

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLÓGIA PESQUERA



**BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE *Ethmidium maculatum* “machete”
(Valenciennes, 1847) PROVENIENTE DE LA REGIÓN LA LIBERTAD, DE
MAYO 2017 A ABRIL 2018.**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO PESQUERO

AUTOR: Br. MARIA SOLEDAD NUREÑA MUÑOZ

ASESORA: Dra. ZOILA GLADIS CULQUICHICÓN MALPICA

COASESOR: Blgo. JACINTO PAREDES PAREDES

TRUJILLO – PERÚ

2018

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

Dr. ORLANDO MOISÉS GONZÁLES NIEVES

RECTOR

Dr. RUBÉN CÉSAR VERA VÉLIZ

VICERRECTOR ACADÉMICO



Dr. WEYDER PORTOCARRERO CÁRDENAS

VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN

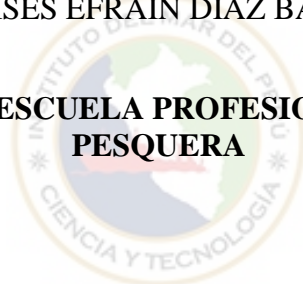
AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Dr. FREDDY ROGGER MEJÍA COICO

DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Dr. MOISÉS EFRAÍN DÍAZ BARBOZA

**DIRECTOR DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA
PESQUERA**



Dra. ALINA MABEL ZAFRA TRELLES

DIRECTORA DEL DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE PESQUERÍA

JURADO DICTAMINADOR

Dr. LUIS ANGELO LUJAN BULNES

PRESIDENTE

Mg. NELSON GUSTAVO YWANAGA REH

SECRETARIO

Dra. ZOILA GLADIS CUQUICHICÓN MALPICA

VOCAL

DEL ASESOR

El que suscribe, Dra. Zoila Gladis Culquichicón Malpica asesora de la Tesis: **BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE *Ethmidium maculatum* “machete”** (Valenciennes, 1847) PROVENIENTE DE LA REGIÓN LA LIBERTAD, DE MAYO 2017 A ABRIL 2018.

Certifica:

Que la tesis ha sido desarrollada en conformidad con los objetivos propuestos la cual ha sido revisada y acoge las observaciones y sugerencias alcanzadas. Por lo tanto, autorizo al Br. Maria Soledad Nureña Muñoz, continuar con el trámite correspondiente.



Dra. ZOILA GLADIS CULQUICHICÓN MALPICA

ASESORA

PRESENTACIÓN

Señores miembros del jurado:

En cumplimiento con las disposiciones vigentes de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo someto a vuestra consideración para que se evalué el informe de tesis **BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE *Ethmidium maculatum* “machete”** (Valenciennes, 1847) **PROVENIENTE DE LA REGIÓN LA LIBERTAD, DE MAYO 2017 A ABRIL 2018**, siendo uno de los requisitos indispensables para optar el título de Biólogo Pesquero.



Trujillo, julio del 2018

DEDICATORIA

- * *A Dios por haberme permitido llegar hasta este momento y poder concluir con los objetivos planteados en mi vida.*

- * *A mi madre Martha por ser el principal motor en mi vida, por sus sabios consejos, su paciencia, su inmenso amor que logro formar la persona que soy hoy en día y que desde donde este siempre será mi mayor fuente de inspiración y fortaleza.*

- * *A mi padre Alcides por darme su amor, apoyo incondicional en todo momento, consejos valiosos y sobretodo que siempre está ahí para mí cuando más lo necesito.*

- * *A mi hermano Diego por ser mi compañía, estar siempre en los buenos y malos momentos, darme fuerza para vencer los obstáculos y sacarme una sonrisa todos los días.*



AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi padre Alcides y a mi hermano Diego por brindarme su apoyo, confianza, por la valoración oportuna a mi esfuerzo y respaldo en este proyecto de vida.

Así mismo, de manera muy especial a mí asesora la Dra. Zoila Culquichicon Malpica, al Blgo. Jacinto Paredes Paredes y la Ms.C Blga. Betsy Buitrón Días quienes me facilitaron los medios necesarios y adecuados para el desarrollo de esta tesis, por su capacidad para guiar mis ideas, su aporte invaluable en mi formación como investigador y culminación del presente trabajo de investigación.

Finalmente, al Blgo. Pesq. José David Flores León por sus consejos y su apoyo en todo momento.



INDICE

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO	ii
AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS	iii
JURADO DICTAMINADOR	iv
DEL ASESOR	v
PRESENTACIÓN	vi
DEDICATORIA	vii
AGRADECIMIENTO	viii
INDICE.....	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT.....	xi
INTRODUCCIÓN	1
MATERIAL Y MÉTODOS.....	6
RESULTADOS	19
DISCUSIÓN	43
CONCLUSIONES	48
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
ANEXOS	55

RESUMEN

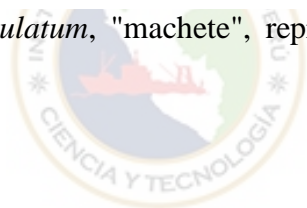
Se estudió la biología reproductiva de *Ethmidium maculatum* “machete” proveniente de la región La Libertad de mayo a abril 2018. La muestra estuvo conformada por 471 ejemplares los cuales se obtuvieron de la pesca artesanal de los puertos de Pacasmayo, Puerto Morín y Salaverry. Se determinó el índice gonadosomático, actividad reproductiva, frecuencia desovante, así como también la fecundidad y se elaboró una escala de madurez gonadal. Mediante el método de infiltración se observó microscópicamente células sexuales en machos y hembras. Los picos más altos de desove se mostraron en los meses de marzo y abril (otoño) en ambos sexos. La actividad reproductiva y frecuencia de desove se presentó con valores más altos en las épocas de verano y otoño. Para la fecundidad el parámetro que se ajustó mejor fue el peso corporal del pez con un $r = 0.57$. Se observaron a lo largo de la gónada diferentes tipos de células sexuales, en hembras se determinaron cinco tipos de células: inmaduro, pre-vitelogenados, vitelogenados, maduro e hidratados mientras que en machos tres tipos espermatogonios, espermatocitos y espermatozoidez. La escala de madurez gonadal se determinó macroscópicamente y validada microscópicamente, se estableció cinco fases para ambos sexos, la fase de recuperación (V) para hembras y virginal (0) para machos estuvieron ausentes. Concluyendo que el “machete” es un desovador parcial, presentando un mayor desove en otoño.

Palabras claves: *Ethmidium maculatum*, “machete”, biología reproductiva, fecundidad, índice gonadosomático.

ABSTRACT

The reproductive biology of *Ethmidium maculatum* "machete" from the La Libertad region of May 2018 was studied. The sample consisted of 471 specimens obtained from artisanal fisheries in the ports of Pacasmayo, Puerto Morín and Salaverry. The gonadosomatic index, reproductive activity, spawning frequency, as well as fecundity were determined and a gonadal maturity scale was elaborated. Through the infiltration method, sex cells are seen microscopically in males and females. The highest spawning peaks are shown in the months of March and April (autumn) in both sexes. Reproductive activity and frequency of desire are presented with higher values in the summer and autumn seasons. For fecundity, the parameter that was best adjusted was the body weight of the fish with $r = 0.57$. Different types of sex cells were observed along the gonadota, in females five types of cells were determined: immature, pre-vitelogenated, vitelogenated, mature and hydrated while in males three spermatographic types, spermatocytes and sperm. The gonadal maturity scale was determined macroscopically and microscopically validated, five phases were established for both sexes, the recovery phase (V) for females and virgin (0) for males and the absent ones. Concluding that the "machete" is a partial spawner, presenting a mayor spawning in autumn.

