamente.

Para la selección de los atributos morfocromáticos específicos de cada fase ovárica se utilizó un cotejo con las escalas morfocromáticas de desarrollo ovárico de *M. productus* validada histológicamente como la de Foucher y Beamish (1977), la escala generalizada para peces con marcadores histológicos adaptables a la especie estudio (Brown-Peterson *et al.*, 2011) y otra escala de *M. gayi peruanus* con análisis histológicos (Perea *et al.*, 2015). Para cotejar con los estudios mencionados se realizó la disposición de los datos en forma de tabla y se homogeneizaron las escalas en cinco fases ováricas generalizadas adaptadas a la información respectiva (Tabla III).

7.8 Descripción morfocromática de las fases testiculares

En el caso de los machos, las características morfocromáticas de 110 fotografías de los testículos de merluza del Pacífico previamente diagnosticadas histológicamente, también se cotejaron con los estudios de Botha (1986) donde utilizaron la escala de madurez para merluzas adaptada de la Comisión Internacional de Pesquerías del Atlántico Sud-Oriental (ICSEAF) resultando una fácil identificación de las fases testiculares de las merluzas *M. capensis* y *M. paradoxus*, la escala con fases adaptables y validadas histológicamente (Brown-Peterson *et al.*, 2011) y la escala de *M. gayi peruanus* (Perea *et al.*, 2015). Se realizó la disposición de los datos en forma de tabla homogeneizando las escalas en cinco fases testiculares generalizadas adaptadas a la información respectiva (Tabla IV).

Tabla III. Comparación de las características morfocromáticas de las fases ováricas de diferentes escalas validadas histológicamente para *Merluccius productus* Foucher y Beamish (1977), la escala con fases adaptables y validadas histológicamente (Brown-Peterson *et al.*, 2011) y la escala de *M. gayi peruanus* (Perea *et al.*, 2015).

	Características morfocromáticas de cada fase de desarrollo		
Fases ováricas	Foucher y Beamish (1977)	Brown-Peterson <i>et al.</i> (2011)	Perea <i>et al.</i> (2015)
1- Inmaduro	<p>Inmaduro 1: Ovarios pequeños rosas claros a semitransparentes.</p> <p>Inmaduro 2: Igual que inmaduro 1, solo tienen diferenciación microscópica.</p>	<p>Inmaduro: Ovarios pequeños frecuentemente claros vasos sanguíneos indistintos.</p>	<p>Virginal (estadio 0): Ovarios de aspecto homogéneo y transparente, pared del ovario muy delgada con poco o ningún desarrollo vascular.</p>
2-Desarrollo	<p>Madurando 1: Ovarios ampliado hasta 1/4 de la cavidad corporal de color amarillo claro con vasos sanguíneos.</p> <p>Madurando 2: Ovarios llenando más de 1/3 de la cavidad corporal color amarillo, vascularización pronunciada.</p>	<p>Desarrollo: Agrandamiento de los ovarios, con vasos sanguíneos diferenciados.</p>	<p>Madurando (estadio II): Ovarios de mediana turgencia. Ovocitos visibles al hacer un corte transversal a la gónada. Ovario color ligeramente amarillo y sin flacidez.</p>
3- Madurez	<p>Madurez: Ovarios llenan 1/2 a 1/3 de cavidad corporal son amarillos.</p> <p>Madurez 1: llenan 1/2 a 1/3 de cavidad corporal son amarillos traslúcidos, menos de la mitad de los ovocitos son traslúcidos.</p> <p>Madurez 2: Ovarios llenan 2/3 de la cavidad corporal son amarillos traslucidos, más de la mitad de los ovocitos son traslúcidos.</p>	<p>Maduro: Ovarios grandes, con ovocitos individuales visibles a simple vista.</p>	<p>Madurez: Amplia gama de variaciones cromáticas desde amarillo pálido hasta el naranja. Caracterizado por una mayor turgencia y desarrollo vascular. Puede haber ovarios con longitudes variables grandes y pequeños.</p>

<p>4- Desove</p>	<p>Desove: Expulsión de los ovocitos translúcidos por el conducto ovárico a ligera presión, ovarios casi llenan la cavidad corporal ovocitos sueltos en ovarios traslucidos.</p> <p>Gastados: Ovarios sanguinolentos, color púrpura y flácidos llenan 1/3 de la cavidad corporal puede haber ovocitos remanentes traslúcidos.</p>	<p>Capaz de desovar: Ovarios grandes, con ovocitos individuales visibles a simple vista.</p>	<p>Desovante (estadio IV): Hay dos condiciones diferenciadas. Individuos en condición hidratados presentan ovarios con la máxima turgencia de color anaranjados y completamente traslucidos y visibilidad de los ovocitos hidratados.</p> <p>La otra condición son los ovarios recién desovados, presentan coloración rojo sanguinolenta y aspecto flácido, la sanguinolencia es homogénea en todo el ovario.</p>
<p>5- Postdesove</p>	<p>Reabsorción: Ovarios sin desovar, grandes llenan 1/2 cavidad corporal, suaves y flácidos ovocitos grandes y acuosos.</p> <p>Recuperación: Ovarios moderadamente firmes llenan menos de 1/2 cavidad corporal vuelven al tamaño previo a la maduración. Ovocitos pequeños.</p> <p>Reposo: Ovarios menos de 1/4 de la cavidad corporal, moderadamente firmes con un brillo blanco en la superficie.</p>	<p>Regresión: Ovarios flácidos vasos sanguíneos prominentes.</p> <p>Regeneración: Ovarios pequeños vasos sanguíneos presentes, ovario con pared gruesa.</p>	<p>Recuperación (estadio V): Ovarios anaranjado intenso (por la atresia en ovocitos) los ovarios en ocasiones pueden tener tonalidades vino o lacre o visualizar ovocitos en grumos, pueden ser flácidos o poco turgentes.</p> <p>Reposo (estadio I): Son de aspecto homogéneo y transparente, pero poseen la pared ovárica gruesa al efectuar un corte, coloración amarillenta o ligeramente rojiza, con vascularización externa mediamente desarrollada, observándose el principal vaso sanguíneo.</p>

Tabla IV. Comparación de las características morfocromáticas de las fases testiculares de diferentes escalas. Escala adaptada para merluzas de Botha (1986) la escala con fases adaptables y validadas histológicamente de Brown-Peterson *et al.*, (2011) y la escala de fases testiculares de *M. gayi peruanus* Perea *et al.*, (2015).

Fases testiculares	Características morfocromáticas de cada fase de desarrollo		
	Botha (1986)	Brown-Peterson <i>et al.</i> (2011)	Perea <i>et al.</i> (2015)
1- Inmaduro	Inactivo: Testículos muy pequeños, delgados, transparentes y con forma de cinta, sin lóbulos.	Inmaduro: Testículos pequeños a menudo claros y filiformes.	Virginal (estadio 0): Testículos delgados y pequeños, color transparente a ligeramente rosados. No presenta ninguna región blanquecina.
2-Desarrollo	Activo: Testículos más grandes y distendidos. Color blanco opaco típicamente lobulados.	En desarrollo: Testículos pequeños y fácilmente identificables.	En Maduración (estadio II): Testículos con zonas de aspecto blanquecino y otras transparentes o semitransparentes. Las zonas blanquecinas no son muy desarrolladas.
3- Madurez	Madurez: Testículos muy grandes en relación al pez, color blanco opaco, distendidos con esperma con lóbulos pronunciados.	Madurez (capaz de eyacular): Testículos grandes y firmes.	Maduro (estadio III): Testículos color blanco homogéneo en todos los lóbulos sin zonas traslúcidas o semi traslúcidas. Son de aspecto turgente debido al grado de llenado de los túbulos seminíferos.

4- Eyaculación	Eyaculación: Testículos muy grandes y distendidos con esperma que fluye espontáneamente.	Madurez (capaz de eyacular): Testículos grandes y firmes.	Expulsante (estadio IV): Al presionar hay expulsión del líquido espermático o puede fluir solo. Hay condición de reciente o finalizando expulsión con testículos con regiones rosáceas y lóbulos blancos y desarrollados.
5-Post-eyaculación	Gastados: Testículos grandes, lobulados, flácidos, pero no distendidos.	Regresión: Testículos pequeños y flácidos sin liberar semen al presionarlos. Regeneración: Testículos pequeños a menudo filiformes.	Post-expulsante (estadio V): Testículos parecidos a la fase de madurez, sin embargo, tiene lóbulos desarrollados, flácidos con escasas zonas blanquecinas y aspecto rojizo. Reposo (estadio I): Testículos sin zonas blanquecinas, puede tener tonalidades rosas o ligeramente rojizas producto de la vascularización. Los lóbulos testiculares no son turgentes.

8. RESULTADOS

8.1 Descripción del aparato reproductor de *Merluccius productus*

En la merluza del Pacífico los órganos reproductivos presentan diferenciación morfológica entre sexos, los ovarios y testículos se ubican dentro de la cavidad visceral de los peces respectivamente, se posicionan desde la parte posterior del pez, donde se encuentra la unión de ambos lóbulos y se extienden longitudinalmente hasta la parte anterior de pez (cabeza), ambos lóbulos están posicionados sobre la vejiga natatoria y se intercalan con el estómago, cuando este se encuentra lleno posiciona a los lóbulos izquierdo y derecho arriba y debajo respectivamente. En la parte posterior del pez se encuentra el poro urogenital donde se conecta con el gonoconducto (oviducto en hembras y conducto espermático en machos) que se abre al exterior a partir del orificio donde son liberados los gametos. Además, en la parte posterior del pez, después del poro urogenital hay espacio para el crecimiento gonadal, sin embargo, es poco por la cantidad de tejido muscular de la parte posterior, por lo cual el crecimiento de los ovarios y testículos se extiende más hacia la parte anterior del pez. En hembras regularmente se crea un vientre más abultado y redondeado que en los machos.

Los ovarios se caracterizan por ser dos lóbulos ambos funcionales, fusionados sólo alrededor del oviducto y separados con poco crecimiento lobular de la parte superior y con mayor crecimiento longitudinal de la parte media a inferior lobular creciendo hasta la parte anterior del pez dividiéndose en lóbulo izquierdo y derecho. Se clasifican en la categoría de tipo cistováricos, lo que quiere decir que los ovocitos son liberados al lumen del ovario y cuando están listos para ser expulsados pasan por el oviducto hacia el poro urogenital para ser liberados al medio marino. Además, se pueden distinguir por su forma de sacos alargados, que van hinchándose hasta contraerse conforme avanza el ciclo ovárico (Figuras 8 y 10A).

Los ovarios están posicionados sobre la vejiga natatoria, la cual es larga y está ubicada dorsalmente. Los lóbulos izquierdo y derecho son suspendidos por el mesenterio longitudinal también llamado mesovario, tejido que conecta desde el final del ovario hasta inicios del estómago. A centímetros del oviducto se encuentra la vejiga urinaria que conecta con los riñones, lo cual sirve de sostén posterior para los ovarios. En la parte anterior del pez están las branquias, hígado, corazón, y estómago que conecta con los intestinos los cuales también expulsan su contenido por el poro urogenital (Fig. 8).

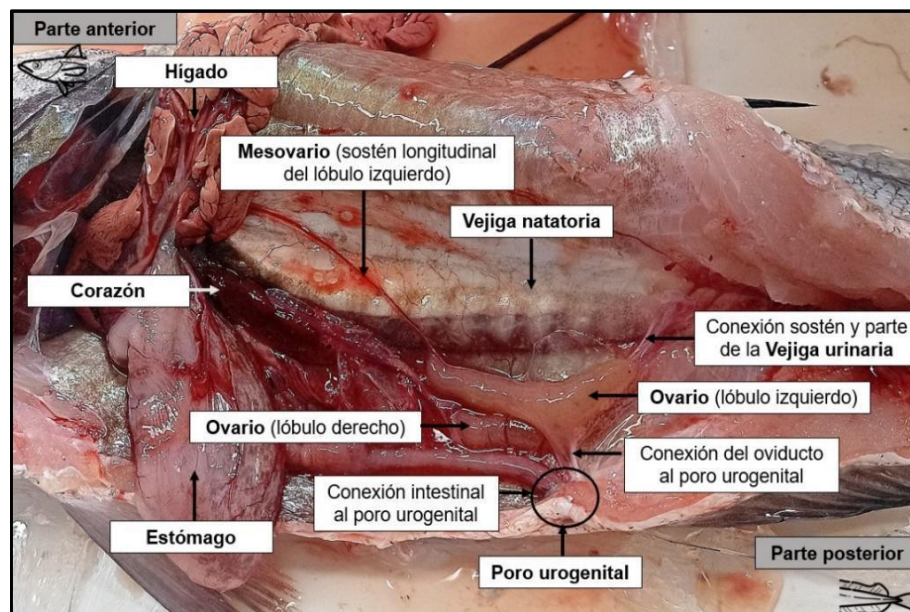


Figura 8. Ubicación de los ovarios y órganos dentro de la cavidad visceral de *Merluccius productus* del centro y alto Golfo de California.

Los testículos son dos lóbulos alargados que se fusionan en la parte posterior en torno al conducto espermático y crecen hacia la parte anterior del pez con ondulaciones en los márgenes lobulares externos que se transforman en pliegues turgentes que se enroscan. Son totalmente funcionales y están suspendidos por el mesenterio longitudinal y se encuentran sobre la vejiga natatoria. El lóbulo izquierdo y derecho se posicionan uno sobre otro y cuando el estómago está muy lleno este

queda entre ambos lóbulos separándolos longitudinalmente hacia la parte anterior del pez.

Conforme mayor es el grado de desarrollo presentan pliegues tipo olas u ondulaciones en los márgenes externos, estos pliegues se van hinchando por el aumento de espermatozoides hasta enroscarse y ambos lóbulos de la parte superior se alargan de forma oblonga y sobresaliente. Además, cuando presenta mayor desarrollo la parte inferior de ambos lóbulos se envuelven internamente (Fig. 9 y 10 B).

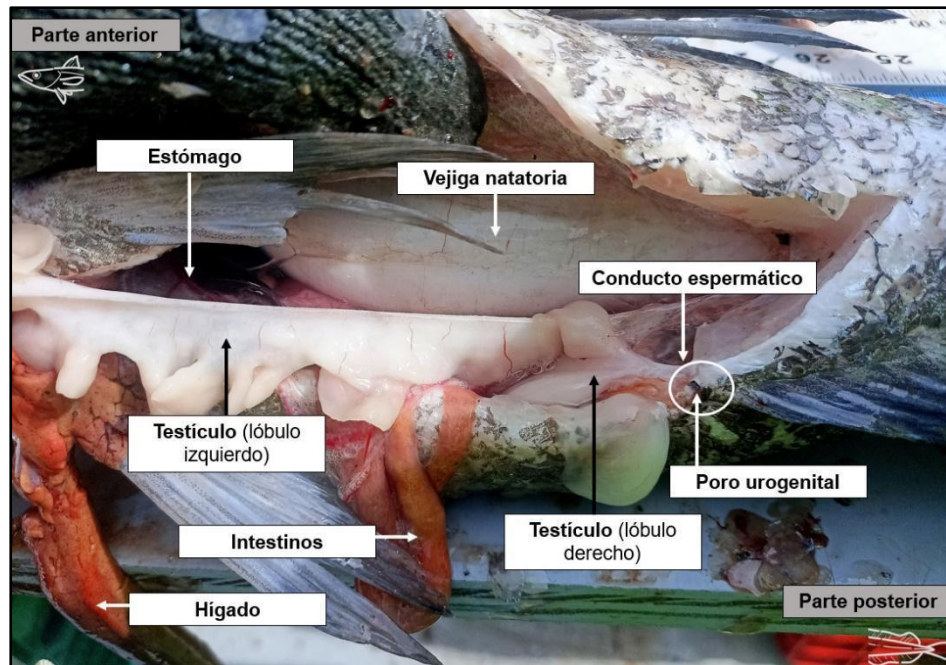


Figura 9. Ubicación de los testículos dentro de la cavidad visceral de *Merluccius productus* del centro y alto Golfo de California.

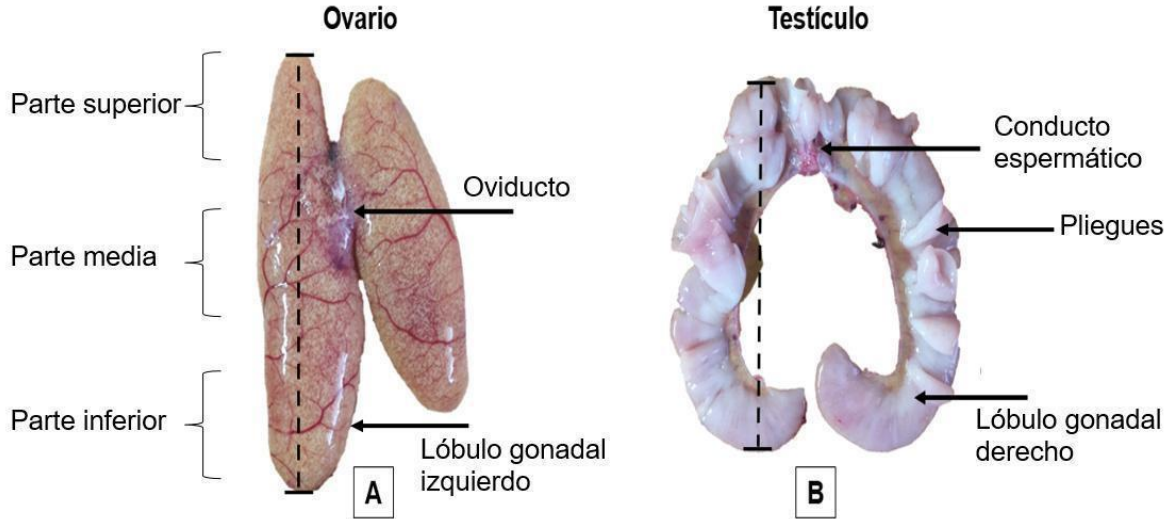


Figura 10. Ovario (A) y testículo (B) de *Merluccius productus* del centro y alto Golfo de California. Las barras verticales indican medidas desde la parte superior a la inferior (A= 17.2 cm, B=12.6 cm). Asociadas a la parte posterior y anterior del pez respectivamente.

8.2 Desarrollo de los ovocitos de *Merluccius productus*

En hembras de merluza del Pacífico del centro y alto Golfo de California, se definieron 10 estadios de desarrollo de los ovocitos (Fig. 11), de los cuales se realizó una detallada descripción.

Dentro del ovario, las lamelas ovígeras son la estructura soporte de los ovocitos y en ellas ocurre la ovogénesis. Estas estructuras se proyectan hacia el interior del órgano llamado lumen. Para iniciar el ciclo ovárico las lamelas ovígeras sostienen a las ovogonias que se diferenciarán en los ovocitos en estadio de cromatina nucleolar (Fig. 11 A), el primer estadio de la ovogénesis. Este, es el de menor tamaño de acuerdo a su diámetro ($D=28.7 \pm 11.4 \mu\text{m}$, $n=298$), y está rodeado de células foliculares de apariencia escamosa, su citoplasma es poco y es afín a la hematoxilina (morado intenso), tiene un núcleo centrado y a veces es visible un solo nucleolo.

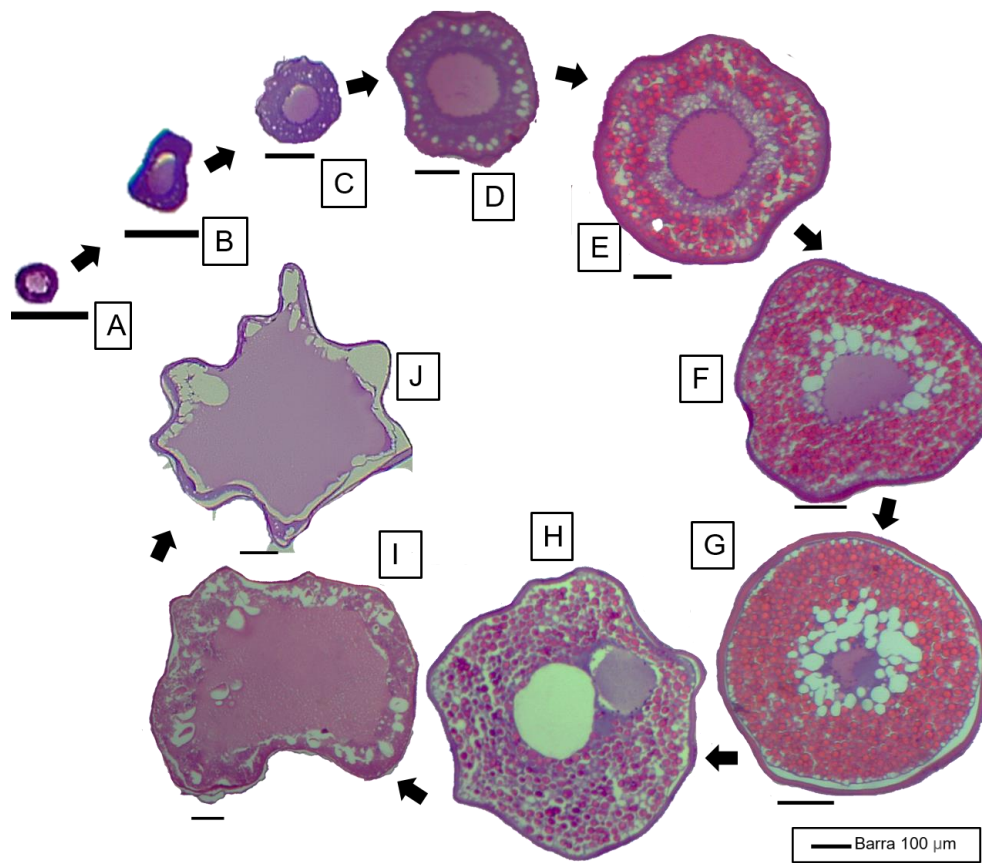


Figura 11. Estadios de desarrollo del ovocito en *Merluccius productus*. La barra representa 100 μm . A, Cromatina nucleolar; B, Perinucleolar; C, Alvéolo cortical grado 1; D, Alvéolo cortical grado 2; E, Vitelogénico grado 1; F, Vitelogénico grado 2; G, Vitelogénico grado 3; H, Núcleo migratorio; I, Fusión de vitelo; J, Hidratado.

El siguiente estadio de desarrollo primario es el ovocito perinucleolar (Fig. 11 B), el cual tiene un gran aumento de diámetro ($D=62.0 \pm 17.3 \mu\text{m}$, $n=418$) y sigue teniendo un aspecto escamoso, en su estado más avanzado se pueden observar diminutas vacuolas sin teñir en el citoplasma (ovoplasma), el núcleo del ovocito puede tomar una posición excéntrica, su color es morado más tenue que su ovoplasma, en la periferia nuclear aparecen múltiples nucléolos por la ampliación de los genes ribosomales (Fig. 11 B).

El consiguiente estadio de desarrollo es el alvéolo cortical (Fig. 11 C, D,). Este estadio se observó en dos grados de desarrollo: El alvéolo cortical de grado 1

(Fig. 11 C) ($D= 120.0 \pm 33.1 \mu\text{m}$, $n=201$) conserva la coloración morada dentro del ovoplasma del ovocito y son evidentes los orgánulos conocidos como vesículas pre-vitelogénicas, que son pequeñas, circulares y no están teñidas observándose un color blanco brillante, se posicionan rodeando al núcleo (morado tenue), el ovocito también presenta aproximadamente de 10 a 15 vesículas diminutas del medio a la periferia del ovocito. El alvéolo cortical grado 2 (Fig. 11 D) es más grande ($D= 185.5 \pm 46.5 \mu\text{m}$, $n=$) y sus vacuolas se posicionan totalmente en la periferia del ovocito donde es morado tenue, mientras que la tinción es morado intenso alrededor del núcleo donde pueden verse diminutos puntos blancos.

El siguiente estadio de desarrollo de los ovocitos es el vitelogénico grado 1 (Fig. 11 E), y es de mayor diámetro con respecto a los anteriores ($D= 309.4 \pm 60.5 \mu\text{m}$, $n=116$). Tiene dos bandas de color alrededor del núcleo, la primera es morada tenue con diminutos gránulos sin teñir y la siguiente banda esta formada por gránulos de vitelo pequeños con afinidad por la eosina (rosas), y bien definidos, además se alcanza a diferenciar la zona radiata y la capa granular. El ovocito vitelogénico grado 2 (Fig. 11 F) ($D= 447.0 \pm 66.1 \mu\text{m}$, $n=91$) presenta mayor coloración rosada por el aumento de los gránulos de vitelo, alrededor del núcleo donde se inicia la acumulación y compactación de vacuolas lipídicas. El ovocito vitelogénico grado 3 (Fig. 11 G) ($D=500.4 \pm 59.8 \mu\text{m}$, $n=67$) presenta una distribución homogénea de sus gránulos de vitelo con alta afinidad a la eosina, además, se observó que alrededor del núcleo las vacuolas lipídicas se hacen más grandes, se compactan y se fusionan.

