

9



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

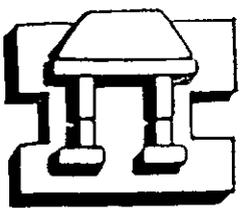
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
CAMPUS IZTACALA

299223

DESCRIPCION MACROSCOPICA E HISTOLOGICA
DE LAS GONADAS DE *Anchoa mitchilli* (Pisces:
ENGRAULIDAE) EN EL SISTEMA ESTUARINO DE
TECOLUTLA, VERACRUZ, MEXICO.

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G A
P R E S E N T A :
TERESA ^{Antonio} BAUTISTA LOPEZ

DIRECTOR DE TESIS: JOSE A. MARTINEZ PEREZ



IZTACALA

LOS REYES IZTACALA, ESTADO DE MEXICO

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

A Dios por darme la oportunidad de crecer en él y por la oportunidad de realizar uno de mis muchos sueños.

A mi familia en donde cada uno es parte fundamental en mi vida.

A mi padre **Hermenegildo Bautista Luna**, por ser uno de los principales motivos para la realización de este trabajo, ya que eres un gran ejemplo de profesionalismo y perseverancia.

A mi madre **Julia López Hernández**, que en todo momento has estado conmigo brindándome amor, cariño y apoyo incondicional. Eres una mamá excelente.

A mi hermana **Alejandra** porque más que una hermana eres mi mejor amiga con la que puedo reír y llorar. Gracias por tu ayuda ya que sin ella, este trabajo lo hubiera acabado hace un año.

A mis tíos **Beto, Evelia, Carmen, César, Lilia, Oscar, Juanita, Eduardo e Irla** que todos, en algún momento me han demostrado su amor y amistad.

A **Sergio** porque me haces sentir libre y feliz, por comprenderme tal y como soy, y porque has compartido conmigo todos aquellos momentos que hacen que ya formes una parte importante en mi vida. Gracias, mi amor.

A mi "gordita", regalo tan apreciado.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de Tesis **José Antonio Martínez Pérez** por su gran paciencia y apoyo tanto como maestro y amigo en la elaboración de la presente tesis.

A la M. en C. **Leticia Verdín Terán**, por sus comentarios, sugerencias y atención en todo momento.

Al Biólogo **Héctor Barrera Escorcia**, por sus atinadas sugerencias para el enriquecimiento del presente trabajo.

A los M. en C. **Jonathan Franco López** y **Rafael Chávez López**, por sus correcciones y sugerencias.

A la Bióloga Ma. **De los Ángeles Sanabria**, por su gran ayuda y amistad que tan desinteresadamente me brindó durante el presente trabajo.

Al Biólogo **J. Ángel Lara Vázquez** y al P. De Biólogo **Braulio Calderón Guzmán**, por su valiosa ayuda en la elaboración de este trabajo.

A mis amigas "**Chío**", **Julisa**, **Rocío** y **Socorro**, que compartieron conmigo tantas aventuras, risas y preocupaciones. Gracias por su apoyo y amistad.

A **Yolanda** del Laboratorio de Biología del Desarrollo, por su amabilidad y facilidades otorgadas durante el período de corte y tinción de las muestras.

A todas y cada una de las personas que me ayudaron y contribuyeron de alguna manera durante mi formación personal y profesional.

INDICE

	PAG.
▪ CÓDIGO DE ABREVIATURAS	1
▪ INTRODUCCIÓN	2
▪ ANTECEDENTES	7
▪ OBJETIVOS	11
▪ AREA DE ESTUDIO	12
▪ METODOLOGÍA	14
▪ SISTEMÁTICA	16
▪ DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE	17
▪ RESULTADOS	18
○ HEMBRAS	18
○ MACHOS	36
▪ DISCUSIÓN	46
▪ CONCLUSIONES	50
▪ BIBLIOGRAFÍA	51
▪ APÉNDICE I	58
▪ APÉNDICE II	59
▪ APÉNDICE III	60

CODIGO DE ABREVIATURAS

Vejiga gaseosa	(Vg)
Tracto digestivo	(Td)
Gónada	(G)
Citoplasma	(C)
Núcleo	(N)
Cromatina nucleolar	(Cn)
Perinucleolar temprano	(Pte)
Perinucleolar tardío	(Pta)
Alvéolos corticales	(Ac)
Vesícula germinal	(Vg)
Vitelino primario	(V1°)
Vitelino secundario	(V2°)
Vitelino terciario	(V3°)
Nucleolo	(Nc)
Capa de la granulosa	(Cg)
Vesículas de vitelo	(Vv)
Gotas de lípidos	(Gl)
Vitelo eosinofílico homogéneo	(Vh)
Gránulos de vitelo	(Gv)
Vitelo filamentoso	(Vf)
Túnica albuginea	(Ta)
Tejido conectivo laxo	(Tclx)
Cisto	(Cs)
Vaso sanguíneo	(Vs)
Espermatogonias	(Eg)
Espermatocitos primarios	(Ec1)
Espermatocitos secundarios	(Ec2)
Espermátide	(Es)
Espermatozoide	(Ez)
Célula mioide	(M)
Célula de Leydig	(L)
Célula de Sertoli	(S)

INTRODUCCION

Los océanos representan una gran importancia para el hombre, ya que no solo controlan y regulan el clima de la Tierra, sino que le reportan grandes aportaciones económicas ya que es aquí donde podemos encontrar a los peces, que forman el grupo de vertebrados más numeroso. Estos, constituyen cerca del 40% de las especies de vertebrados actuales (Bond, 1979), donde cerca de 21,000 especies pertenecen a los peces óseos.

Pero además de los océanos, podemos encontrar otros ecosistemas como son los ríos, lagos, lagunas costeras y estuarios, que presentan características propicias que permiten que muchos peces puedan habitarlos. Pero debido a que en los estuarios hay un choque de dos masas de agua, el agua de mar y de río, es necesario que los peces que penetran en estos sistemas posean una buena capacidad osmoreguladora. Es debido a lo anterior que estos sistemas son propicios para sólo aquellas especies que logran penetrar y hacer de estos lugares, sitios propicios para su alimentación, reproducción y crianza.

Dentro de estos aspectos, la reproducción ocupa un lugar importante, ya que el conocimiento de ésta nos permite realizar inferencias sobre los hábitos de dichos organismos, además de poder predecir el comportamiento de las poblaciones para explotarlas racionalmente, o en un determinado caso, poderlas cultivar.

La mayoría de los peces presentan sexos separados, aunque existen aquellos que son hermafroditas e inclusive algunos partenogenéticos.

Los peces presentan varias adaptaciones reproductivas, que utilizan como una estrategia para asegurar la continuidad de la especie y están directamente determinadas por el medio que los rodea. Algunos peces llegan a depositar sus huevos en diferentes sustratos, de manera que pasen inadvertidos ante sus depredadores; por mencionar algunos, estarían aquellos peces que depositan los huevos en los pastos (fitófilos), en cavidades de moluscos (ostracófilos), en las rocas (litófilos), o en la columna de agua (pelagófilos), (Nikolsky, 1963).

Otra estrategia es el cuidado paterno, que asegura una mayor supervivencia de los peces, donde algunos, como los signátidos, han desarrollado marsupios; los bagres, llevan los huevos en la boca, y como algunos batracódidos los cuales protegen sus huevos y larvas de posibles depredadores, los limpian del sedimento que se deposita sobre ellos y les proporcionan la oxigenación necesaria (Gallardo, 1998).

La gran mayoría de los peces no presenta un dimorfismo sexual, y en muy pocos es aparente.

Lagler (1977), menciona que existe el dimorfismo sexual primario y secundario. El dimorfismo sexual primario es aquél que está relacionado con el proceso reproductivo, el testículo y sus

espermiductos, en el caso del macho; ovarios y oviductos en el caso de la hembra.

El dimorfismo sexual secundario comprende las diferencias que están dadas con base en el color, tamaño, forma, número o tamaño de radios, o a su comportamiento. Dentro de esta categoría, existen algunos peces que llegan a presentar modificaciones anatómicas, como los pecílidos que presentan modificación en la aleta anal, a manera de órganos copuladores (Nikolsky, 1963), que además de ser apropiados para la transmisión del esperma (Grier, 1981) son usadas para realizar clasificaciones taxonómicas.

Sin embargo, existe una gran cantidad de especies que no presentan un dimorfismo secundario que facilite, en su momento, la diferenciación de sexos, por lo que se requiere realizar la disección de los organismos.

Los métodos empíricos, además de basarse de manera externa en la forma y suavidad del vientre o en la apariencia del poro genital, se encuentran respaldados por escalas que se han establecido con base en la maduración de los productos sexuales y al crecimiento de las gónadas en la cavidad celómica (Rodríguez, 1992). Existen varias escalas empíricas, debido a la variación del ciclo reproductivo de las diferentes especies de peces, siendo las más usuales la Escala Empírica de Nikolsky (1963) y la de Maduración Gonádica de Rosas (1981).

Muchas veces no resultan suficientes muchos de los métodos antes señalados, por lo que resulta necesario apoyarse de otros procedimientos que permitan una precisa determinación.

El corte histológico es un método excelente que permite poner en evidencia los distintos tipos celulares característicos de cada sexo, así como el estadio de madurez, en el que se encuentren, lo cual permite complementar o corregir muchas de las observaciones hechas a un nivel macroscópico, ya que en una gónada no todos los elementos celulares son germinales y en ciertas condiciones, no presentan un gameto potencial (Benítez, 1992). Esto, a su vez, nos permite determinar la dinámica de las poblaciones, como por ejemplo poder separar organismos que están por desovar de otros que aún se encuentran inmaduros sexualmente, o incluso alteraciones que se pudieran presentar en los ecosistemas.

Otra de las muchas ventajas que representa un estudio histológico radica en que al identificar el tejido somático del testículo y del ovario de una especie, permite ver las variaciones que presenten como son: la edad, ciertas enfermedades, alteraciones de tipo degenerativo, o incluso, su propio ciclo reproductivo (Benítez, op. cit.).

Una vez que se llega a conocer el ciclo reproductivo completo de una especie, es posible realizar una correcta explotación de ella. Muchas especies de la familia Engraulidae, representan una importancia socioeconómica (ya sea con fines deportivos o comerciales) y ecológica, ya que estos organismos poseen la

peculiaridad de formar grandes cardúmenes, lo cual ha permitido el desarrollo de importantes pesquerías para países como Perú y México.

En Perú, la familia Engraulidae constituye la dieta básica tanto de las aves guaneras (Rodríguez, 1992), como de otras especies de peces como son la macarela española, las truchas marinas y los delfines. Pero la mayor importancia radica en ser el producto más importante de su economía; gran parte de la extracción es utilizada para el consumo humano y otra parte es destinada para la elaboración de fertilizantes y harina de pescado, donde esta última es empleada para la engorda de diversos animales de granja (Hildebrand, 1943).

A últimas fechas se ha observado que *Anchoa mitchilli* es una especie que representa una gran importancia para los ecosistemas, ya que actúa como eslabón en la cadena alimenticia entre las comunidades zooplanctónicas y los grandes predadores. Esta especie se encuentra bien representada en el Golfo de México y en sistemas como el estuario de Tecolutla, Veracruz, donde encuentra las condiciones ideales para su alimentación, reproducción y crianza.

ANTECEDENTES

Debido a la gran abundancia e importancia, tanto ecológica como económica de *Anchoa mitchilli*, los trabajos realizados con estos organismos son muy amplios y diversos. Se han abarcado desde aspectos taxonómicos (Hildebrand, 1943), hasta los más elaborados, como son su fisiología (Fineran y Nicol, 1976 a, b; Luo y Musick, 1993), su genética (Morgan et. al., 1995), o sus hábitos alimenticios (Sheridan, 1978).

Anchoa mitchilli es una especie que se encuentra a lo largo de las costas del Golfo y del Atlántico (Vouglitois, 1987). Se le reporta como una especie común de las aguas de Nueva York, pero siendo más abundante desde el sur de Nueva Jersey hasta Cabo Hatteras, Carolina del Norte (Hildebrand, 1963). Castro (1978) reporta que se encuentra desde Cape Cod, Massachusetts hasta la Península de Yucatán, México.

Debido a que esta especie es completamente eurihalina, se encuentra ampliamente distribuida, tanto en bahías, aguas costeras o sistemas estuarinos (Fives, 1986; Vouglitois, 1987). En lugares como Tampa, Florida, la han encontrado en salinidades que varían desde los 0.5‰ hasta 75 y 80‰ (Castro, 1978).

Es un organismos que se le encuentra asociado, principalmente a la vegetación (Griffith y Bechler, 1995), y en ausencia de esta, Cornelius (1984) reporta que se le encuentra en sustratos fangosos.