Keywords: *Ethmidium maculatum*, "machete", reproductive biology, fecundity, gonasomatic index



INTRODUCCIÓN

La diversidad biológica marina es la variedad de formas de vida y de adaptaciones de los organismos al ambiente marino. La biodiversidad marina del Perú incluye los ecosistemas de afloramiento, las áreas marinas someras de la costa peruana y el ecosistema de manglar del norte del Perú (Tarazona et al., 2003).

Actualmente en el Perú se vienen realizando una serie de investigaciones que contribuyen substancialmente a conocer el estado actual del recurso íctico (Tello et al., 1992).

Los recursos pesqueros, aunque renovables, no son infinitos y es necesario explotarlos de manera apropiada para que su contribución al bienestar nutricional, económico y social de los países que los aprovechan, no decaiga (Cotero et al., 2015).

La Biología Reproductiva es la ciencia que estudia todos los parámetros reproductivos, además, de la validación de las escalas de madurez gonadal en peces e invertebrados marinos (IMARPE, 2009). Así mismo, es fundamental para comprender la dinámica de una población y, por lo tanto, para el manejo del recurso pesquero, ya que proporciona datos importantes para establecer la gestión de la pesquería (Pola y Padilla, 2012).

Vazzoler (1996) define que las estrategias reproductivas son el conjunto de características que una especie acuática ha desarrollado para tener éxito en la reproducción.

Tresierra et al. (2002) indica que los cambios que se dan durante el desarrollo de las gónadas son de gran importancia debido a que brindan amplia información de la biología general de la población de una especie, por eso es necesario establecer el desarrollo gonadal para cada especie; ya que las características reproductivas varían de una especie a otra (Bazzoli, 2003).

Saborido (2004) considera que es de amplio reconocimiento que los primeros estadios vitales como huevos, larvas y etapas tempranas de juveniles son críticos para las fluctuaciones en la abundancia de las poblaciones de peces explotadas. En los últimos años una nueva visión sobre la importancia de la fecundidad, calidad de los huevos/larvas, estados de condición, bioenergética y reclutamiento.

Kaczuba et al. (2006) menciona que conocer las características de las etapas reproductivas, principalmente en lo que respecta al tipo y época de desove, la fecundidad y los aspectos anatómicos e histológicos del desarrollo gonadal de las especies de importancia económica puede ser una herramienta útil para evaluar el éxito reproductivo bajo tales condiciones.

Por otro lado, el Índice Gonadosomático (IGS), además de ser útil como una medida del grado de madurez del ovario, también sirve como indicador de las fluctuaciones estacionales del ciclo reproductivo. El análisis detallado del IGS a través del tiempo, complementado con estudios de la evolución del diámetro de los oocitos, permiten obtener valiosa información sobre las épocas de desove de los peces (Gupta, 1975).

Tresierra y Culquichicón (1993) menciona que el análisis histológico de gónadas de organismos acuáticos es actualmente técnica útil para validar las escalas de madurez sexual, así como para estudiar los cambios estructurales de los ovarios y de los testículos, ya que en un muestreo biológico se puede encontrar una mayor proporción de machos que hembras, y en base a la estructura interna del tubo seminífero de los testículos podemos deducir lo que sucede estructuralmente con el ovario de la hembra.

Whitehead (1985) indica que *Ethmidium maculatum* “machete” es uno de los recursos que sustenta la pesquería artesanal en la Región La Libertad. Esta especie pertenece a la familia Clupeidae, y recibe otros nombres comunes como “machetillo” y “machuelo”. Se distribuye desde Puerto Pizarro en Perú, hasta Antofagasta en Chile; habita aguas costeras, formando grandes cardúmenes.

Al machete se le encuentra a lo largo de todo el litoral y los centros pesqueros de mayor desembarque están comprendidos entre Chimbote y Pisco con mayores

volúmenes entre enero y octubre. Casi siempre se encuentra próximo a la costa, sobretodo en bahías (Mejía, 1970).

Por otro lado, León (2011) indica que el machete es un pez pelágico nerítico que habita en la superficie del mar entre 0 y 70 m, próximos a la costa en aguas templadas y templadas frías. Presenta hábitos alimenticios planctónicos filtradores tanto de zoo como fitoplancton (Copépodos, Diatomeas). Además, se alimenta de pequeños peces y crustáceos.

Cahuana (1995) reporta que en las zonas de Callao e Ilo la proporción sexual de *E. maculatum* fue de 1:1 y 1:2 a favor de las hembras y la longitud media a la cual el 50% de individuos alcanzan su primera madurez sexual fueron de 19,1 y 20,2 cm, siendo su primer desove a los 24,8 y 25,0 cm y su longitud media de madurez gonadal a los 24,1 y 24,9 cm respectivamente en ambas zonas.

En el 2006 y 2007, el análisis del IGS, sugiere que el machete evidenció actividad reproductiva en otoño, aunque con variaciones en los máximos valores del IGS en abril 2006 y mayo 2007. En primavera se aprecia un comportamiento similar para ambos años (IMARPE, 2008).

Esta investigación tiene como objetivo general conocer los aspectos de la biología reproductiva del “machete” y objetivos específicos como los índices reproductivos: índice gonadosomático (IGS), actividad reproductiva (AR) y fracción desovante

(FD); fecundidad y elaborar una escala de madurez gonadal validada histológicamente.



MATERIAL Y MÉTODOS

La muestra biológica de *E. maculatum* “machete” se obtuvo de los desembarques procedentes de la pesca artesanal de los puertos de Pacasmayo, Puerto Morín y Salaverry entre los meses de mayo 2017 a abril 2018 la cual estuvo constituida por 471 ejemplares (Figura 1).