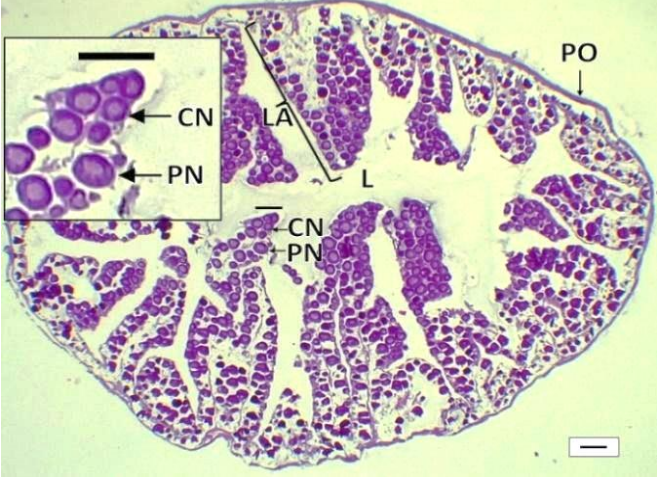
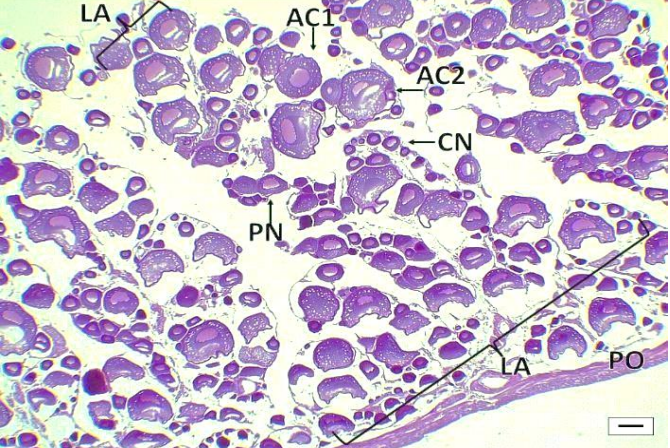
Los estadios de maduración final del ovocito son: El núcleo migratorio (Fig. 11 H) ($D= 538.5 \pm 104.0 \mu\text{m}$, $n=18$) representado por la polarización del vitelo o gota de aceite hacia el polo vegetal, y el núcleo hacia el polo animal, presenta gránulos vitelinos deformes y fusionados. Consecuentemente se produce la fusión de vitelo (Fig. 11 I) dando lugar al estadio del mismo nombre ($D= 616.4 \pm 157.7 \mu\text{m}$, $n=29$), donde se deforma el ovocito y se homogeniza el vitelo siendo completamente afín a la eosina. El último estadio del ovocito es el hidratado (Fig. 11 J) ($D= 698.4 \pm 160.3$

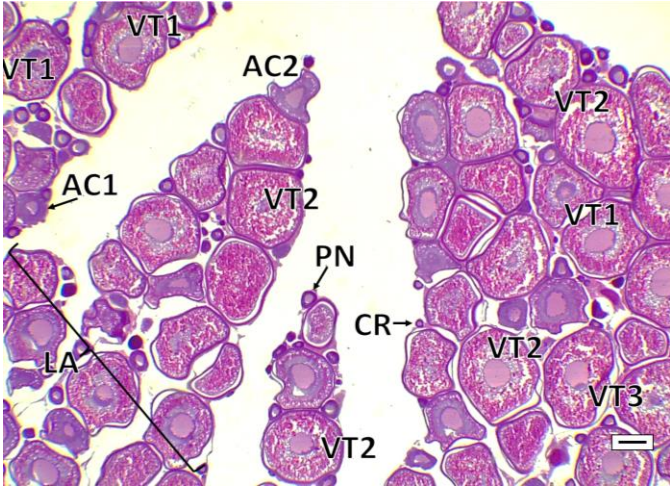
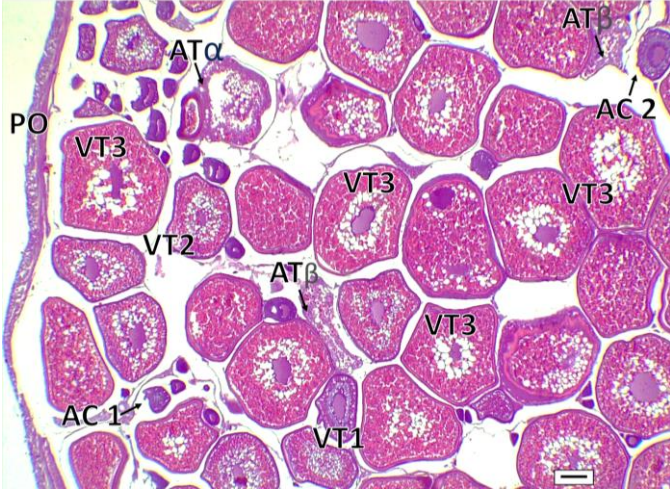
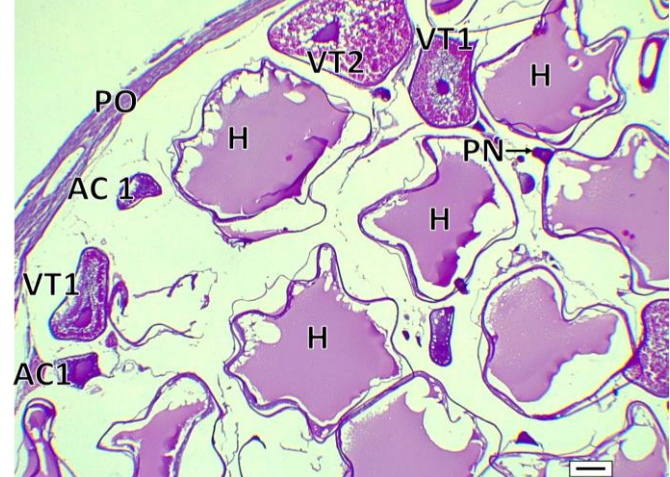
μm , $n=41$), el cual presenta pronunciadas ondulaciones en el borde del ovocito debido a la deshidratación por el proceso histológico y el vitelo se observa fusionado, homogéneo y es totalmente afín a la eosina.

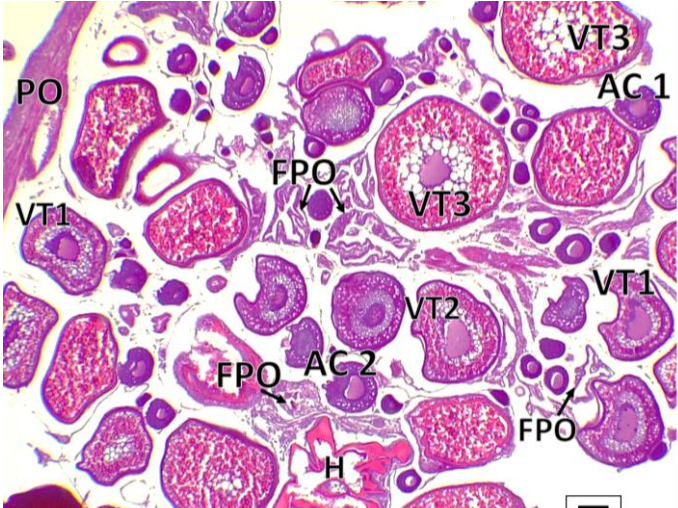
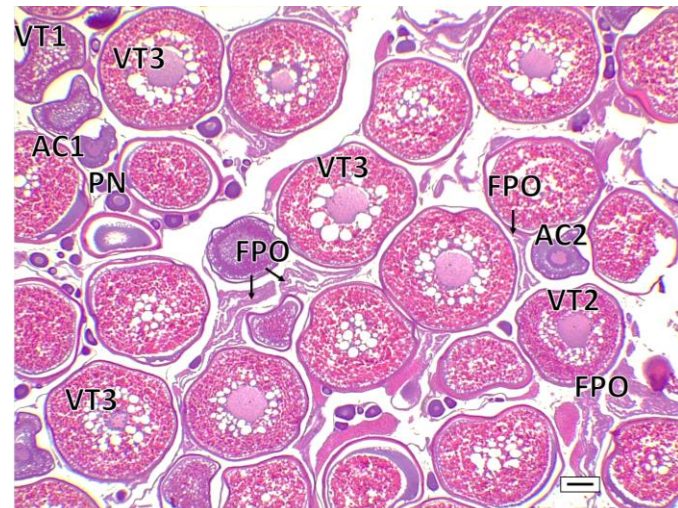
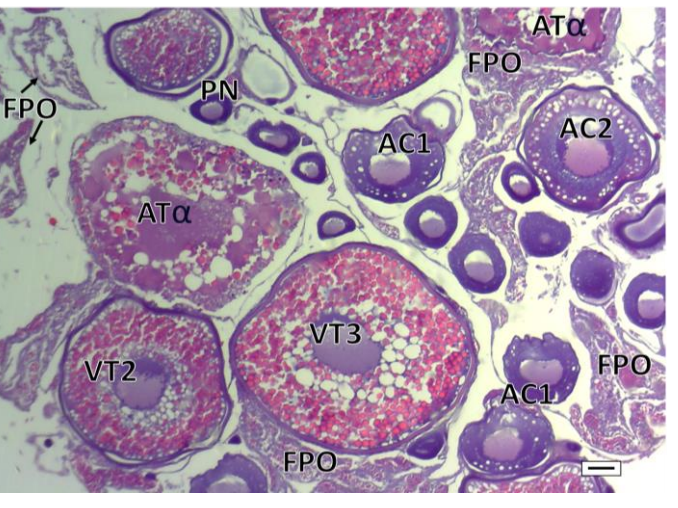
8.3 Descripción de las fases ováricas a nivel histológico en *Merluccius productus*

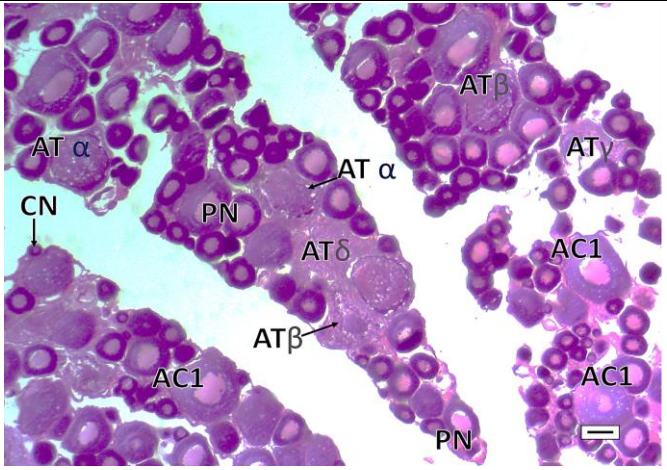
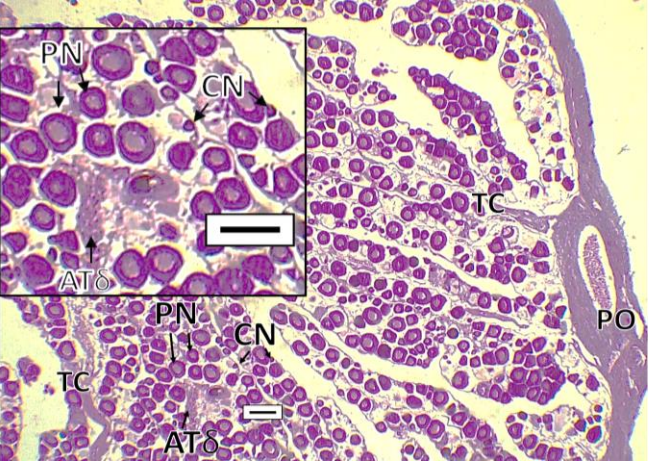
De acuerdo a las observaciones del diagnóstico histológico de 400 ovarios se describieron seis fases y seis sub-fases ováricas en la merluza del Pacífico (tabla V).

Tabla V. Fases ováricas de *Merluccius productus* descritas a nivel histológico. La barra de escala equivale a 100 μm .

Fase	Microfotografía	Descripción histológica
<p>1-Inmaduro</p>		<p>Se caracteriza por la presencia de ovogonias, ovocitos en estadio cromatina nucleolar (CN) y perinucleolar (PN) (ovocitos primarios) en las lamelas ovígeras (LA) que son cortas, están definidas y con los ovocitos muy juntos, la pared ovárica (PO) es delgada ($15.7 \pm 5.0 \mu\text{m}$), hay escaso tejido conectivo un amplio lumen. No hay ovocitos en atresia ni folículos post-ovulatorios. Fotografía 4x.</p>
<p>2-Desarrollo 2.1 Desarrollo Inicial</p>		<p>Lamelas ovígeras (LA) en crecimiento, más anchas, largas definidas y proyectándose hacia el lumen con ovocitos primarios (CN) (PN) y evidentes ovocitos en alveolo cortical grado 1 y 2 (AC 1, 2). La pared ovárica comienza a estirarse. No hay folículos post-ovulatorios. El ancho de la pared es $45.1 \pm 23.7 \mu\text{m}$. Fotografía 4x.</p>

<p>2.2 Desarrollo Intermedio</p>		<p>En las lamelas ovígeras (LA) son más visibles los ovocitos en vitelogénesis grado 1, 2 y pocos en 3 (VT 1,2,3), que los alvéolos corticales en grado 1 y 2 (AC 1, 2), todavía hay ovocitos primarios (PN) y (CN) distribuidos entre las lamelas con espacio libre entre cada ovocito. Pared ovárica delgada ($65.3 \pm 25.6 \mu\text{m}$). No hay folículos post-ovulatorios. Puede presentar atresia y tejido conjuntivo. Fotografía 4x.</p>
<p>2.3 Desarrollo Avanzado</p>		<p>En las lamelas ovígeras los ovocitos vitelogénicos grado 3, 2 y 1 están muy juntos, dejando poco espacio llenado por los alvéolos corticales grado 2 y 1 y los ovocitos primarios están distribuidos en menor cantidad. La pared ovárica de grosor similar ($68.6 \pm 19.0 \mu\text{m}$) que la fase anterior. No hay folículos post-ovulatorios y puede haber de 1 a 6 ovocitos en atresia alfa (ATα) o beta (ATβ). Fotografía 4x.</p>
<p>3-Madurez</p>		<p>La presencia de ovocitos en estadio núcleo migratorio, fusión de vitelo o hidratados (H) indican madurez, y se encontrarán también las cohortes de ovocitos vitelogénicos grados 3, 2, 1 (VT 1,2,3), en menor cantidad habrá ovocitos en alveolo cortical (AC1) y estadio primario. Paredes ováricas (PO) no tan gruesas ($83.9 \pm 29.6 \mu\text{m}$). No hay folículos post-ovulatorios. Fotografía 4x.</p>

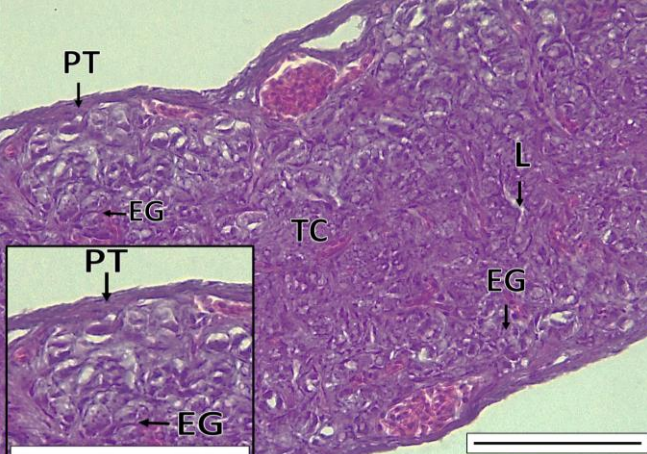
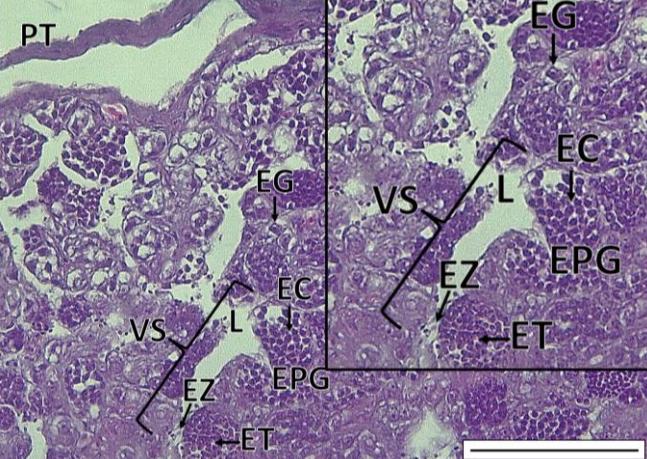
<p>4-Desove</p> <p>4.1 Desove Parcial</p>		<p>El marcador distintivo de un desove parcial son los folículos post-ovulatorios (FPO) distribuidos entre las cohortes de ovocitos vitelogénicos grado 3, 2 y 1 ovocitos con indicios o núcleo migratorio (NM), fusión de vitelo (FV) e hidratados (H) señal de un nuevo desove en las próximas horas. Todavía hay ovocitos primarios. La pared ovárica (PO) es gruesa ($106.5.3 \pm 88.9 \mu\text{m}$). Puede haber ovocitos atresicos de uno a cinco y cúmulos de tejido. Fotografía 4x.</p>
<p>4.2 Postdesove parcial</p>		<p>Lamelas ovígeras con folículos post-ovulatorios (FPO) de algunas horas a 24 horas, acompañados de cohortes en orden de abundancia de ovocitos en vitelogénesis grado 3, 2, 1, ambos grados de alveolo cortical, pocos ovocitos primarios y podría haber uno o dos ovocitos remanentes en maduración final. Pared ovárica más gruesa ($143.2 \pm 70.5 \mu\text{m}$) que un desove parcial. Sin atresia. Fotografía 4x.</p>
<p>4.3 Desove final</p>		<p>Ya no hay procesos de desarrollo o maduración, hay más folículos post-ovulatorios (FPO), algunos no son tan distinguibles) y están acompañados de menor cantidad de cohortes de ovocitos residuales en vitelogénesis 3, 2 1, en alveolo cortical grado 2 y 1 y ovocitos primarios (PN) (CN). Además, hay procesos de atresia folicular (AT α) y la pared ovárica es gruesa ($127.4 \pm 77.6 \mu\text{m}$). Fotografía 4x.</p>

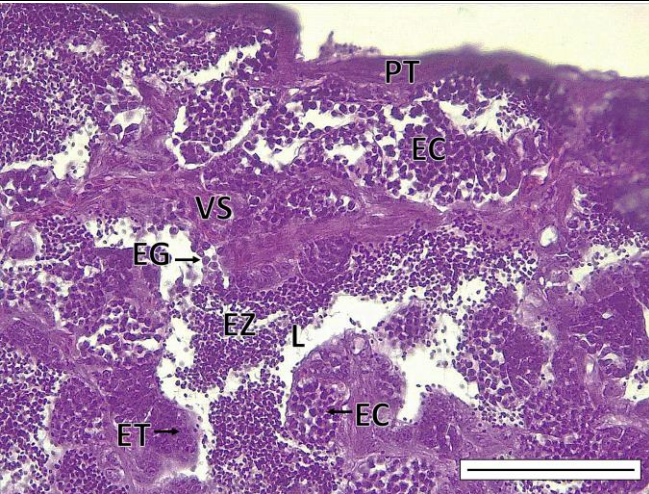
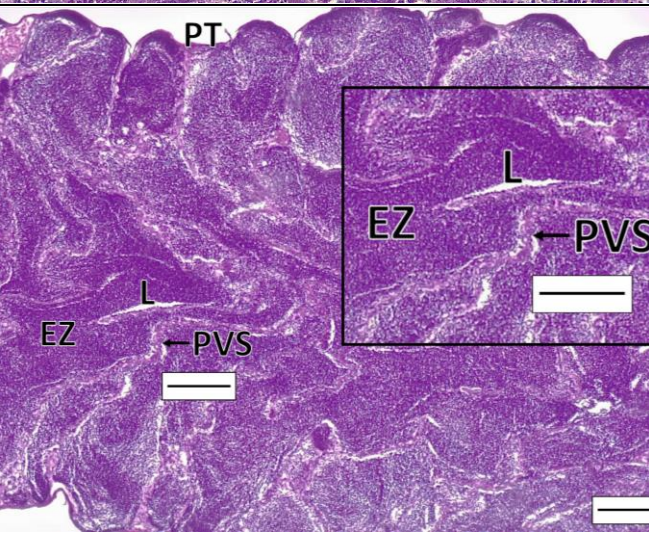
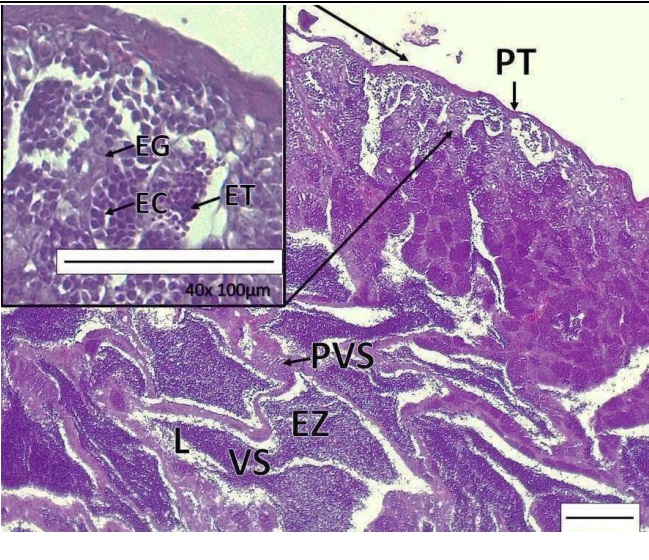
<p>5- Recuperación</p>		<p>Se pueden ver las lamelas ováricas con mucho tejido y ovocitos remanentes en alveolo cortical grado 1 y pocos o nulos en grado 2 mayormente atrésicos en estado alfa (ATα), beta (ATβ) y delta (ATδ). Podría haber folículos post-ovulatorios muy degenerados y ovocitos perinucleolares y en cromatina nucleolar. Pared ovárica gruesa ($101.4 \pm 43.3 \mu\text{m}$). Fotografía 4x.</p>
<p>6-Reposo</p>		<p>Las paredes ováricas son gruesas ($131.9 \pm 25.8 \mu\text{m}$). Las lamelas ovígeras son largas, desorganizadas con mucho tejido conjuntivo (TC) y con algunas atresias en fase delta (ATδ). Solo hay presencia de ovocitos en cromatina nucleolar (CN), perinucleolar (PN) y mínimas o nulas ovogonias. Fotografía 4x.</p>

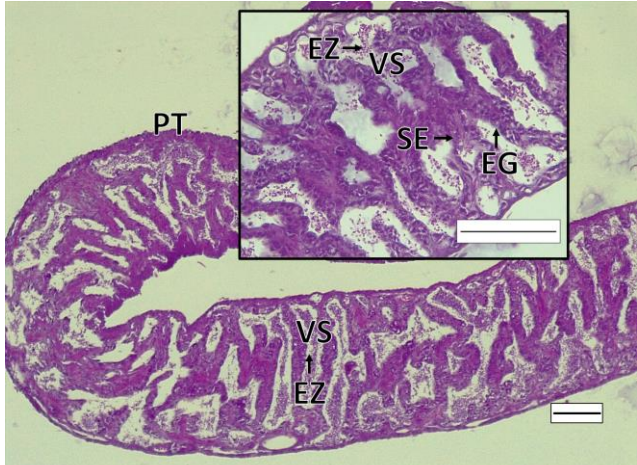
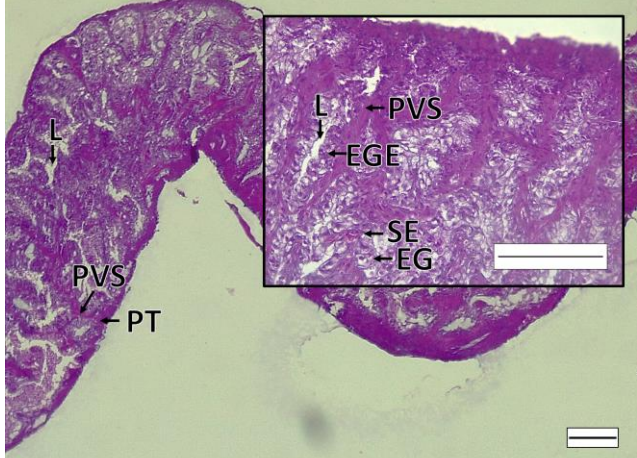
8.4 Descripción de las fases testiculares a nivel histológico de *Merluccius productus*

De acuerdo a las observaciones del diagnóstico histológico de 329 testículos se describieron cinco fases y cuatro sub-fases testiculares en la merluza del Pacífico (tabla VI).

Tabla VI. Fases testiculares de *Merluccius productus* descritas a nivel histológico. La barra de escala equivale a 100 µm.

Fase	Microfotografía	Descripción histológica
<p>1- Inmaduro</p>		<p>Los vasos seminíferos aún no se definen mostrando nulo o escaso lumen (L). Hay mucho tejido conjuntivo (TC), la pared testicular (PT) es compacta, en la periferia del epitelio germinal hay células de Sertoli y extensiones citoplasmáticas rodeando a las múltiples espermatogonias (EG) que se encuentran altamente distribuidas, hay nulos o pocos espermatocitos en una estructura quística. Fotografía 40x.</p>
<p>2- Desarrollo</p> <p>Subfase: 2.1 Desarrollo inicial</p>		<p>Presenta actividad espermatogénica, en la periferia testicular hay más evidencia de parches o cohortes de espermatogonias (EG), espermatocitos (EC) y espermatidas (ET) en el epitelio germinal (EPG) en cantidades casi similares. Las paredes de los vasos seminíferos son compactas y el lumen (L) empieza a tener algunos espermatozoides (EZ). Fotografía 40x.</p>

<p>2-Desarrollo</p> <p>Subfase: 2.2 Desarrollo Avanzado</p>		<p>Los vasos seminíferos (VS) están alargados bien definidos y de mayor tamaño, casi llenos de espermatozoides (EZ) dejando poco espacio en el lumen (L), en el epitelio germinal se observan grupos de espermatogonias (EG), espermatocitos (EC) y espermátidas (ET) respectivamente. Fotografía 40x.</p>
<p>3-Eyaculación</p> <p>Subfase: 3.2 Eyaculación intensa</p>		<p>Se caracteriza por la presencia casi exclusiva de espermatozoides que llenan el 100% del lumen de los vasos seminíferos y los conductos eferentes. Se pueden encontrar espermátidas y algunos espermatocitos en menor cantidad en las paredes de los vasos seminíferos (PVS), pero no es tan notable con respecto a la cantidad de espermatozoides. Y vasos seminíferos muy definidos y sus paredes delgadas. Puede haber vasos seminíferos vacíos. Fotografía 10x y 40x.</p>
<p>Subfase: 3.1 Eyaculación con desarrollo</p>		<p>Hay actividad espermatogénica con cohortes en formación quística de espermatogonias (EG), espermatocitos (EC) y espermátidas (ET) muy evidentes en el epitelio germinal el cual es discontinuo (EPG). Puede haber vasos seminíferos con paredes engrosadas (PVS) alargados y estructura ondulada o de zigzag, con pocos espermatozoides (EZ) en el lumen (L) como evidencia de una eyaculación previa o muchos espermatozoides. Fotografía 10x y 40x.</p>

<p>4-Recuperación</p>		<p>Sin actividad espermatogénica. Las paredes de los vasos seminíferos y pared testicular (PT) están muy engrosadas, hay extensiones citoplasmáticas de las células de Sertoli que rodean a las células y en el lumen puede haber espermátidas y espermatozoides remanentes en proceso de fagocitosis. Hay regeneración del epitelio germinal (EG) y se puede presentar una estructura quística con espermatogonias indiferenciadas. Fotografía 10x y 40x.</p>
<p>5- Reposo</p>		<p>La pared testicular y de los vasos seminíferos, está compactada, presenta mucho tejido conjuntivo y solo hay pocos o nulos remanentes de espermatozoides en el lumen de los vasos seminíferos y no hay actividad fagocítica ni espermatogénica lo que se diferencia de la fase de recuperación. Puede tener algunas espermatogonias indiferenciadas y diferenciadas. Fotografía 10x y 40x.</p>

8.5 Ciclo ovárico de *Merluccius productus*

El ciclo ovárico de la merluza del Pacífico inicia en la fase inmaduro (Fig. 12) al ocurrir la diferenciación gonadal cuando se transforman las ovogonias a ovocitos en estadios primarios (cromatina nucleolar y perinucleolar) que proliferan. Esta fase suele ser llamada virginal ya que solo ocurre una sola vez en su vida y los peces que la presentan son clasificados como juveniles. Durante todo el ciclo ovárico de la merluza del Pacífico los ovocitos en estadios primarios estuvieron presentes, pero en proporciones diferentes respecto a cada fase.