Griffith y Bechler (1995), mencionan que *Anchoa mitchilli* comprende la más grande biomasa en los estuarios a lo largo de las costas del Atlántico y del Golfo. Peebles y Tolley, (1996) mencionan que estos engraúlidos consumen principalmente copépodos calanoideos, cirripedios, decápodos, larvas de pelecípodos y crustáceos epibentónicos; por lo tanto, se considera que los engraúlidos se encuentran vinculando, las comunidades zooplanctónicas con las grandes especies predatorias.

Dentro de los estadios de huevo y larva, Olney, (1983) observó que dentro de la Bahía Chesapeake su abundancia es de mayo a agosto, con un promedio mensual de 320 a 8000 huevos por 10m³. Houde et. al.(1994) mencionan que los huevos se desarrollan rápidamente y eclosionan aproximadamente de 20 a 22 horas después del desove a temperaturas mayores a 26° C.

Cowan y Houde (1990) mencionan que el crecimiento larval es rápido coincidiendo con lo reportado por Houde y Zastrow (1991) donde mencionan que los estadios larval y juvenil se completan en 2.5 meses.

Los trabajos avocados a los picos de abundancia de esta especie son muy amplios, pero sus resultados varían entre ellos, debido a la diferencia en latitudes que es un factor importante. Ross et. al (1987) encuentran que la abundancia de esta especie varía desde la primavera hasta principios del invierno.

Griffith y Bechler (1995) observaron, en el lago Sabine, que los adultos y juveniles estuvieron presentes desde marzo hasta octubre, con una mayor incidencia en noviembre por parte de los juveniles; además, mencionan que la reproducción, estructura del hábitat, la vegetación y la estacionalidad se encuentran muy ligados con la distribución y abundancia.

Zavala et.al. (1988) observaron que su distribución, en la Laguna de Términos, abarca a toda la laguna, durante todos los meses del año, pero con una mayor abundancia en aguas meso y polihalinas.

Vouglitois et. al. (1987) mencionan que dentro de la Bahía de Chesapeake, la mayor abundancia fue de mayo a junio y de septiembre a octubre, pero durante los meses de diciembre a abril, su presencia fue baja.

Con lo que respecta a los aspectos reproductivos, los trabajos realizados, son pocos.

Rosas y León (1988) caracterizan a las gónadas femeninas según la Escala Empírica de Nikolsky; mientras que las gónadas masculinas las mencionan muy someramente.

Vouglitois, et. al. (1987), además de observar los picos de abundancia de la especie, caracterizan las gónadas femeninas en varios estadios: en reposo, en maduración, madura, fatigada, en reposo e inmaduro. Para el testículo, sólo describen la morfología

externa de éstos, de una manera muy somera.

Zastrow et. al. (1991), determinan que las hembras desovan diariamente durante los picos de desove en la Bahía Chesapeake, entre las 20:00 y 24:00 hrs.

Luo y Musick (1991), determinaron la edad y el tamaño de la primera madurez sexual, frecuencia de desove y grupos de fecundidad. Mencionan que estos organismos desovan de 50 a 80 veces en el lapso de varios meses.

Griffith y Bechler (1995), mencionan que los períodos reproductivos ocurren de 2 a 3 meses antes de los picos de abundancia (Abril a Mayo y Julio a Agosto).

Yamamoto y Yamazaki (1961); Bieniarz y Epler (1976); Grier (1981); Wallace y Selman (1981); Forberg (1982); Horvarth (1985); Benítez (1992); Takashima (1995) proponen diferentes estadios de desarrollo para el grupo de los teleósteos. Pero en lo que se refiere a *Anchoa mitchilli*, nos percatamos que no existe ningún trabajo que describa los diferentes tipos celulares de los distintos estadios de madurez sexual, por lo tanto, el presente trabajo tuvo como finalidad los siguientes objetivos.

OBJETIVOS

- * Realizar la descripción macroscópica de las gónadas de macho y hembra de *Anchoa mitchilli*.

- * Describir el tipo de desarrollo ovárico que presentan estos organismos.

- * Describir el arreglo testicular de las gónadas.

- * Describir los diversos tipos celulares de ambas gónadas, para poder establecer los distintos estadios de madurez.

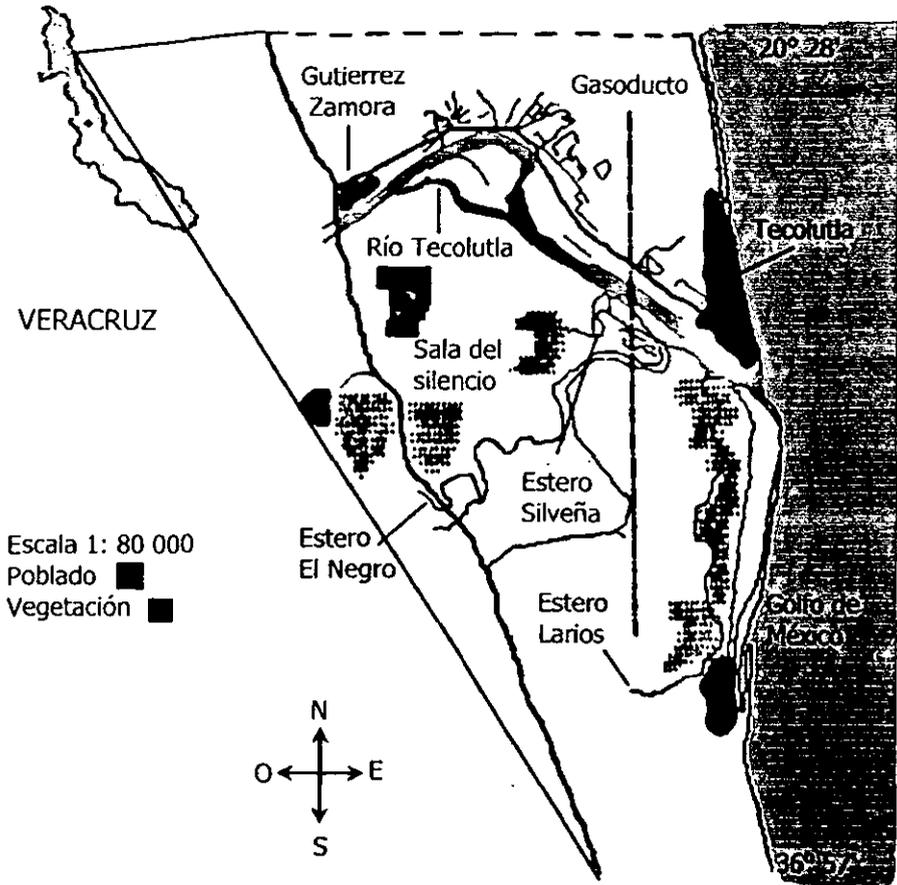
AREA DE ESTUDIO

La zona de Tecolutla forma parte de la llanura costera del Golfo de México, en la porción central del estado de Veracruz, perteneciente al municipio de Gutiérrez Zamora se localiza entre los 20° 29' y 20° 28' de latitud Norte y los 97° 01' y 97° 00' de longitud Oeste.

El río Tecolutla se origina del río Necaxa y tiene una profundidad promedio de 1.8 a 2.0 mts., por lo que resulta navegable. Presenta una dirección suroeste-noreste (SW-NE), y se encuentra dividida en dos ramales principales antes de desembocar al Golfo de México, conocidos como estero "El Negro" y estero "Larios" (Mapa).

En la zona predomina una temperatura promedio anual de 23.8° C, siendo enero el mes más frío con una temperatura promedio de 19° C y por otro lado, agosto es el más caluroso, con una temperatura promedio de 27.5° C; se considera para esta zona un tipo de clima Am(w) que es el más cálido húmedo, con régimen de lluvias en verano y un porcentaje de lluvias invernales de 7.9% (García, 1970), y con una precipitación media anual de 1500 a 2000 mm., considerando a septiembre como el mes de máxima precipitación pluvial. Con respecto a la vegetación circundante, se tiene la presencia de pastizal cultivado y diferentes especies de mangle *Rhizophora mangle* (mangle rojo), *Avicennia germinans* (mangle prieto) y *Laguncularia racemosa* (mangle blanco). Además de estos grupos, hay material desértico micrófilo, aunado con

presencia de palmar; pudiendo clasificarse como una zona de selva baja caducifolia secundaria INEGI (1988).



Mapa del área de estudio.

MATERIAL Y METODOS

Muestreo y preservación

La colecta del material íctico se realizó en estaciones previamente establecidas. Se utilizó un chinchorro charalero de 14 metros de largo por un metro de caída, con una apertura de malla de media pulgada. A los organismos capturados se les tomaron las medidas morfométricas de longitud total (Lt), longitud patrón (Lp) y peso. Fueron fijados con formol al 10% y etiquetados con los datos pertinentes de colecta, para su posterior traslado al laboratorio de Zoología de la ENEP-I.

Trabajo de laboratorio.

Para la identificación de los organismos, se utilizaron las claves de Castro (1978) y Hildebrand (1943), para posteriormente disecarlos. Se observó la posición que guardaban las gónadas, con respecto a los demás órganos, así como sus características morfológicas. Posteriormente se extrajeron las gónadas, se midieron ambas, a lo largo y ancho con ayuda de un vernier con una precisión de 0.1mm, y se pesaron en una balanza analítica marca Ainsworth AA-160, con una precisión de 0.0001.

Procedimiento histológico

Las gónadas fueron sometidas a la técnica histológica de rutina propuesta por Estrada (1992) y modificada por Verdín (1998). Los cortes, en el microtomo, fueron hechos a 10 μm para hembras y 5 μm para machos, posteriormente se tiñeron con H-E.(Apéndices I y II, respectivamente).

Mediciones

Sólo se realizaron mediciones para los diferentes tipos celulares de hembras, ya que en machos fueron difíciles de realizar por tener un tamaño muy pequeño. Para cada estadio de desarrollo, se midió su diámetro, utilizando un micrómetro ocular.

Terminología

La terminología usada para la descripción histológica del estadio de los ovocitos fue adaptada de Forger (1982); Wallace y Selman (1981).

La descripción que realiza Grier (1981) y Benítez (1992) para testículo, fue adaptada en este trabajo para el análisis de los machos.

Fotografías

Para la toma de microfotografías se utilizó un fotomicroscopio Labophot-Z Nikon PFX.

POSICIÓN SISTEMÁTICA DE LA ESPECIE

Para la posición sistemática se siguió el criterio de Castro (1978), para categorías genérica y específica, así como el criterio de Nelson (1994) para categorías supragenéricas.

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Superclase: Gnathostomata

Clase: Actinopterygii

Subclase: Neopterygii

División: Teleostei

Subdivisión: Clupeomorpha

Orden: Clupeiformes

Suborden: Clupeoidei

Familia: Engraulidae

Subfamilia: Engraulinae

Género: *Anchoa*

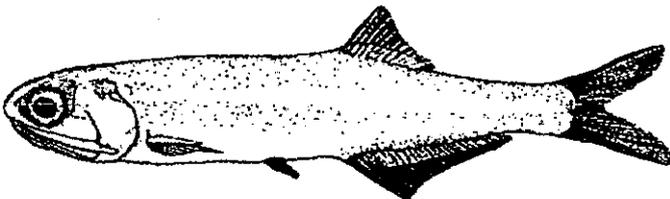
Especie: *Anchoa mitchilli*

DESCRIPCION DE LA ESPECIE

Los adultos alcanzan tallas de 90mm; tienen un cuerpo delgado; los ojos muy grandes, que comprenden un tercio de la longitud de la cabeza; el maxilar es demasiado largo y puntiagudo en su parte terminal y se extiende hasta casi el borde del opérculo.

Las aletas pélvicas están insertadas en posición ventral y se encuentran más cerca de la anal que de las pectorales; las pectorales están implantadas cerca del perfil ventral; la aleta caudal es bifurcada. Una de las características distintivas de esta especie es la relación que guarda la aleta anal con respecto a la dorsal, la aleta anal se origina en una posición posterior al quinto o sexto radio dorsal. La fórmula de las aletas es: D. 13-17; A. 23-30; C. 9+10+9+7-8; P. 10-13. El número de escamas en una línea longitudinal es de 38-44 (Hoose y Moore, 1998).

En vida, presentan una coloración verdosa en el dorso con cierta iridiscencia azulosa; vientre plateado; se observan puntos dorados y verdes iridiscentes sobre el cerebro y sobre la parte superior de cada órbita; la banda lateral plateada que se extiende desde la cabeza hasta la parte caudal se encuentra enmascarada por escamas Robinette (1983).