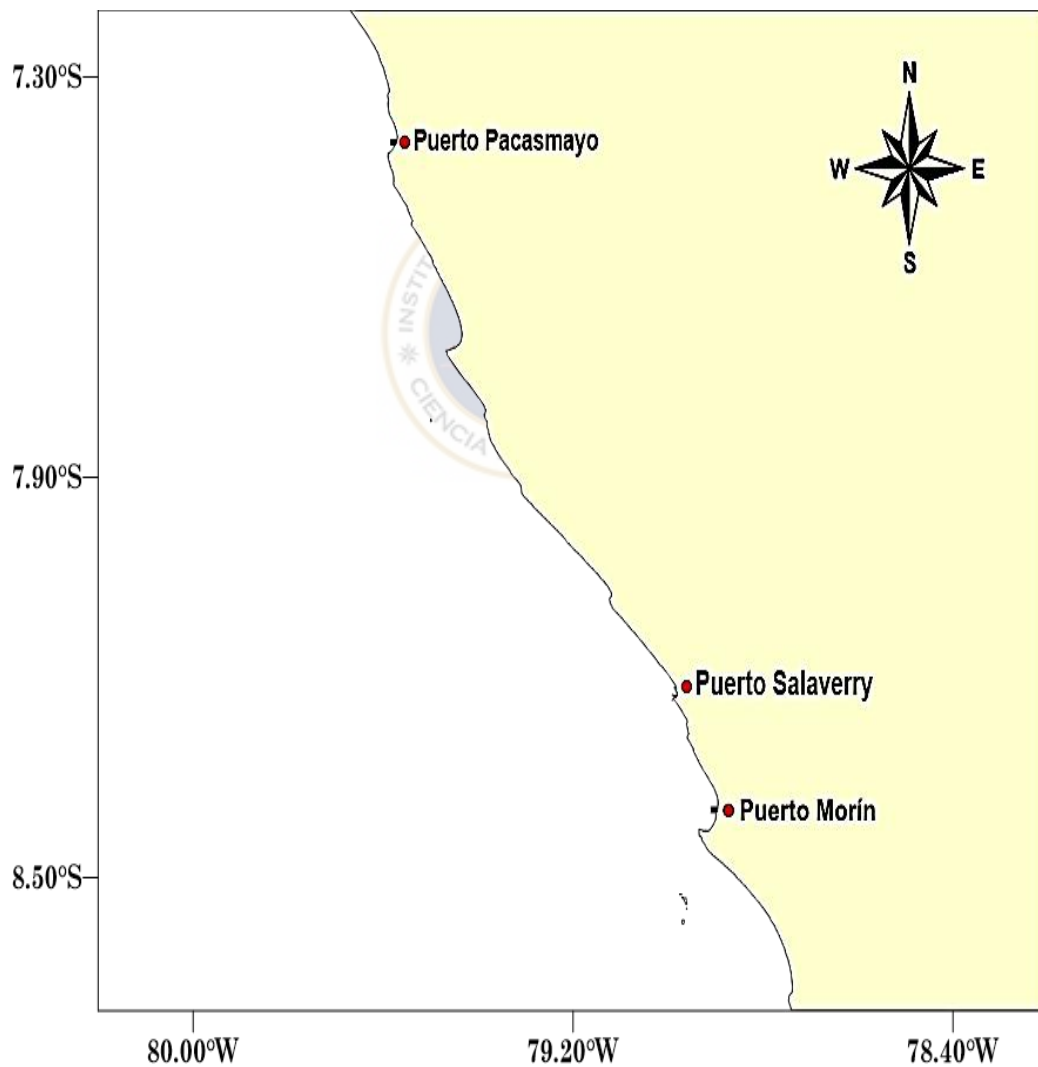


Figura 1.- Ubicación geográfica de la zona de la recolección de muestra (●).

La muestra fue trasladada al Laboratorio Costero de IMARPE – Huanchaco, donde se realizó el muestreo biométrico, para lo cual con la ayuda de un ictiómetro (Figura 2) de 60cm con un 1 cm de amplitud se colocó en estratos por rango de talla. En el desarrollo del análisis biológico se tomó 10 ejemplares por rango de talla, donde se tomaron datos de peso total, eviscerado y peso de gónadas en gramos.



Figura 2.- Toma de la longitud total con el ictiómetro.

Las gónadas fueron fotografiadas con una Cámara Fotográfica Panasonic DMC – FH8 con su respectiva etiqueta de papel canson, en la cual se registró datos como: nombre de la especie, fecha de muestreo, número de serie y lugar del cual proviene; las cuales fueron utilizadas para calcular índices reproductivos y la elaboración de la escala de madurez gonadal. Las muestras se preservaron individualmente en bolsas plásticas con formol bufferado al 10% cubriendo completamente la gónada para una buena fijación.

ÍNDICES REPRODUCTIVOS

Índice Gonadosomático

El índice gonadosomático se determinó usando la ecuación descrita por (Vazzoler, 1996).

$$\text{IGS} = (\text{Pg/Pt}) * 100$$

Donde:

Pg = peso de la gónada (g)

Pe = peso total (g)

Fracción Desovante

Para determinar la fracción desovante (FD) se hizo la lectura de los cortes histológicos de gónadas de hembras (ovarios) para identificar la presencia de estructuras celulares llamadas Folículos Post-ovulatorios (FPO) y ovocitos hidratados las cuales evidencian el desove y se determinará mediante la siguiente formula (Buitrón, 2011).

$$\text{FD} = (\text{HIV/Ha}) * 100$$

Donde:

HIV = Ovarios con folículos post-ovulatorios (FPO) y/u ovocitos hidratados.

Ha = Hembras adultas.

Actividad reproductiva

La actividad reproductiva se determinó mediante el número de hembras con ovocitos maduros hidratados y/o folículos post-ovulatorios (FPO) en relación al número de hembras analizadas mediante la fórmula (Buitrón, 2011).

$$AR = ((HIII + HIV) / Ha) * 100$$

Donde:

HIII = Ovarios con ovocitos maduros.

HIV = Ovarios con folículos post-ovulatorios y/u ovocitos hidratados.

Ha = Hembras adultas.

FECUNDIDAD

Para la determinación de la fecundidad se utilizó doce ovarios hidratados próximos al desove que se caracterizaron por presentar un mayor tamaño y una coloración anaranjada, se empleó el método gravimétrico, para lo cual con un paño absorbente se retiró el exceso de formol de la gónada y se pesó en una balanza analítica Kern 0,01 g de sensibilidad. Luego se tomó 0.1 por cada submuestra ovárica de la parte distal, central y posterior (Figura 31) de ambos ovarios de la gónada (Peña, 1986), la cual fue pesada en una balanza analítica Kern de sensibilidad 0,0001g. La submuestra se extrapoló al peso total de la gónada, con el fin de no subestimar la fecundidad (Laevastú, 1971). Una vez extraída la submuestra las gónadas fueron nuevamente colocadas individualmente en bolsas plásticas con formol bufferado al 10% para su conservación.

Asimismo, la submuestra fue extendida en una lámina porta objetos y se le agregó una gota de glicerina para facilitar la separación de los ovocitos. Se contó con un contómetro de mano marca Kp y se midió el número de óvulos teniendo en cuenta el color, forma y diámetro con la ayuda de un estereoscopio con ocular micrométrico a un aumento de 4x tomando en cuenta las características de color, forma y diámetro (μm) de los óvulos. Los datos obtenidos fueron convertidos a micrómetros (mm) con un factor de 39.8082 mm.

Para su cálculo se utilizó la siguiente fórmula (Laevastú, 1971).

$$F = \frac{Po * n}{Pm}$$

Donde:

Po: Peso del ovario (g).

Pm: Peso de la muestra (g).

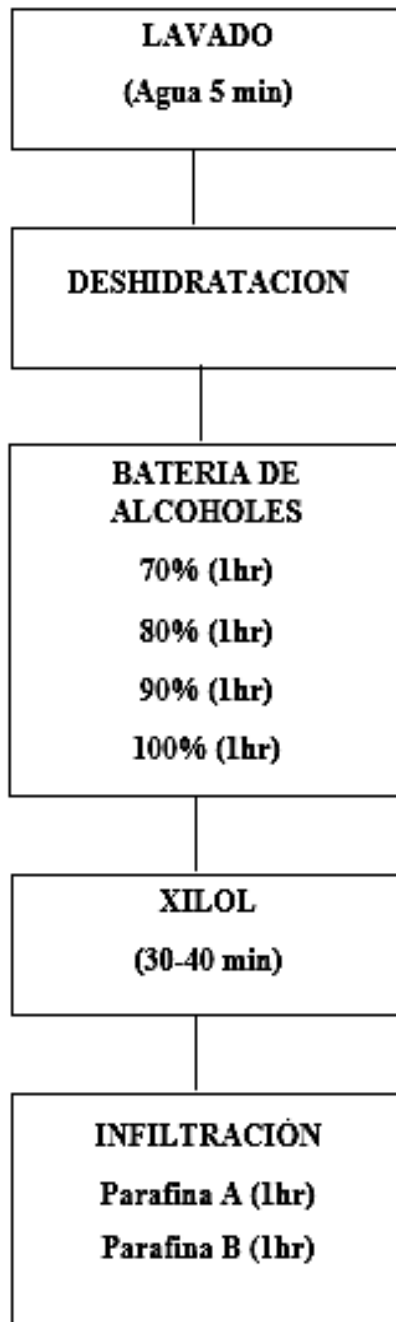
n: Número de ovocitos.

Para la elaboración de la escala de madurez gonadal se efectuó mediante una escala empírica tomando en cuenta características como: apariencia general, tamaño relativo con la cavidad ventral, forma, color, textura, presencia o ausencia de capilares sanguíneos (vascularización) y pigmentos. Asimismo, para la elaboración de la escala histológica se consideró características como: cambios estructurales en los ovarios y de testículos (Cota, 2012).