El progreso del ciclo continua con la fase desarrollo e indica el cambio de juvenil a adulto. En *M. productus* se detectaron tres subfases en el desarrollo, que consta del desarrollo inicial (Fig. 12, D-1) con la presencia de los ovocitos en estadio alveolo cortical grado 1 y 2 con un 60% de abundancia de ovocitos primarios en las lamelas ovígeras. La siguiente subfase es el desarrollo intermedio (Fig. 12, D-2), donde los ovarios presentan una mayor cantidad de ovocitos en estadio alveolo cortical en grado 1 y 2 además de la aparición de ovocitos en vitelogénesis grado 1, 2 y pocos en grado 3 distribuidos con amplio espacio en las lamelas ovígeras las cuales están anchas, alargadas hacia el lumen y aún organizadas. Consecuentemente el ovario concluye la fase de desarrollo con la subfase desarrollo avanzado, suceso marcado por la alta presencia de vitelo, por lo que en las lamelas ovígeras predominan los ovocitos vitelogénicos grado 3, 2, 1, todos los grados de alveolo cortical respectivamente y aún hay presencia pero mínima de los ovocitos primarios en cuanto a cobertura (Fig. 12, D-3). Los ovarios continúan el ciclo con la fase de madurez la cual se caracterizó principalmente por la evidencia de ovocitos en estadio núcleo migratorio, fusión de vitelo e hidratados, característica microscópica que definió el mayor tamaño de los ovarios durante el ciclo.

Los resultados del diagnóstico histológico evidenciaron una ruta en el ciclo ovárico que impidió el desove parcial debido a procesos de atresia folicular mayor presentado un 2.8% del total de ovarios. La discontinuidad del ciclo se evidenció en tres ovarios en fase de madurez, su microestructura presentó más del 50% de ovocitos en atresia estado alfa, beta, gamma y delta acompañados de 2 a 6 remanentes de ovocitos hidratados y sin presencia de folículos post-ovulatorios (Fig. 13). Particularmente ocho ovarios en fase de desarrollo avanzado presentaron una microestructura con más del 70% de ovocitos en alveolo cortical y vitelogénesis en estados de atresia alfa, beta y gamma, sin presencia de folículos post-ovulatorios, lo cual impidió el desove parcial para ambos casos y pasaron directamente a fase de recuperación (Fig. 12 y 13).

En la merluza del Pacífico los ovocitos se desarrollan de manera asincrónica, expulsando del ovario al grupo o cohorte de ovocitos más desarrollada y dejando en el ovario otras cohortes de ovocitos en diferentes estadios de desarrollo. Es por ello que en la fase de desove se definieron tres subfases, iniciando con el desove parcial (Fig. 12, DS-1) caracterizado por la evidencia de restos de pared folicular conformada por la teca folicular (capa externa del ovocito) y la capa granulosa (capa interna del ovocito) llamados folículos post-ovulatorios (FPO) de los ovocitos que ya fueron expulsados. Además de un alto porcentaje de presencia de ovocitos maduros en estadio de núcleo migratorio y pocos en fusión de vitelo o hidratados en las lamelas ovígeras, lo que significa que en las próximas horas realizará otro desove. Este último rasgo es lo que le da la cualidad de parcial al desove.

En los ovarios de merluza se distinguieron un grupo de características histológicas y morfocromáticas que evidenciaron una consecutiva subfase llamada postdesove parcial (Fig. 12, DS-2). Esto se refiere a que el pez tuvo otro posible desove y en las lamelas ovígeras ahora más desorganizadas, hay visibles ovocitos en vitelogénesis grado 3, 2 o 1 y de 2 a 4 remanentes de ovocitos hidratados en conjunto con alveolos corticales y ovocitos primarios, sin evidencia de atresia y que aparentemente continúan su desarrollo para futuros desoves. En esta subfase no hay una gran cantidad de ovocitos en maduración final además de la visibilidad de pocos ovocitos en procesos de atresia folicular, lo que demuestra que es un proceso posterior al desove y que no habrá otro desove en el corto plazo (horas) como ocurriría normalmente en la fase de desove parcial.

Otra subfase del desove es el desove final, que se determinó por la degradación avanzada de los folículos post-ovulatorios, con una alta cobertura de ovocitos en alveolo cortical y pocos o ninguno en vitelogénesis (Fig. 12, DS-3). Específicamente en esta subfase se evidencia el proceso conclusivo de desove de una hembra, ya que los ovarios analizados presentaron un alto porcentaje de folículos post-ovulatorios visibles e indistinguibles acompañados de ovocitos en estadios primarios, también en alveolo cortical y pocos o nulos vitelogénicos en

grado 1, y además de la evidencia de ovocitos en atresia folicular principalmente en etapa alfa y beta.

Una vez que las hembras terminan la etapa de desove lo siguiente en el ciclo es la recuperación del ovario, lo que finalmente determina el cese de la actividad reproductiva. Este proceso involucra la absorción de los ovocitos remanentes por procesos fagocíticos. La subfase de recuperación se caracteriza por presentar un 50% de ovocitos en estadio alveolo cortical grado 1 y 2 en atresia estado alfa, beta, gamma o delta dejando en las lamelas ovígeras solo ovocitos primarios y algunos restos en absorción de folículos post-ovulatorios no tan distinguibles, con una pared ovárica muy gruesa. Además, se identificaron cinco ovarios con un 10% de ovocitos alveolo cortical grado 2 y 1 en estados de atresia alfa, beta y gamma acompañados de 1 a 3 ovocitos en maduración final remanentes, resultado de un posible inicio del proceso de reabsorción (Fig. 12, Recuperación).

La última etapa del ciclo ovárico de la merluza es el reposo (Fig. 12, Reposo) con la característica de tener única presencia de ovocitos primarios, sin ovocitos en alveolo cortical, con lamelas ovígeras desorganizadas y estiradas hacia el lumen, mucho tejido conjuntivo y atresia folicular en estados tardíos (gamma-delta) y pared ovárica muy engrosada. Estos marcadores histológicos distinguen el reposo de la fase inmaduro, y cabe mencionar que en *Merluccius productus* fue mayormente evidente la presencia de ovarios en desarrollo inicial que provenían de la fase de reposo o de una reabsorción con remaduración, lo que significa que los individuos ya habían cumplido por lo menos con un ciclo ovárico completo previo.

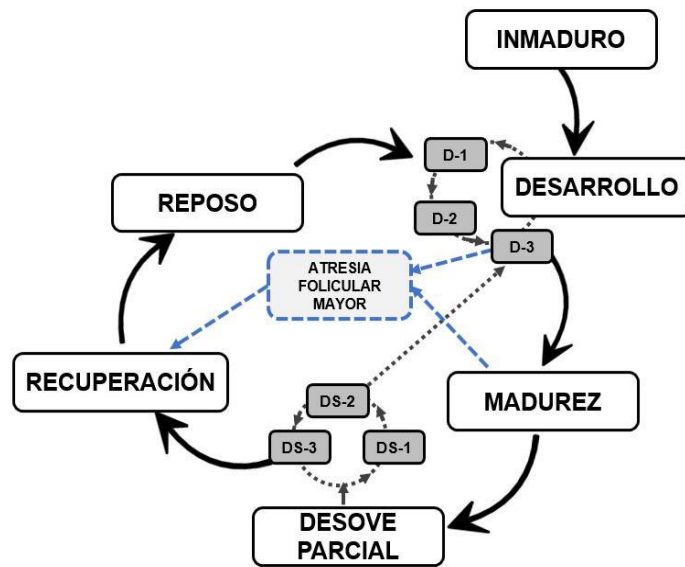


Figura 12. Ciclo ovárico de *Merluccius productus* del centro y alto Golfo de California.

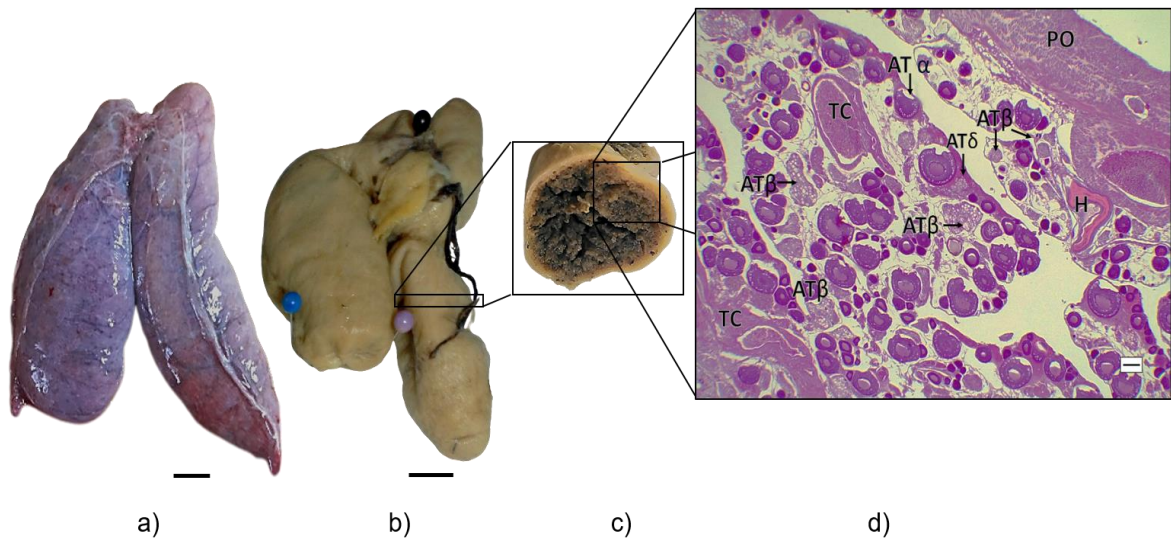


Figura 13. Atresia folicular mayor en ovario fase madurez. a) características morfo cromáticas del ovario (barra de escala 1 cm); b) ovario fijado en solución Davidson (barra de escala 1 cm); c) corte transversal del ovario d) lámina histológica (barra de escala 100 μ m). Estados de atresia (**AT** α) alfa, (**AT** β) beta, (**AT** δ) gamma, (H) ovocito hidratado remanente, (TC) tejido conjuntivo, (PO) pared ovárica.

8.6 Ciclo testicular de *Merluccius productus*

Los resultados del análisis histológico evidenciaron que en el caso de la merluza del Pacífico macho, el ciclo testicular inicia en la fase inmaduro encontrada en un 4.3% de la muestra. La fase de inmaduro (Fig. 14) se caracterizó por el inicio de la formación arquitectónica testicular (formación de los vasos seminíferos) con mucho tejido intersticial, poca visibilidad del lumen seminífero y poca proliferación de espermatogonias por división mitótica.

Continuando con el ciclo, la adultez de la merluza inicia con testículos en fase desarrollo (25.8%), específicamente en la subfase de desarrollo inicial (Fig. 14 D-I), caracterizada por la espermatogénesis activa, debido a una gran proliferación de espermatogonias, rodeadas de células de Sertoli y grupos de espermatocitos primarios, secundarios y espermátidas que se visualizaron en la periferia del testículo y pared de los vasos seminíferos en grupos con cantidad similar. Cabe mencionar que también se observaron pocos espermatozoides en el lumen de los vasos seminíferos, por lo tanto, estas características se consideraron marcadores específicos de la subfase desarrollo inicial del testículo.

La siguiente etapa del ciclo testicular se definió como la subfase desarrollo avanzado (Fig. 14 D-A), con marcadores histológicos de vasos seminíferos bien definidos finamente alargados y paredes con mayor cantidad de espermátidas, espermatocitos y algunas espermatogonias. En el lumen de los vasos seminíferos se incrementó la cantidad de espermatozoides sin llenado completo, visualizándose macroscópicamente el agrandamiento de los lóbulos testiculares y los pliegues en los márgenes.

Los resultados histológicos demostraron que los machos producen y por lo tanto expulsan una gran cantidad de espermatozoides. Además, dentro del testículo, las estructuras internas no quedan totalmente vacías ya que un alto porcentaje de organismos (68.13%) demostraron que durante la eyaculación intensa se observan siempre espermatozoides dentro de los conductos eferentes

debido a una prolongada producción de espermatozoides (Fig. 14 E-I). Además, esto puede ser también porque algunos espermatozoides no se expulsan en su totalidad, lo que sugiere que podría ser parcial, o bien, porque el testículo mantiene una producción continua de espermatozoides. Esto último se evidencia con la subfase de eyaculación con desarrollo (Fig. 14 E-D), la cual muestra al testículo con una espermatogénesis intensa después de haber eyaculado. Este suceso se sugiere debido a la presencia de una gran cantidad de espermatogonias, espermatoцитos y espermátidas a lo largo del epitelio germinal y a su vez los vasos seminíferos se encuentran estirados, con forma de zigzag y con un porcentaje medio de espermatozoides, significando que hubo una expulsión previa. Este suceso estructural y marcadores específicos se presentó como eyaculación con desarrollo en un 17.4% del total de testículos en fase generalizada de eyaculación parcial.

Se identificó que una vez que se concluye la eyaculación, los testículos entran en fase de recuperación detectada en un 13.7%. En esta fase hay regeneración del epitelio germinal presentando estructuras quísticas con espermatogonias indiferenciadas y pocas diferenciadas, se visualizó la pared testicular y de los vasos seminíferos engrosada y el lumen de los vasos seminíferos con restos de espermátidas y espermatozoides, en ocasiones se observan células de Sertoli en procesos de fagocitosis, el testículo se encuentra sin actividad espermatogénica para continuar el ciclo hacia un reposo.

Por último, en el ciclo testicular se distinguió la fase de reposo registrada en un 13.4% de los testículos, este proceso marca el cese de actividades tanto espermática como fagocítica, criterios que permiten distinguir el traslape con la fase anterior. En esta fase las paredes de los vasos seminíferos y pared testicular están compactados y engrosados puede haber pocos espermatozoides aún en el lumen y espermatogonias en el epitelio germinal. Cabe mencionar que en todas las fases del ciclo se encontró la presencia de espermatogonias en cantidad específica de acuerdo a la fase.

En suma, si las condiciones o factores externos en torno a la merluza son favorables, hay posibilidad que el testículo pueda volver a eyacular continuamente pasando de una eyaculación con desarrollo a un desarrollo avanzado donde se presentará el marcador histológico distintivo de vasos seminíferos estirados en forma de zigzag con espermatozoides remanentes las cuales son señales de que ya hubo una eyaculación anterior acompañados de espermatogénesis activa en el epitelio germinal o en la periferia testicular (Fig. 14).

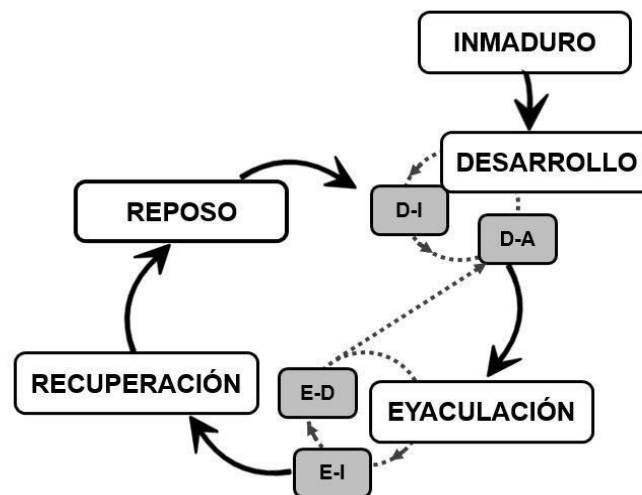


Figura 14. Ciclo testicular de *Merluccius productus* del centro y alto Golfo de California

8.7 Exploración individual de los índices gonadoalométrico, con respecto a las fases ováricas y testiculares

8.7.1 Índice Gonadoalométrico (IGA) y ancho lobular en ovarios frescos

Para la distinción morfo-gonadal de las fases ováricas primero se examinó el IGA con las medidas de las gónadas en fresco (recién extraídas de la cavidad visceral) utilizando el ancho lobular izquierdo contra el derecho de un total de 192 ovarios frescos de *M. productus*, de los cuales la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk indicó que los residuales no se distribuían de manera normal ($W=0.85824$,

$p < 0.05$), pero si, de manera homogénea (Prueba de Bartlett) ($K = 0.71535$, $p = 0.3977$). Por lo tanto, se realizaron pruebas no paramétricas (Prueba U de Mann-Whitney) utilizando las medidas de ancho lobular izquierdo respecto al ancho lobular derecho y no mostró diferencias significativas ($W = 37390.0$, $p = 0.693$).

Para la distinción de las fases ováricas con el IGA usando el ancho lobular izquierdo, la prueba Kruskal-Wallis presentó diferencias significativas entre las fases ($H = 102.2544$, $p < 0.05$). Y el IGA usando el ancho lobular derecho también mostró diferencias significativas entre las fases ováricas ($H = 101.3607$, $p < 0.05$). Véase figura 15 y 16 respectivamente.

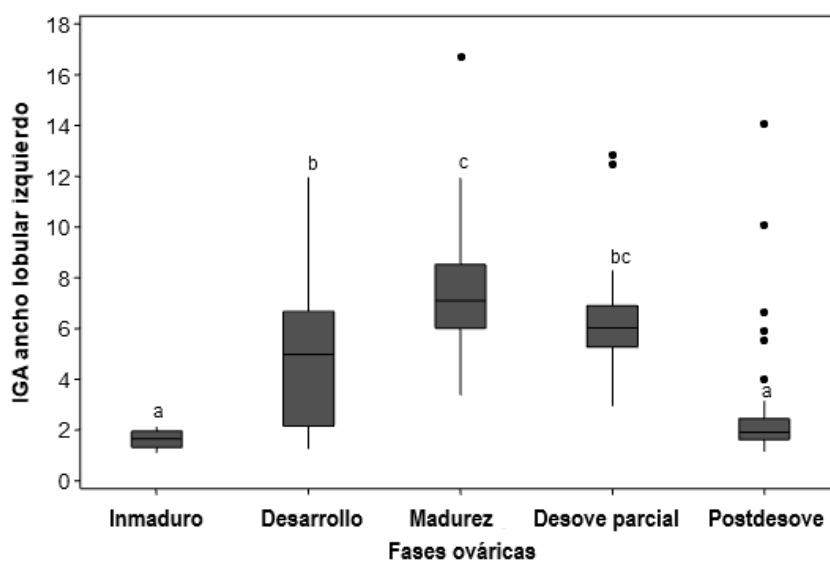


Figura 15. IGA usando el ancho lobular izquierdo para la distinción de las fases ováricas. Las letras diferentes (a, b, c) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico.

Particularmente, en hembras se presenta simetría en el ancho de ambos lóbulos de acuerdo a cada fase ovárica. Al utilizar el ancho lobular izquierdo y ancho lobular derecho en el IGA se discrimina cada fase ovárica demostrando que a mayor

grado de desarrollo ovárico (madurez) también es mayor su anchura lobular y a medida que se cumple el ciclo y se expulsan los ovocitos (postdesove), el ancho lobular disminuye demostrando una similitud con el ancho lobular de organismos inmaduros (Fig. 15 y 16).

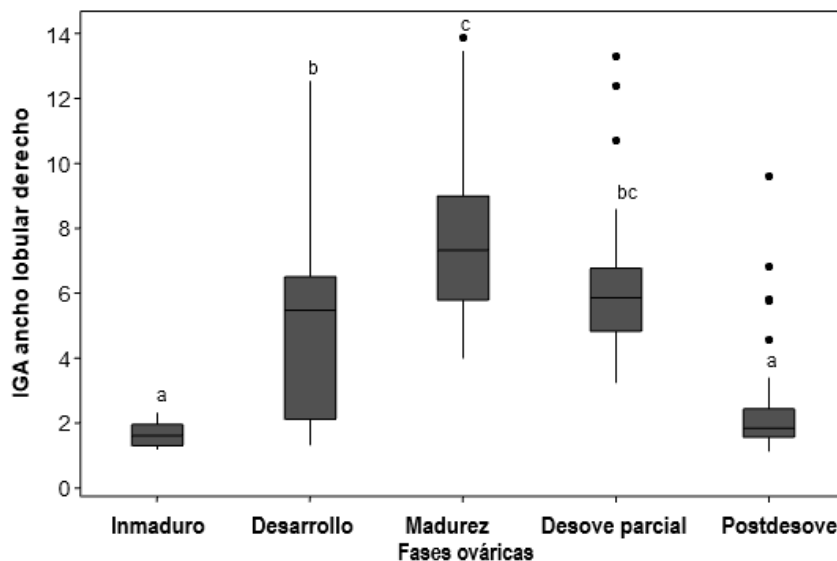


Figura 16. IGA usando el ancho lobular derecho para la distinción las fases ováricas. Las letras diferentes (a, b, c) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico.

8.7.2 IGA y longitud lobular mayor y menor en ovarios frescos

En *M. productus* se puede presentar asimetría lobular, por lo tanto, para comparar las diferencias del IGA al utilizar las medidas de longitud lobular mayor y longitud lobular menor de un total de 192 ovarios frescos de *M. productus*, la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk indicó que los residuales no se distribuían de manera normal ($W = 0.96719$, $p < 0.05$), pero si, de manera homogénea (Prueba de Bartlett) ($K = 0.46147$, $p = 0.4969$). Por lo tanto, se realizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney utilizando las medidas de longitud lobular mayor respecto a la longitud

lobular menor y se encontraron diferencias significativas ($W= 40573.00$, $p<0.05$), evidenciando lóbulos longitudinales asimétricos.

Por lo cual, se utilizó la Prueba de Kruskal-Wallis, para encontrar esas diferencias examinando el IGA utilizando la longitud lobular mayor contra las fases ováricas y se encontró diferencias significativas ($H=113.2377$ $p<0.05$). Asimismo el IGA usando la longitud lobular menor, también presentó diferencias significativas entre las fases ováricas ($H=99.53010$, $p<0.05$); figura 17 y 18 respectivamente. Estos resultados demuestran que de la misma forma que al utilizar el IGA con el ancho, al usar la longitud mayor y menor de los lobulos también logra representar el patron de crecimiento ovárico en valores del IGA con una tendencia evidente.

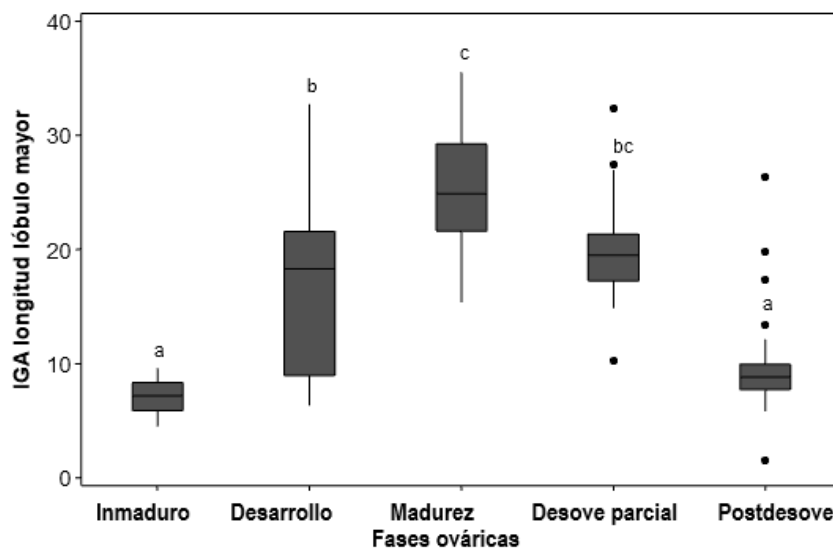


Figura 17. IGA usando la longitud lobular mayor para la distinción de las fases ováricas. Las letras diferentes (a, b, c) muestran diferencias significativas ($p<0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico.

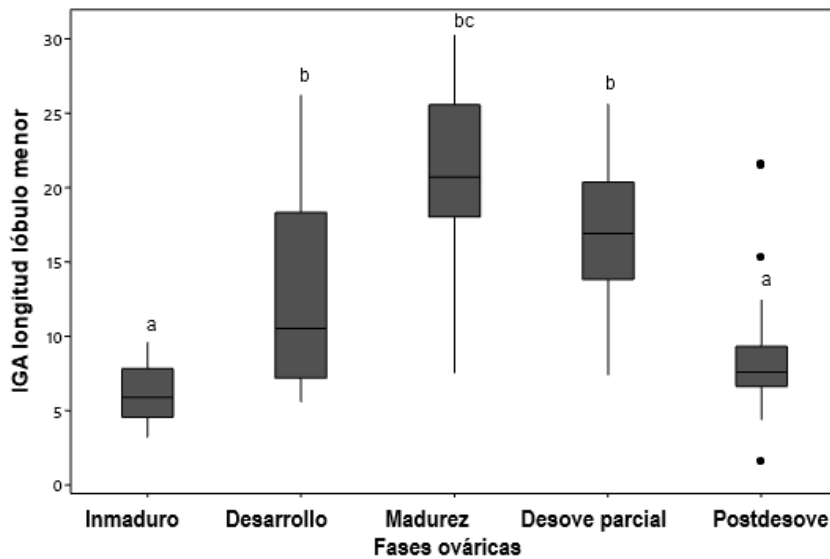


Figura 18. IGA usando la longitud lobular menor para la distinción de las fases ováricas. Las letras diferentes (a, b, c) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico.