RESULTADOS

Se capturaron un total de 278 organismos durante el período de colecta, que comprendió de octubre de 1997 a octubre de 1998. Se obtuvieron 144 hembras, 95 machos y 39 que aún estaban indiferenciados, comprendiendo una proporción de 1:1.51 a favor de las hembras.

Los organismos presentaron una longitud total que osciló de 27.8 a 84.9 mm., longitud patrón de 26.2 a 71.4 mm, y con pesos que iban desde 0.1 a 4.5 gr.. Las gónadas midieron desde 1.9 a 20.8 mm y con pesos de 0.0002 a 0.5 gr.

Debido a que estos organismos no presentan un dimorfismo sexual secundario, se realizó la disección de ellos.

Hembras

Descripción macroscópica de las gónadas

Las gónadas de las hembras se localizan entre la vejiga gaseosa y el tracto digestivo (figura 1). Son estructuras pareadas, cuya forma y tamaño varía entre ellas. Aunque en ambas se observa una forma de "bota", la izquierda es más elongada (figura 2) que la derecha, esta última tiene un mayor tamaño y la parte más ancha se encuentra orientada hacia la región anterior (figura 3). Estas se fusionan en el extremo terminal para formar un corto oviducto que desemboca en el ano.

Los colores variaron desde tonalidades blanquecinas hasta las amarillo oro.



Figura 1.-La gónada se localiza entre la vejiga gaseosa y el tracto digestivo. 13.2X.



Figura 2.-Gónada femenina izquierda donde la parte más ancha se encuentra dirigida hacia la parte anterior. 13.2X.



Figura 3.-La gónada femenina derecha, además de tener un mayor tamaño, la parte más ancha se localiza hacia la región anterior. 13.2X.

Macroscópicamente fue posible diferenciar a las hembras de los machos, ya que en las primeras, se pueden ver los ovocitos a través de la membrana ovárica (figura 4) y en los segundos, se observan los túbulos seminíferos (figura 5). Microscópicamente se confirmó lo anterior.

Descripción microscópica

Las gónadas de *Anchoa mitchilli* presentan un desarrollo de tipo asincrónico, ya que se observaron ovocitos en diferentes estadios de desarrollo (foto 6), con cambios a nivel nuclear y citoplasmático.



Figura 4.-En el ovario se observan claramente los ovocitos a través de la membrana ovárica. 30X.

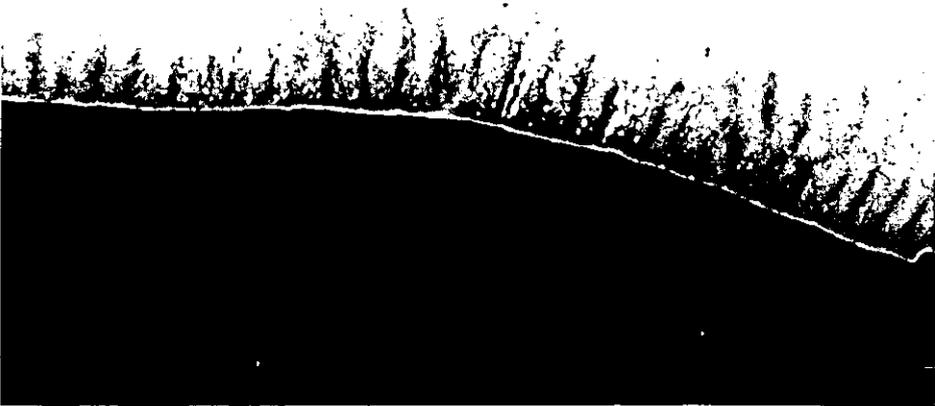


Figura 5.-Gónada de macho, en donde se observan los túbulos seminíferos a un nivel macroscópico. 30X.



Figura 6.-Gónada femenina con ovocitos en diferentes grados de desarrollo.H-E.200X



Figura 7.-Las ovogonias se encuentran en grupos de dos o tres. Se observa el núcleo con una gran afinidad por la hematoxilina.H-E.400X

OvogoniasTamaño: 9-20 μ m

Las ovogonias no se encuentran formando nidos como en otras especies de teleósteos, sino que se les encuentra en grupos de dos a cuatro células distribuidas en el ovario. Presentan una forma poliédrica y con un citoplasma afín a la eosina, tornándose de un color rosa claro, a diferencia del núcleo que se observa de un color morado intenso por su afinidad hacia la hematoxilina (Figura 7).

PRIMERA FASE DE CRECIMIENTO**Cromatina nucleolar**Tamaño: 16-42 μ m

Son células de tamaño muy pequeño, con forma triangular, teñidas basófilamente. El núcleo, es de un gran tamaño, ya que abarca poco más de la mitad del ovocito haciendo que el citoplasma circundante sea escaso; es ligeramente menos basófilo que el citoplasma y posee nucleolos distribuidos por todo el nucleoplasma, el cual presenta una apariencia a manera de hilos basófilos (figura 8).

Perinucleolar tempranoTamaño: 50-58 μ m

Al ir aumentando el tamaño celular, los nucleolos que están teñidos más basófilamente que el nucleoplasma, pero menos que el estadio precedente, comienzan a migrar a la periferia. Estos nucleolos presentan un tamaño heterogéneo aunque sobresale uno de ellos. El citoplasma está teñido muy basófilo (figura 9).

Perinucleolar tardíoTamaño: 58-75 μ m

Hay un aumento en tamaño y al final de este estadio, todos los nucleolos ya se han colocado en la periferia del núcleo. Comienza a hacerse aparente una monocapa de células foliculares (figura 10).

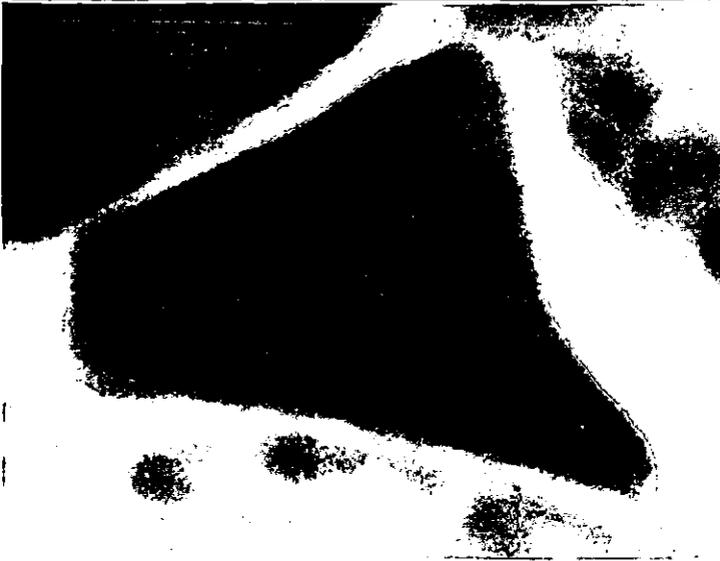


Figura 8.-Ovocito en estadio de cromatina nucleolar. Note su gran afinidad por la hematoxilina H-E.400X.



Foto 9.-Ovocito en perinucleolar temprano. Note el nucleolo de mayor tamaño que los demás. H-E.200X.

SEGUNDA FASE DE CRECIMIENTO

Vesículas de vitelo

Tamaño: 66-160 μ m

En el citoplasma, cercano al corion, se puede observar una estrecha zona con vesículas eosinofílicas, que son el indicativo de que se ha iniciado la segunda fase de crecimiento (figura 11).

Es a partir de este estadio que el núcleo recibe el nombre de vesícula germinal.

El citoplasma, periféricamente, presenta una zona con aspecto esponjoso, en donde se observan unas vacuolas vacías, sin teñir, éstas constituyen los alvéolos corticales. El citoplasma que rodea a la vesícula germinal se ve más compacto y teñido ligeramente más basófilo, probablemente forma la pared palial. La vesícula germinal comienza a tener una forma festonada, los nucleolos ya se encuentran alineados en su periferia y el nucleoplasma va perdiendo su afinidad por la hematoxilina, tornándose menos basófilo (figura 12).

Realizando una descripción de las capas de células foliculares que rodean al ovocito, desde la parte interna a la externa, se encuentra el corion que es una membrana acelular y presenta una afinidad por la eosina, tiñéndose de un color rosa claro; siguiendo a esta capa se encuentra la Zona Radiata Interna (ZRI) o de la granulosa, que presenta células redondas y con una gran afinidad por la hematoxilina, por lo tanto tienen un color morado intenso; finalmente, la Zona Radiata Externa (ZRE) o Teca, se caracteriza por presentar células basofílicas, con una forma elongada y aplanada (figura 13).

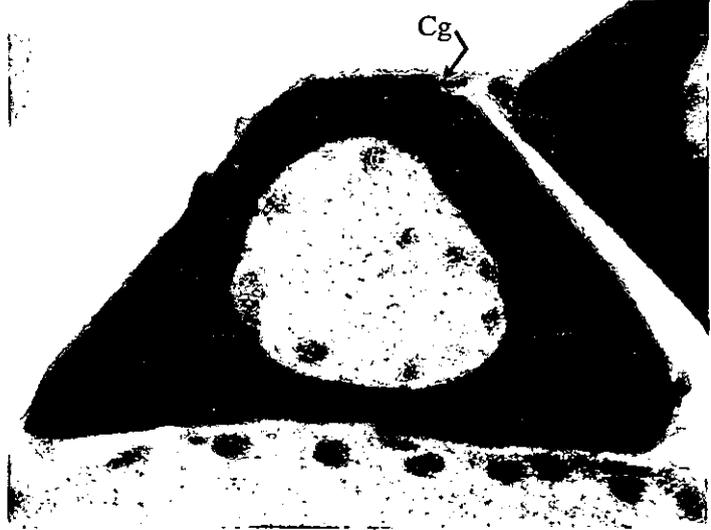


Foto 10.-En el perinucleolar tardío comienza a hacerse aparente la capa de células de la granulosa. H-E.400X.

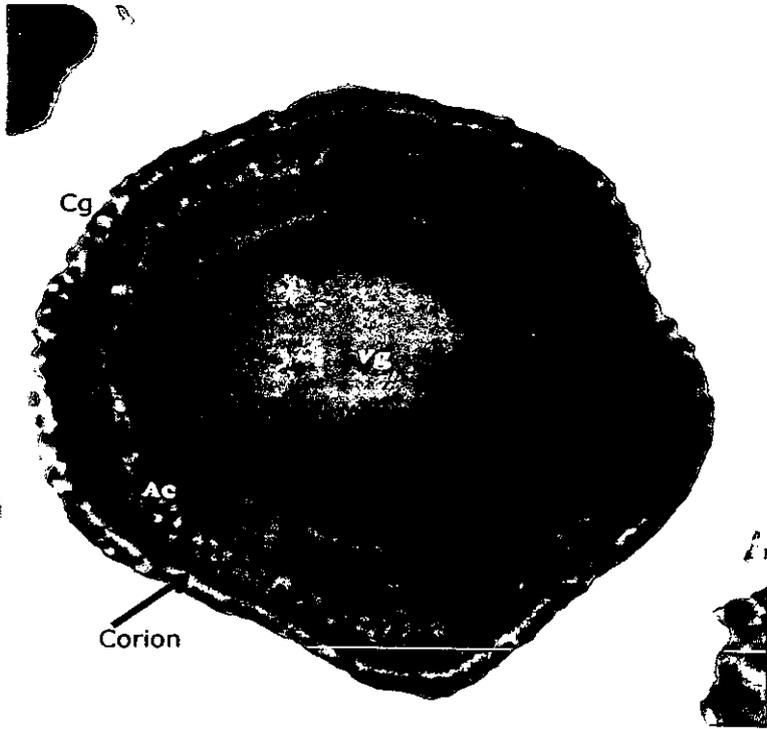


Foto 11.-Ovocito en estadio de vesículas de vitelo. H-E. 200X.