ANÁLISIS HISTOLÓGICO DE LAS GÓNADAS

El proceso histológico de las muestras se realizó con el método de infiltración en parafina como indica Humason (1979) y Buitrón et al. (2011). Posteriormente, se cortó una sección central de uno de los ovarios ($0,5\text{cm}^3$) colocándola en un cassette plástico (porta muestra) con una etiqueta de papel canson. Las portas muestras fueron colocadas en una canastilla metálica del procesador automático de tejidos marca Leica modelo TP1020 y pasaron por una batería de reactivos (alcohol a diferentes concentraciones de menor a mayor, xilol y parafina), cuyo tiempo dependió del estado de madurez de la gónada (Flujograma 1), ya que de acuerdo al tamaño y textura de la misma va a variar y los tiempos en xilol pueden ser modificados (en alcohol y parafina el tiempo será de 1 hora en cada estación) (Figura 3).





Flujograma 1. - Proceso de infiltración en parafina



Figura 3.- Procesamiento de la muestra de *Ethmidium maculatum* “machete” (Deshidratación e Infiltración en parafina) en el procesador de tejidos.

Se retiraron las muestras del baño en parafina líquida y se colocaron en un molde de goma, el cual se completó con parafina líquida hasta el nivel requerido, con ayuda del dispensador de parafina marca Leica modelo EG1150 (Figura 4 A). Los bloques se enfriaron en una refrigeradora marca Samsung RT22FARAD por 20 minutos, luego se sacaron del molde y manualmente se les dio forma de trapecio con una cuchilla tipo cutter del lado donde se encontraba la muestra de tejido (Figura 4 B). Posteriormente se procedió a eliminar el exceso de parafina (desparfinado) del lado donde esculpió la forma de trapecio, cada bloque de parafina conteniendo el tejido infiltrado en el centro y con la forma de trapecio se procedió a eliminar el exceso de parafina (desparafinado). Luego, los bloques se colocaron en una plancha de enfriamiento por tiempo de 20 minutos a una temperatura de 0°C con la finalidad de evitar encogimientos en las secciones (Figura 4 C). Después se colocaron en el micrótopo marca Leica modelo RM2245, donde se cortaron secciones a 7 μm de

espesor para hembras mientras que para machos fue de 5 μm (Figura 4 D). Se recogieron las secciones con pinceles y se colocaron en un flotador de tejidos marca Leica modelo HI1210 a 37 °C y con una lámina portaobjeto 22x76 mm que contenía una película fina de albúmina se recogió las secciones (Figura 4 E). Las láminas fueron colocadas en la plancha de secado a 37 °C por 15 minutos (Figura 4 F) y posteriormente se rotularon con un lápiz punta diamante (Tresierra et al. 2002).

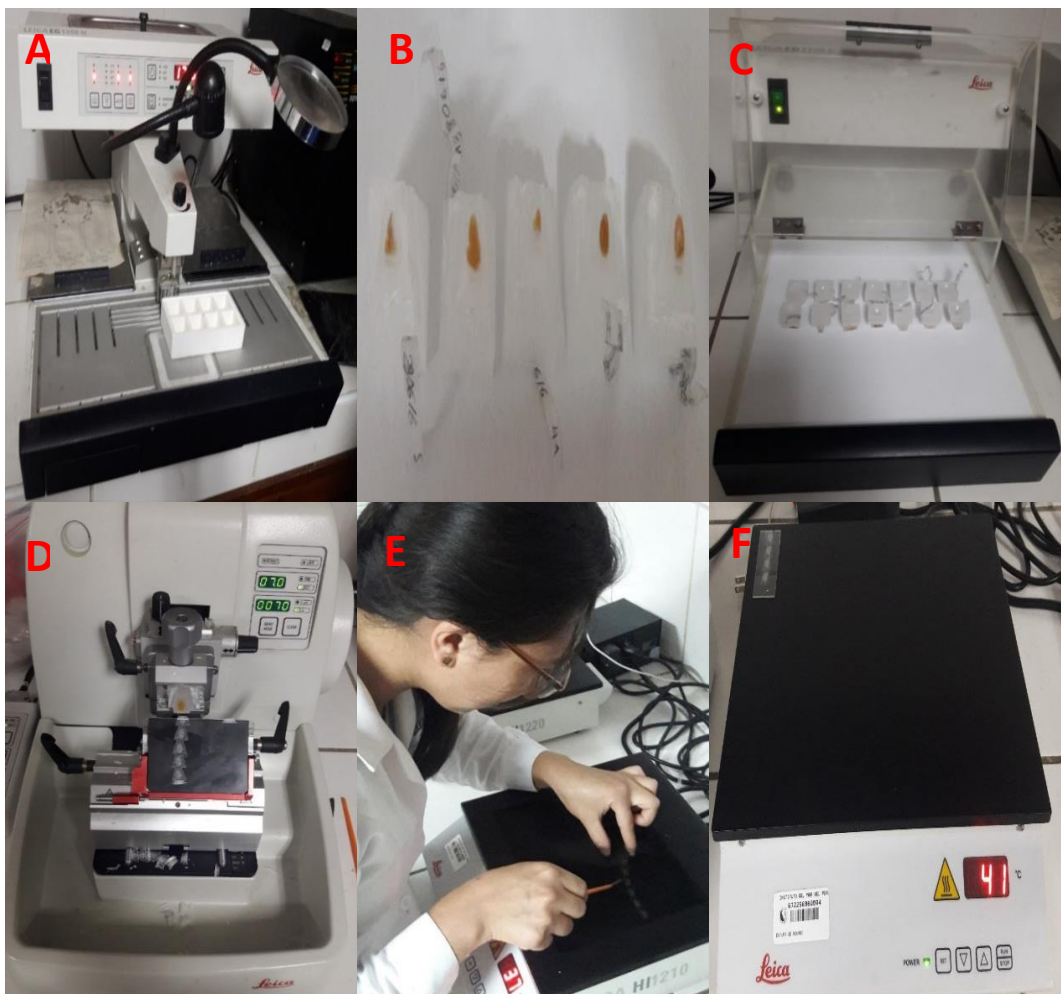


Figura 4.- Procesamiento de la muestra de *Ethmidium maculatum* “machete” desde el paso A (imbibición en parafina) hasta el paso F (secado en plancha eléctrica).

Las láminas portaobjetos fueron coloreadas en el coloador automático de tejidos marca LEICA modelo ST 5010 XL, cuyo proceso consta de tres fases que son hidratación (xilol A-5 min, xilol B-5 min, alcohol A de 100% -10 min, alcohol B de 100%-5 min, alcohol C de 100%-5 min, alcohol D de 100%-5 min, alcohol A de 90%-5 min, alcohol B de 90%-5 min, alcohol 80%-5 min, lavado A-2 min y lavado B-5 min), coloración propiamente dicha (hematoxilina-40 sg, lavado A-3 sg en agua, alcohol ácido-5 sg, lavado B-3 sg en agua, lavado C-10 min en agua, alcohol 80%-5 min y eosina-30 sg) y deshidratación (alcohol de 90%-una sumergida, alcohol A 100%-5 min, alcohol B 100%-5 min, alcohol C 100%-5 min, Xilol-10 min y estufa (37°C)-4 min) (Figura 5) (Cuadro 1).



Figura 5.- Coloración de las láminas de *Ethmidium maculatum* “machete”.

Cuadro 1.- Diagrama del proceso de coloración de las muestras de *Ethmidium maculatum* “machete”.