8.7.3 IGA y ancho lobular en testículos frescos

Se analizó el IGA utilizando el ancho lobular izquierdo y el derecho de un total de 109 testículos frescos de *M. productus*, de los cuales la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk indicó que los residuales no se distribuían de manera normal ($W=0.93847$, $p < 0.05$), pero si presentaron homogeneidad (Prueba de Bartlett) ($K=0.021541$, $p=0.8833$) por lo tanto, se realizaron las pruebas no paramétricas (U de Mann-Whitney). Y de la misma forma que en las hembras, al comparar el IGA utilizando las medidas de ancho lobular izquierdo contra el ancho lobular derecho no se presentan diferencias significativas ($W=11751.5$, $p=0.780$).

Por lo tanto, para la comparación de las fases testiculares con el IGA utilizando las medidas del ancho lobular izquierdo se presentaron diferencias significativas entre las fases ($H=20.27547$ $p < 0.05$) (Prueba de Kruskal-Wallis).

También el IGA usando el ancho lobular derecho presenta diferencias significativas entre las fases testiculares ($H=22.71905$, $p<0.05$). Véase figura 19 y 20 respectivamente. En machos al discriminar cada fase con el IGA usando el ancho izquierdo como el derecho, la fase inmaduro no presentó diferencias significativas con las fases testiculares, suceso posiblemente referido a tener un tamaño de muestra pequeño ($n=5$).

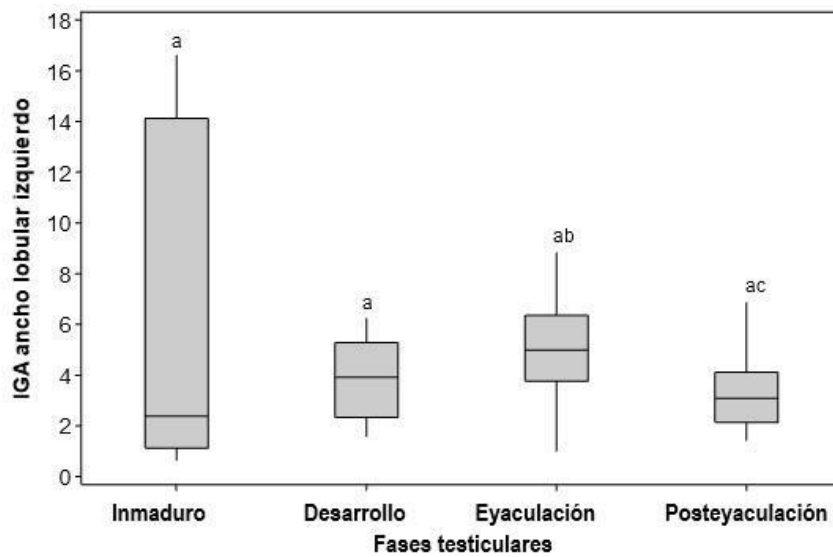


Figura 19. IGA usando el ancho lobular izquierdo para la distinción de las fases testiculares. Las letras diferentes (a, b, c) muestran diferencias significativas entre fases ($p<0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana.

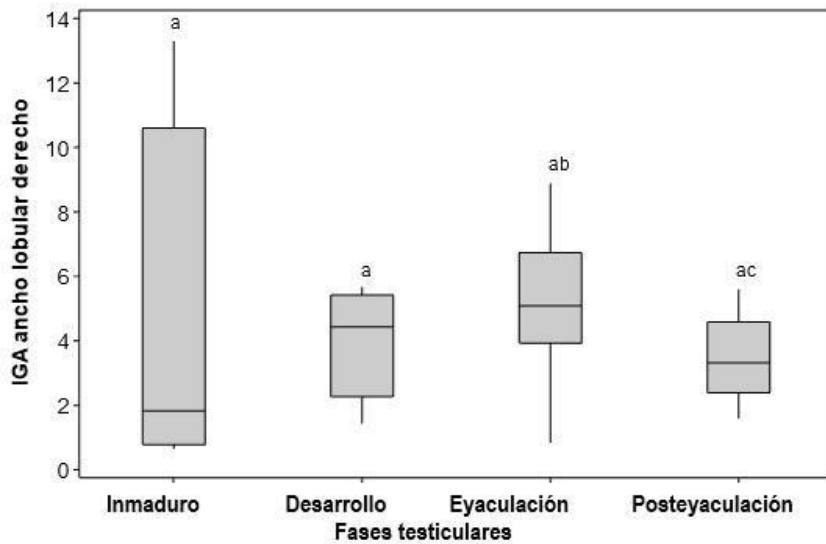


Figura 20. IGA usando el ancho lobular derecho para la distinción de las fases testiculares. Las letras diferentes (a, b, c) muestran diferencias significativas entre fases ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana.

8.7.4 IGA y longitud lobular mayor y menor en testículos frescos

Para encontrar diferencias en el IGA al usar la longitud lobular mayor y longitud lobular menor, se examinó un total de 109 testículos frescos de *M. productus* de los cuales la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk indicó que los residuales no se distribuían de manera normal ($W=0.93429$, $p < 0.05$), pero si presentan homogeneidad (Prueba de Bartlett) ($K= 0.23416$, $p= 0.6285$). Por lo tanto, se realizó la Prueba U de Mann-Whitney y de la misma forma que en las hembras, al usar las medidas de longitud testicular en el IGA, se presentan diferencias significativas entre el lóbulo mayor y menor ($W= 13412.50$, $p < 0.05$).

Por lo tanto, con la Prueba de Kruskal-Wallis se analizó el IGA utilizando la longitud lobular mayor y menor para la distinción de las fases testiculares y se encontró diferencias significativas al usar ambas longitudes lobulares ($H=16.50229$, $p < 0.05$) ($H=10.75724$, $p < 0.05$); figura 21 y 22 respectivamente. De modo que, al

utilizar la longitud mayor y menor en el IGA las diferencias significativas se presentan entre la fase eyaculación y posteyaculación.

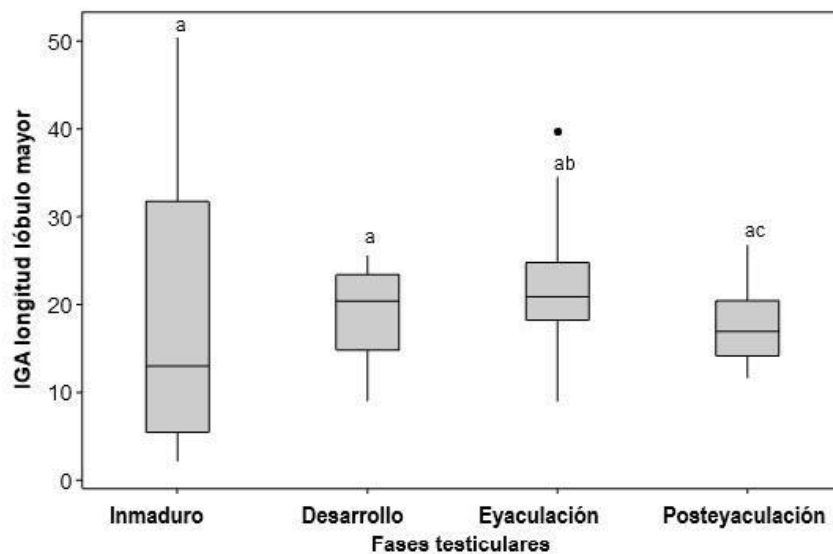


Figura 21. IGA usando la longitud lobular mayor para la distinción de las fases testiculares.. Las letras diferentes (a, b, c) muestran diferencias significativas entre fases ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico.

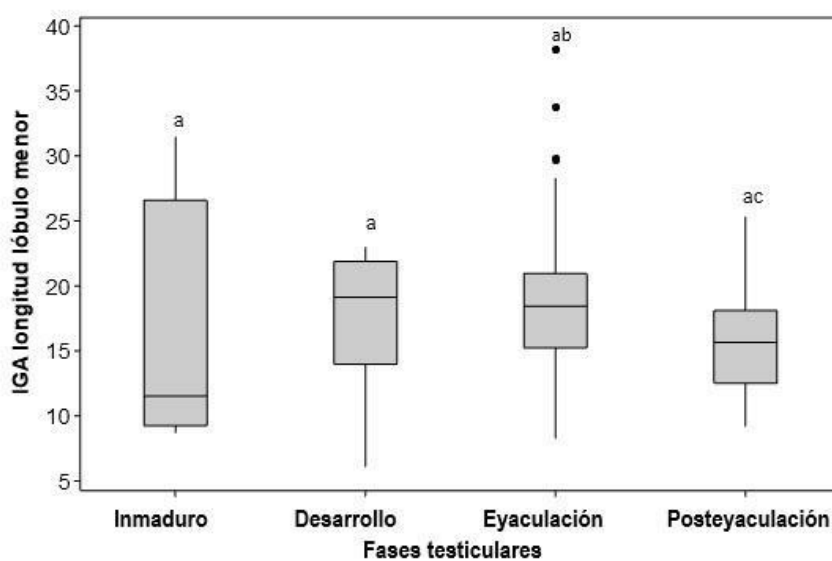


Figura 22. IGA usando la longitud lobular menor para la distinción de las fases testiculares. Las letras diferentes (a, b, c) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico.

8.7.5 IGA y ancho lobular en ovarios fijados

En ovarios fijados histológicamente hay posibilidad de cambios en la forma gonadal por procesos de fijación del tejido y guardado de las gónadas. Por lo tanto, se examinó el IGA en gónadas fijadas utilizando el ancho lobular izquierdo contra el derecho de un total de 359 ovarios de *M. productus*, de los cuales la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk indicó que los residuales no se distribuían de manera normal ($W=0.98393$, $p=0.002$), pero si, de manera homogénea (Prueba de Bartlett) ($K= 1.2676$ $p=0.2602$). Por lo tanto, se realizaron pruebas no paramétricas (Mann-Whitney) utilizando las medidas de ancho lobular izquierdo respecto al ancho lobular derecho y no mostró diferencias significativas ($W=37390.0$, $p>0.05$), similar al IGA en ovarios frescos. Como es de esperarse al tomar las medidas en la parte media de ambos lóbulos.

En los ovarios fijados al igual que los ovarios recién extraídos de la cavidad (frescos) el IGA usando las medidas del ancho lobular izquierdo y derecho presentan diferencias significativas entre las fases ováricas al utilizar la prueba de Kruskal-Wallis ($H=196.8264$ $p<0.05$), ($H=190.7277$, $p<0.05$), siendo más evidentes las distinciones del IGA que con medidas de las gónadas frescas. Véase figura 23 y 24.

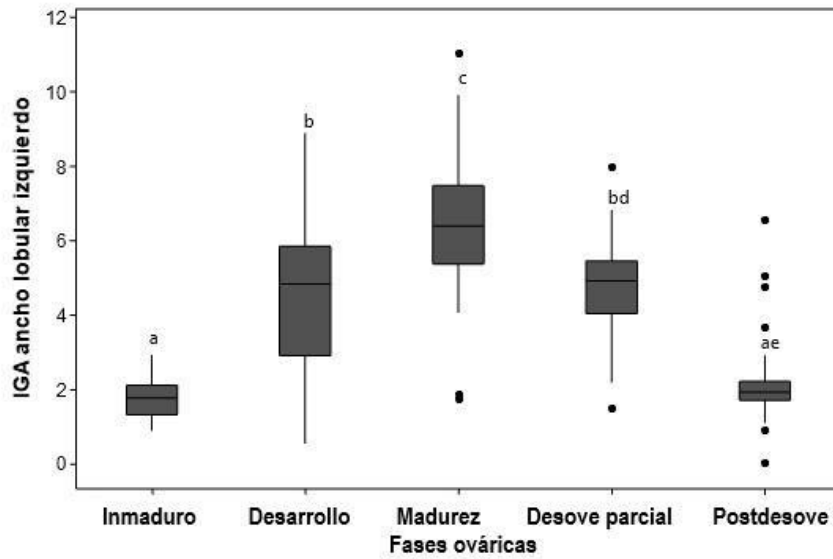


Figura 23. IGA usando el ancho lobular izquierdo de gónadas fijadas para la distinción de las fases ováricas. Las letras diferentes (a, b, c, d, e) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico.

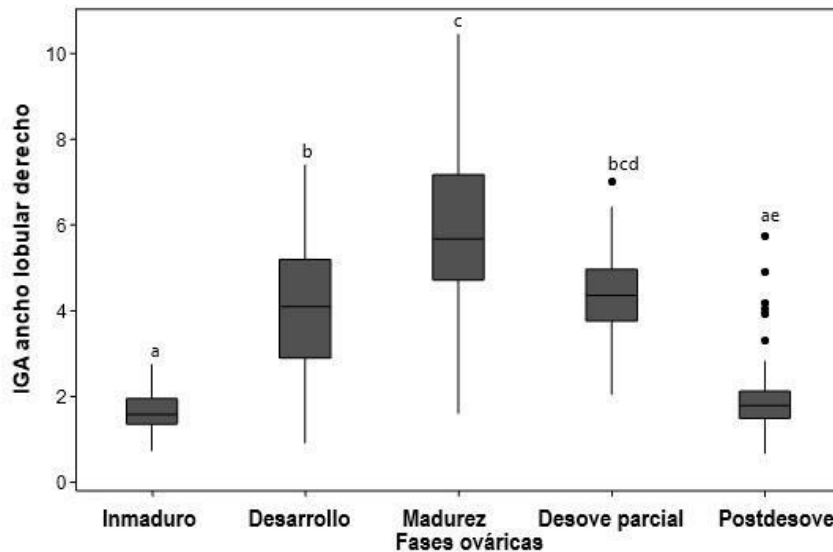


Figura 24. IGA usando el ancho lobular derecho de gónadas fijadas para la distinción de las fases ováricas. Las letras diferentes (a, b, c, d, e) muestran diferencias significativas

($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico.

8.7.6 IGA y longitud lobular mayor y menor en ovarios fijados

Se examinó el IGA utilizando las medidas de longitud lobular mayor y longitud lobular menor de un total de 387 ovarios fijados histológicamente de *M. productus*, y la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk indicó que los residuales no se distribuían de manera normal ($W = 0.96813$, $p < 0.05$), pero si, de manera homogénea (a prueba de Bartlett) ($K = 4.1955$, $p > 0.05$). Por lo tanto, se realizaron pruebas no paramétricas utilizando las medidas de longitud lobular mayor respecto a la longitud lobular menor y se encontraron diferencias significativas entre ambos lóbulos al igual que en ovarios en fresco ($W = 165442.00$, $p < 0.05$).

Por lo tanto, se examinó el IGA utilizando ambas longitudes lobulares para la comparación de las fases ováricas (Prueba de Kruskal-Wallis) y presentaron diferencias significativas entre las fases ováricas tanto en el lóbulo mayor ($H = 207.8498$, $p < 0.05$) como en el lóbulo menor ($H = 177.9673$, $p < 0.05$), demostrado en las figuras 25 y 26 respectivamente. Resultados en los que también presentan mayor contribución estadística en la diferenciación de las fases en comparación con los obtenidos en los ovarios en fresco (Fig. 19 y 20). La tendencia del IGA presenta valores más altos en la fase madurez y decremento de valor en las fases inmaduro y postdesove.

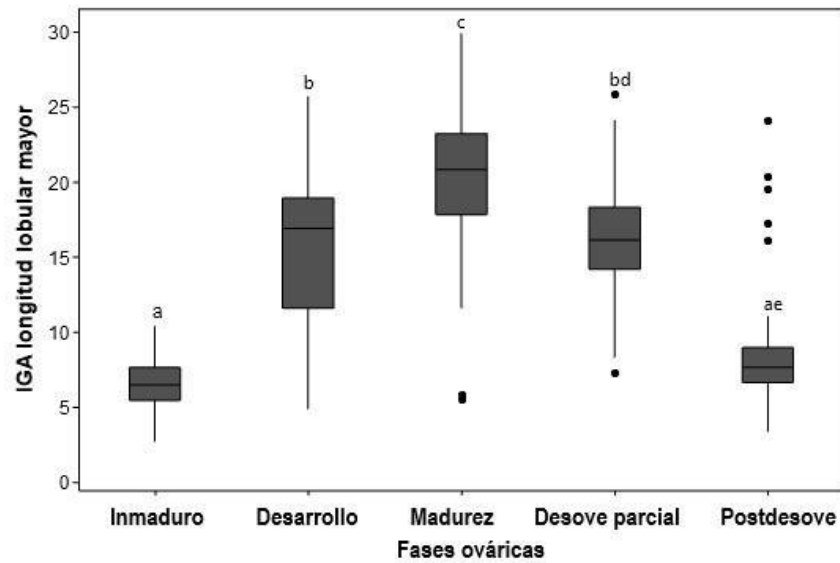


Figura 25. IGA usando la longitud lobular mayor en gónadas fijadas para la distinción de las fases ováricas. Las letras diferentes (a, b, c, d, e) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico.

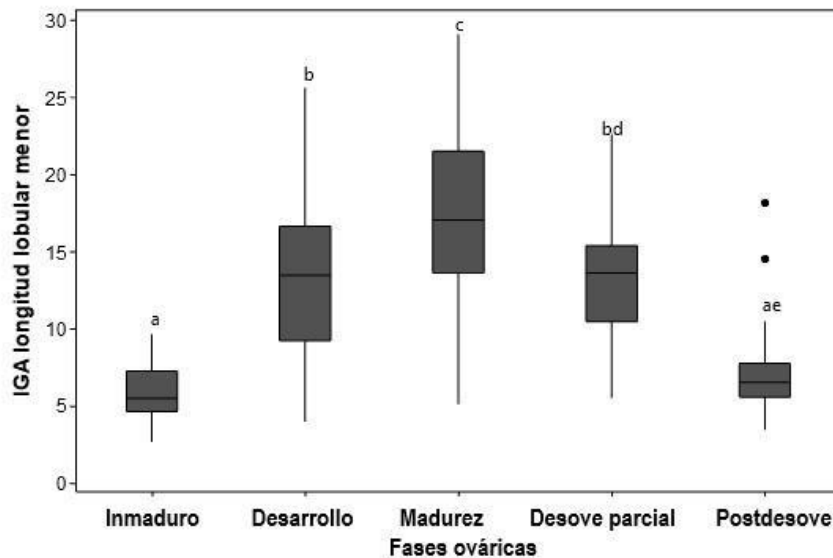


Figura 26. IGA usando la longitud lobular mayor en gónadas fijadas para la distinción de las fases ováricas. Las letras diferentes (a, b, c, d, e) muestran diferencias significativas

($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico.

8.7.7 IGA y ancho lobular en testículos fijados

Se examinó el IGA utilizando el ancho lobular izquierdo y el derecho de un total de 311 testículos fijados de *M. productus*, de los cuales la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk indicó que los residuales no se distribuían de manera normal ($W=0.98393$, $p < 0.05$), pero si presentaron homogeneidad (a prueba de Bartlett) ($K=1.2676$, $p=0.2602$).

Los testículos fijados presentaron una mayor distinción morfo-gonadal de cada fase testicular, presentándose diferencias significativas en el IGA utilizando el ancho lobular izquierdo y el ancho lobular derecho (Prueba de Kruskal-Wallis) ($H=63.63615$, $p < 0.05$) ($H=7673728$ $p < 0.05$). Notoriamente se encontraron valores más notables del IGA en la fase eyaculación y un decremento en IGA en fases como inmaduro y posteyaculación lo que es representativo de un ciclo reproductivo figura 27 y 28 respectivamente.

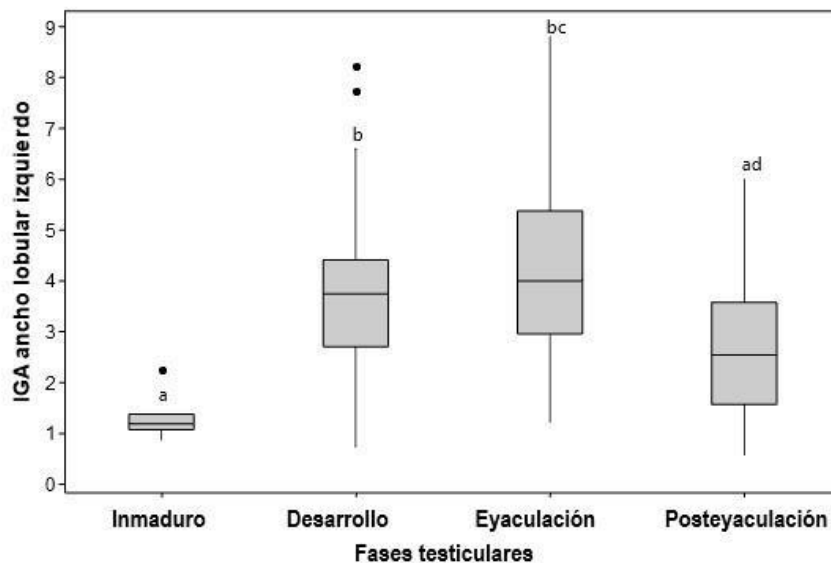


Figura 27. IGA usando el ancho lobular izquierdo en testículos fijados para la distinción de las fases testiculares. Las letras diferentes (a, b, c, d) muestran diferencias significativas entre fases ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico.

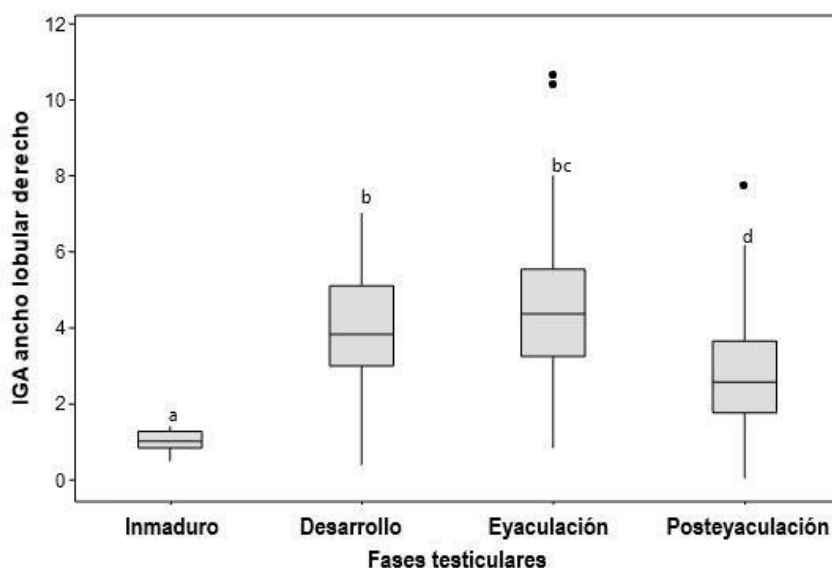


Figura 28. IGA usando el ancho lobular derecho en testículos fijados para la distinción de las fases testiculares. Las letras diferentes (a, b, c, d) muestran diferencias significativas entre fases ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico.

8.7.8 IGA y longitud lobular mayor y menor en testículos fijados

El IGA usando las medidas de longitud lobular mayor y menor de un total de 314 testículos fijados histológicamente de *M. productus*, en los cuales la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk indicó que los residuales se distribuían de manera normal ($W=0.99225$, $p=0.1397$), pero no presentan homogeneidad (prueba de Bartlett) ($K= 17.079$, $p < 0.05$). La prueba estadística mostró diferencias significativas en el IGA al usar el lóbulo mayor y lóbulo menor ($W= 77544.00$, $p < 0.05$). Caso

similar a las demás pruebas usando la longitud lobular en el IGA en ovarios y testículos en fresco.

El análisis del IGA utilizando la longitud lobular mayor para la distinción de las fases testiculares mostró diferencias significativas (Prueba de Kruskal-Wallis) ($H=74.58985$ $p<0.05$). Y el IGA usando la longitud lobular menor también presenta diferencias significativas entre las fases testiculares ($H=56.91716$, $p<0.05$) figura 29 y 30 respectivamente. El IGA presenta valores más altos en la fase eyaculación y decremento de valor en las fases inmaduro y posteyaculación, mostrando un patron similar de desarrollo durante un ciclo testicular.

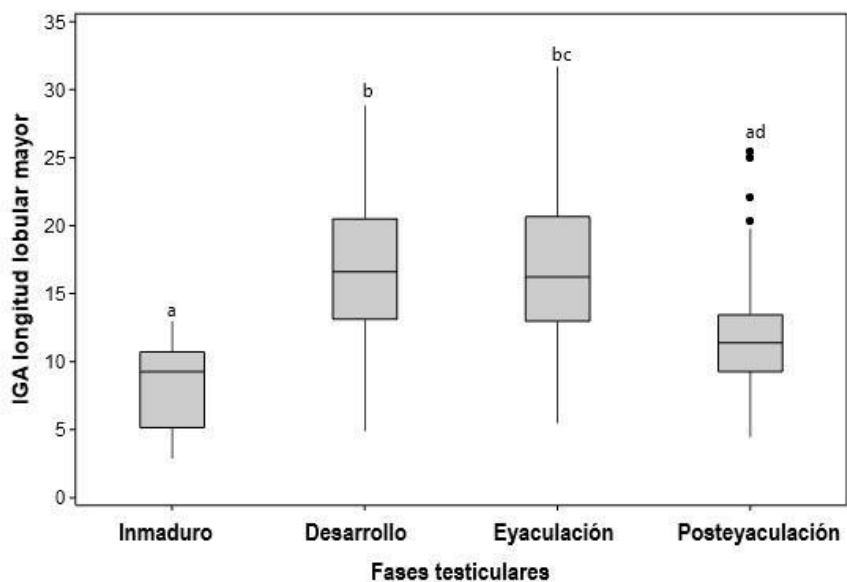


Figura 29. IGA usando la longitud lobular menor para la distinción de las fases testiculares. Las letras diferentes (a, b, c, d) muestran diferencias significativas ($p<0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico.