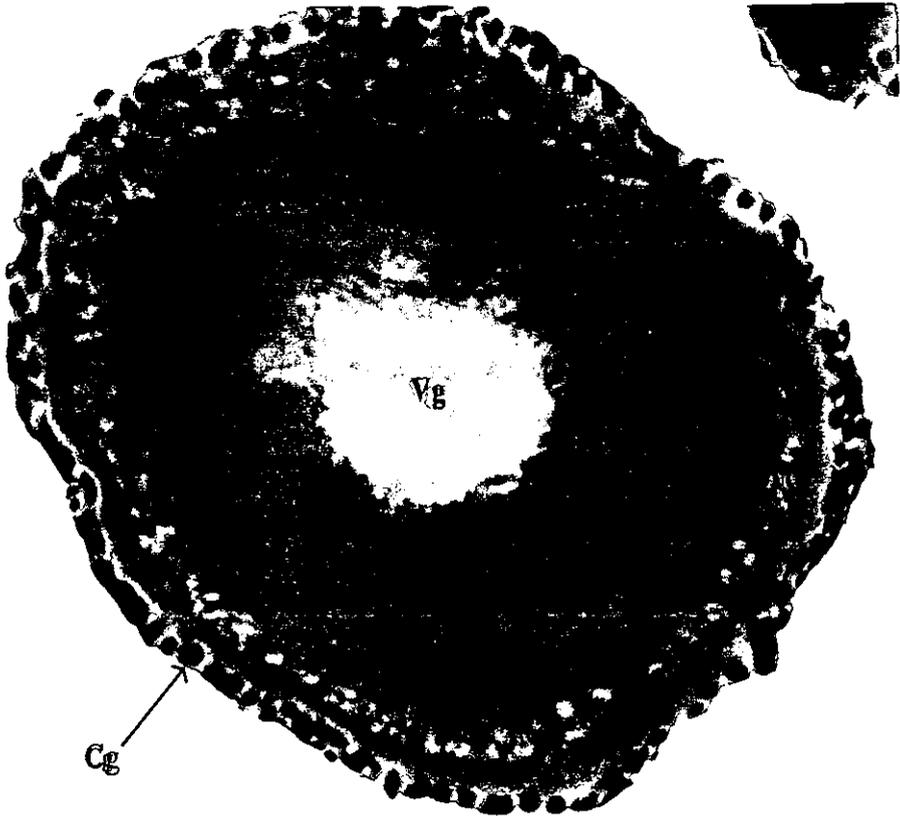


Figura 12.-Los alvéolos corticales dentro del ovocito se localizan en la periferia y se observan como gotas vacías. H-E.400X.

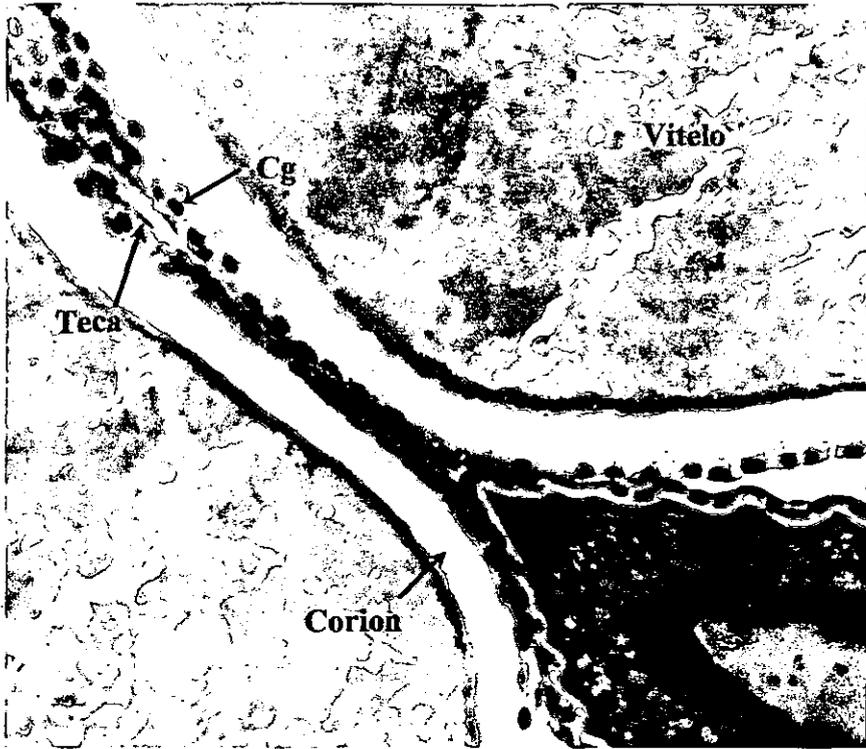


Figura 13.-Cada una de las capas celulares que rodean al ovocito presentan características tintóreas particulares. H-E.800X.

Vitelino primario

Tamaño: 141-250 μ m

Dentro de este estadio, la capa de células de la granulosa se encuentra bien formada. En el citoplasma, ligeramente basófilo, aparecen gránulos de vitelo acidófilos localizados en la periferia y que, debido a su naturaleza, están teñidos de rosa pálido. El citoplasma sigue conservando su apariencia esponjosa, pero el que rodea a la vesícula germinal, presenta una apariencia compacta y basófila (Figura 14).

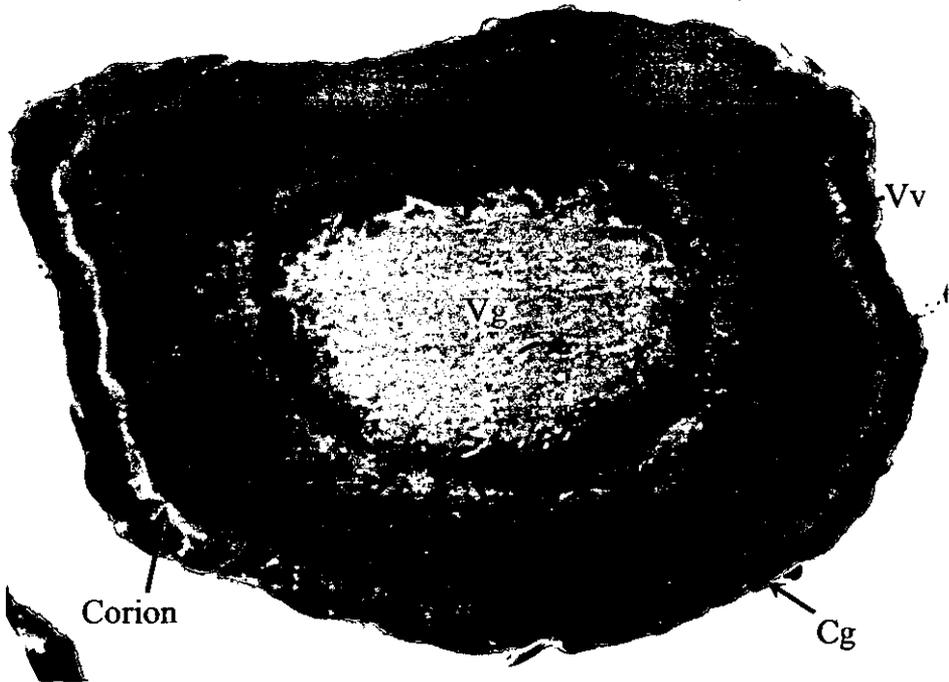


Figura 14.-Comienzan a hacerse aparentes los gránulos de vitelo con una afinidad hacia la eosina. H-E.200X

Vitelino secundario

Tamaño: 208-250µm

El corion y la capa de la granulosa ya se encuentran bien formadas, así como la Teca. Los gránulos de vitelo, al ir aumentando en tamaño y número, migran hacia el centro.

La vesícula germinal comienza a perder su forma festonada para tomar una forma redonda y el citoplasma que la rodea, sigue conservando su apariencia compacta (Figura 15).

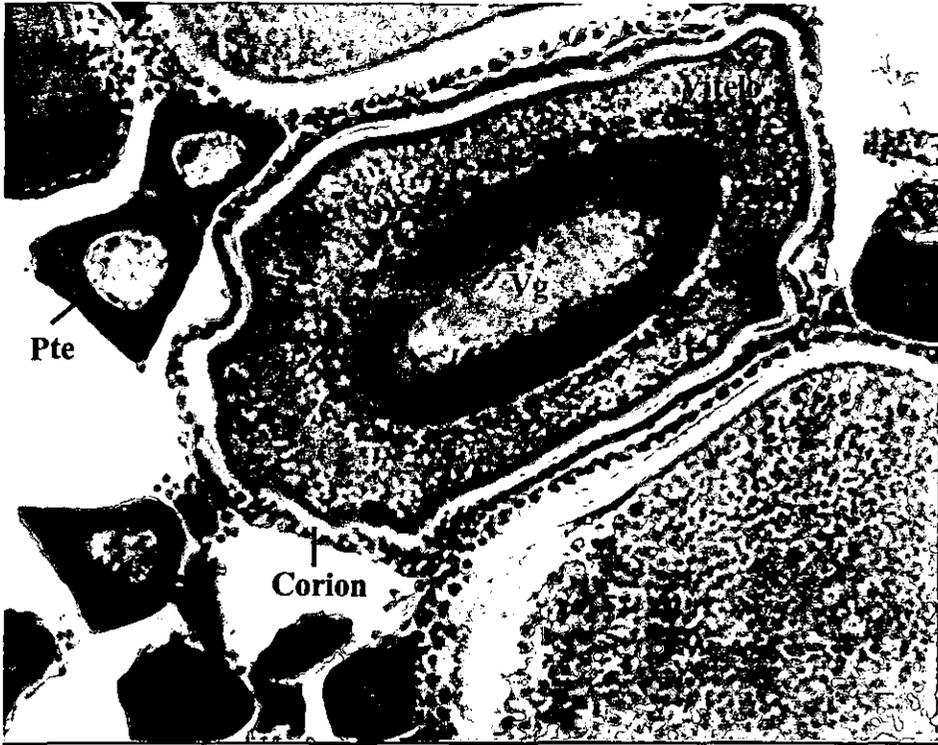


Figura 15.-Ovocito en la fase de vitelino secundario. H-E.400X.

Vitelino terciario

Tamaño: 283-300 μ m

En este estadio se observó que el ovocito tenía un tamaño mayor que el de los precedentes, esto debido a que el citoplasma se encuentra completamente invadido por los gránulos de vitelo, a excepción de la parte circundante a la vesícula germinal que aún conserva una ligera basofilia (figura 16).

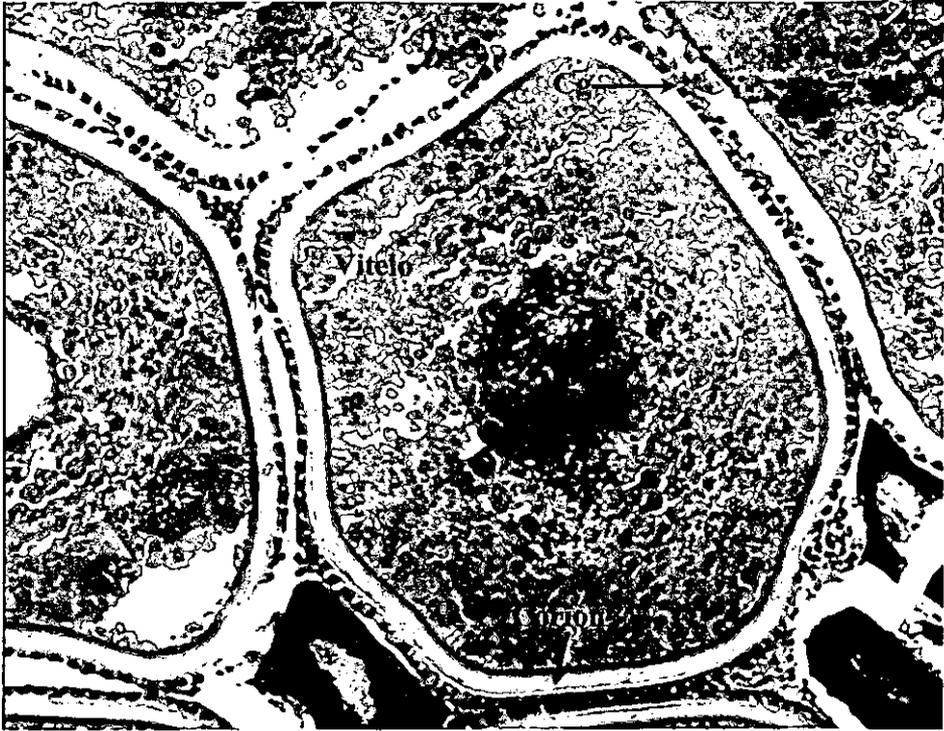


Figura 16.-Ovocito en vitelino terciario. Note la gran cantidad de vitelo (gránulos de vitelo). H-E.200X.

Además de los estadios mencionados, se reconocen tres subestadios:

Núcleo migrado

Tamaño:233-308 μ m

El ovocito pierde su forma redonda para volverse ovalada. La vesícula germinal comienza su migración hacia el polo animal, donde se encuentra el micrópilo. Los nucleolos se localizan en su periferia. Los gránulos de vitelo migran hacia la periferia y en su lugar se van a localizar una especie de vacuolas vacías, sin teñir, estas son las gotas de lípidos (Figura 17).

Premaduración

Tamaño: 480-541 μm

Una vez que la vesícula germinal ha alcanzado el polo animal, las gotas de lípidos van coalesciendo, haciéndose por lo tanto más grandes. Se presentaron tres tipos diferentes de gránulos de vitelo, según sus capacidades tintóreas y morfológicas; gránulos de vitelo eosinofílicos, vitelo eosinofílico homogéneo y vitelo "filamentoso" basofílico (Figura 18).