PASO	ESTACION	REACTIVO	TIEMPO
1	1	Xilol	5´
2	2	Xilol	5´
3	3	Alcohol (100%)	10´
4	4	Alcohol (100%)	5´
5	5	Alcohol (100%)	5´
6	6	Alcohol (100%)	5´
7	7	Alcohol (90%)	5´
8	8	Alcohol (90%)	5´
9	9	Alcohol (80%)	5´
10	1´	Lavado	2´
11	2´	Lavado	5´
12	10	Hematoxilina	40"
13	3´	Lavado	3"
14	11	Alcohol acido	5"
15	4´	Lavado	3"
16	5´	Lavado	10´
17	12	Alcohol (80%)	5´
18	13	Eosina	30"
19	14	Alcohol (90%)	2"
20	15	Alcohol (100%)	5´
21	16	Alcohol (100%)	5´
22	17	Alcohol (100%)	5´
23	18	Xilol	10´
24	19	Estufa (37°C)	4´

El montaje se realizó colocando 1 – 2 gotas del medio de montaje Entellan en las láminas para la conservación estable y almacenamiento permanente de la muestra, posteriormente fueron cubiertas con una lámina cubreobjetos evitando la formación de burbujas y se dejó secar al ambiente. Todo este proceso de montaje se realizó dentro de la campana extractora de gases marca ESCO modelo Frontier Duo (Figura 6).

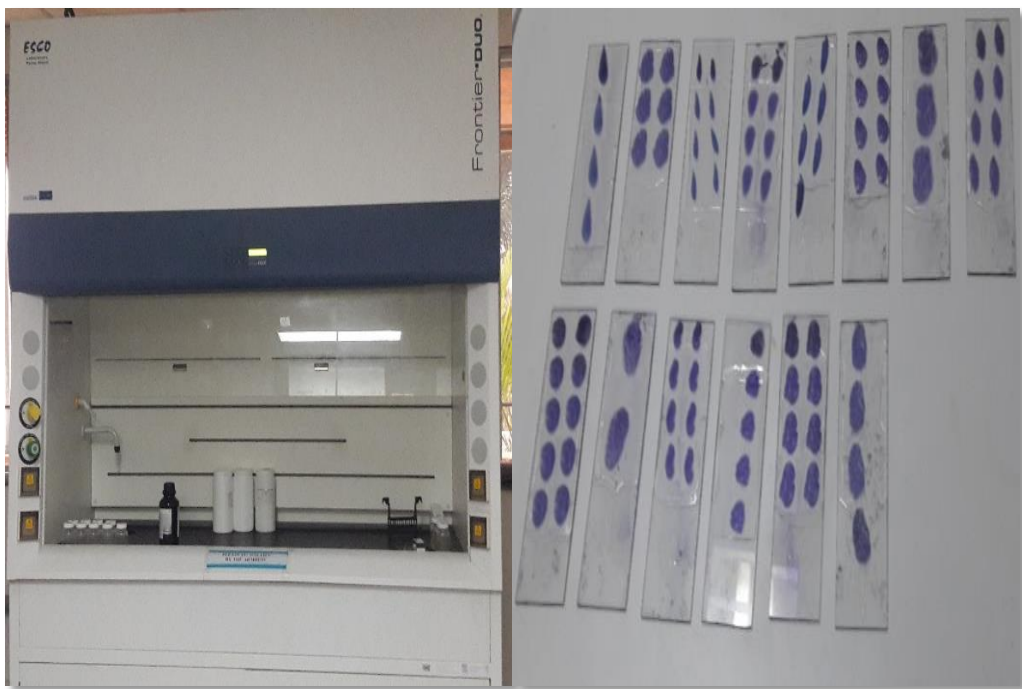


Figura 6.- Procesamiento de la muestra de *Ethmidium maculatum* “machete” (montaje de láminas).

Las láminas secas se colocaron bajo la luz de un microscopio con cámara incorporada LEICA modelo DM 2500 (Figura 7) para observar y reconocer los tipos de ovocitos y estructuras celulares que identifican cada fase de madurez: ovocitos inmaduros, ovocitos previtelogenados, ovocitos vitelogenados, ovocitos maduros,

ovocitos hidratados, ovocitos atresicos y folículos post-ovulatorios, los cuales se basan en la clasificación dada por Hunter et al. (1985).

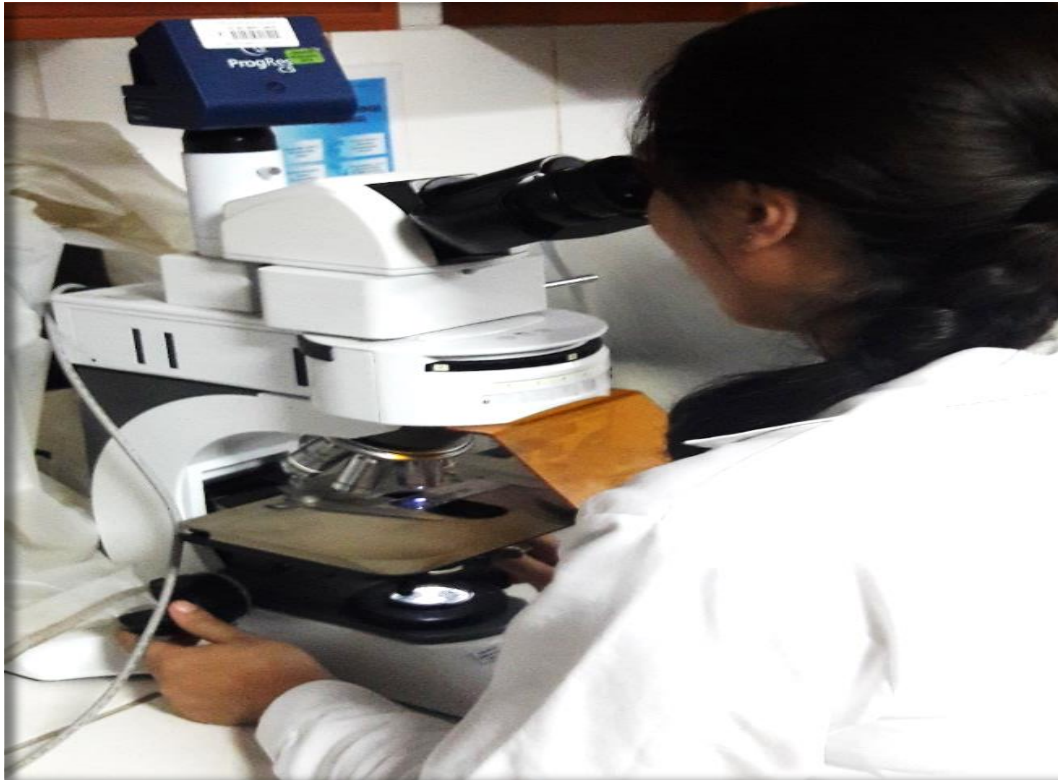


Figura 7.- Observación de los cortes histológicos y toma de fotografías.

Los criterios para la catalogación basados en la estructura gonadal de *Ethmidium maculatum* “machete” fueron: en hembras se considerara macroscópicamente el tamaño de la gónada, la coloración de la gónada, grado de llenura (turgencia), vascularización (vasos sanguíneos) y el grosor de la membrana celular; para machos macroscópicamente se tomó en cuenta la coloración de la gónada y la fluidez del semen mientras que microscópicamente se tomó en cuenta el grado de llenura del túbulo seminífero, el grado de llenado del lumen y los tipos de células reproductivas como espermatogonios, espermatocitos, y espermatozoides.

RESULTADOS

El índice gonadosomático (IGS) se mostró en promedios mensuales, donde las hembras alcanzaron sus valores más altos en los meses de marzo (7.94%) y abril (8.44%). De igual manera en machos donde en marzo fue de (7.80%) y abril (9.54%), siendo abril el pico más alto para ambos sexos, lo que indica un mayor desove en la época de otoño (Figura 8).