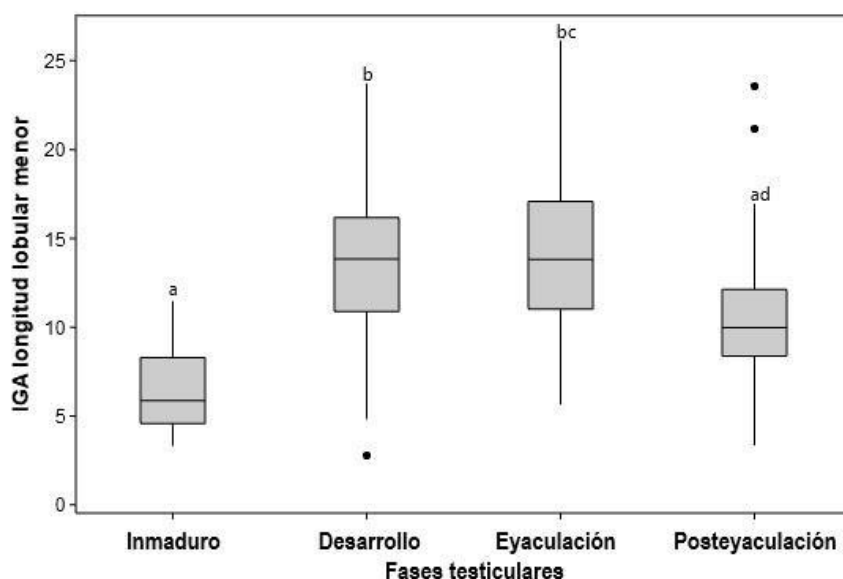


Figura 30. IGA usando la longitud lobular menor para la distinción de las fases testiculares. Las letras diferentes (a, b, c, d) muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) de acuerdo a la prueba de comparaciones de rangos medios. Las líneas sólidas dentro de la caja corresponden a la mediana. También se muestran los valores anómalos como puntos negros en el gráfico.

8.8 Fases morfo cromáticas de desarrollo ovárico de *M. productus*

En la merluza del Pacífico se encontró gran variedad y diferenciación morfo cromática en los ovarios por cada fase y subfase del ciclo ovárico. Se distinguieron medidas aproximadas en centímetros, asimetría específica entre lóbulos (longitud y anchura), coloración específica de la vascularización, presencia de finos puntos negros, propiedades de la pared ovárica y presencia de tejidos blanquecinos sobre las venas principales lobulares. Lo que permitió clasificar tales características con sus respectivos grupos histológicos a detalle para poder generar una escala morfo cromática de desarrollo gonadal simplificada, en la cual se presentan las características morfo cromáticas distintivas y se hace referencia a ciertos atributos histológicos para comprender el cambio en la apariencia (fenotipo). En esta sección se presentan las descripciones a detalle.

Fase inmaduro

De los 400 ovarios diagnosticados histológicamente se registró un 8.8% en fase inmaduro (Fig. 31). En esta fase se definieron dos tipos morfocromáticos, ambos con las características de tamaño pequeño aproximadamente de 0.5 cm a 3.5 cm, lóbulos de largo y ancho simétrico con pared ovárica delgada muy fina y lisa sin tejidos externos y con nula o fina vascularización.

El tipo morfocromático a (Fig. 31 a) se diferencia a partir de su gama cromática, que va desde translúcidos a rosáceos tenues (RGB 201,146,111) (HEX #C9926F) cuando son organismos sin ninguna falla en el desarrollo inicial de los ovocitos en cromatina nucleolar y perinucleolar. El tipo morfocromático b (Fig. 31 b) tiene una coloración más rojiza (RGB 148,67,77) (HEX #94434D) con la parte superior e inferior lobular translúcidas. Esta coloración se presenta cuando hay presencia de por lo menos un ovocito en proceso de atresia folicular como resultado de alguna falla en el desarrollo o mala manipulación. El tipo morfocromático b podría confundirse con la fase de reposo a excepción de las partes translúcidas y que la pared ovárica es delgada fina y lisa sin ningún tejido externo. (Fig. 31, b).

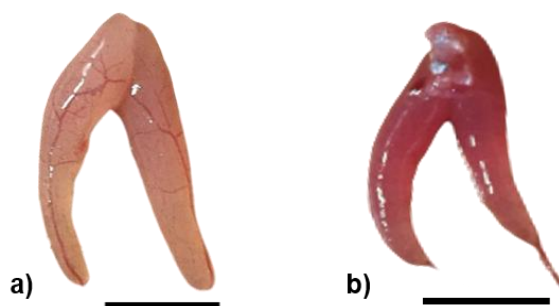


Figura 31. Ovarios de *Merluccius productus* en fase inmaduro. a) ovario inmaduro sin fallas en su desarrollo, b) ovario inmaduro con fallas en los ovocitos. La barra de escala es 1 cm.

Fase desarrollo

La fase de desarrollo presentó un 28.8% del total de ovarios diagnosticados y tuvo mayor porcentaje de frecuencia de aparición de todas las fases. Se definieron tres subfases con sus diferentes características histológicas y morfocromáticas. En la subfase desarrollo inicial (Fig. 32) hay dos tipos morfocromáticos que presentan las mismas características histológicas (tamaños de 1.5 a 6 cm, largo lobular asimétrico, sin visibilidad de ovocitos, sin expulsión de ovocitos al tacto, con vascularización fina roja y sin puntos negros). Sin embargo, el ovario con el tipo morfocromático a (Fig. 32 a), presenta coloración rosa opaco (RGB 200, 103, 111) (HEX #C8676F) a rojiza y la pared ovárica es firme y gruesa lo que significa que el ovario antecede de la fase de reposo o reabsorción y ya cumplió por lo menos con un ciclo ovárico. Esta característica se presentó un 7.5% en 115 ovarios en fase de desarrollo.

El desarrollo inicial con el tipo morfocromático b (Fig. 32 b) presenta una gama cromática en amarillo tenue (RGB 198,130,86) (HEX #C68256). Esta subfase de desarrollo inicial le antecede la fase inmaduro, por lo tanto, esta especificación nos permite distinguir que la merluza (anteriormente organismo virgen) acaba de iniciar su primera adultez y esta subfase en ovarios en fase desarrollo se presentó un 19.1%.

El tipo morfocromático c (Fig. 32 c) pertenece a la subfase desarrollo intermedio, misma que se presentó en un 26.1% de los 115 ovarios en fase desarrollo. Su tamaño va de 4.5 cm a 10 cm, con un largo y ancho lobular simétrico, pared ovárica delgada y transparente y se inicia la visibilidad de los ovocitos en color amarillo claro, con alta sensibilidad a la expulsión de ovocitos al presionar la gónada, coloración predominante amarilla y vascularización más gruesa y roja.

El subtipo morfocromático d o subfase de desarrollo avanzado (Fig. 32, d) se observó en un 54.8% de los 115 ovarios en desarrollo, siendo el de mayor frecuencia de aparición. Este tipo morfocromático presentó ovarios grandes de 11

cm a 15 cm y las mismas características morfocromáticas de la subfase anterior (desarrollo intermedio), con dos distinciones, 1) en la coloración que fue de amarillo crema (RGB 253,189,93) (HEX # FDB45D) a amarillo paja (RGB 211,172,124) (HEX # D3AC7C) y 2) presenta mucha vascularización envolvente más gruesa color rojo a morado.

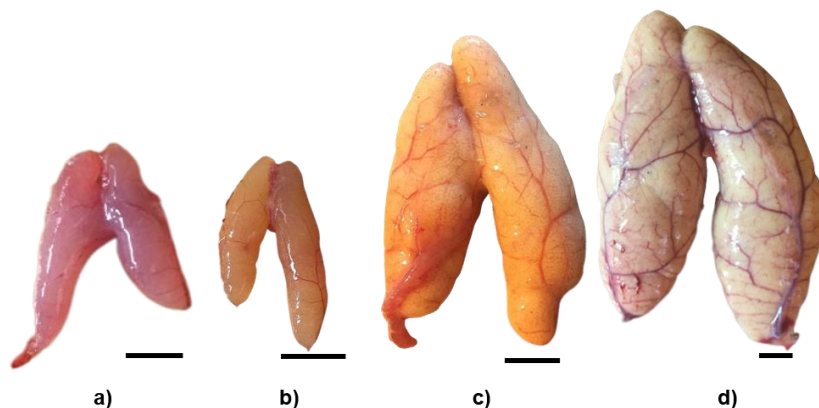


Figura 32. Ovarios de *Merluccius productus* en fase de desarrollo. a) subfase desarrollo inicial antecedente de un reposo, b) desarrollo inicial que procede de inmaduro, c) desarrollo intermedio d) desarrollo avanzado. La barra de escala es 1 cm.

Fase madurez

La fase madurez predominó en un 15.0% y presentó tres tipos morfocromáticos diferentes (Fig. 33), debido a la presencia de los diferentes estadios de ovocitos en maduración final (núcleo migratorio, fusión de vitelo e hidratados), lo que da una apariencia distinta conforme avanza la fase de madurez.

El primer tipo morfocromático o madurez inicial (Fig. 33 a) son ovarios más grandes que un desarrollo, de 10 cm a 18 cm, con pared ovárica delgada, algunas veces con el lóbulo izquierdo más largo y de ancho lobular similar, con un 80% de ovocitos color amarillo claro y un 20% translúcidos como característica principal. La gama cromática va de naranja claro (RGB 211,160,105) (HEX # D3A069) a muy claro con vascularización envolvente roja y lóbulos turgentes. Este tipo

morfo cromático histológicamente presenta una gran cantidad de ovocitos en estadio de núcleo migratorio y unos pocos en fusión de vitelo.

El tipo morfo cromático b de la madurez (Fig. 33 b) presentó tamaños variados de 6 cm a 18 cm, con un lóbulo más largo que otro (izquierdo predominante), lóbulos más anchos de la parte media, pared ovárica delgada y transparente con visibilidad de los ovocitos en un 50% opacos y 50% translucidos y con expulsión al tacto. Los ovarios son de color naranja oscuro (RGB 211,160,105) (HEX #D3A069) a rosa opaco (RGB 139,84,105) (HEX #8B5469) y vascularización envolvente de rojo a guinda con lóbulos mayor turgencia. La única diferencia histológica respecto al tipo morfo cromático a, es que se presenta una alta presencia de ovocitos en fusión de vitelo e hidratados con gota lipídica y pocos en núcleo migratorio lo que da el color a los ovocitos.

El tipo morfo cromático c, representa el mayor grado en la fase madurez (Fig. 33, c) y destacó por ser los ovarios de tamaño superior de todo el ciclo gonádico, desde 15 cm hasta 26 cm, con pared ovárica de transparente, más del 50% de los ovocitos visibles son transparentes y sensibles a la expulsión al tacto, ovarios con coloración rosa oscuro (RGB 139,84,105) (HEX # 856069) y vascularización envolvente color guinda a morada.

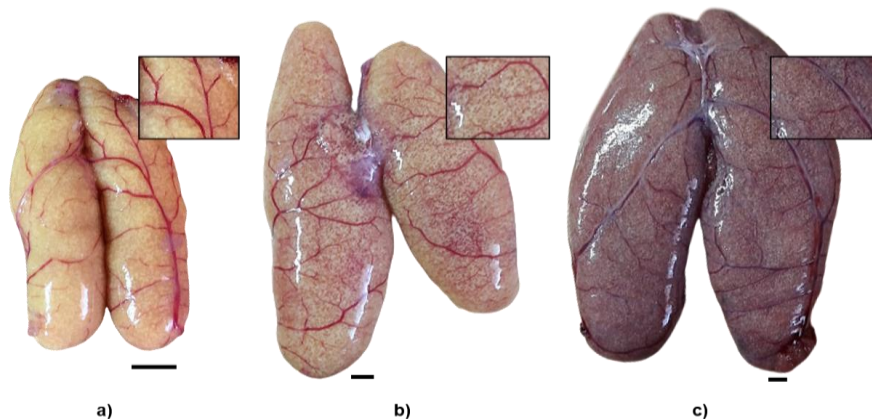


Figura 33. Ovarios de *Merluccius productus* en fase madurez. a) madurez morfotipo uno, b) madurez morfotipo dos, c) madurez morfotipo tres. La barra de escala es 1 cm.

Fase de desove parcial

La fase desove parcial en la merluza del Pacífico se registró en un 24.5% del total de ovarios analizados, siendo la segunda fase con mayor porcentaje de aparición. De 98 ovarios en fase de desove parcial, un 37.8% se tipificó como un desove parcial con un tipo morfocromático a (Fig. 34 a), con tamaños de 9.5 cm a 23 cm, lóbulos de largo y ancho asimétrico, con pared ovárica gruesa, no son flácidos, pero si turgentes y con visibilidad de ovocitos opacos, ovarios con coloración rosa grisaseo a opaco (RGB 194,153,165) (HEX C299A5) con vascularización muy evidente envolvente, gruesa y morada (Fig. 34, a).

La subfase determinada como postdesove parcial corresponde al tipo morfocromático b (Fig. 34 b), con un 43.9% de presencia en la fase desove. Se caracterizó por diferir en la coloración con una gama cromática en amarillo crema (RGB 210, 198,178) (HEX # D2C6B2) a rosa claro (RGB 173,133, 130) (HEX # AD8582) y vascularización de rojo a morado. Se presenta con una amplia variedad de tamaños desde los 5 cm a los 16 cm, con asimetría lobular, pared ovárica gruesa y con visibilidad de los ovocitos color amarillo claro, además de presentar pocos y finos puntos negros evidencia de atresia folicular. Los ovarios no son flácidos, pero si turgentes (Fig. 34 b).

Finalmente, en la fase desove parcial se tipificó una subfase nombrada desove final que correspondió con el tipo morfocromático c (Fig.34 c). En esta fase indica que la gónada acaba de expulsar el último lote de ovocitos, y solo están las estructuras y ovocitos remanentes. La pared ovárica es gruesa en proceso de compactación, se registraron ovarios de 5 cm a 7 cm, con lóbulos mayormente asimétricos, visibilidad de los ovocitos color amarillo claro, coloración predominante naranja oscuro a naranja opaco (RGB 191,105,58) (HEX #BF693A) con vascularización rojiza a guinda y algunas manchas oscuras de coloración moradas grisáceas (RGB 87,62,66) (HEX #573E42) y puntos negros a café oscuro indicadores de atresia folicular.

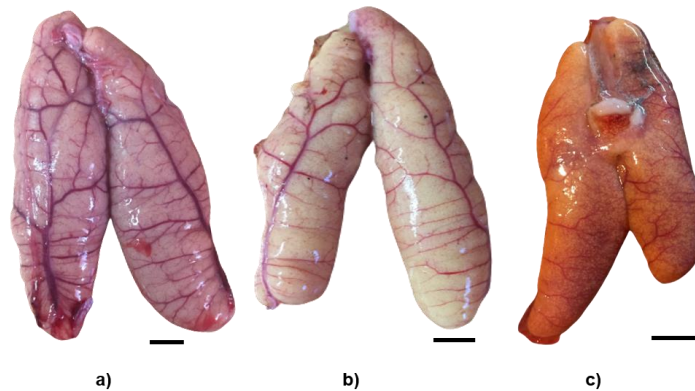


Figura 34. Ovarios de *Merluccius productus* en fase desove parcial. a) subfase desove parcial, b) subfase postdesove parcial c) subfase desove final. La barra de escala es 1 cm.

Fase recuperación

La fase de recuperación se detectó en un 13.5% del total de 400 ovarios, e histológicamente se presentaron procesos de degeneración folicular con más del 50% de ovocitos alveolo cortical en todos los estados de atresia. Macroscópicamente presenta una coloración rosa grisáceo opaco (RGB 132,90,132),(HEX # 845A88) con partes lobulares inferiores guindas y paredes ováricas gruesas, junto con la característica principal de presentar muchos tejidos blanquecinos sobre las venas, las cuales son finas y rojizas, los ovarios tienen tamaños de 4 a 6 cm (Fig. 35). Cabe mencionar que en cinco ovarios se observaron procesos de recuperación iniciales debido a la presencia ovocitos primarios y un 10% de alveólos corticales, 1 a 2 en vitelogénesis remanentes y de 1 a 3 ovocitos hidratados en fases iniciales de atresia y morfocromáticamente son iguales a lo ya descrito, solo cambia la evidencia de puntos negros en los lóbulos.



Figura. 35. Ovarios de *Merluccius productus* en fase recuperación. La barra de escala es 1 cm.

Fase reposo

La última fase ovárica del ciclo en la merluza del Pacífico fue el reposo con un 9.5% del total de ovarios (Fig. 36). Su apariencia morfo cromática presenta una clara diferencia con las demás fases. Son ovarios con coloración guinda grisáceo (RGB 101,38,57) (HEX # 652639) y no tiene partes translúcidas, las paredes ováricas son muy gruesas, indicativo de contracción de tejidos. Además, presenta haces de tejido blanquecino que son parte del mesenterio (membrana que sostiene al ovario) y son más evidentes sobre la vena principal, los ovarios son pequeños de 3.5 cm a 6 cm, y con lóbulos delgados.



Figura 36. Ovario de *Merluccius productus* en fase reposo. Barra de escala 1 cm.

8.9 Fases morfo cromáticas de desarrollo testicular de *Merluccius productus*

El análisis histológico de 329 testículos de merluza del Pacífico y el cotejo de fotografías con otras escalas de desarrollo gonadal, permitió definir los tipos morfo cromáticos de cinco fases y cuatro subfases del ciclo testicular: inmaduro, desarrollo (subfases: desarrollo inicial y desarrollo avanzado), eyaculación (subfases: eyaculación intensa y eyaculación con desarrollo), recuperación y reposo. Además, las características distintivas son la formación de lóbulos superiores oblongos turgentes o contraídos, márgenes lobulares externos con pliegues y su nivel de turgencia a pliegues enroscados, ancho y largo lobular y coloración específica del conducto espermático o en ciertas áreas lobulares.

Fase inmaduro

Los testículos en fase de inmaduro fueron un 4.3% del total de los testículos. Estos testículos presentaron tamaños de 2.5 cm a 6 cm, con lóbulos planos y simétricos, con ondulaciones en el margen lobular externo, la distinción principal es que son translúcidos con pocas partes lobulares rosa tenue (RGB 184,153,142) (HEX # B8998E) y nula o muy fina vascularización roja y en la parte superior lobular no presenta pliegues sobresalientes (Fig. 37).



Figura 37. Testículo de *Merluccius productus* en fase inmaduro. La barra de escala es 1 cm.

Fase desarrollo

En machos, la fase de desarrollo se presentó un 25.8%, en la cual los marcadores histológicos evidenciaron dos subfases de desarrollo, con tres tipos morfocromáticos. El tipo morfocromático a corresponde a la subfase desarrollo inicial (Fig. 38 a) y se distingue por ser testículos pequeños de 3.5 cm a 13 cm, con lóbulos similares alargados y delgados que empiezan a ensancharse, que presentan finas ondulaciones y pliegues en el margen lobular externo y en la parte lobular superior cerca del conducto espermático se forman extensiones con forma oblonga. La coloración testicular es completamente rosa tenue (RGB187,145,115) (HEX #BB9173) o puede tener margen lobular interno transparente y margen lobular externo rosa tenue.

El tipo morfocromático b y c corresponden con la subfase de desarrollo avanzado, que se distinguen entre ellos solo por la cantidad de espermatozoides. Ambos tipos son testículos con tamaños de 6 cm a 11.5 cm, lóbulos de largo y ancho similar, con evidentes pliegues en los márgenes lobulares externos y crecimiento lobular oblongo en la parte superior al conducto espermático (Fig. 38). Por su parte el tipo morfocromático b (Fig. 38 b) presentó coloración rosa oscuro (RGB 171,116,130) (HEX #AB7482) del margen lobular externo, con margen lobular interno translúcido y con parches color rosa y blanco. Del tipo morfocromático c (Fig. 38 c) se identificaron con predominante color blanquecino (70% blancos RGB 229,233,228) (HEX #E5E9E4), y borde lobular externo rojizo con pliegues más turgentes y crecimiento lobular oblongo en la parte superior al conducto espermático.

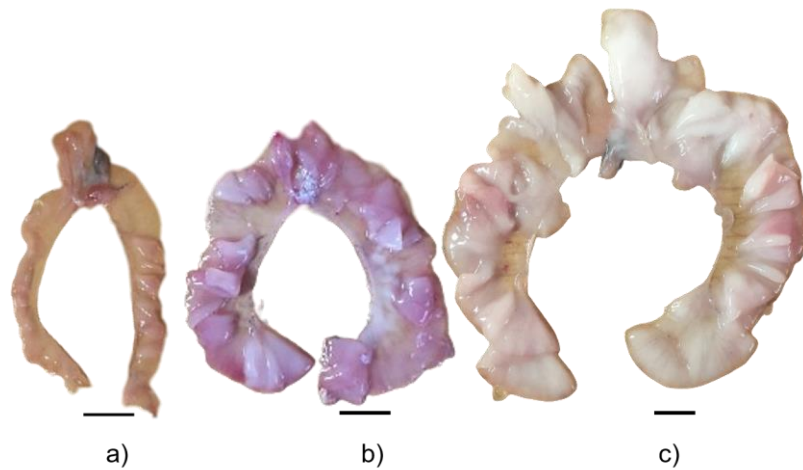


Figura 38. Testículo de *Merluccius productus* en fase desarrollo. a) subfase desarrollo inicial b) subfase desarrollo avanzado c) subfase desarrollo avanzado tipo morfocromático 2. La barra de escala es 1 cm.

Fase eyaculación

Los testículos en fase eyaculación fueron el 42.9%, es decir la mayoría. Las dos subfases de la eyaculación presentaron morfocromatía distinta (Fig. 39). El tipo morfocromático a ajusta a la subfase eyaculación intensa (Fig. 39 a), misma que al tener mayor cantidad de espermatozoides listos para liberarse, los testículos son de mayor tamaño, desde 10 cm a 22 cm. Los márgenes lobulares internos son más gruesos, tienen la parte superior lobular prominente con forma oblonga, los pliegues son muy turgentes hasta enroscarse, y son sensibles a la expulsión de líquido seminal. La coloración se torna predominante a color blanco y algunas veces con finos márgenes externos lobulares rosa opaco (RGB 152, 83, 106) (HEX# 98536A). El tipo morfocromático b o subfase de eyaculación con desarrollo (Fig. 39 b) es similar a la subfase eyaculación intensa, sin embargo, se distingue en que los pliegues lobulares son de menor tamaño, así como los lóbulos superiores oblongos y cromáticamente los márgenes externos se vuelven rojizos (RGB 159,113,119) (HEX# 9F7177).

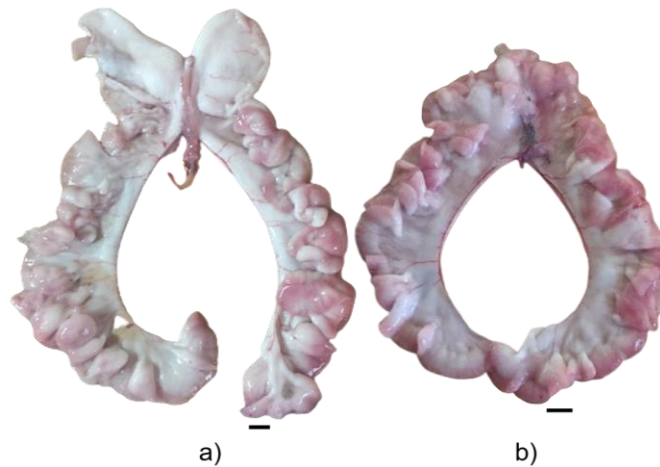


Figura 39. Testículo de *Merluccius productus* en fase eyaculación. A) subfase eyaculación intensa b) subfase eyaculación con desarrollo. La barra de escala es 1 cm.

Fase de recuperación

La fase de recuperación se presentó en un 13.7% de los machos. Los testículos tienen un menor tamaño, de 8 cm a 12 cm, presentan un aspecto gastado, márgenes lobulares internos planos, de translúcidos a blanco opaco, en algunos casos se presentaron pocos parches blancos y los márgenes lobulares externos tienen finos pliegues contraídos rojo opaco (RGB 126,70,79) (HEX #7E464F). Los lóbulos superiores oblongos son pequeños y distinguibles con parches blancos y la vascularización es fina color rojo a morado al igual que el conducto espermático (Fig. 40).



Figura 40. Testículo de *Merluccius productus* en fase recuperación. La barra de escala es 1 cm.

Fase de reposo

Finalmente, el 13.4% de los testículos analizados resultaron en fase de reposo. El tamaño de estos testículos varía de 6 cm a 7 cm. Este morfotipo presenta lóbulos aplanados y alargados, con márgenes externos más ondulados que con pliegues, muy flácidos, de fácil ruptura y tienen coloración rojiza opaco completa. Los lóbulos superiores oblongos son guindas (RGB 146,92,100) (HEX# 925C64) y están estirados y muy flácidos, mientras que el conducto espermático tiene tonos guinda-morados grisáceos (RGB 120,62,77) (HEX# 783E4D).













Figura 41. Testículo de *Merluccius productus* en fase reposo. La barra de escala es 1 cm.

8.10 Escala morfocromática del desarrollo gonadal de *Merluccius productus*

Finalmente se propone una escala con la descripción de cinco fases gonádicas distinguibles (inmaduro, desarrollo, madurez, desove parcial/eyaculación, postdesove/posteyaculación) a nivel morfocromático. Se presenta el código RGB de color en cada fase ovárica y testicular acompañada del índice gonadoalométrico (IGA) de la longitud lobular mayor en hembras y el IGA utilizando el ancho lobular derecho en machos.

Tabla VII. Escala morfocromática de desarrollo ovárico y testicular de *Merluccius productus* del centro y alto Golfo de California.