El ovocito puede ser clasificado como maduro una vez que la vesícula germinal ha desaparecido (Forberg, 1982).

Es a partir de este subestadio que resulta difícil realizar preparaciones histológicas y los artefactos producidos por el manejo son más pronunciados.

Huevo maduro

El ovocito es ovulado y este es el paso final en la maduración del ovocito.

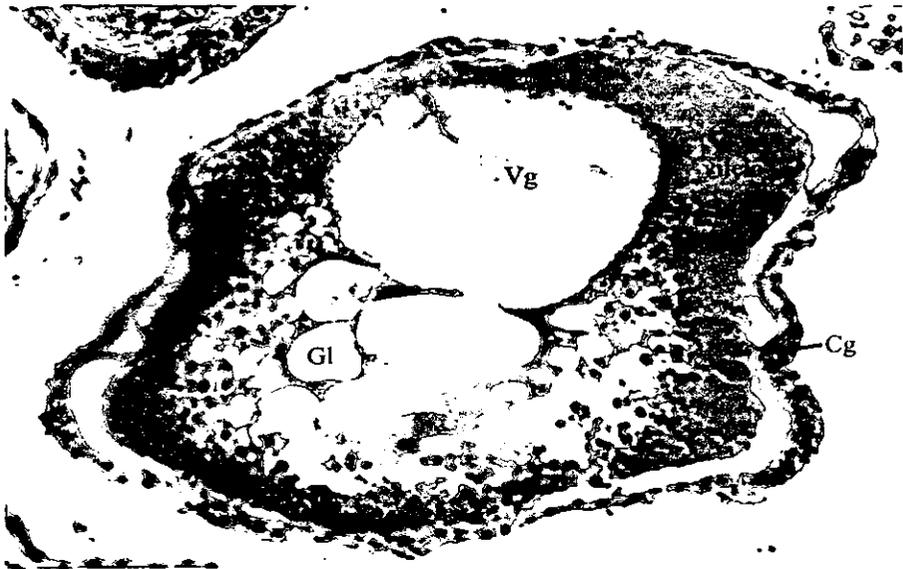


Figura 17.-Note como el ovocito comienza a perder su forma redonda y la vesícula germinal comienza su migración hacia el polo animal. H-E.200X.

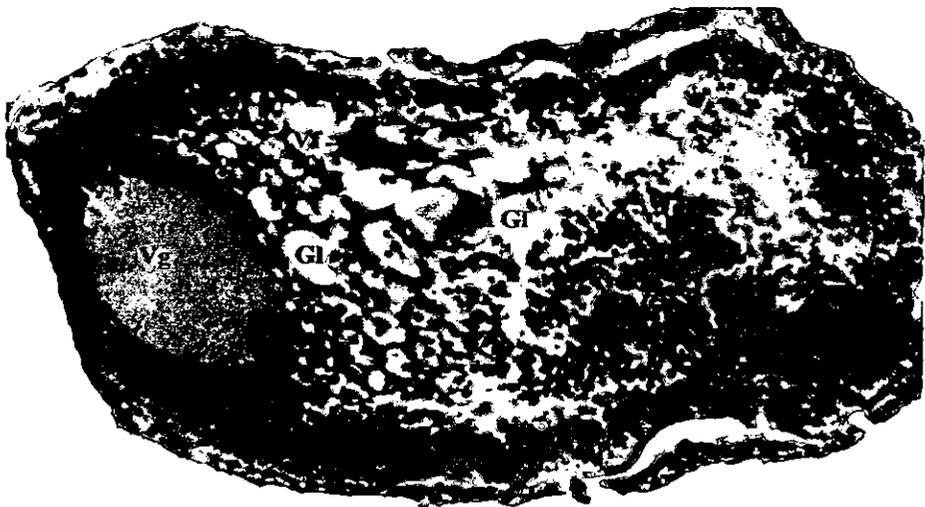


Figura 18.-La vesícula germinal ya ha migrado hacia el polo animal y las gotas de lípido van coalesciendo para formar unas gotas más grandes. H-E.200X.

Atresia

Tamaño: Variable.

Considerado como un proceso degenerativo normal, la atresia es una etapa que se presenta durante el desarrollo de los ovocitos de los teleósteos; en este caso, el núcleo desaparece al igual que los gránulos de vitelo, los cuales son reabsorbidos por las células de la granulosa, que poco a poco va invadiendo el lugar que antes ocupara el citoplasma en los estadios tempranos, y en el caso de los ovocitos que se encuentran en vitelogénesis, las células de la granulosa invaden el lugar de los gránulos de vitelo (figura 19).



Figura 19.- Ovocito atrésico, donde las células de la granulosa empiezan a invadir el citoplasma. H-E.80X.

ESTADÍO	TAMAÑO CELULAR	VITELOGENESIS	AFINIDAD TINTÓREA
Ovogonias	9-20µm		Núcleo: basófilo Citoplasma: acidófilo
Cromatina nucleolar	16-42µm		Núcleo: basófilo Citoplasma: basófilo
Perinucleolar temprano	50-58µm		Núcleo: basófilo Citoplasma: basófilo
Perinucleolar tardío	58-75µm		Núcleo: basófilo Citoplasma: basófilo
Vesículas de vitelo	66-160µm	+	Núcleo: acidófilo Citoplasma: basófilo
Vitelino Primario	141-250µm	++	Núcleo: acidófilo Citoplasma: acidófilo
Vitelino Secundario	208-250µm	+++	Núcleo: acidófilo Citoplasma: acidófilo
Vitelino Terciario	283-300µm	++++	Núcleo: acidófilo Citoplasma: acidófilo
Núcleo migrado	233-308µm	+++++	Núcleo: acidófilo Citoplasma: acidófilo
Premaduración	480-541µm	+++++	Núcleo: acidófilo Citoplasma: acidófilo y basófilo.
Atresia	Variable, aunque se encontró principalmente en los ovocitos con tamaños mayores a 270µ		Núcleo: basófilo Citoplasma: acidófilo

Tabla 1.-Estadíos encontrados en los ovarios de *Anchoa mitchilli*. Los (+) indican un aumento en la actividad vitelogénica.

Machos

Descripción macroscópica

Las gónadas de los machos se localizaron por debajo de la vejiga gaseosa y por encima del tracto digestivo. Son estructuras pareadas, con morfología variable y se fusionan en el extremo terminal para formar un corto espermiducto que desemboca en el ano. A simple vista resulta posible apreciar los túbulos seminíferos (figura 5).

Los colores variaron desde transparentes o blanquecinos, hasta los amarillo oro.

Descripción microscópica

Externamente, el testículo se encuentra cubierto por una delgada capa denominada túnica albugínea, que está constituida por tejido conectivo laxo y en donde están embebidas las células mioides (contráctiles), las cuales presentan una forma aplanada y con una afinidad hacia la eosina observándose de un color rosa claro (Figura 20).

Internamente se encuentra formado por túbulos (Figura 21) que son irrigados por vasos sanguíneos (figura 22). Las células germinales se encuentran distribuidas en el interior del túbulo y a medida que se acercan a luz del mismo, se observan células en proceso de maduración (figura 23).

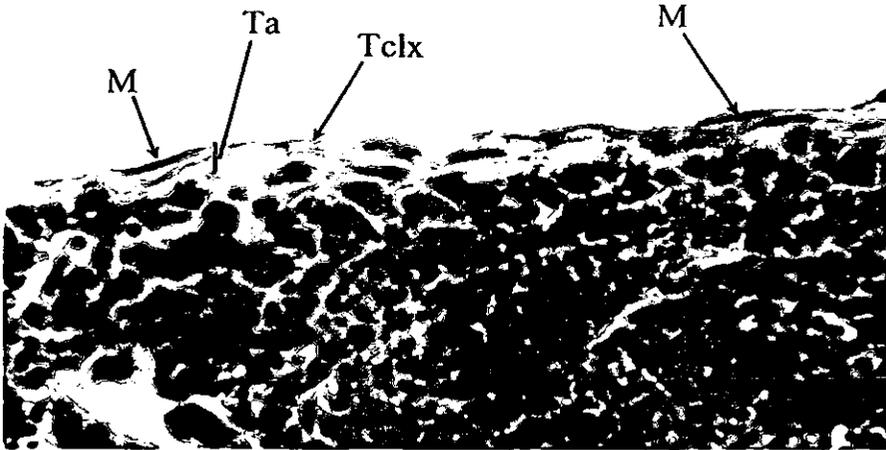


Figura 20.-El testículo se encuentra recubierto por la túnica albugínea que se encuentra compuesta de tejido conectivo laxo y células mioideas que le ayudan a la contracción. H-E. 1320X.

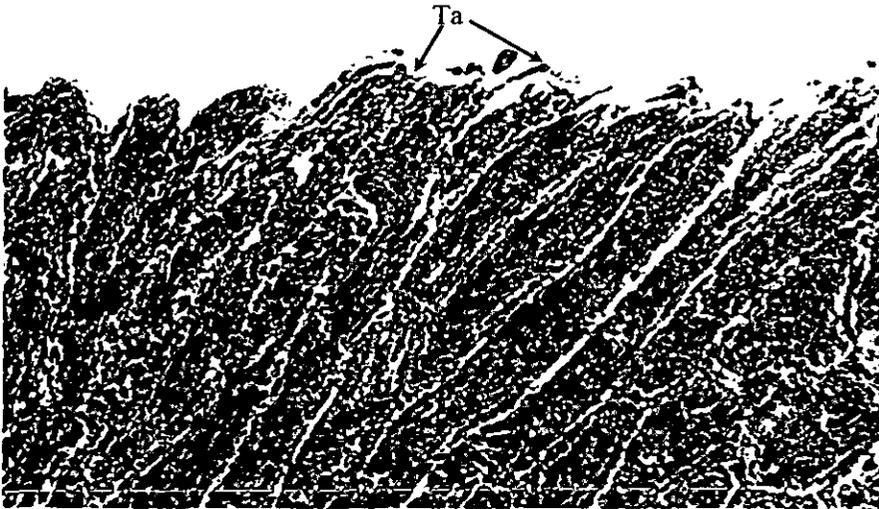


Figura 21.-La túnica albugínea se encuentra cubriendo al testículo, que se encuentra conformado por túbulos. H-E. 200X.

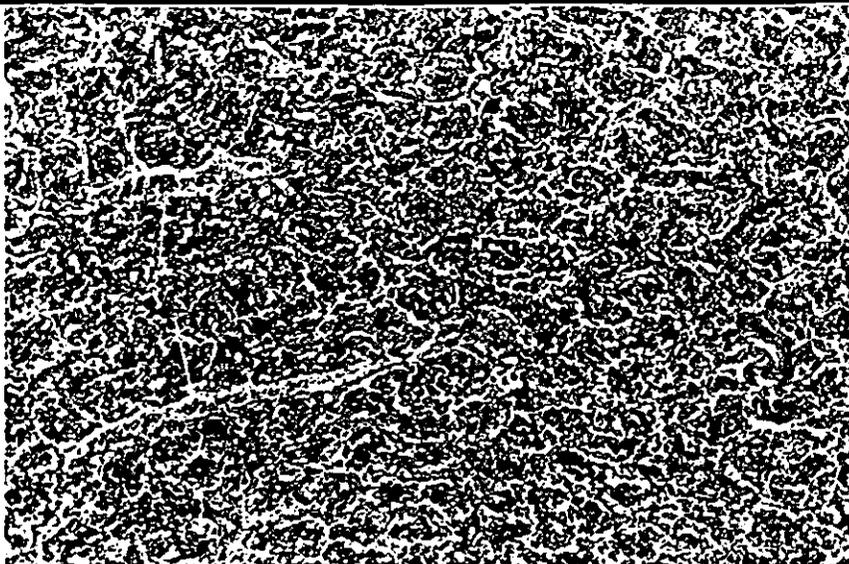


Figura 22.-Arreglo típico de un testículo tubular, en donde en cada túbulo se encuentran las células germinales, que están bañadas por vasos sanguíneos. H-E. 132X.