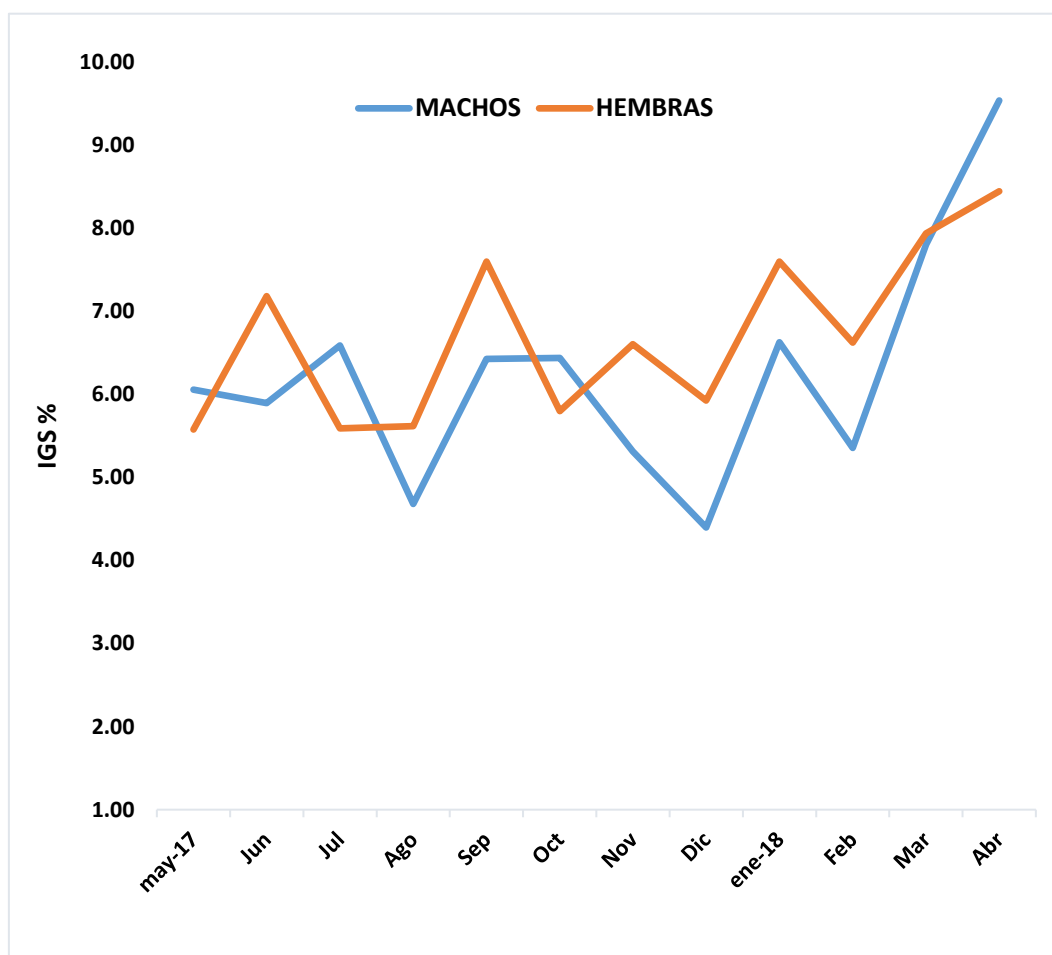


Figura 8.- Variación mensual del Índice Gonadosomático de *Ethmidium maculatum* “machete” proveniente de la región La Libertad, de mayo 2017 a abril 2018.

Los valores mensuales promedios de la temperatura superficial del mar (TSM) con relación el IGS (Figura 9 A) tuvieron una relación inversa en todo el año. De igual manera, la salinidad presento el mismo comportamiento con respecto al IGS (Figura 9 B).

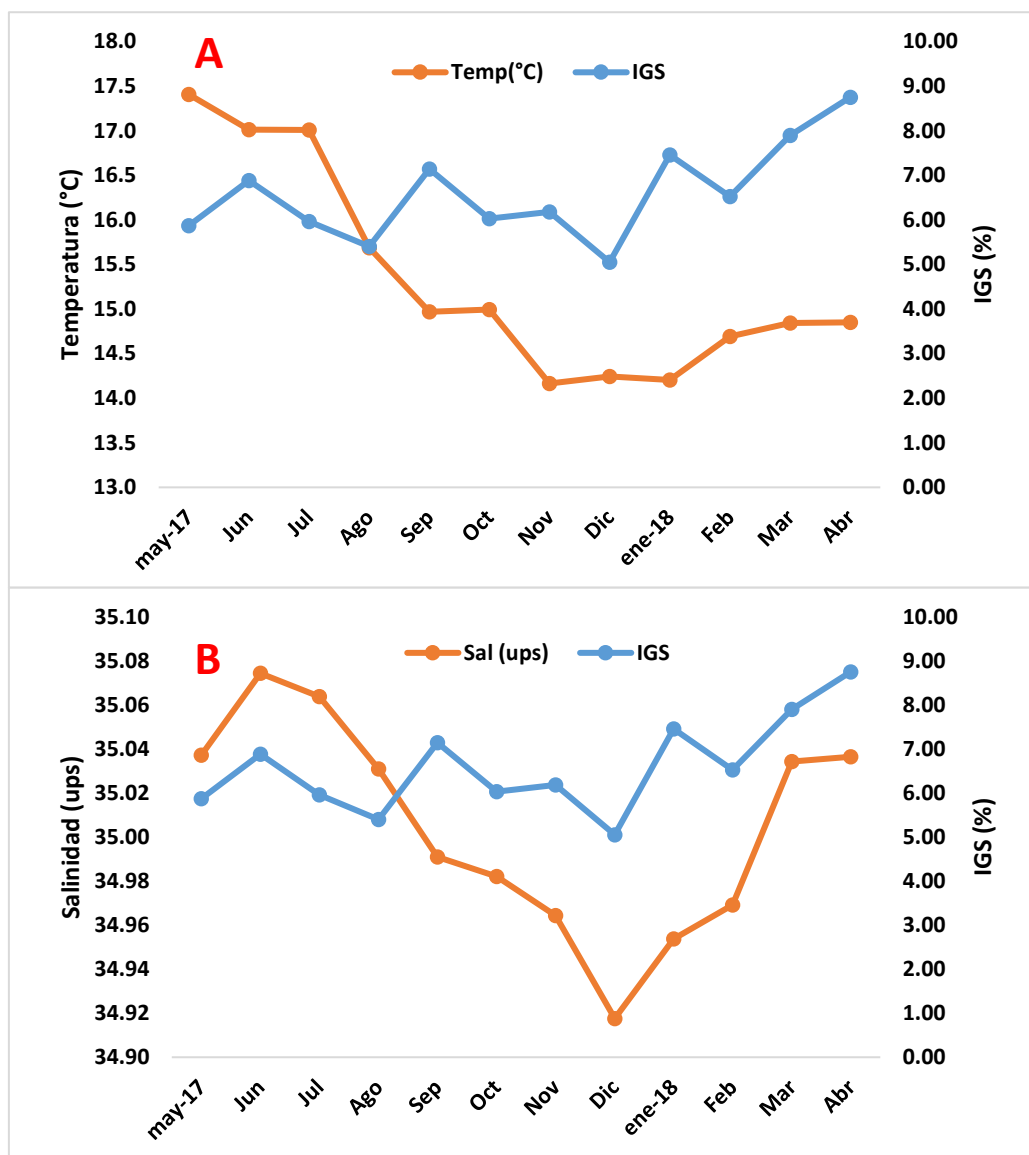


Figura 9. – Relación entre los parámetros de Temperatura (°C) y Salinidad (ups) con el Índice Gonadosomático (IGS) de *Ethmidium maculatum* “machete” proveniente de la región La Libertad, de mayo 2017 a abril 2018.

Los resultados del análisis histológico indican que la especie de *Ethmidium maculatum* muestra un periodo de maduración bien marcado estableciendo dos épocas de mayor desove, definidas por la Actividad Reproductiva (AR) y la Fracción Desovante (FD). La AR estuvo dada en los meses mayo (100%) y otro de enero a abril (100%), en el caso de la FD se dio en los meses de junio (38.5%) y otro en diciembre, enero y abril (83.3%, 59.8% y 62.5%) respectivamente (Figura 10).