FASE	DESCRIPCIÓN	HEMBRA	MACHO
1- Inmaduro	<p>Ovarios pequeños de 0.5 cm a 3.5 cm, con pared ovárica delgada lisa, fina y sin tejidos externos, con nula o muy fina vascularización roja, largo y anchos similares, ovarios translúcidos a rosáceos tenue (RGB 201,146,111) (HEX #C9926F) o rojizos (RGB 148,67,77) (HEX #94434D) con la parte inferior y superior lobular translúcidas. El IGA es 6.8 ± 1.7.</p> <p>Testículos pequeños de 2 cm a 6 cm, lóbulos de largo y ancho similar, planos con márgenes externos ondulados, coloración mayormente translúcida a rosa tenue RGB 184,153,142) (HEX#B8998E), sin vascularización evidente. El IGA es 0.3 ± 0.1.</p>		
2- Desarrollo	<p>Ovarios de 5 cm a 15 cm paredes ováricas delgadas, transparentes con ovocitos visibles amarillo claro y expulsión al tacto, largo y ancho lobular similar, ovarios color amarillo (RGB 253,189,93) (HEX # FDB45D) a amarillo paja (RGB 211,172,124) (HEX # D3AC7C) con vascularización evidente roja a morada. El IGA es 15.9 ± 5.6.</p> <p>Testículos de 6 cm a 11.5 cm, margen lobular interno translúcido delgado y parches blancos turgentes con margen externo rosa oscuro (RGB 171,116,130) (HEX# AB7482) a testículos 70% blancos (RGB 229,233,228) (HEX #E5E9E4), nula a fina vascularización roja, margen externo lobular con pliegues turgentes. El IGA es 1.2 ± 0.6.</p>		
3- Madurez	<p>Son los ovarios más grandes del ciclo de 10 cm hasta 26 cm, largo lobular asimétrico y a mayor longitud gonadal se vuelven simétricos, el ancho de ambos lóbulos siempre es similar, pared ovárica fina y transparente con visibilidad de los ovocitos en un 50% opacos y 50% translúcidos, sensible a la expulsión de ovocitos al tacto, los ovarios tienen colores de naranja claro (RGB 211,160,105) (HEX #D3A069) a rosa oscuro (RGB 139,84,105) (HEX #8B5469) y vascularización envolvente roja a guinda. El IGA es 20.9 ± 4.2.</p>		

FASE	DESCRIPCIÓN	HEMBRA	MACHO
4-Desove Parcial Eyaculación	<p>Ovarios de 5 cm a 23 cm, longitud lobular asimétrica pero ancho lobular similar, pared ovárica delgada a gruesa y transparente con visibilidad y expulsión de ovocitos translúcidos, ovarios con coloración rosa grisáceo (RGB 194,153,165) (HEX #C299A5a) a naranja opaco (RGB 191,105,58) (HEX #BF693A), puede tener pocas manchas moradas grisáceas (RGB 87,62,66) (HEX #573E42) y vascularización guinda a morada. El IGA es 16.6 ± 2.7.</p> <p>Testículos con tamaño de 10 cm a 22 cm, ocupan más de la mitad de la cavidad visceral, margen lobular interno blanco grueso, margen lobular externo con pliegues turgentes a enroscados, parte superior lobular sobresaliente de forma oblonga, testículos totalmente blancos o blancos con bordes externos rojizos (RGB 159,113,119) (HEX# 9F7177) El IGA es 1.8 ± 0.9.</p>		
5-Post-desove Post-eyaculación	<p>Ovarios con dos tipos morfocromáticos ambos con longitud lobular casi simétrica, ancho lobular delgado y paredes gruesas con tejido blanquecino en forma de haz sobre las venas principales. Ovarios de 4 a 6 cm con coloración rosa grisáceo (RGB 132,90,132) (HEX #845A88) a totalmente guinda (RGB 101,38,57) (HEX #652639) con mínima y fina vascularización. El IGA es 8.8 ± 3.2.</p> <p>Testículos alargados, delgados y flácidos de 7 cm a 12 cm, con margen lobular interno y externo delgado, los pliegues lobulares están contraídos tienen color rojizo opaco (RGB 126,70,79) (HEX #7E464F), márgenes externos ondulados, los lóbulos superiores oblongos están estirados con color guinda a morado (RGB es 120,62,77) (HEX# 783E4D), al igual que alrededor del conducto espermático. El IGA es 1.0 ± 0.7.</p>		

9. DISCUSIONES

9.1 Descripción del aparato reproductor de *Merluccius productus*

Las especies de la familia Merlucciidae presentan gran similitud anatómica (Lloris *et al.*, 2005), por lo tanto, las características morfológicas del aparato reproductor fueron similares comparando a nivel género con excepción de las particularidades morfocromáticas. En el caso de las hembras los resultados de trabajos de desarrollo gonadal de otras especies como la merluza europea *M. merluccius* de Gonçalves *et al.* (2004), la merluza peruana *Merluccius gayi peruanus* en Perea *et al.* (2005) y la merluza argentina *M. hubbsi* del estudio de Macchi y Díaz (2013) presentan evidencia fotográfica de los ovarios como dos lóbulos en forma de saco que están fusionados sólo alrededor del oviducto y se encuentran dentro de la cavidad visceral, resultados que son similares a las descripciones de este trabajo en hembras.

Para el caso de los machos, solo hay dos trabajos donde se muestra evidencia visual de los testículos. En Perea *et al.* (2005) con la escala de madurez testicular de la merluza peruana, *Merluccius gayi peruanus* que presenta dos lóbulos alargados y planos con márgenes lobulares externos con ondulaciones y pliegues que se vuelven turgentes conforme llega a la eyaculación, resultado semejante a los de este objetivo particular. Sin embargo, hay diferencia en que *M. productus* tiene mayor formación y definición de los pliegues en los márgenes lobulares, además de presentar mayor nivel de turgencia durante las fases de desarrollo y particularmente en el trabajo mencionado no se presenta evidencia de un enroscamiento de los pliegues o la formación de dos extremidades superiores alargadas e hinchadas en la parte superior lobular.

Por ende, es necesario evaluar si en las demás especies de merluza se presenta esta característica morfológica testicular, para evidenciar si estos criterios forman parte de rasgos de la trayectoria evolutiva y de especialización de *M. productus* de acuerdo a sus preferencias en distribución y hábitat. También para

verificar si estas peculiaridades pueden estar asociadas al tamaño corporal de la especie y el porcentaje de expulsión de sus gametos (Saborido, 2004). En el caso de *M. productus* por su amplia longitud total se podría reflejar en la capacidad que tienen los testículos de crecer en la cavidad visceral y crear mayor cantidad de espermatozoides para mejorar su preservación como especie obteniendo nuevos modos o características gonado-morfológicas evolutivas de reproducción de acuerdo a cada especie de merluza, suceso que anteriormente se había hipotetizado por Denton-Castillo (2018) sin embargo, es necesario realizar estudios más específicos que puedan precisar esto.

Finalmente, la descripción del aparato reproductor de hembras y machos de Denton-Castillo (2018) el cual es generalizado en cuanto a la descripción macroscópica de los ovarios, es un buen antecedente para los resultados de este objetivo específico.

9.2 Desarrollo de los ovocitos de *Merluccius productus*

En este estudio se encontraron 10 estadios de desarrollo de los ovocitos en la merluza del Pacífico del centro y alto Golfo de California (Fig. 11), que en general son semejantes a lo reportado por Denton-Castillo (2018). De su descripción de siete estadios de desarrollo de los ovocitos, a comparación de este estudio se encontraron pequeñas distinciones en el diámetro de los ovocitos y en el nivel de especificación del desarrollo del estadio de alveolo cortical, ya que en este estudio se definieron dos grados de desarrollo. Al respecto, Wallace y Sellman (1981) mencionan una posible existencia de dos poblaciones diferentes de alvéolos corticales en ciertos teleósteos, en el que algunos contienen un "cuerpo esférico" distinto, más electrodensos, evidenciando que puede haber grados de desarrollo del mismo estadio de ovocito. Al igual que en los estadios de vitelogénesis donde Brown-Peterson *et al.* (2011) diferenciaron tres grados de desarrollo del ovocito presentándose conforme mayor sea la cantidad de vitelo.

Los resultados de las medidas del diámetro de los ovocitos se reportaron con base en la recomendación del estudio de Vélez-Arellano *et al.* (2022), utilizando el perímetro medido de los ovocitos, por ende, al cotejar con los diámetros evaluados de *M. productus* de Foucher y Beamish (1980) se encontraron algunas diferencias. Los resultados del presente estudio estuvieron dentro del rango reportado para los primeros estadios es decir ovocitos previtelogénicos en 150-300 μm , ovocitos en vitelogénesis en 300-500 μm y madurez en 500-600 μm a excepción del ovocito hidratado del cual, la estimación de este estudio fue menor (698.4 μm) a las reportadas por Foucher y Beamish (1980) (1000 μm). De acuerdo a Vélez-Arellano *et al.* (2022), al utilizar el método del perímetro para estimar el diámetro, solo los ovocitos que pierden la forma esférica por la deshidratación (fusión vitelo, hidratados) difieren de los valores reportados en otros estudios, como es el caso de los resultados de Foucher y Beamish (1980).

Cabe mencionar que, los valores del diámetro del ovocito hidratado de este estudio no están alejados del trabajo de Carbonara *et al.* (2019) en la merluza europea (*M. merluccius*) donde, solo difieren con valores de 900-1050 μm para el estadio fusión vitelo y 1050-1150 μm para ovocitos hidratados. De la misma manera, en el estudio de Candelma *et al.* (2021) en *M. merluccius*, presentan valores que mantuvieron coincidencia a este estudio (ovocitos primarios y alveolo cortical <250 μm , vitelogénicos grado 1 y 2 en 250-550 μm) a excepción de la categoría vitelogénicos grado 3, núcleo migratorio e hidratados con las medidas máximas de 550-1150 μm . Sin embargo, en el estudio de Gonçalves, *et al.* (2004) reportan un intervalo mayor de medidas de los ovocitos hidratados de 317 a 828 μm para *M. merluccius* de manera, que los resultados del mencionado estudio son más cercanos a los del presente trabajo, así como los diámetros de los ovocitos primarios 23 a 87 μm , alveolo cortical 45-111 μm , vitelogénesis 105-309 μm , núcleo migratorio 542-684 μm). Sin embargo, al tratarse de diferentes especies y diferentes métodos de medición, las similitudes pueden tratarse de coincidencias.

9.3 Fases histológicas de desarrollo ovárico

Se lograron identificar seis fases generales y seis subfases de desarrollo ovárico en *M. productus*: 1-Inmaduro, 2-Desarrollo con tres subfases (desarrollo inicial, intermedio y avanzado), 3-Madurez, 4-Desove parcial con tres subfases (desove parcial, postdesove parcial y desove final), 5-Recuperación y 6-Reposo. Las seis fases generalizadas presentan arquitectura ovárica y presencia de estadios de ovocitos histológicamente similares a los trabajos anteriores de la misma especie (Foucher y Beamish, 1977; Denton-Castillo, 2018). En cuanto a las comparaciones con el género *Merluccius*, las seis fases también coinciden a nivel microestructural con los trabajos de la merluza peruana (*M. gayi peruanus*) de Perea *et al.* (2015), la merluza argentina *M. hubbsi* (Rodrigues *et al.* 2018) y la merluza europea (*M. Merluccius*) de Carbonara *et al.* (2019) y de Candelma *et al.* (2021) a excepción de la merluza *M. australis* (Alvarado *et al.*, 2015) donde no especifican la fase de recuperación ni reposo.

En particular, las referencias histológicas de *M. productus* (Foucher y Beamish, 1977; Denton-Castillo, 2018) y en la mayoría del género *Merluccius* (Alvarado *et al.* 2015; Rodrigues *et al.* 2018 y Carbonara *et al.* 2019) en la fase de desarrollo proponen dos subfases. Los resultados de este estudio permitieron identificar procesos ováricos precisos que determinaron una tercera subfase en el desarrollo, con base en los marcadores histológicos generalizados del ciclo ovárico en peces teleósteos como algunos autores sugieren (Brown-Peterson *et al.*, 2011). Se evidenció que de 115 ovarios en fase general de desarrollo un 26.1% presentó desarrollo intermedio distinguiéndose por la aparición inicial y mayor presencia de ovocitos en vitelogénesis grado 1 y 2 pocos en grado 3 y evidentes, pero en menor cantidad ovocitos en alveolo cortical grado 1 y 2 acompañados de estadios primarios compuesto estructural que se difiere de las subfases desarrollo inicial (sin ovocitos en vitelogénesis) y desarrollo avanzado (más ovocitos en vitelogénesis grado 3).

Merluccius productus en este estudio confirma desarrollo ovárico asincrónico (Foucher y Beamish, 1977; 1980; Denton-Castillo, 2018) ya que no todos los ovocitos se liberarán al mismo tiempo dado que el grado de madurez de las células gametogénicas es asincrónico, por lo que solo la porción de ovocitos hidratados serán los expulsados para su fecundación. Particularmente en la merluza argentina *M. hubbsi* en el análisis histológico realizado sobre una población adulta (Rodrigues *et al.* 2018) se encontraron coincidencias con el patrón de desove de estos resultados. Los autores identifican la puesta o desove como organismos a punto del desove, el desove parcial (organismos que ya desovaron y volverán expulsar ovocitos por la presencia de folículos postovulatorios y vitelogénicos) y la post-puesta donde finaliza el proceso de desove con ovocitos vitelogénicos en procesos iniciales de reabsorción. Esos resultados fueron análogos con los hallazgos respectivos del presente estudio donde se tipificó tres subfases que conforman el proceso de desove (desove parcial, post-desove parcial y desove final).

Del análisis histológico, de 400 ovarios un 24.5% presentaron procesos de expulsión de ovocitos (fase desove parcial general). Esta fase del ciclo ovárico fue la de mayor porcentaje de aparición, por lo que se sugiere que en el centro y alto Golfo de California en febrero el estatus reproductivo de la población de merluza presentó agregación por procesos reproductivos. Y de un total de 98 ovarios en desove, 37.8 % se identificaron en subfase de desove parcial con los marcadores histológicos de folículos post-ovulatorios definidos, ovocitos vitelogénicos grado 3 y 2, núcleo migratorio, fusión de vitelo e hidratados señal que indica que anteriormente desovó y volverá a hacerlo en las próximas horas (Fulton, 1898 en Saborido, 2004; Foucher y Beamish, 1977). En merluzas se confirma esta subfase solo como fase general llamada “desove parcial” (Gonçalves *et al.* ,2004; Denton-Castillo; 2018; Rodrigues *et al.*, 2018).

No obstante y como precedente en otras especies se ha propuesto la subfase post-desove parcial (Maldonado-Amparo *et al.*, 2017) que es histológicamente distinguible por la evidencia de folículos post ovulatorios no tan diferenciables y aún

con presencia de vitelogénesis sin signos de atresia folicular que indican que aún hay energía en el ovario para seguir madurando por posibles factores externos como luz, temperatura, alimentación entre otros que activan mecanismos del eje endocrinológico para la estimulación hormonal (Foucher y Beamish 1977; Nagahama, 1983; Rodríguez-Gutiérrez, 1992).

La subfase de desove final descrita en los ovarios analizados se decidió delimitar de otros estudios, por su distinción histológica y presentar características macroscópicas que también originan otro tipo morfocromático de ovarios en desove. En esta subfase ya no hay procesos de desarrollo o maduración sólo están presentes folículos post-ovulatorios recientes acompañados de ovocitos en alveolo cortical, primarios y ovocitos que inician procesos de reabsorción. Esta subfase difiere con la reabsorción por la visualización nítida de folículos post-ovulatorios, siendo los últimos de ese ciclo de desove en la merluza lo cual es similar a la fase postdesove en el trabajo de Gonçalves *et al.* (2004).

Finalmente, entre las distinciones de estos resultados, la fase asignada como recuperación, presenta su arquitectura ovárica, tipos celulares y presencia de atresia folicular en todos los estados en otros estudios (Foucher y Beamish, 1977; Perea *et al.*, 2015; Denton-Castillo, 2018; Rodrigues *et al.*, 2018 y Carbonara *et al.*, 2019), también es nombrada reabsorción la cual es análoga e histológicamente similar a la de este estudio. Es importante mencionar que en *M. productus* se visualizaron estos procesos de atresia folicular en diferentes fases histológicas, ya que es un fenómeno común en los ovarios de los peces teleósteos (Saidapur, 1978). Sin embargo, también se encontraron ovarios en los que falló su desarrollo y se interrumpió su desove debido al proceso de atresia folicular mayor que se caracterizó por lamelas ováricas sin folículos postovulatorios y con más del 50% de todos los ovocitos en atresia, pero principalmente en estadios de desarrollo o en maduración final siendo reabsorbidos por fagocitosis desde las células de la capa granulosa (Saidapur, 1978; Valdebenito *et al.*, 2011). Proceso que anteriormente ya

se había reportado (Foucher y Beamish, 1980) y en un bajo porcentaje del total de ovarios analizados en Denton-Castillo (2018).

9.4 Fases histológicas de desarrollo testicular

En los testículos analizados se distinguieron cinco fases y cuatro subfases de desarrollo testicular, 1-Inmaduro, 2-Desarrollo con dos subfases (desarrollo inicial y desarrollo avanzado), 3-Eyaculación parcial con dos subfases (eyaculación intensa y eyaculación con desarrollo), 4-Recuperación y 5-Reposo. La diferencia en las fases testiculares diagnosticadas de la merluza del Pacífico en comparación con la misma especie (Denton-Castillo, 2018), las merluzas del cabo (Botha, 1983), la merluza peruana (Perea *et al.*, 2015), y con la merluza austral (Alvarado *et al.*, 2015) es que respectivamente en sus diagnósticos diferencian a la fase madurez de la fase eyaculación, como tradicionalmente se sugiere.

En este estudio la evidencia histológica de la arquitectura testicular y la dinámica celular apoya, que la fase madurez en el caso de *M. productus* se puede unificar con la fase de eyaculación. Esto se justifica con base en algunos estudios, donde sugieren que cíclicamente después de la subfase desarrollo avanzado, el testículo presenta un aumento de espermatozoides en el lumen testicular (espermiación) y recomiendan clasificarlo como “eyaculador capaz” fase antes nombrada madurez. El nombre “madurez” no es tan recomendable usar en las fases testiculares ya que los términos "maduro" o "maduración" se utilizan para describir la madurez sexual o un estadio del ovocito (Brown-Peterson *et al.*, 2011). Conforme a lo descrito anteriormente en 94 testículos se registró presencia casi exclusiva de espermatozoides que llenan el 100% de los vasos seminíferos y macroscópicamente en un alto porcentaje hubo expulsión de líquido seminal sin presionar, características de una madurez y eyaculación de los trabajos en comparación (Denton-Castillo, 2018; Perea *et al.*, 2015; Alvarado *et al.*, 2015).

En seguimiento a la propuesta de madurez-eyaculación, otros investigadores (Blazer, 2002; Schulz *et al.*, 2005 y Uribe *et al.*, 2014), diagnostican la madurez de

acuerdo a un desarrollo progresivo del epitelio germinal y de los procesos de espermatogénesis y espermiación en el testículo indicado madurez temprana y media como parte del desarrollo y del proceso de espermiogénesis. Mientras que la madurez tardía se describe con base al proceso de espermiación, justo cuando ya se produce una expulsión de los espermatozoides, evidenciando una posible clasificación de eyaculación. Por lo tanto, en el margen de los hallazgos, en la fase eyaculación se tipificó la subfase eyaculación intensa, con las características antes mencionadas.

En la fase eyaculación se observaron tres características histológicas que categorizaron la subfase eyaculación con desarrollo: 1) se encontró actividad espermatogénica, delimitada a la periferia de la pared testicular con claras cohortes de espermatogonias, espermatoцитos y espermátidas en el epitelio germinal, pero mayor cantidad de espermatozoides respectivamente, características que en el trabajo de Blazer (2002) define a testículos espermatogénicos tardíos como parte de procesos de madurez-eyaculación; 2) fue evidente un epitelio germinal discontinuo proximalmente y epitelio continuo distalmente, procesos referidos a espermatogénesis y espermiación respectivamente (Uribe *et al.*, 2014); 3) la evidencia que delimitó a la subfase de eyaculación con desarrollo de una fase de desarrollo sin haber eyaculado, es la ondulación y estiramiento con forma de zigzag que presenta la pared de los vasos seminíferos estructura que evidencia una anterior expulsión de espermatozoides (R. Sánchez-Cárdenas, comunicación personal, 20 de octubre de 2022). Estas observaciones pueden definir que los testículos de merluza presentan una parcialidad en la eyaculación como mencionan Alvarado *et al.* (2015) también sucede en machos y hembras de la merluza austral (*M. australis*).

Otro hallazgo del diagnóstico histológico sugiere la clasificación de la fase recuperación la cual difiere de algunos estudios (Botha, 1983; Alvarado, *et al.*, 2015 y Denton-Castillo, 2018), pero es homóloga a la posteyaculación observada en un 13.7%, ya que los testículos no presentan procesos de atresia como las hembras.

La literatura presenta la fase “regresión” caracterizada por la reducción intensa de la espermatogénesis, restos de espermatozoides y alta presencia de espermatogonias en proceso de recuperación (Blazer, 2002; Brown-Peterson, *et al.*, 2011; Uribe *et al.*, 2014). En *M. gayi peruanus* (Perea *et al.*, 2015) es nombrada post-expulsante y también es homólogo a la recuperación en hembras. Microscópicamente la fase recuperación presentó una gran cantidad de “esferas” en el epitelio germinal, que se comparan con la formación quística que producen las células de Sertoli cuando rodean a las espermatogonias (Schulz *et al.*, 2005), Mismas células que secretan un líquido citoplasmático y fagocitan a las células germinales apoptóticas y cuerpos residuales de las espermátidas durante la espermiogénesis (Schulz *et al.*, 2010).

Por último, cabe mencionar que en el análisis hubo un 2.5% de testículos inmaduros lo cual no es un resultado que defina la actividad total que se presentó en merluzas muestreadas en febrero y marzo de 2019. Este bajo porcentaje corresponde a la dificultad de extraer completos los testículos de la cavidad abdominal del pez durante el muestreo, por consecuencia de su frágil textura y las condiciones imperantes de viento y movimientos que se presentan en la cubierta del barco. Sin embargo, a pesar de ser pocos testículos las evidencias histológicas cumplen con lo definido en otros trabajos del género *Merluccius* y la especie objetivo (Alvarado *et al.*, 2015; Perea *et al.*, 2015 y Denton-Castillo 2018).

9.5 Ciclo ovárico

Debido a la duración de la prospección del recurso, no se definió la cantidad de tiempo específico de cada fase ovárica del ciclo reproductivo, sin embargo y de manera importante, en los ovarios analizados de febrero-marzo de 2019 en aguas del alto Golfo de California se encontraron las seis fases ováricas (inmaduro, desarrollo, madurez, desove parcial, recuperación y reposo) mismas, que se han documentado del ciclo reproductivo en diferentes estudios de escalas de maduración y biología reproductiva de *M. productus* y del género *Merluccius*

(Christiansen, 1971; Foucher y Beamish, 1977; Perea *et al.* 2015; Denton-Castillo, 2018; Rodrigues *et al.* 2018; Carbonara *et al.* 2019 y Candelma *et al.* 2021).

En *M. productus* el ciclo ovárico inicia en la fase inmaduro caracterizada por ser la etapa juvenil o virginal como una referencia generalizada en peces teleósteos, algunos autores mencionan que durante esa fase del ciclo reproductivo no se producen procesos de atresia folicular (Brown-Peterson *et al.*, 2011). En este estudio los diagnósticos evidenciaron que en la fase inmaduro algunos ovarios analizados tuvieron falla de uno a tres ovocitos en estadio perinucleolar lo que puede ser normal o pudo ser debido a fijación tardía de los ovarios. No obstante, las características que comprueban que a pesar de tener fallas solo en algún ovocito primario, el ovario sigue distinguiendo a la hembra como un organismo juvenil (virgen) por tres características:

1) La pared ovárica es muy delgada, las lamelas ovígeras son cortas, no están estiradas y están organizadas, solo contienen ovocitos en cromatina nucleolar y perinucleolar y no hay tejido conjuntivo en parches (Christiansen, 1971; Foucher y Beamish, 1977; Brown-Peterson *et al.* 2015; Perea *et al.* 2015; Denton-Castillo, 2018; Rodrigues *et al.* 2018; Carbonara *et al.* 2019 y Candelma *et al.* 2021).

2) Otros autores mencionan que este suceso puede ocurrir en cualquier fase del ciclo ovárico por distintos procesos y cuando el porcentaje de ovocitos en falla es tan reducido podría no inducir a una alteración total del ovario, además, aún no hay un mecanismo específico que explique las fallas en los ovocitos que acompañan a los que sí podrán ser expulsados (Saidapur, 1978, Nagahama, 1983; Valdebenito *et al.*, 2011).

3) El tipo morfocromático del ovario inmaduro con alguna falla, evidenció en fotografías que solo cambia la coloración en las partes inferiores lobulares con tonos guindas, mantiene las partes medias y superior lobular translúcidas y conserva las demás características visuales representativas de un ovario inmaduro. Cabe mencionar que estas fallas detectadas pueden estar asociadas al proceso de

extracción de los ovarios durante el muestreo biológico a bordo del barco, debido a que las gónadas algunas veces suelen pasar un mayor tiempo de exposición al medio antes de guardar y preservar sus tejidos en el fijador (Humason, 1979).

Consecuentemente en el ciclo ovárico la fase desarrollo y sus derivadas subfases inicial, intermedio y avanzado definidas por el progresivo aumento de la ovogénesis dan inicio a la adultez del organismo (Wallace y Sellman, 1981; Brown-Peterson, *et al.*, 2011) clasificación que difiere de lo mencionado por Zamora-García *et al.* (2020) al considerar adulto a merluzas con signos de desove reciente, actual o inminente (etapas 3-5).

Cabe mencionar, que en este estudio la fase de desarrollo fue la de mayor aparición en el diagnóstico histológico (28.8%) del total de ovarios, suceso que evidenció la presencia de hembras en procesos reproductivos en ruta temporal hacia la inminente expulsión de ovocitos. Sin embargo, se evidenciaron procesos de atresia folicular mayor, que producen un fallo reproductivo (ovarios sin desovar) y algunos autores (Saborido, 2004) mencionan, este proceso está asociado a una baja calidad y cantidad de las reservas alimenticias o factores como temperatura, hacinamiento y contaminantes en el medio (Valdebenito *et al.*, 2011). Esto ocurrió en ocho ovarios en los que el desove fue interrumpido y pasaron directamente a la fase de recuperación suceso antes mencionado en Denton-Castillo, (2018) en relación a la fase de desarrollo con un porcentaje mínimo, como es el caso del presente estudio (2.0% del total de ovarios analizados).

Continuando con el ciclo ovárico, en cuanto a la fase de madurez se determinó un 15% de frecuencia y en tres ovarios también se alteró el curso hacia el desove, por lo cual las células pasaron a ser reabsorbidas y se catalogaron como ovarios en recuperación por la evidente atresia folicular mayor, proceso anteriormente reportado en la misma fase por Denton-Castillo (2018) y con un bajo porcentaje del total de ovarios analizados.