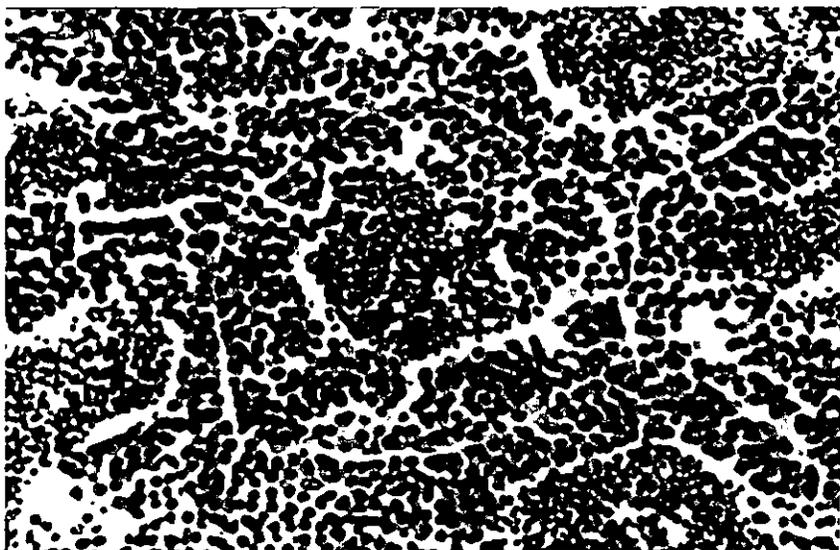


Figura 23.-En cada túbulo se observan células germinales en distintos grados de desarrollo que se diferencian entre ellas por la afinidad hacia la hematoxilina y su localización dentro del mismo H-E. 660X.

Cada túbulo se encuentra delimitado por tejido conectivo y por una pared semicontinua de células mioideas (Figura 24). Entre estos intersticios es posible observar a las células de Leydig, que presentan un gran tamaño y una forma poliédrica, con un citoplasma y núcleo afín a la eosina. Estas células tienen una función secretora (Figura 25).

Dentro de cada túbulo es posible apreciar la línea espermatogonial, esto es, desde las espermatogonias que se encuentran en la periferia del túbulo, hasta los espermatozoides que se encuentran en la luz del mismo, y en donde cada uno de estos estadios presentan un tamaño variable y características citológicas particulares (Figura 26).

Espermatogonias

Son células redondas, grandes con respecto a los estadios subsecuentes, con una ligera afinidad hacia la hematoxilina, tiñéndose de un color morado claro; su núcleo de forma redonda tiene una afinidad ligeramente mayor hacia la hematoxilina que la que presenta el citoplasma. Estas células se encontraron en la periferia del túbulo (Figura 27).

Espermatocitos primarios y secundarios

La diferencia entre estos dos tipos celulares, aunque difícil de notar, está con base al tamaño y a su localización dentro del túbulo, ya que además de que los espermatocitos secundarios son ligeramente más pequeños que los primarios, la posición que guardan dentro del túbulo es más hacia el centro. Debido a su afinidad por la

hematoxilina, estas células están teñidas de un color morado (figura 28). Es en el espermatocito secundario que se da la segunda división meiótica, dando origen a las espermátides.

Cabe mencionar que dentro de la línea espermatogonial que se observa dentro de cada túbulo, se encuentran las células de Sertoli, que para el caso de esta especie se localizaron cerca de las espermátides y los espermatozoides. Presentan un amplio citoplasma teñido de color rosa claro debido a su afinidad por la eosina y su núcleo es fuertemente basófilo (Figuras 26 y 28).

Espermátides

Hacia el centro del túbulo se encuentran las espermátides, las cuales presentan un menor tamaño con respecto a los espermatoцитos secundarios, se incrementa ligeramente su afinidad hacia la hematoxilina, debido a la condensación del núcleo (Figura 29).

Espermatozoides

Las espermátides comienzan a sufrir cambios en su citoplasma, por lo tanto hay una diferenciación celular, transformándose en espermatozoides. Estos se encuentran ya hacia la luz del túbulo y por la condensación del núcleo se vuelven muy afines a la hematoxilina, por lo que se observan de un color morado intenso. La cabeza de los espermatozoides presentan una forma a manera de bala, pero debido a su pequeño tamaño, no fue posible observar los flagelos (Figura 30).

Conforme la gónada madura, los túbulos se llenan de espermatozoides (Figura 31), hasta que finalmente se rompen (Figura 32) y los espermatozoides son liberados a un corto espermiducto.

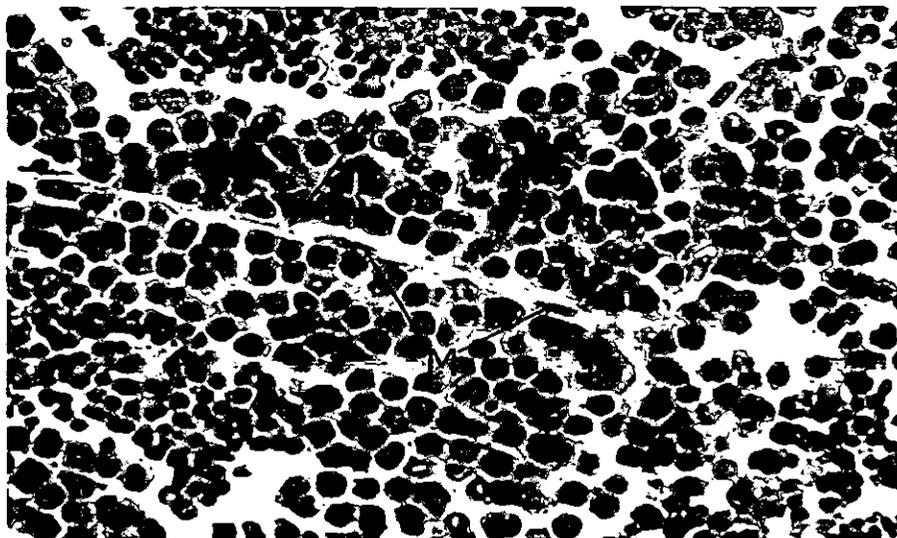


Figura 24.-Cada túbulo se encuentra delimitado por tejido conectivo y células mioides que presentan una forma aplanada.H-E. 1320X.

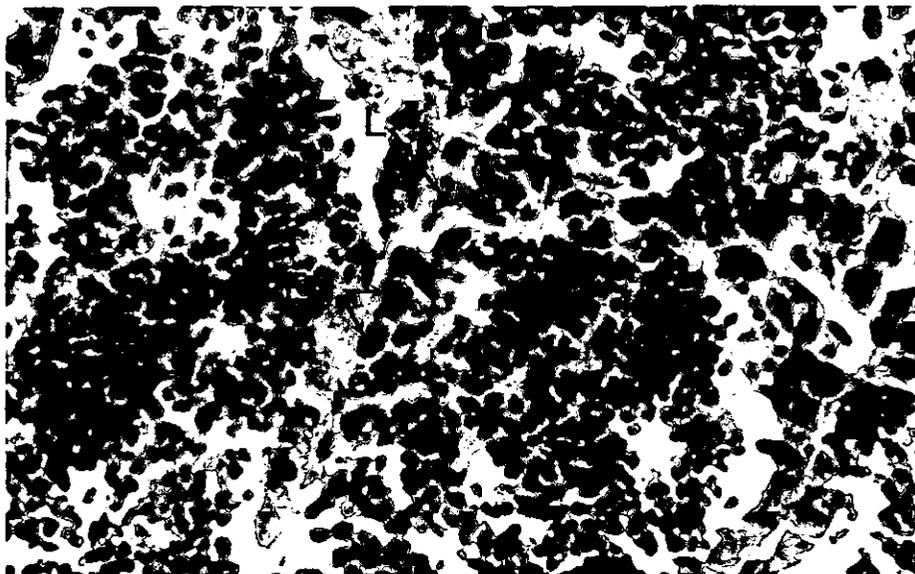


Figura 25.-Entre los intersticios de los túbulos se localizan las células de Leydig con función hormonal. Dentro del mismo testículo hay oleadas espermáticas. H-E. 1320X.

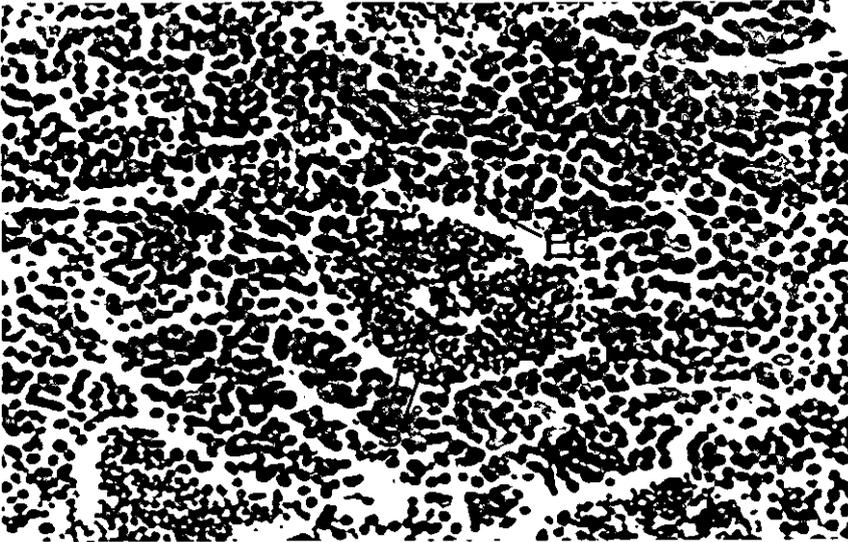


Figura 26.-Al madurar, las células germinales además de una mayor afinidad por la hematoxilina, su localización dentro del túbulo se ubica en el centro. H-E. 660X.

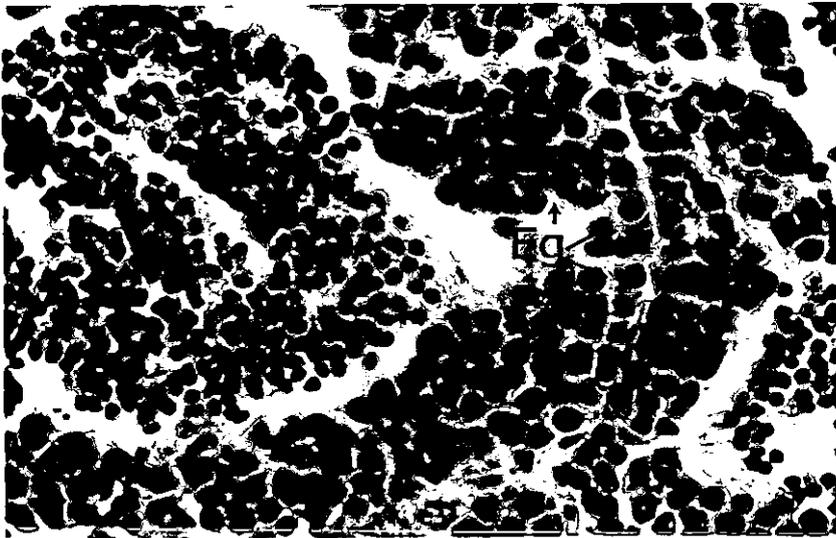


Figura 27.-En la periferia del túbulo se encuentran las espermatogonias mayores en tamaño a los estadios precedentes. H-E. 1320X.

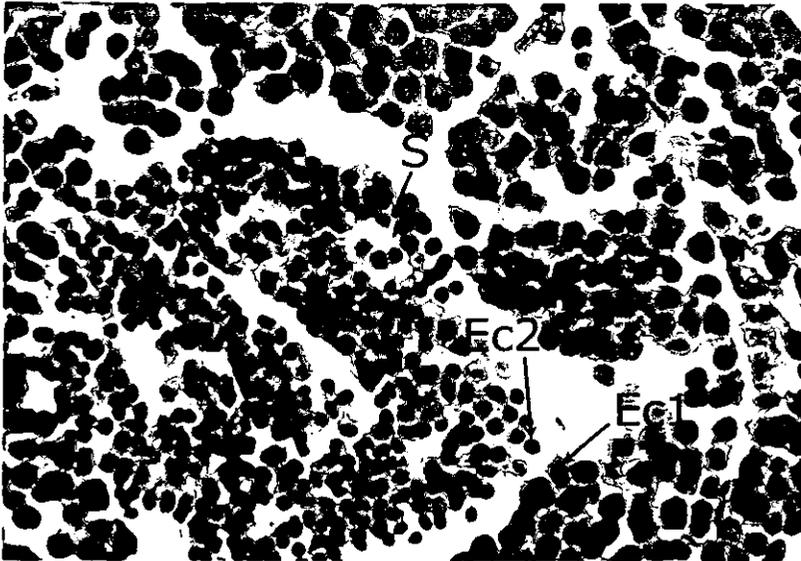


Figura 28.-La diferencia entre Espermatoцитos primarios y secundarios está dada con base al tamaño y localización dentro del túbulo. H-E. 1320X.