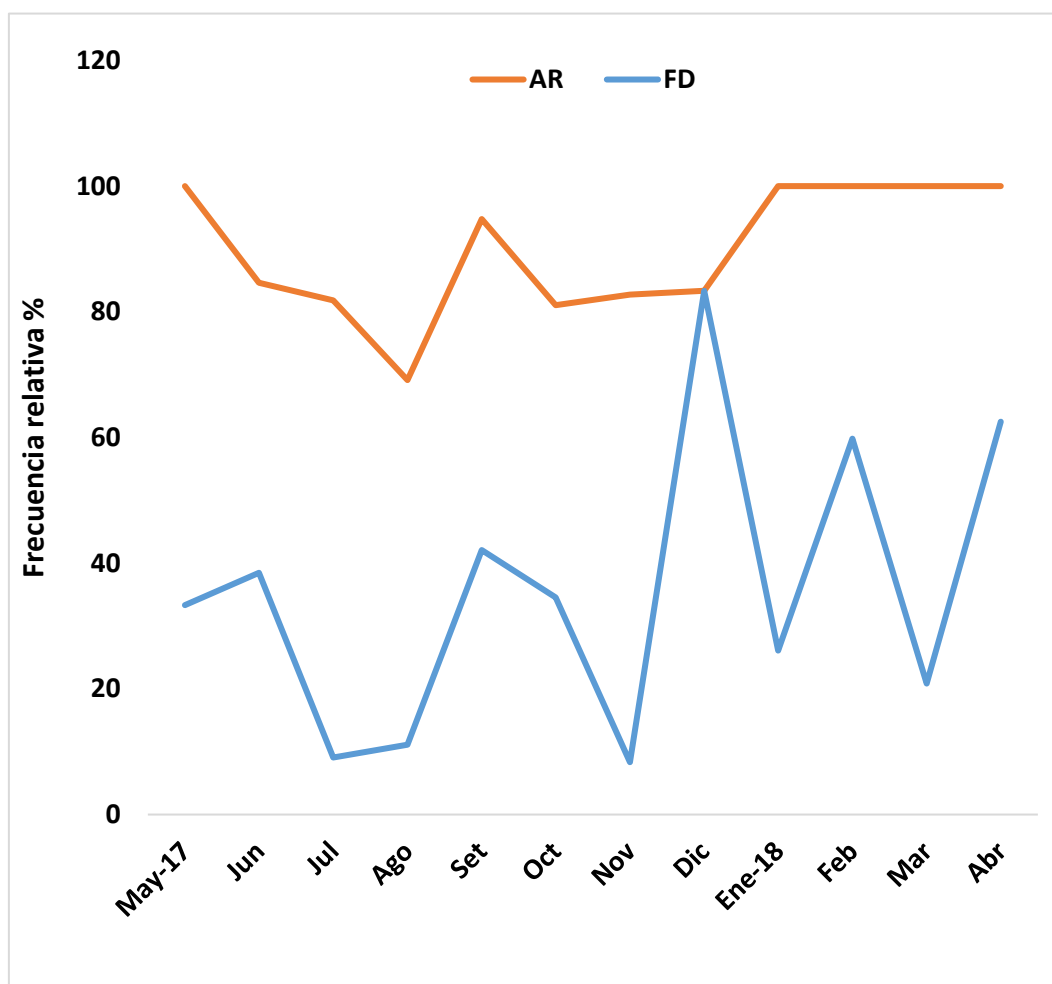


Figura 10. - Variación mensual de la Actividad Reproductiva (AR) y Fracción Desovante (FD) en hembras de *Ethmidium maculatum* “machete” proveniente de la región La Libertad, de mayo 2017 a abril 2018.

El rango del peso total del machete estuvo entre 208 y 269 g. La fecundidad parcial promedio fue de 52212 ovocitos por desove. La relación encontrada entre la fecundidad y el peso total fue de un $r = 0.57$ lo que indica la existencia de una correlación lineal positiva como se observa en el diagrama de dispersión. El valor de la pendiente indica que hay una producción de ovocitos de 591 por gramos de peso corporal. Se ignoró el valor del ejemplar de 222g debido a que se encontraba en mayor contenido de ovocitos pequeños, lo que elevó el peso de producción y se produjo un sesgo en el análisis. (Figura 11).

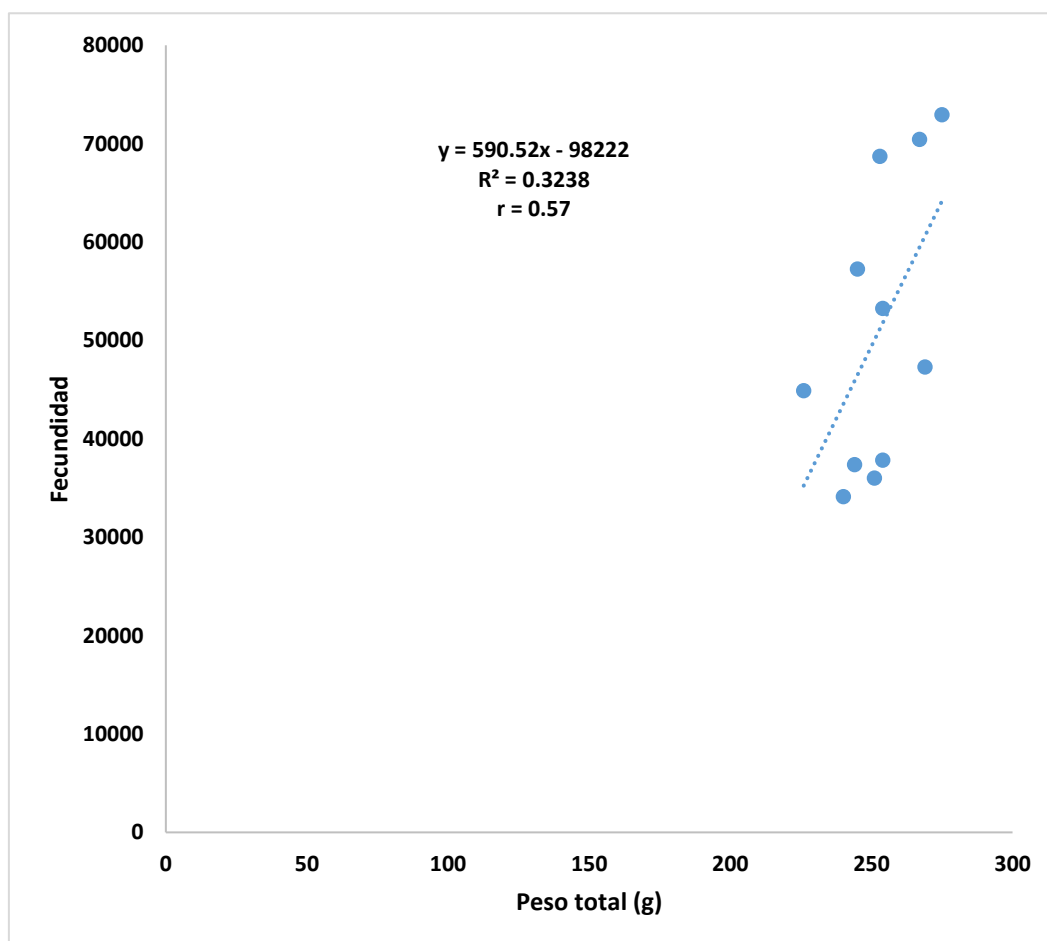


Figura 11.- Regresión lineal de fecundidad con respecto al peso total de *Ethmidium maculatum* “machete” proveniente de la región La Libertad, de mayo 2017 a abril 2018.