En el presente estudio, en febrero se encontró un 24.5% de merluzas en fase de desove parcial en el centro y alto Golfo de California resultados que son similares al estudio de *M. productus* en las mismas zonas donde reportaron un 23% de desove parcial (Denton-Castillo, 2018) a partir del cual sugieren que es durante diciembre a febrero donde ocurre la mayor actividad reproductiva en agregación y sobre el cual la flota pesquera trabaja. Acontecimiento similar a lo reportado por Salinas-Mayoral (2018), de manera similar reporta que los máximos picos reproductivos para el stock de merluza del Pacífico en la Costa Occidental de Baja California Sur pueden encontrarse durante el periodo de transición invierno-primavera. En cambio, la merluza europea (*M. merluccius*) presentó desoves durante todo el año, pero la mayor actividad de desove se presenta en invierno, finales de verano y principios de otoño en varias zonas del Mar Mediterráneo de 2007 a 2015 (Carbonara *et al.*, 2019). En el trabajo de Candelma *et al.* (2021) identificaron con análisis mensuales de 2013 a 2015 que *M. merluccius* también presentó desoves durante todo el año, mientras que en los análisis del índice gonadosomático detectaron los mayores picos reproductivos en abril y a junio de 2014 y 2015 respectivamente.

La serie de transformaciones en el ovario después de un desove continúan con la fase de reabsorción, que a diferencia de un proceso de atresia folicular mayor se puede observar en los restos de lamelas ovígeras a folículos post-ovulatorios, algunos no tan distinguibles acompañados de ovocitos en diferentes estados de atresia folicular (alfa, beta, gamma y delta) (Saidapur 1978; Brown-Peterson, 2011; Valdebenito *et al.*, 2011). Se ha mencionado que los folículos post-ovulatorios son estructuras de carácter temporario que pueden actuar como reguladoras del ciclo ovárico, vinculadas a mecanismos de control endocrinológico que al reabsorberse por picnosis envían una señal que permite se detenga el desove, se recupere el ovario y pase a una condición latente de fase de reposo (Hoar, 1965 en Foucher y Beamish, 1977; Christiansen, 1971).

Para finalizar un ciclo reproductivo se presenta la fase de reposo detectada en el diagnóstico y caracterizada por la invalidación de un desove sucesivo en el corto plazo, hasta que se den las condiciones específicas que detonen en nuevamente la ovogénesis y vuelva a iniciar el ciclo en la fase de desarrollo inicial (Brown-Peterson *et al.*, 2011). Notoriamente, hubo ovarios que se distinguieron por ser organismos en desarrollo inicial que procedían de la fase de reposo (adultos experimentados), ya que sus características histológicas (paredes del ovario anchas con lamelas ováricas acunando procesos de ovogénesis iniciales) y sus características morfo cromáticas diferían de un adulto que inicia su madurez sexual. Un resultado homólogo fue presentado en la merluza europea (Gonçalves *et al.*, 2004; Carbonara *et al.*, 2019), donde la fase de desarrollo la seccionan con organismos vírgenes y en desarrollo de merluzas adultas recuperadas del ciclo anterior, estatus presentado en la escala generalizada para organismos con desove parcial de Holden y Raitt (1975).

9.6 Ciclo testicular

En el diagnóstico histológico de machos se identificaron las fases que representa un ciclo reproductivo (inmaduro, desarrollo, eyaculación, recuperación y reposo) como se menciona por algunos autores para peces teleósteos en general (Brown-Peterson, *et al.*, 2011), en *Merluccius australis* (Alvarado *et al.*, 2015) y *M. productus* (Denton-Castillo, 2018). Además, se encontró una mayor similitud del desarrollo testicular de *M. gayi peruanus* (Perea *et al.*, 2015) al asignar a su escala la fase post-expulsante homologa a la fase recuperación del presente estudio.

De acuerdo al ciclo testicular en merluzas macho al igual que en hembras, el inicio de la temporada reproductiva y madurez comienza con la subfase de desarrollo inicial (Rodríguez-Gutiérrez, 1992; Schulz *et al.* 2010) y continua con la fase de eyaculación, la cual se presentó en mayor porcentaje, suceso que refleja lo descrito por Brown-Peterson, *et al.* (2011) en cuanto a que los peces mantienen una espermatogénesis activa y una capacidad de eyaculación por mayor tiempo durante su temporada reproductiva. Esto sugiere la posibilidad que los machos eyaculan

varias veces en una temporada reproductiva, como se presentó en este análisis, razón por la que se determinó la subfase de eyaculación con desarrollo, similar a la parcialidad en la expulsión de los gametos de hembras y machos de la merluza austral (Alvarado, *et al.*, 2015) y de las descripciones del ciclo testicular de *M. productus* (Denton, 2018). Además, en otra especie como la sardina macho del género *Opisthonema* que presenta hábitos distintos y morfología diferente de la merluza se ha reportado la fase eyaculación con desarrollo (Cervantes-Rendon, (2022), evidenciando la alta producción de espermatozoides y parcialidad durante la eyaculación.

Los porcentajes de las fases más representativas del ciclo reproductivo fueron la fase eyaculación (42.9%) en machos, y la fase desarrollo (28.8%) y la fase desove parcial (24.5%) en hembras. Por lo que podría representar que el mes de febrero de 2019 en aguas del centro y alto Golfo de California se presentó una agregación de merluzas con un alto porcentaje en procesos reproductivos, como anteriormente sugiere el estudio de Denton-Castillo (2018), quien encontró la mayor actividad reproductiva de *M. productus* en agregación durante diciembre a febrero en el centro y alto Golfo de California y sobre la cual trabaja la flota pesquera. Resultado que también coincide con Salinas-Mayoral, (2018) con una proporción de individuos maduros que fue mayor en noviembre y diciembre en aguas del sur del Golfo de California.

El diagnóstico evidenció un 13.7% de merluzas macho en fase de recuperación y un 13.4% en fase reposo, ambas suelen categorizarse como procesos de postpuesta (post-eyaculación) en las escalas morfocromáticas de desarrollo gonadal (Holden y Raitt, 1975). Cabe mencionar que, en estudios referentes al ciclo testicular en peces algunos autores como Brown-Peterson *et al.* (2011) han validado histológicamente la fase reabsorción también nombrada recuperación, regeneración o inactivo. En la investigación de Pera *et al.* (2015) en la merluza *M. gayi peruanus* se observó la fase post-expulsante en machos con su validación histológica y morfocromática clasificada como homologa a la fase recuperación en hembras.

Notoriamente durante el análisis se evidenció que al menos una parte de la población de merluzas ya liberó sus gametos y podría definirse que cumplieron con un ciclo reproductivo. Esto por la similitud en el porcentaje de machos en recuperación (13.7%) y reposo (13.4%) con respecto a las hembras en fase de recuperación (13.5%) y reposo (9.5%) resultados que sugieren hay una sincronización en los eventos de desove. Lo cual es una ventaja para el éxito reproductivo de la población. Además, la ocurrencia del proceso reproductivo en las zonas de pesca permite hacer el estatus gonadal poblacional y comprender las estrategias y procesos reproductivos de esta especie. En el mismo sentido integrar esta información a las actividades pesqueras de forma rápida a partir de escalas morfocromáticas, permitiría efficientizar el manejo de los recursos (Lowerre-Barbieri *et al.*, 2011; Erisman *et al.*, 2012).

Este trabajo presenta un avance y contribución de los estudios reproductivos de merluzas macho, ya que habitualmente en peces y en particular merluzas, se centran mayormente en las hembras, sus fases de maduración ovárica y el desarrollo de los ovocitos (Christiansen, 1971; Foucher y Beamish, 1977; Gonçalves *et al.*, 2004, Pájaro, *et al.*, 2004; Macchi y Díaz, 2013; Rodrigues, *et al.*, 2018; Carbonara *et al.*, 2019 y Candelma *et al.*, 2021).

9.7 Índice gonadoalométrico, con respecto a las fases ováricas y testiculares

Considerando al Índice gonadoalométrico (IGA) (Cervantes-Rendon, 2022) como un método cuantitativo que indica el incremento longitudinal de las gónadas respecto su grado de desarrollo, tomando en cuenta la longitud patrón del organismo, se propone utilizarlo en la escala morfocromática de *M. productus*. Las pruebas con el IGA apoyan la precisión en la distinción de las fases ováricas y testiculares y además, puede compararse con el índice Gonadosomático (IGS), que se basa en el peso gonadal respecto al peso total del organismo para explicar el desarrollo gonádico. En el trabajo de Rossenblum *et al.* (1987) mencionan un paralelismo en el aumento de los niveles plasmáticos de testosterona y 17 β estradiol con el IGS durante el ciclo reproductivo anual de machos y hembras de

bagre pardo. En trabajos del género *Merluccius* el IGS lo han utilizado para validar e indicar cambios estacionales en el desarrollo de las gónadas y los patrones de actividad reproductiva, en la merluza argentina (*M. hubbsi*) cuyos valores altos en el IGS, indican procesos de madurez y valores bajos evidencian un fin del periodo reproductivo (Pájaro *et al.*, 2005). La misma tendencia del IGS se presenta en *M. productus* en estudios del Golfo de California (Denton-Castillo, 2018; Salinas-Mayoral, 2018) y en *M. merluccius* en las investigaciones de Carbonara *et al.* (2019) y Candelma *et al.* (2021).

Respecto las pruebas del IGA con las variables de longitud y ancho lobular en merluzas hembras y machos, los valores promedios en comparación con el IGA del complejo *Opisthonema* spp de Cervantes-Rendón (2022), presentan promedios de menor valor (1.1 ± 0.16 a 1.4 ± 0.40) en comparación con los valores mínimos y máximos de IGA en las pruebas de este estudio (0.8 ± 0.9 a 25.1 ± 4.8). Lo que puede estar relacionado con el tamaño del cuerpo, por la distintiva diferencia de longitud total entre la sardina crinuda con tallas máximas presentadas de 22.5 cm (Cervantes-Rendón, 2022) y la merluza del Pacífico en la cual han reportado tallas de hasta 105 cm (Álvarez-Trasviña *et al.*, 2022), además de diferencias en la forma del cuerpo y cavidad visceral, lo cual en parte define el tamaño para el desarrollo de sus gónadas. Pese a las diferencias interespecíficas, se mantiene la tendencia en el IGA de presentar mayores valores en la fase madurez y decremento en fases inmaduro y recuperación-reposo (post-desove).

En este estudio, en las pruebas realizadas el IGA a partir de las medidas de longitud y ancho lobular en ovarios frescos (recién diseccionados) y fijados (fijados histológicamente), se encontraron mejores resultados en la distinción morfo-gonádica de las fases ováricas y testiculares al usar las mediciones de los ovarios y testículos fijados. Esto con base en la representación de la tendencia en el aumento de valores del IGA en fase madurez/eyaculación y valores mínimos del IGA en las fases inmaduro, postdesove/posteyaculación. Cervantes-Rendón (2022), encontró una distinción morfo-gonadal de las fases a partir del IGA estadísticamente

significativa utilizando ambas longitudes gonadales, pero con mejor distinción a partir de la longitud mayor (Fig.25 y 26).

Para el caso de los machos en este estudio, la mejor distinción estadística en el IGA fue utilizando el ancho lobular derecho donde en todas las comparaciones del IGA con las fases hubo diferencias significativas a excepción de las fases desarrollo y eyaculación (Fig. 27 y 28). Cervantes-Rendón (2022), menciona que el cálculo del IGA con el ancho lobular también distingue las fases gonádicas, sin embargo, puede aumentar el error si la medición no se toma siempre en la misma sección de la gónada. Particularmente en *M. productus* la longitud testicular es una medida que presenta mayor variación ya que ambos lóbulos en la parte inferior tienden a enroscarse (Fig.10 B) a medida que maduran. Por lo cual, se recomienda utilizar el ancho lobular esto con base al análisis estadístico y visual, además para asegurar el tomar la medida de la misma sección lobular, considerando lo dicho por Cervantes-Rendón, (2022). Además, se comprobó estadísticamente que al usar el IGA comparando entre lóbulos (izquierdo versus derecho) en hembras y en machos no presentaron diferencias significativas demostrando un crecimiento de ancho de la parte media simétrico entre lóbulos, así que la medición puede ser tomada de cualquier lóbulo.

Otro resultado destacado, es que el IGA utilizando la longitud lobular mayor y menor, así como el ancho izquierdo y derecho en hembras no presentaron diferencias estadísticas significativas en las fases de inmaduro y de postdesove. En dichas fases, también se observó una similitud morfocromática de esas fases en diversos estudios del género *Merluccius* (Perea *et al.*, 2015; Candelma *et al.*, 2021) y en los valores de IGS (Pájaro *et al.*, 2005; Carbonara *et al.*, 2019; Candelma *et al.*, 2021). Sin embargo, en este estudio si hay diferencias morfocromáticas en hembras en la fase inmaduro, recuperación y reposo presentadas en las figuras 31, 35 y 36 respectivamente.

Sorpresivamente en los resultados del uso de IGA con medidas de gónadas fijadas se presenta una mejor distinción morfo-gonadal y mayor contribución estadística en la distinción entre cada fase de desarrollo gonadal con base al ciclo ovárico y testicular con respecto a las gónadas en fresco. Podría considerarse, que las muestras fijadas son más fáciles de medir y en este estudio al tener mayor cantidad de datos, hay una mejor precisión estadística en los modelos (Zar,1999). Esto referido a los resultados presentados del IGA calculado con las medidas de testículos en fresco al no presentarse una distinción en el índice corporal (IGS versus IGA) o de tamaño gonadal en la fase inmaduro con desarrollo, eyaculación por ende, diferenciación de organismos juveniles con adultos como en otros estudios de distintos peces macho (Perea *et al.*, 2015; Maldonado-Amparo, *et al.*, 2017; Cervantes-Rendon, 2022).

Los resultados en el IGA en machos, podrían estar sesgados por tener una muestra pequeña (n=5) de las medidas de testículos en fase inmaduro en fresco (recién extraídos) (figuras 28 y 29). Esto se debe a la falta de organismos inmaduros en las muestras, por la fragilidad y ruptura de los testículos al ser extraídos de la cavidad del pez, generando la falta de evidencia fotográfica de la gónada en fresco para su medición. Por lo tanto, se sugiere analizar el IGA de las gónadas en fresco con una mayor cantidad de datos, y en caso de rupturas durante los muestreos a bordo de la embarcación aún así tomar fotografías de los testículos y las medidas de ancho y largo posibles.

Finalmente, es importante mencionar que en los casos donde en el IGA presenta distinción de organismos inmaduros altamente notable con respecto al resto de las fases (desarrollo principalmente), nos permite aproximarnos a realizar una estimación de la talla de madurez sexual. La cual es un parámetro importante para el análisis poblacional pesquero que nos permite determinar la ojiva de maduración sexual y así poder distinguir al stock de peces adultos de los juveniles (Saborido, 2004), para hacer análisis del estatus reproductivo de la población y

elaborar propuestas de manejo pesquero que ayuden a la preservación de la población de merluza del Pacífico.

9.8 Fases morfocromáticas de desarrollo ovárico

Se sugiere una escala morfocromática del ciclo ovárico de hembras con base en el diagnóstico histológico y evidencia visual, diseñada con cinco fases específicas (inmaduro, desarrollo, madurez, desove parcial y postdesove) que describen los procesos precisos que permiten realizar un diagnóstico histológico *in situ* para la evaluación del recurso en los muestreos biológicos a bordo de las embarcaciones de prospección. Esto siguiendo la recomendación de practicidad de Lowerre-Barbieri *et al.* (2011) y Brown-Peterson *et al.* (2011) en cuanto a evitar tener más de seis fases para facilitar la identificación. Por ende, las fases de recuperación y de reposo definidas a nivel histológico son representadas como la fase postdesove, dado que, presentan características morfocromáticas similares. Además, en las campañas de prospección del recurso, durante los muestreos biológicos a bordo de la embarcación el tiempo de extracción de la gónada es muy corto, por ende, habitualmente y por practicidad utilizan escalas morfocromáticas de cinco fases para su clasificación gonadal.

Para las cinco fases ováricas de la escala morfocromática se muestra su evidencia fotográfica, con sus principales características que dan inicio solamente a la fase general para que así pueda discriminarse con las demás fases que histológicamente se detectaron, esto con el objetivo de mejorar la practicidad (Lowerre-Barbieri *et al.*, 2011; Brown-Peterson *et al.*, 2011), esto dado que los ovarios en fase de desarrollo, madurez y desove parcial presentan una amplia variedad de tipos morfocromáticos, los cuales podrían estar asociados a la distribución de las poblaciones que presenta *M. productus* (Silva-Segundo *et al.*, 2011; García-De León *et al.*, 2018). Además, las evidencias visuales del presente estudio tienen similitud con la escala de la merluza europea (Gonçalves *et al.*, 2004)

y solamente difiere de las características macro y microscópicas del ovario en fase inmaduro de la escala de *M. gayi peruanus* (Perea *et al.*, 2015).

En respuesta a la problemática que detectó el estudio de Denton-Castillo (2018), correspondiente a la asignación incorrecta de las fases morfocromáticas de desarrollo ovárico de la merluza del Pacífico durante los muestreos biológicos de un estudio de prospección donde utilizaron la escala de Nikolsky (1963), en este trabajo se sugieren los criterios morfocromáticos con base en el análisis histológico que permiten distinguir el traslape entre todas las fases con énfasis en la fase reposo, desarrollo y madurez donde se presentó el mayor porcentaje de error de asignación en el estudio mencionado. En el caso de las hembras, en distintas escalas de desarrollo gonádico se puede encontrar que las fases inmaduro y reposo son similares por presentar un tamaño pequeño de menos de 1/4 de la cavidad abdominal y sin visibilidad de los ovocitos (Foucher y Beamish, 1977; Brown-Peterson *et al.* 2011; Carbonara *et al.* 2019 y Candelma *et al.*, 2021), características que también se conservan en este estudio. Sin embargo, hay tres peculiaridades que delimita el traslape entre fase inmaduro y reposo:

- 1) La fase reposo tiene una pared ovárica más gruesa que un ovario inmaduro, por procesos de compactación, lo que significa que ya tuvo por lo menos un desove (Perea *et al.* 2015; Carbonara *et al.* 2019) y al tacto es un ovario moderadamente firme y grueso (Foucher y Beamish 1977). En cambio en inmaduros la pared ovárica es delgada, por ende, es fina (Perea *et al.*, 2015; Salinas-Mayoral, 2018).

- 2) La nueva característica sin anterior mención o evidencia visual, es que los ovarios que ya terminaron el proceso de desove y están en fase de reabsorción y reposo presentan haces de tejidos blanquecinos externos sobre las venas principales de forma envolvente. Esta característica está asociada a la suspensión del ovario por los tejidos conectivos del mesovario o también nombrado mesenterio (Kobelkowsky, 2012).

3) La coloración de la fase reposo es guinda con tendencia a presentar sanguinolencia en parches y fina vascularización. Mientras que el ovario inmaduro no tiene sanguinolencia y presenta mayormente partes translúcidas y coloraciones rosa tenue a pocas partes rojizas y nula o fina vascularización. Esta última coloración rojiza solo puede ser mínima ya que principalmente va acompañada de partes translúcidas o semitransparentes como mencionan algunos autores en *M. productus* y para el género *Merluccius* (Foucher y Beamish 1977; Gonçalves *et al.*, 2004; Perea *et al.*, 2015, Carbonara *et al.*, 2019 y Candelma *et al.*, 2021). Además de tener una pared ovárica lisa y sin haces de tejido blanquecino externo.

Los resultados de la morfocromatía en ovarios en la fase desarrollo presentan una amplia variedad de tamaños, formas y espectro cromático. Lo que da respuesta al error de asignación de la fase desarrollo con el traslape de fase inmaduro detectado por Denton-Castillo (2018). Por ejemplo, el ovario en subfase de desarrollo inicial presenta coloración amarillo tenue, que podría confundirse con un naranja a semitransparente como lo especifican para ovarios inmaduros de merluza europea (Candelma *et al.*, 2021). Sin embargo, la gama cromática amarilla en el ovario podría ser reflejo de la presencia de la proteína vitelogenina que es sintetizada por el hígado en respuesta al 17β estradiol, localizada inicialmente en las vacuolas lipídicas de los alveolos corticales evidentes en las lamelas ováricas (Nagahama, 1983; Foucher y Beamish, 1977; Wallace y Sellman; 1981; Brown-Peterson *et al.* 2011).

Continuando con esa sugerencia y de acuerdo a los procesos endocrinológicos, progresivamente el ovario continuará sus etapas avanzadas de vitelogénesis con mayor producción de vitelogenina (Nahagama, 1983), especulando una posible contribución cromática a la subfase de desarrollo intermedio con un amarillo más intenso mientras que en la subfase de desarrollo avanzado se presentará mayor vascularización y grosor, por la asimilación de la vitelogenina liberada en la sangre y transportada al ovario mediante las venas. Otra característica principal que se presentó en la fase de desarrollo es la visualización

a través de la pared ovárica de los ovocitos redondos en diferentes tamaños y color amarillo claro a opacos. Esta característica se comparte en la fase generalizada de desarrollo de *M. capensis*, *M. paradox* (Botha, 1986) y en *M. Merluccius* (Gonçalves *et al.*, 2004; Carbonara *et al.*, 2019; Candelma *et al.*, 2021).

En la fase de madurez, la característica similar con las demás especies de merluza es que los ovocitos a través de la pared ovárica se observan amarillentos, opacos y translucidos en tamaño similar (Andreu, 1956; Foucher y Beamish 1977; Gonçalves *et al.*, 2004; Candelma *et al.*, 2021). Los ovocitos translucidos son los que ya están en estadio hidratado y listos para ser liberados, por ende, el ovario obtiene el mayor tamaño y grado de madurez. Los hallazgos histológicos de la fase sugieren un característico porcentaje de ovocitos opacos y transparentes para cada uno de los 3 morfotipos de madurez. Esta transparencia puede atribuirse a la fusión completa de los glóbulos de vitelo de los ovocitos en algunos teleósteos (Nahagama, 1983).

Otra singularidad en *M. productus* es que en la pared ovárica se visualizaron fibras de colágeno microscópicamente como un rayado longitudinal de fibrillas internas en forma de finos haces, descripción que aluce a los compuestos de la proteína elastina (Geneser, 2000) la cual proporcionó más elasticidad que da resistencia y por ende un grosor de pared ovárica más ancho en los procesos de compactación durante el desove (106.5 a 143.2 μm). En *M. hubbsi* han documentado que la pared ovárica está rodeada por un epitelio escamoso compuesto por fibras de colágeno y tejido muscular liso (Macchi y Díaz, 2013).

9.9 Fases morfo cromáticas de desarrollo testicular

En merluzas macho hay poca información en referencia histológica y morfo cromática de las fases testiculares. Por lo tanto, esta contribución ayuda a resolver la regular problemática de confusión entre las fases inmaduro y reposo, identificada en estudios previos (Denton-Castillo, 2018). En las merluzas *M. capensis* y *M. paradox* (Botha, 1986) de mares sudafricanos y *M. gayi peruanus*

(Perea *et al.*, 2015) de mares del Pacífico Sur, así como en *M. productus* en el Golfo de California, los testículos en fase inmaduro son muy pequeños (2.5 cm a 6 cm), delgados y principalmente translucidos. Esta característica los discrimina de la fase reposo en la que son un poco más largos (6 cm a 7 cm), flácidos con tonalidades rojizas opacas.

En este estudio se sugieren tres grupos de características que discriminan la fase posteyaculación, en la cual se encuentran las fases histológicas recuperación y reposo por ser procesos de post expulsión de gametos o “gastados” (Holden y Raitt, 1975; Blazer, 2002; Goncalves *et al.* 2004) y se distinguen de las demás fases.

1) Los testículos en reposo (posteyaculación) tienen evidencia de un estiramiento previo de la parte superior de los lóbulos gonadales, pero ya planos, no turgentes, poco sobresalientes, flácidos y en ocasiones el conducto espermático moreteado (caso contrario a cuando están en eyaculación donde la parte superior de los lóbulos cerca del conducto espermático se hincha formando una extensión con forma oblonga en la parte superior de cada lóbulo). Características antes no mencionadas en escalas de desarrollo testicular del género *Merluccius*.

2) En la fase reposo y recuperación (posteyaculación) presentan una coloración rojiza opaco como se ha descrito en *M. gayi peruanus* (Perea, *et al.*, 2015) con evidencia de nula o poca vascularización algunas veces color morado.

3) Solo en el caso de la fase recuperación, cuando los testículos presentan residuos de espermatozoides, pueden tener algunos parches blancos (Perea *et al.*, 2015) a grisáceos y los pliegues de los márgenes lobulares externos pueden ser pequeños y en procesos de contracción de color rojo opaco. Evidencias visuales que son muy distintas a un testículo inmaduro el cual tiene en su morfología lóbulos planos y solo están ondulados como cintas, sin evidencia de las formaciones oblongas en la parte superior de los lóbulos presentando mayormente coloración rosa tenue a translucidez (Botha, 1986).

En cuanto a la fase de desarrollo se sugiere que cuando se presenta una coloración rosa tenue a rojiza no opaca, hay espermatogonias en procesos de desarrollo y con la presencia de parches blancos del margen lobular interno hasta ser un 70% blancos a completamente blancos (fase eyaculación) hay un aumento gradual de la cantidad de espermatozoides. La coloración rosa tenue podría estar asimilada a la irrigación sanguínea (Geneser, 2000) ya que, en las venas se conduce la testosterona y cetotestosterona, síntesis que aumenta gradualmente a medida que avanza la espermatogénesis donde habrá más grupos de espermatogonias, espermatoцитos y espermátidas (Nagahama, 1983). Mismos que también darán ese color rojizo y que disminuye en la espermiación donde hay mayormente espermatozoides y el testículo progresivamente se vuelve blanco total (Schulz *et al.*, 2010).

Por lo tanto, de acuerdo a esos supuestos la subfase de eyaculación con desarrollo mezcla ambos procesos y macroscópicamente esta la evidencia de los márgenes lobulares externos rojizos y márgenes lobulares internos blancos (Fig. 23, b). Estos datos son similares a los reportados por Alvarado *et al.* (2015) ya que mencionan que la merluza austral (*M. australis*) tanto machos como hembras, presentan un desarrollo asincrónico en todas las etapas de desarrollo, dando posibilidad a desoves parciales. En el caso de los machos no se presentó mucha variación cromática, y la evidencia histológica sugiere alta similitud a *M. gayi peruanus* (Perea *et al.*, 2015) de aguas al sur del océano Pacífico, que presenta una gama cromática desde translucidez en fase de inmaduro, a rosa tenue con parches blanquecinos en fases desarrollo inicial a desarrollo avanzado, a totalmente blanco en eyaculación a rojizo opaco en fase posteyaculación (fase recuperación y fase reposo).