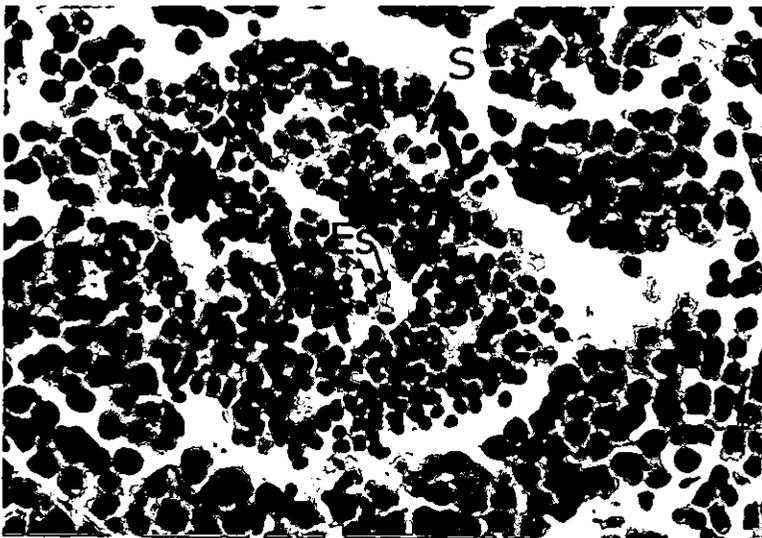


Figura 29.-Las células de Sertoli se encontraron cercanas a las espermátides y espermatozoides. H-E. 1320X.

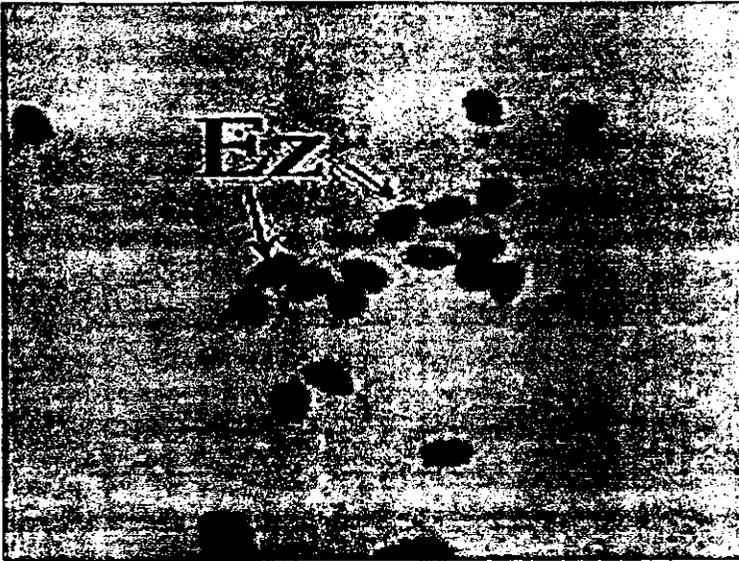


Figura 30.-Los espermatozoides se caracterizaron por que la cabeza presenta una forma de bala, además de su localización en la luz del túbulo. H-E. 1320X.

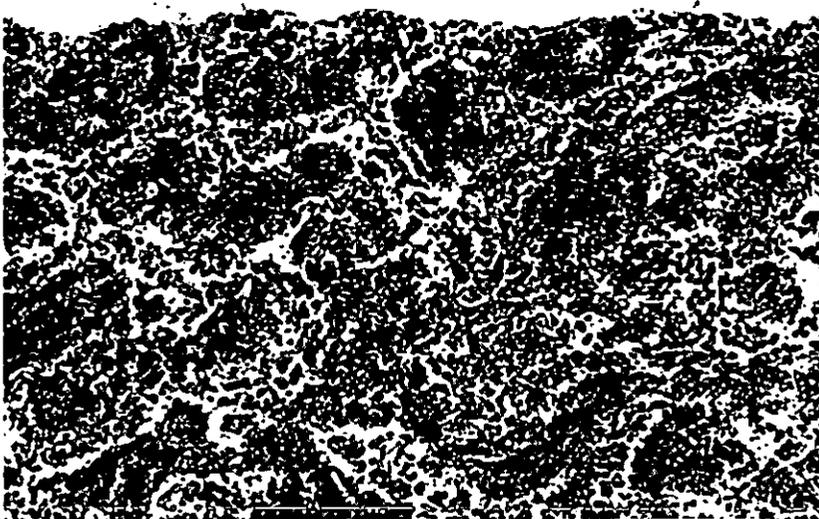


Figura 31.-Los túbulos, una vez maduros, comienzan a romperse gradualmente. H-E.200X.

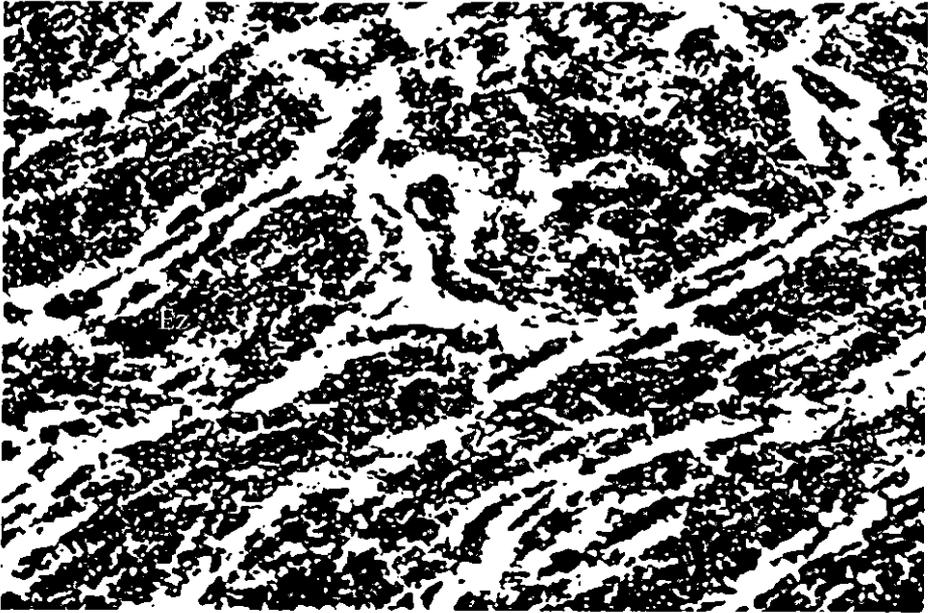


Figura 32.-En la espermateliosis, hay liberación de espermatozoides hacia el conducto espermático. H-E.200X.

DISCUSIÓN

El uso de las escalas empíricas son poco precisas (Rodríguez, 1992), ya que únicamente se basan en las características morfológicas externas de la gónada, sin tomar en cuenta que no todos sus elementos son germinales y los germinales en ciertas condiciones no representan un gameto potencial (Benítez, 1992).

Conforme hay una maduración de las células sexuales, puede haber una serie de cambios morfológicos, que siguen un patrón similar en la mayoría de las especies de peces (Forberg, 1982).

Los cortes histológicos del ovario de *Anchoa mitchilli* evidenciaron algunas características, que aunque no son posibles de observar a un nivel macroscópico sí corroboran muchas de estas observaciones.

Primeramente, se encontró una población heterogénea de ovocitos, con características morfológicas particulares como son: el tamaño, la presencia de membranas y gránulos de vitelo; posición del núcleo y respuesta a la tinción, que indica el estadio en el que se encuentran y por lo tanto el grado de madurez gonadal. En este caso, se observó que conforme va madurando el ovocito, aumenta gradualmente su tamaño y comienzan a aparecer las distintas capas que recubren al ovocito (corión, granulosa y teca) y debido a que una vez iniciada la segunda fase de crecimiento, comienza la actividad vitelogénica del ovocito, por lo tanto, tanto citoplasma como núcleo se vuelven afines a la eosina, contrario a lo observado en la primera fase de crecimiento (Tabla 1).

Lo anterior coincide con lo reportado por León y Rosas (1988), que encontraron en gónadas maduras de hembra, una mezcla de ovocitos en diversos tamaños, por lo que se puede afirmar que *Anchoa mitchilli* presenta un ovario de tipo asincrónico.

Este tipo de ovario es característico de especies de peces tropicales y subtropicales (Nikolsky, 1963); representa una estrategia reproductiva ya que al tener desoves fraccionados, permite que los períodos de desove se prolonguen, coincidiendo con lo reportado por Olney (1983).

Varios autores (Luo y Musick, 1991; Zastrow, et. al. 1991) mencionan que esta especie puede desovar de 50 a 80 veces durante un periodo reproductivo. León y Rosas (1988) mencionan que la mayor actividad reproductiva de esta especie, dentro del sistema, es desde el invierno hasta mediados de la primavera; en este caso los Indices Gonadosomáticos Parciales (IGP) indicaron un aumento desde invierno (3.48) hasta la mitad de la primavera (4.88), que fue cuando se encontró el mayor número de organismos (69), y en los cortes histológicos se observó que los ovocitos se encontraban ya maduros, es decir, dentro de los estadios de vitelino 3º y núcleo migrado.

Esta prolongación en el período reproductivo incrementa la probabilidad de adquisición del alimento y asegura la preservación de la especie bajo condiciones desfavorables para el desove (Nikolsky, 1963).

El subestadio de premaduración, mostró que las gotas de lípidos coalescen formando unas gotas más grandes. León y Rosas,(1988); Martínez et.al.,(1988) mencionan que los huevos de *Anchoa mitchilli*, para el mismo sistema, presentan una estratificación vertical conforme avanzaba el desarrollo. Pivnička y Černý (1990) mencionan que en los huevos de algunos peces existe una presencia de lípidos que les impide caer al fondo, esto hace suponer que una vez que los huevos de *Anchoa mitchilli* son eclosionados, pueden flotar debido a las gotas de lípidos y conforme avanza el desarrollo se vuelven epibentónicos, por lo que en los muestreos de trabajos anteriores el estadio de huevo medio se encontró en el fondo.

La presencia de los diferentes estadios y subestadios, desde cromatina nucleolar hasta premaduración, confirman que esta especie alcanza la madurez gonádica, desova y tiene una recuperación dentro del sistema; por lo tanto, *Anchoa mitchilli* hace del sistema estuarino de Tecolutla su lugar de residencia permanente lo, que coincide con lo citado por Abarca (1986), León y Rosas (1988) y Martínez et.al.(1987 a y b).

En los teleósteos, el proceso involucrado en la formación de espermatozoides y su liberación para la fecundación es extremadamente diverso (Billard, 1986) y aunado a esto, los términos tubular y lobular que describen el arreglo testicular han sido usados indiferenciadamente (Grier, 1981).

Siguiendo la clasificación que realiza Grier (op.cit.) para el testículo de los teleósteos, *Anchoa mitchilli* presenta un testículo de tipo tubular, considerado el más común entre estos organismos (Grier, op.cit), que contienen a las células germinales en distintos grados de desarrollo. De acuerdo con la distribución de las espermatogonias, se considera de tipo espermatogonial no restringido y finalmente, por el acomodo de los túbulos en la periferia se considera de tipo bifurcado.

Cabe mencionar que dentro del mismo testículo se encontraron oleadas espermáticas, esto es, en algunas partes tenían una gran actividad por parte de las células germinales, mientras que en otras se encontraron en reposo.

La liberación de los espermatozoides al espermiducto (estadio más avanzado) coincidió con los estadios más avanzados en hembras, lo que hace suponer que una vez dadas las condiciones ambientales favorables para el desove, tanto hembras como machos liberan sus productos sexuales al medio, que es donde ocurre la fecundación. Esto coincide con lo reportado por Abarca (1986), Martínez (1987) y León y Rosas (1988) donde la temporada con mayor presencia de huevos fue desde invierno hasta mitades de la primavera.

CONCLUSIONES

- *Anchoa mitchilli* no presentó un dimorfismo sexual secundario.
- Macroscópicamente resulta posible diferenciar las gónadas de machos y hembras, con base a su forma y por los elementos celulares visibles que los conforman.
- Los ovarios de un mismo organismo presentan una diferencia en cuanto a forma y tamaño.
- Histológicamente, las hembras presentaron un ovario de tipo asincrónico.
- Histológicamente, los machos tienen un testículo de tipo tubular, espermatogonial no restringido, bifurcado.
- La época de desove es principalmente en invierno.
- De acuerdo a lo encontrado en el análisis gonádico, se puede aseverar que *Anchoa mitchilli* es un residente permanente del sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz.

BIBLIOGRAFIA

1. Abarca, G.F.(1986). Algunos aspectos de la biología de las Anchovetas (Pisces: Engraulidae) en el estuario de Tecolutla, Veracruz. ENEP Iztacala. U.N.A.M. Tesis.
2. Benítez, F.C.(1992). Estructura histológica de la gónada de los teleósteos. ENEP. Iztacala. U.N.A.M.
3. Bieniarz, K.;Epler, P. (1976).Preliminary results of the *in vivo* studies on ovarian resorption in carp (*Cyprinus carpio* L.) J. Fish Biol. 8, 449-451pp.
4. Bigelow, H. (1953) Fishes of the Golf of Maine. U.S. Fish Wildl. Serv., Fish. Bull. 53(74):577pp.
5. Billard, R. (1986). Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reprod. Nutr. Develop.* 26 (4) 877-920pp.
6. Bond, C.E. (1979). *Biology of fishes.* Sounders College Publishing. E.U.A.513p.
7. Castro, A.J. (1978). Catálogo sistemático de los peces marinos que penetran a las aguas continentales de México con aspectos zoogeográficos y ecológicos. Dirección General de Instituto Nacional de Pesca. Serie Científica no. 19.México.298p.
8. Cowan,L.R. et.al. (1990). Growth and survival of bay anchovy *Anchoa mitchilli* larvae in mesocosm enclosures. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 68 (1-2):47-57pp.
9. De la Rosa, R.M. (1986). Contribución al conocimiento de la biología de *Anchoa mitchilli* (familia Engraulidae). Tesis Profesional. U.N.A.M. México.

10. Development of fishes of the Mid-Atlantic Bight. An atlas of egg, larval and juvenile stages. (1978). Fish and Wildlife Service 1:159-163
11. Dovel, W. L. (1971). Fish eggs and larvae of the upper Chesapeake Bay. Univ. Md. Nat. Resour. Inst., Spec. Rept. 4 711pp.
12. Estrada, F.E., Peralta, Z.L., Rivas, M.P. (1992). Manual de técnicas histológicas. A.G.T. Editor. México. pp.140.
13. Fineran, B.A., Nicol, J.A. (1976^a). Studies on the eyes of anchovies *Anchoa mitchilli* y *Anchoa hepsetus* (Engraulidae) with particular reference to the pigment epithelium. Philo. Trans. Of the Royal Society of London-B. Biol. Sci. 276(947):321-350.
14. _____ (1976^b). Novel cones in the retina of the anchovy *Anchoa*. Journal of ultrastructure Research 54(2):296-303pp.
15. Fives, J.M., et.al. (1986). Aging and growth of larval bay anchovy *Anchoa mitchilli*, from the Newport River estuary, North Carolina. Estuaries. 9, (4B):362-367pp.
16. Flores, A. y Méndez, V.M. (1982). Contribución al conocimiento del ictioplancton de la Laguna de Alvarado, Veracruz. An. Inst. Cienc. Del Mar y Limnol. U.N.A.M. 9(1):141-160pp
17. Forberg, K. G. (1982). A histological study of development of oocytes in capelin *Malotus villosus* (Müller). Jor. Fish Biol. 20:143-154pp.

-
18. Gallardo, T.A. (1998). Algunos aspectos de la biología de *Opsanus beta* Goode y Bean (Ostechthyes: Batrachoididae) en el sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz. Tesis Profesional. U.N.A.M. México.
 19. García, E. (1970). Los climas del estado de Veracruz según el sistema de clasificación de Köppen (modificado por la autora). An. Inst. de Biol. U.N.A.M. (41). Serie Botánica (1):3-42.
 20. Grier, H.J. (1981). Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. Amer. Zool. 21:345-357pp.
 21. Griffith, S.A., et.al. (1995). The distribution and abundance of the bay anchovy *Anchoa mitchilli*, in a southeast Texas marsh lake system. Gulf Research Reports. 9 (2):117-122pp.
 22. Gunter, G. (1945). Studies of marine fishes of Texas. Pub. Unst. Mar. Sci. Univ. Tex. 1(1):1-190.
 23. Hildebrand, S.F. (1943). A review of the american anchovies (Family Engraulidae). The bingham Oceanographic Collection. 3(3). U.S.A.
 24. _____ (1963). Fishes of the western North Atlantic. Family Engraulidae. Sears Found. Mar. Res., Mem. 1(3):152-249.
 25. Hildebrand, S.F. y Cable, L.E. (1930). Development and life history of fourteen teleostean fishes at Beaufort, N.C. U.S. Bur Fish, Bull. 46:383-488.
 26. Hildebrand, S.F. y Schroeder, W.C. (1928). Fishes of Chesapeake Bay. U.S. Bur. Fish, Bull. 43.pp.366.

-
27. Houde, E.D. (1977). Food concentration and stocking density effects on survival and growth of laboratory reared larvae of Bay anchovy *Anchoa mitchilli* and Lined Sole *Achirus lineatus*. Marine Biology 43:333-341.
 28. Hoose, H.D.; Moore, R.H. (1998). Fishes of the Gulf of Mexico. Texas A&M University Press. 2ed. U.S.A. 422pp.
 29. INEGI. (1988). Atlas Nacional del Medio Físico. México.
 30. Jones P.W., F.D. Martín, J.D. Hardy Jr. (1978). Development of fishes of the Mid-Atlantic Bight, Volumen I U.S. Fish and Wildlife Service Biological Services Program FWS/OBS-7/12.
 31. Jordan, D.S. y Seale, A. (1925). Analisis of the genera of Anchovies or Engraulidae. Copeia, (141):31.
 32. Jordan, D.S. y Seale, A. (1926). Review of the Engraulidae, with descriptions of new and rare species. Bull. Mus. Comp. Zool. 67,(11):355-418.
 33. Kuntz, A. (1914). The embriology and larval development of *Bardiella chrysur* and *Anchoa mitchilli*. U.S. Bur. Fish, Bull (1913). 33:1-19.
 34. Lagler, K.F.; Bardach, J. E., Miller, R. R. y Passino, D. R. M. (1984). Ictiología. A.G.T. Editor. México. 484p.
 35. Leeson R.C., L.S. Thomas, A.P. Anthony. (1986). Atlas de histología. Interamericana. 2ª ed. México. 313p.
 36. León, R.O. y Rosas, R.S. (1988). Estudio de la biología, distribución y abundancia espacio temporal de la especie *Anchoa mitchilli* (Pisces Engraulidae) en el sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz, México. Tesis Profesional. U.N.A.M.. México.

37. Luo, J.; Musick, J.A. (1991). Reproductive biology of the bay anchovy in Chesapeake Bay. Trans. Of the Amer. Fish Soce. 120 (6) 701-710pp.
38. _____ (1993). Tidal transport of the bay anchovy, *Anchoa mitchilli* in darkness. Journal of fish biology. 42,(4):531-539pp.
39. Martínez, P. J., Canales M.M., León O.F., Rosas S.R.(1987a). Distribución y abundancia espacio temporal de los subestadios larvales de *Anchoa michilli*, en el Sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz. VII Coloquio de Investigación. E.N.E.P.I.
40. Martínez, P. J., Canales M.M., León O.F., Rosas S.R. (1987b). Épocas de desove de *Anchoa mitchilli diaphana* para el sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz, Mex. VII Coloquio de Investigación. E.N.E.P.I.
41. Martínez, P. J., Canales M.M., León O.F., Rosas S.R.(1988).Estudio de la alimentación en juveniles y adultos de *Anchoa mitchilli*, para el sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz, México. VIII Coloquio de Investigación. E.N.E.P.I.
42. Morgan, R.P., et. al. (1995). Genetic structure of bay anchovy (*Anchoa mitchilli*) populations in Chesapeake Bay. Estuaries. 18 (3):482-493pp.
43. Nelson, J.S. (1994).Fishes of the world.3ªed. John Wiley &Sons. U.S.A. 416p.
44. Nikolsky, G.V. (1963). The ecology of fishes. Academic Press. London. 352p.

45. Olney, J.E. (1983). Eggs and early larvae of the bay anchovy *Anchoa mitchilli*, and the weakfish, *Cynoscion regalis*, in Tower Chesapeake Bay with notes on associated ichthyoplankton. *Estuaries*. 6 (1):20-35pp.
46. Peebles, E.B.; May, J.R.; Tolley, S.G. (1996) Egg production by the bay anchovy *Anchoa mitchilli* in relation to adult and larval preyfields. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 131(1-3):61-73pp.
47. Pivnička y Černý (1990). El gran libro de los peces. Especies de todo el mundo. Susaeta. España.
48. Reis R.R., Dean J.M. (1981). Temporal variation in the utilization of an intertidal creek by the bay anchovy (*Anchoa mitchilli*). *Estuaries* 4:16-23.
49. Robinette, H.R. (1983). Species Profiles: Life histories and environmental requirements of coastal fishes and invertebrates. (Bay anchovy and striped anchovy) U.S. Fishes Wildl. Serv. Biol. Rev. FWS/OBS-82/11.14.15 pp.
50. Rodríguez, M.G. (1992). Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces. A.G.T. Editor. México.
51. Rosas, M. (1981). Biología acuática y piscicultura en México. Dirección General de Ciencia y Tecnología del Mar. S.E.P. México.
52. Sheridan, P.F. (1978). Food habitats of the bay anchovy *Anchoa mitchilli*, in Apalachicola Bay, Florida. *Northeast Gulf Science*. Dauphin Island A.L. 2 (2):126-132pp.
53. Takashima, F. (1995). An atlas of fish histology. 2a.ed. Kodansha Ltd. Japan

-
54. Verdín, T. L., Gómez-Clavel, J. F., González, R. y Aloy, M. P. 1998. Alcohol amílico como aclarante en la técnica histológica. XV Coloquio de Investigación. E. N. E. P. Iztacala. Memorias
 55. Vouglitois J.J., Able W.K., Kurtz J.R., Tighe A.K. (1987). Life history and population dynamics of the bay anchovy in New Jersey. Trans. Of the Amer. Fish. Soc. 116 (2):141-153pp.
 56. Wallace, R.A.; Selman, K. (1981). Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. Amer. Zool. 21:325-343pp.
 57. Yañez, A. y Ruíz, J. (1978). Osteología de *Anchoa parva* (Meek & Hildebrand) y su discusión comparada con seis especies de la familia (Pises: Engraulidae). An. Cen. Cien. del Mar y Limnol. U.N.A.M. 5(1):7-26.
 58. Yamamoto, K.; Yamazaki, F. (1961). Rhythm of development in the oocyte of the gold-fish, *Carassius auratus*. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ. XII(2) 93-110pp.
 59. Zastrow C.E. Houde E.D., Morin L.G. (1991). Spawning, fecundity, hatch-date, frequency and young of the year growth of bay anchovy, *Anchoa mitchilli*, in mid Chesapeake Bay. Mar. Ecol. Prog. Ser. 73(2-3):161-171pp.
 60. Zavala, G.F., et.al.(1988). Egg size fluctuation of *Anchoa mitchilli*(pisces Engraulidae) as a function of salinity Términos Lagoon, Campeche, México. An. Inst. Cienc. Mar Limn. 15(2):279-281pp.

APÉNDICE I

TÉCNICA HISTOLÓGICA

DESHIDRATACIÓN

Agua corriente	1 hora
Alcohol 70 %	1 hora
Alcohol 80 %	1 hora
Alcohol 90 %	1 hora
Alcohol 96 %	1 hora
Alcohol 100 %	1 hora
Alcohol amílico	24 horas

INCLUSIÓN

Paraplast I	2 horas
Paraplast II	2 horas
Colado en bloques	

APÉNDICE II**TINCION HEMATOXILINA-EOSINA**

Xilol I	5 minutos
Xilol II	5 minutos
Alcohol 100 %	1 minuto
Alcohol 90 %	1 minuto
Alcohol 80 %	1 minuto
Alcohol 70 %	1 minuto
Agua	1 minuto
Hematoxilina	5 minutos
Agua	Paso rápido
Alcohol ácido	Paso rápido
Agua amoniacal	Paso rápido
Agua	Paso rápido
Eosina	3 minutos
Alcohol 70 %	1 minuto
Alcohol 80 %	1 minuto
Alcohol 90 %	1 minuto
Alcohol 100 %	1 minuto
Xilol I	5 minutos
Xilol II	5 minutos
Montaje	

APÉNDICE III

Forberg (1982) menciona que dentro del desarrollo de los ovocitos de los teleósteos existen dos fases de crecimiento, las cuales se dividen a su vez en varios estadios y subestadios que a continuación se mencionan:

PRIMERA FASE DE CRECIMIENTO

- *Cromatina nucleolar
- *Perinucleolar temprano
- *Perinucleolar tardío.

SEGUNDA FASE DE CRECIMIENTO

- *Alvéolos corticales o vesículas de vitelo
- *Vitellino primario
- *Vitellino secundario
- *Vitellino terciario.

El vitellino terciario está dividido a su vez en tres subestadios:

- *Núcleo migrado
- *Premaduración
- *Huevo maduro.