10. CONCLUSIONES

- *Merluccius productus* presenta ovarios y testículos bilobulados con diferencia morfológica entre sexos; los machos se distinguen por presentar pliegues que adquieren mayor tamaño conforme ocurre el desarrollo testicular.
- Se definieron 10 estadios de desarrollo de los ovocitos en hembras de *M. productus* del centro y alto Golfo de California.
- Se describieron seis fases y seis sub-fases histológicas en ovarios de *M. productus* del centro y alto Golfo de California.
- Se describieron cinco fases y cuatro sub-fases histológicas en testículos de *M. productus* del centro y alto Golfo de California.
- Los porcentajes de las fases más representativas del ciclo reproductivo de *M. productus* fueron la fase desarrollo (28.8%) en hembras y fase eyaculación (42.9%) en machos del centro y alto Golfo de California.
- En febrero de 2019 en el centro y alto Golfo de California se presentó una agregación de merluzas con alto porcentaje en procesos reproductivos.
- *M. productus* presentó un bajo porcentaje de procesos de atresia folicular mayor que interrumpieron el ciclo ovárico y pasaron directo a la fase recuperación sin desovar en las fases desarrollo (2.0%) y madurez (0.8%) del total de ovarios.
- En el ciclo testicular de *M. productus* se diagnosticó la fase eyaculación con desarrollo, nueva ruta que permite volver a expulsar espermatozoides.
- El índice gonadoalométrico (IGA) de las gónadas fijadas utilizando la longitud lobular mayor en hembras y el ancho lobular derecho en machos, mostraron los mejores resultados en la distinción de las fases gonadales.

- El índice gonadoalométrico de la fase inmaduro presentó valores particulares con importantes diferencias notables respecto al resto de las fases en todas las pruebas del IGA en hembras. Y en machos solo con las medidas de gónadas fijadas.
- En *M. productus* del centro y alto Golfo de California se distinguieron 14 fenotipos morfocromáticos en ovarios con base en las subfases histológicas.
- En machos se distinguieron ocho fenotipos morfocromáticos en testículos con base en las subfases histológicas.
- Se sugiere una escala morfocromática de desarrollo gonadal con cinco y cuatro tipos morfocromáticos específicos y validados histológicamente, que distinguen cada fase ovárica y testicular respectivamente acompañadas del código de color RGB, código Hexadecimal (HEX) y su índice gonadoalométrico (IGA).

11. LITERATURA CITADA

- Acevedo-Cervantes, A., J. López-Martínez y E. Ruiz-Villa. 2012. Biomasa y biología reproductiva de especies clave en la fauna de acompañamiento del camarón, en las costas de Sonora, durante un periodo de veda, p115-136, *En* J. López-Martínez y E. Morales-Bojórquez (Eds.). Efectos de la pesca de arrastre en el Golfo de California. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. y Fundación Produce Sonora, México.
- Alarcón, R., F. Balbontín, M. Aguayo, P. Ruiz, S. Núñez, G. Herrera, G. Claramunt y A. Sepúlveda. 2008. Biología reproductiva de merluza común. Informe Final Corregido Proyecto FIP 2006-16. Instituto de Investigación Pesquera. 292 p.
- Alvarado, M., E. Serrano, J.C. Sánchez y L. Valladares. 2015. Changes in plasma steroid hormones and gonadal histology associated with sexual maturation in wild southern hake (*Merluccius australis*). *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 43(4): 632-640. <https://DOI:10.3856/vol43-issue4-fulltext-2>
- Alvarez-Trasviña, E., D.I. Arizmendi-Rodríguez, E. Marín-Enríquez, L.A. Salcido-Guevara, R. Sánchez-Cárdenas y G. Rodríguez-Domínguez. 2022. Distribution and abundance of the Pacific Hake, *Merluccius productus*, and relationship with the environment in the Gulf of California, México. *Cienc. Mar.* 48 (1) e3256. <https://doi.org/10.7773/cm.y2022.3256>
- Alvarez-Trasviña, E., L.A. Salcido-Guevara, D.I. Arizmendi-Rodríguez, R. Sánchez-Cárdenas, G. Rodríguez-Domínguez y H. Arancibia-Farías. 2020. Manejo por cuotas. Caso Merluza. *Ciencia Pesquera.* 28(1-2): 73-77.
- Alverson, D.L. y Larkins, H. 1969. Status of knowledge of the Pacific hake resource. *Calif. Coop. Ocean. Fish Invest. Rep.* 13: 24-31.
- Ayres, W. 1855. Description of new species of California fishes. *Proc. Cal. Acad. Nat. Sci.* 1: 23-77.
- Bailey, K.M., Francis, R.C. y Stevens, P.R. 1982. The life history and fishery of Pacific whiting, *Merluccius productus*. *Calif. Coop. Ocean. Fish Invest. Rep.* 23:81-98.

- Balart-Paez, E.F. 1996. Recurso Merluza. *En* M.M. Casas-Valdez y G. Ponce-Díaz (eds.), Estudio del potencial pesquero y Acuícola de Baja California Sur, p. 263-271. Secretaria del Medio Ambiente Recursos Forestales y Pesca. Primera edición.
- Balon, E.K. 1990. Epigenesis of an epigeneticist: the development of some alternative concepts on the early ontogeny and evolution of fishes. *Guelph Ichthyol. Rev.* 1: 1-48.
- Best, E.A. 1963. Contribution to the biology of the Pacific hake, *Merluccius productus*. *Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep.* 9:51-56.
- Billard, R. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. 1986. *Reprod. Nutr. Develop.* 26 (4):877-920.
- Blazer, V.S. Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes. 2002. *Fish. Physiol. Biochem.* 26: 85–101.
- Brown-Peterson, J.N., D.M. Wyanski, F. Saborido-Rey, B.J. Macewicz y S.K. Lowerre-Barbieri. 2011. A Standardized Terminology for Describing Reproductive Development in Fishes. *Mar. Coast. Fish.* 3(1): 52-70.
- Buesa, R.J y M.V. Peshkov. 2009. Histology without xylene. *An. Diagn. Pathol.*, 13(4):246-256.
- Buitron, B., A. Perea, J. Mori, J. Sánchez, C. Roque, J. Castillo y M.A. Gálvez 2015. Madurez gonadal de algunos peces de importancia comercial: Escalas macroscópicas validadas microscópicamente. *Bol Inst Mar Perú* 30(1-2): 3-9
- Candelma, M., L. Marisaldi, D. Bertotto, G. Radaelli, G. Gioacchini, A. Santojanni, S. Colella y Oliana Carnevali. 2021. Aspects of Reproductive Biology of the European Hake (*Merluccius merluccius*) in the Northern and Central Adriatic Sea (GSA 17-Central Mediterranean Sea). *J. Mar. Sci. Eng.* 9, 389. <https://doi.org/10.3390/jmse9040389>
- Carbonara, P., C. Porcu, M. Donnaloia, P. Pesci, L. Sionc, M.T. Spedicato, W. Zupa, F. Vitale, M.C. Follesa. 2019. The spawning strategy of European hake (*Merluccius merluccius*, L. 1758) across the Western and Central

- Castro-Aguirre, J.L., E.F. Balart y J. Arvizu-Martínez, 1995. Contribución al conocimiento del origen y distribución de la ictiofauna del Golfo de California, México. *Hidrobiológica* 5(1): 57-78
- Cervantes Rendón, D. 2022. Desarrollo gonádico de la sardina crinuda (*Opisthonema bulleri*, *O. libertate* y *O. medirastre*) del sureste del Golfo de California, México. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Sinaloa, México. 109.
- Christiansen, H.E. 1971. La reproducción de la merluza en el Mar Argentino (Merlucciidae, *Merluccius merluccius hubbsi*): 1. Descripción histológica del ciclo del ovario de merluza. *Boletín del Instituto de Biología Marina* 20:1-41.
- Cohen, D.M., T. Inada, T. Iwamoto y N. Scialabba. 1990. FAO species catalogue. Vol. 10. Gadiform fishes of the world (Order Gadiformes). An annotated and illustrated catalogue of cods, hakes, grenadiers and other gadiform fishes known to date. FAO Fisheries Synopsis. No. 125, Vol. 10. Rome, FAO. 442.
- D.O.F. 11/06/2018. Ley General de Pesca y Acuicultura Sustentables. Diario Oficial de la Federación (D.O.F.) publicado el 11 de junio de 2018.
- 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.
- Erisman, B., O. Aburto-Oropeza, C. González-Abraham, I. Mascareñas-Osorio, M. Moreno-Báez y P.A. Hastings. 2012. Spatio-temporal dynamics of a fish spawning aggregation and its fishery in the Gulf of California. Scientific reports 2: 284 <https://DOI:10.1038/srep00284>
- Fan, Y., J. Li, Y. Guo, L. Xie y G. Zhang. 2021. Digital image colorimetry on smartphone for chemical analysis: A review. *Measurement*, 171: 1-10, 108829 <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2020.108829>

- Foucher R.P. y R.J. Beamish. 1980. Production of nonviable oocytes by Pacific hake (*Merluccius productus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37: 41-48.
- Foucher, R.P. y R.J. Beamish. 1977. A review of oocyte development in fishes with special reference to Pacific hake (*Merluccius productus*). *Can. Fish. Mar. Servo Tech. Rep.*, 755: 1-16.
- García-De León, F.J. C. Galván-Tirado, L. Sánchez-Velasco, C.A. Silva-Segundo, R. Hernández-Guzmán, I.D. Barriga-Sosa, P.D. Jaimes, M. Canino, y P. Cruz-Hernández. 2018. Role of oceanography in shaping the genetic structure in the North Pacific hake *Merluccius productus*. *PLOS ONE*, 13 (3): e0194646.
- Geneser, F. 2000. Tejido conectivo, p. 197-205. *En Panamericana* (ed.). *Histología sobre bases moleculares* 3ª ed. 814.
- Gonçalves, P., E. Cunha y A. Costa. 2004. Escala de maturação microscópica e macroscópica das gônadas femininas de pescada (*Merluccius merluccius*). *Relatórios Científicos e Técnicos*, Série digital Instituto de Investigacao das Pescas e do Mar, 21:1-27.
- Gray, S.J. 1972. Practice of microtomy. *Essentials of Microtomy*. London: Butterworths, 72 p.
- Hamel, O.S., P.H. Ressler, R.E. Thomas, D.A. Waldeck, A.C. Hicks, J.A. Holmes y G.W. Fleischer. 2015. Biology, fisheries, assessment and management of Pacific hake (*Merluccius productus*). *En H. Arancibia* (Ed). *Hakes biology and exploitation*, p 376. John Wiley y Sons, Chichester.
- Holden, M.J. y D.F.S. Raitt. 1975. Manual de ciencia pesquera Parte 2 Métodos para investigar los recursos y su aplicación. *Documentos Técnicos de la FAO sobre la Pesca*. 115: 211.
- Humason, G.L. (1979). *Animal Tissue Techiques*, 4ta. Ed. W. H. Freeman y Co. San Francisco, 633 p.
- Iwamoto, E.M., Ford, M.J. y Gustafson, R.G. (2004). Genetic population structure of pacific hake, *Merluccius productus*, in the Pacific Northwest. *Environ. Biol. Fishes.*, 69: 187-199.

- Khoo, K.H. 1975. The corpus luteum of goldfish (*Carassius auratus L.*) and its functions. *Can. J. Zool.* 53:1306-1323.
- Kobelkowsky, A. 2012. Diversidad morfológica de los ovarios de los teleósteos en México. *Int. J. Morphol.*, 30(4):1353-1362.
- Lara-Lara, J.R., V. Arenas-Fuentes, C. Bazán-Guzman, V. Díaz-Castañeda, E. Escobar-Briones, M. García-Abad, G. Gaxiola-Castro, G. Robles-Jarero, R. Sosa-Ávalos, L.A. Soto-González, M. Tapia-García, y J.E. Valdez-Holguín. 2008. Los ecosistemas marinos, p 135-159. *En* J. Soberón Halffter G. y Llorente-Bousquets J (Eds.). El capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO.
- Lloris, D., J. Matallanas, y P. Oliver. 2003. Merluzas del mundo (Familia Merlucciidae) Catálogo comentado e ilustrado de las merluzas conocidas. FAO Catálogo de Especies para los Fines de la Pesca. 2. FAO. Roma. Italia. 57.
- Lloris, D., J. Matallanas y P. Oliver. 2005. Hakes of the World (Family Merlucciidae): an annotated and illustrated catalogue of hake species known to date. 2. FAO. Roma. Italia. 170.
- 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. *Mar. Coast. Fish.*, 3: 32-57.
- Macchi, G.J. y A.O. Díaz. 2013. Capítulo 14. Aparato genital femenino en los peces. Genital femenino en los peces, 250-256.
- 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. *Int. J. Morphol.*, 35(1):56-61.
- Mathews, C., J. Granados, y J. Arvizu. 1974. Results of the exploratory cruise of the Alejandro de Humboldt in the Gulf of California. *J. Fish Biol.*, 7(1):83-94.

- Muñetón-Gómez, M.S., M. Villalejo-Fuerte 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. 80.
- Nagahama, Y. 1994. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *Int. J. D. Biol.* 38: 217-229.
- Nagahama, Y. 1983. The functional morphology of teleost gonads, p. 223-275. *En* Hoar W.S., D.J. Randall y E.M. Donaldson (eds.). *Fish physiology*. Vol. 4 Part A. Academic Press, New York. 483 p.
- Nikolsky, G.V. 1963. *The ecology of fishes*. Academic Press. New York, EUA. 352.
- Padilla-García M.A. y De la Campa-De Guzmán S. 1981. Estimación de biomasa de merluza (*Merluccius productus*) en Baja California por medio de censos larvales. *Ciencia Pesquera*, 1(2): 81-85.
- Pájaro, M., G.J. Macchi y P. Martos. 2004. Reproductive pattern of the Patagonian stock of Argentine hake (*Merluccius hubbsi*). *Fis. Res.*, 72: 97-108.
- Perea, A., J. Sánchez, B. Buitrón. 2015. Escala de madurez gonadal de merluza peruana *Merluccius gayi peruanus* (Ginsburg, 1954). *Bol. Inst Mar Perú*. 30(1-2): 20-28.
- Quinn, G.P. y M.J. Keough. 2002. *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 537p.
- Ramírez-Rodríguez, M. 2017. A profitability Analysis of Catch Quotas for the Pacific Hake Fishery in the Gulf of California. *N. Am. J. Fish. Manag.*, 37(1): 23-29.
- Rodrigues, K.A., M. Estrada y H. Brachetta. 2018. Distribución de hembras adultas de merluza (*Merluccius hubbsi*) en diferentes estadios de madurez durante el otoño y la primavera de 2012, en la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguaya. *Frente Marítimo*. Comisión Técnica Mixta del Frente Marítimo, 25:73-87.
- Rodríguez-Gutiérrez, M. 1992. Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces, AGT Ed., México, 79 p.

- Rosenblum, P.M., J. Pudney y I.P. Callard. 1987. Gonadal morphology, enzyme histochemistry and plasma steroid levels during the annual reproductive cycle of male and female brown bullhead catfish, *Ictalurus nebulosus* Lesueur. *J. Fish Biol.* 31:325-341.
- Saborido, F. 2004. Ecología de la reproducción y potencial reproductivo en las poblaciones de peces marinos. Curso de doctorado. Instituto de Investigaciones Marinas, Universidad de Vigo, España. 69 p.
- Sadovy, de Mitcheson, Y. 2016. Mainstreaming fish spawning aggregations into fishery management calls for truly precautionary approach. *Bioscience*, 66 (4): 295-306. <https://doi:10.1093/biosci/biw013>
- SAGARPA-INAPESCA. 2018. Carta Nacional Pesquera publicada en el Diario Oficial de la Federación el 11 de junio de 2018 por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Saidapur, S.K. 1978. Follicular Atresia in the Ovaries of Nonmammalian Vertebrates. *Int. Rev. Cytol.*, 54: 225-244.
- Salinas-Mayoral, C.A. 2018. Dinámica poblacional de la merluza del pacífico *Merluccius productus* Ayres (1855) en la costa occidental de BCS, México. Tesis de Maestría. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. La Paz, Baja California Sur, México. 84 p.
- 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. *Gen. Comp. Endocrinol.* 165: 390-411. <https://doi:10.1016/j.ygcen.2009.02.013>
- Schulz, R.W., S. Menting, J. Bogerd, L.R. França, D.A.R. Vilela y H.P. Godinho. 2005. Sertoli Cell Proliferation in the Adult Testis—Evidence from Two Fish Species Belonging to Different Orders. *Biol. Reprod.* 73: 891-898. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.105.039891>
- Silva-Segundo, C., Brito-Chavarría, B., Balart, E.F., Barriga-Sosa, I.D.L.A., Rojas-Esquivel, R., Roldán, M.I., Murugan, G. y Garcia-De León, J. (2011). Clarifying the taxonomic status of *Merluccius* spp. in the northeastern Pacific:

- a combined morphological and molecular approach. *Rev Fish Biol Fisheries*, 21:259-282.
- Uribe, M.C., H.J. Grier y V. Mejía-Roa. 2014. Comparative testicular structure and spermatogenesis in bony fishes. *Spermatogenesis* 4:3 e983400 1-13. <http://dx.doi.org/10.4161/21565562.2014.983400>
- Valdebenito, L., L. Paiva y M. Berland. 2011. Atresia folicular en peces teleósteos: una revisión. *Arch. Med. Vet.* 43:11-25.
- Vélez-Arellano, M.N., R. Sánchez-Cárdenas, L.A. Salcido-Guevara, J.S. Ramírez-Pérez y I.M. Soberano-Palomares. 2022. Gonadal development, sex ratio, and length at sexual maturity of white mullet *Mugil curema* (Actinopterygii: Mugilidae) inhabiting southeastern Gulf of California. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 50(3):1-13. <https://DOI:10.3856/vol50-issue3-fulltext-2817>
- Wallace, R.A. y K. Selman. 1981. Cellular and Dynamic Aspects of Oocyte Growth in Teleosts. *Amer. Zool.*, 21: 325-343.
- West, G. 1990. Methods of Assessing Ovarian Development in Fishes: a Review. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 41: 199-222.
- Wootton R.J. 1990. Reproduction, p. 159-195. *En* R.J. Wootton (ed.). *Ecology of teleost fishes*. Chapman and Hall, London, UK. 404 p.
- Zamora García, O. G., y A. Stavrinsky Suárez, 2018. Ficha técnica merluza del Pacífico Norte. Environmental Defense Fund de México A.C.16 p.
- Zamora-García, O.G., J.F. Márquez-Farías, A. Stavrinsky-Suárez, C. Díaz-Avalos, N.I Zamora-García y R.E. Lara-Mendoza. 2020. Catch rate, length, and sex ratio of Pacific hake (*Merluccius productus*) in the northern Gulf of California. *Fishery Bulletin*, 118:(4) 365-378.
- Zar, J. H. 1999. *Bioestatistical Analysis*. Prentice- Hall, Inc.4a Edición. New Jersey. 929.

12. ANEXOS

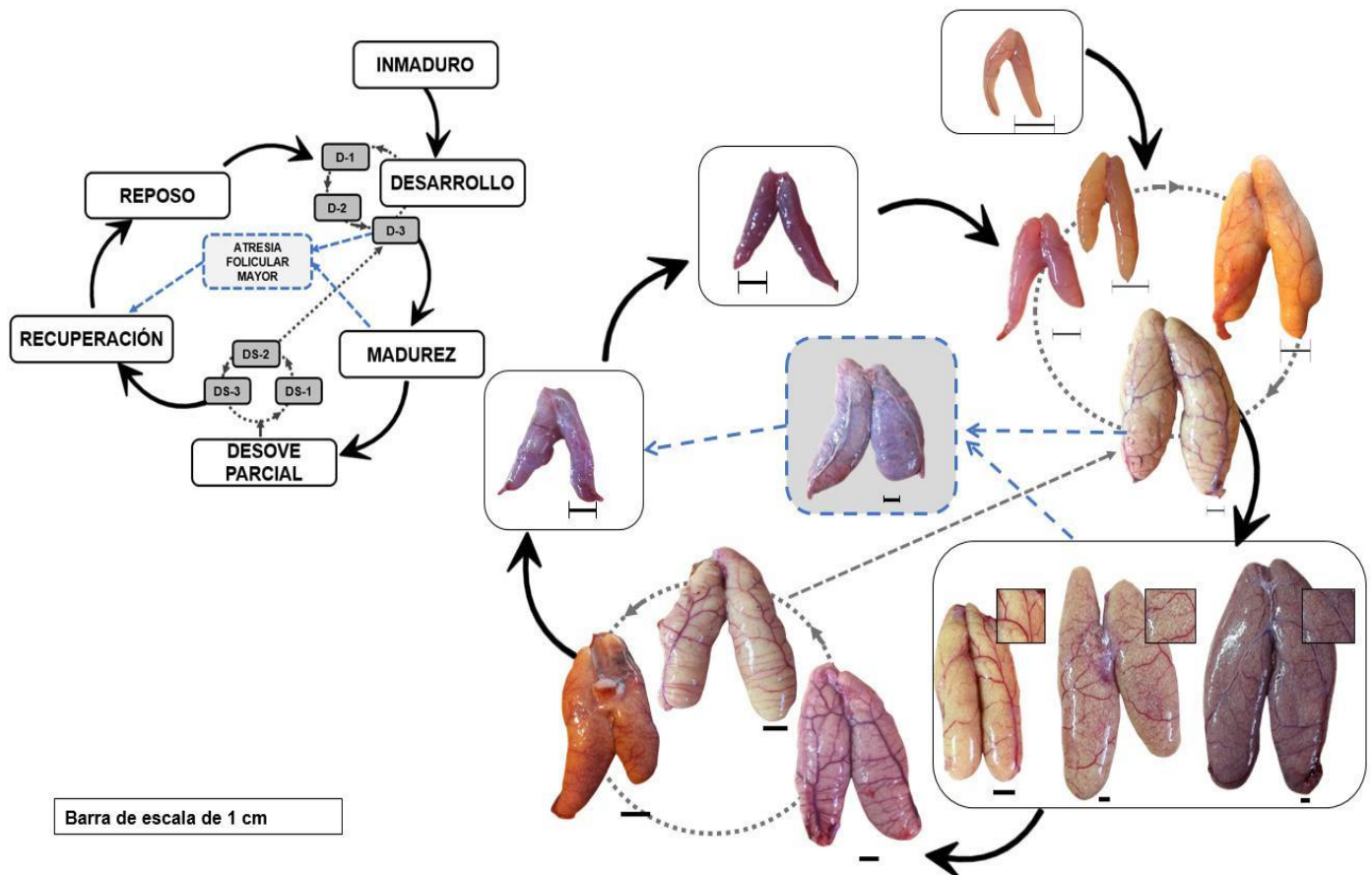


Figura 42. Ciclo ovárico de la merluza del Pacífico (*Merluccius productus*) del centro y alto Golfo de California con todos sus fenotipos morfocromáticos

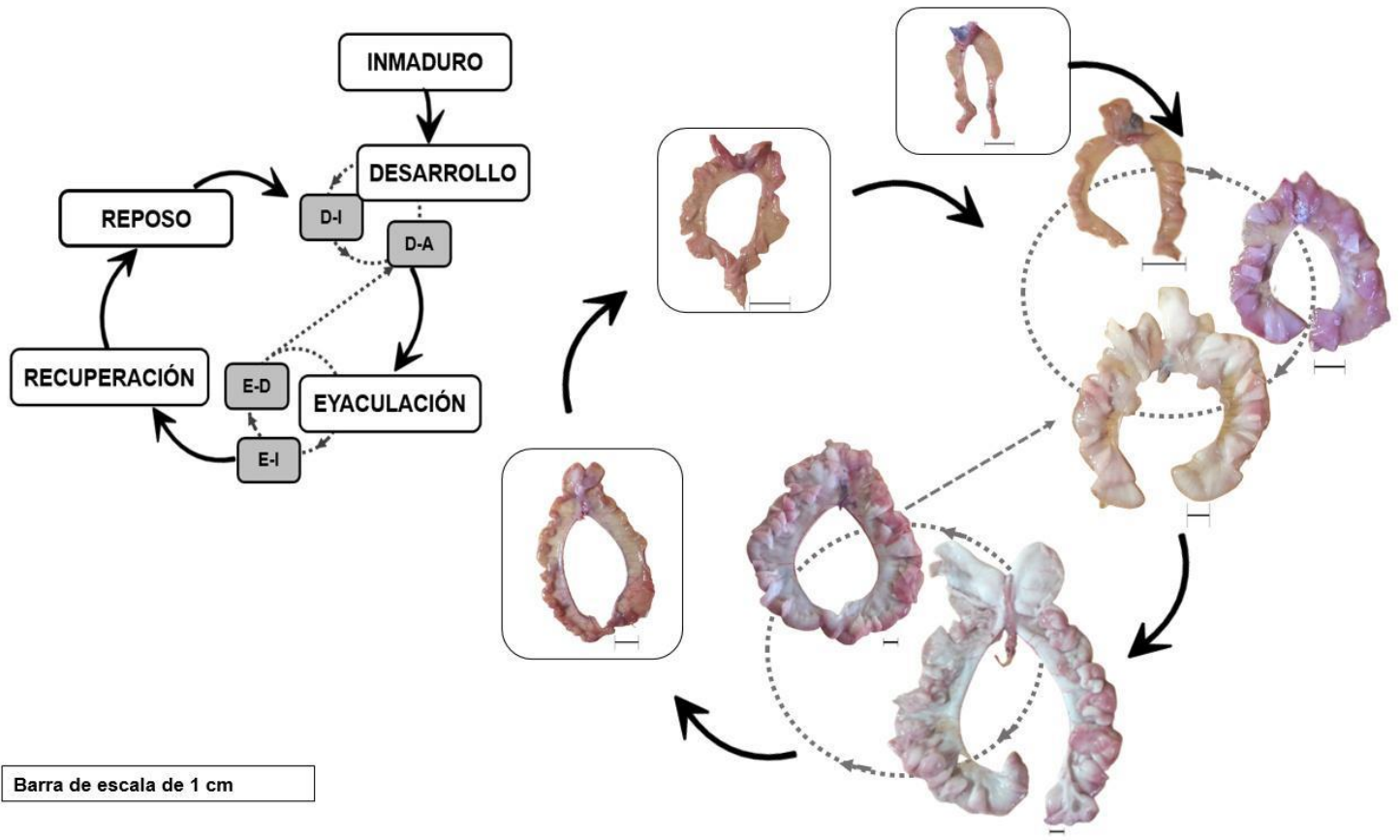


Figura 43. Ciclo testicular de la merluza del Pacífico (*Merluccius productus*) del centro y alto Golfo de California con todos sus fenotipos morfocromáticos.