El rango del peso de las gónadas del machete estuvo entre 17.5 y 38.6 g. La relación encontrada entre la fecundidad y el peso de la gónada fue de un $r = 0.51$ lo que nos indica que hay una correlación lineal positiva entre estas dos variables. Se encontró que por cada gramo de peso de gónada se produce 1335 ovocitos hidratados. Se ignoró (Figura 12).

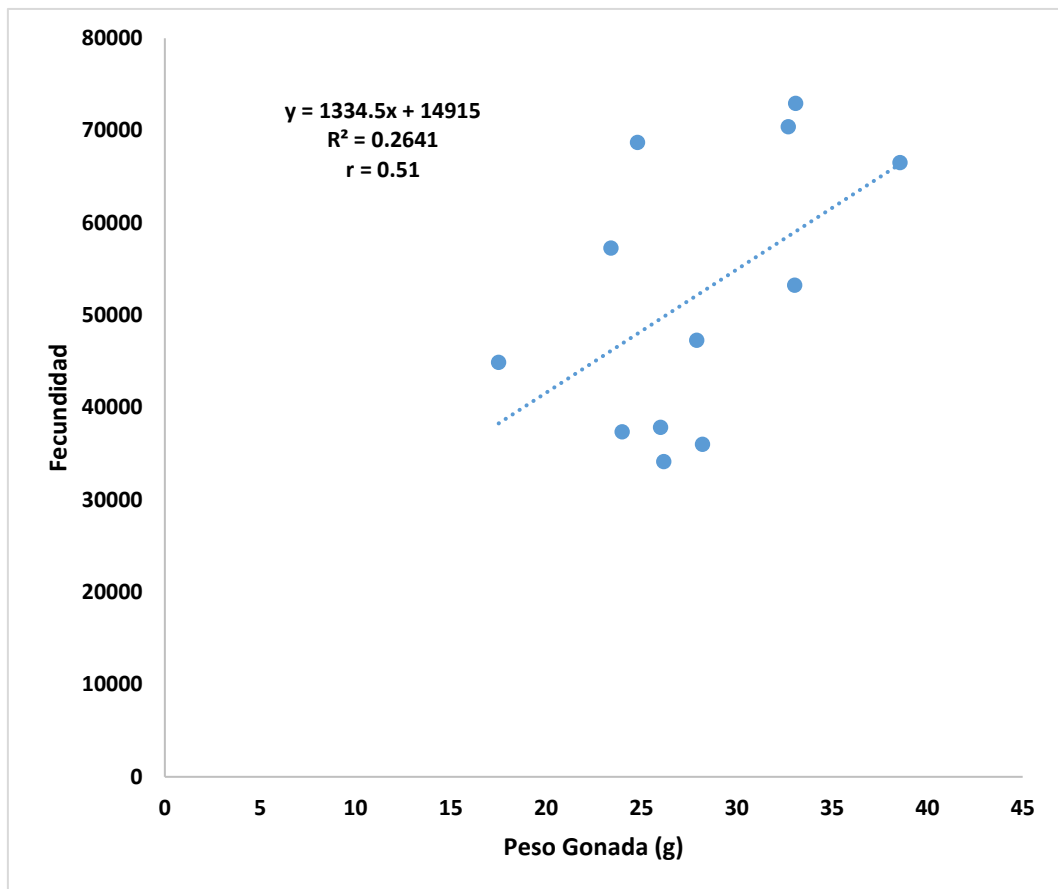


Figura 12.- Regresión lineal de fecundidad con respecto al peso de la gónada (g) de *Ethmidium maculatum* “machete” proveniente de la región La Libertad, de mayo 2017 a abril 2018.

El rango de tallas estuvo comprendido entre 26 y 28 cm. Los valores observados para el coeficiente de correlación entre la longitud total y la fecundidad indicaron que el mejor ajuste está dado por una curva lineal positiva, presentando un $r = 0.46$. Se observó que por cada centímetro en la longitud aumenta 10009 ovocitos. Se ignoró la longitud del mismo ejemplar debido a que en este caso también ocasionaba sesgo (Figura 13).

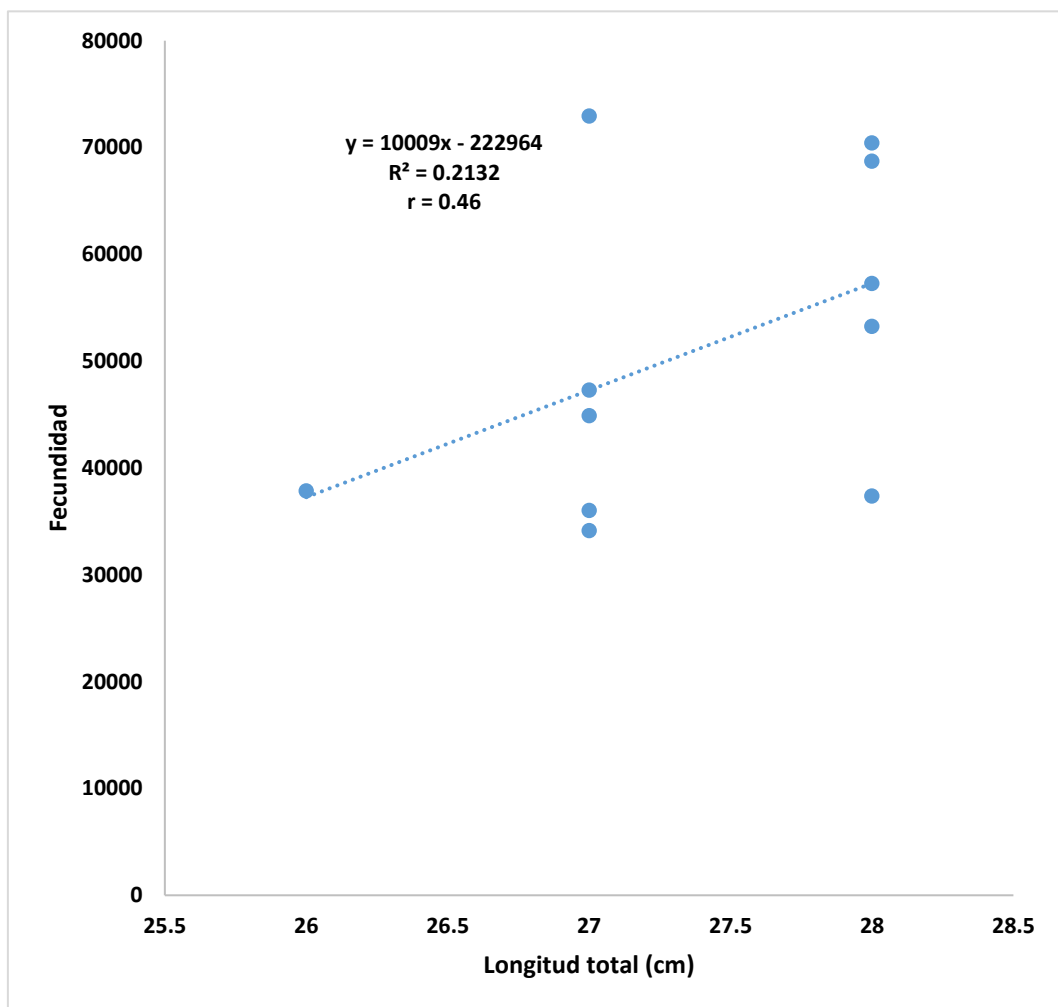


Figura 13.- Regresión lineal de fecundidad con respecto a la longitud total de *Ethmidium maculatum* “machete” proveniente de la región La Libertad, de mayo 2017 a abril 2018.

La frecuencia de diámetro de los ovocitos en los ovarios muestra diferentes grupos modales, los ovocitos se concentran en dos picos principales, uno menor de 0.08 mm que contiene 28.5 % de los ovocitos y uno mayor de 0.05 mm con el 32.9 % lo cual nos indica que el machete es un desovador parcial (Figura 14).

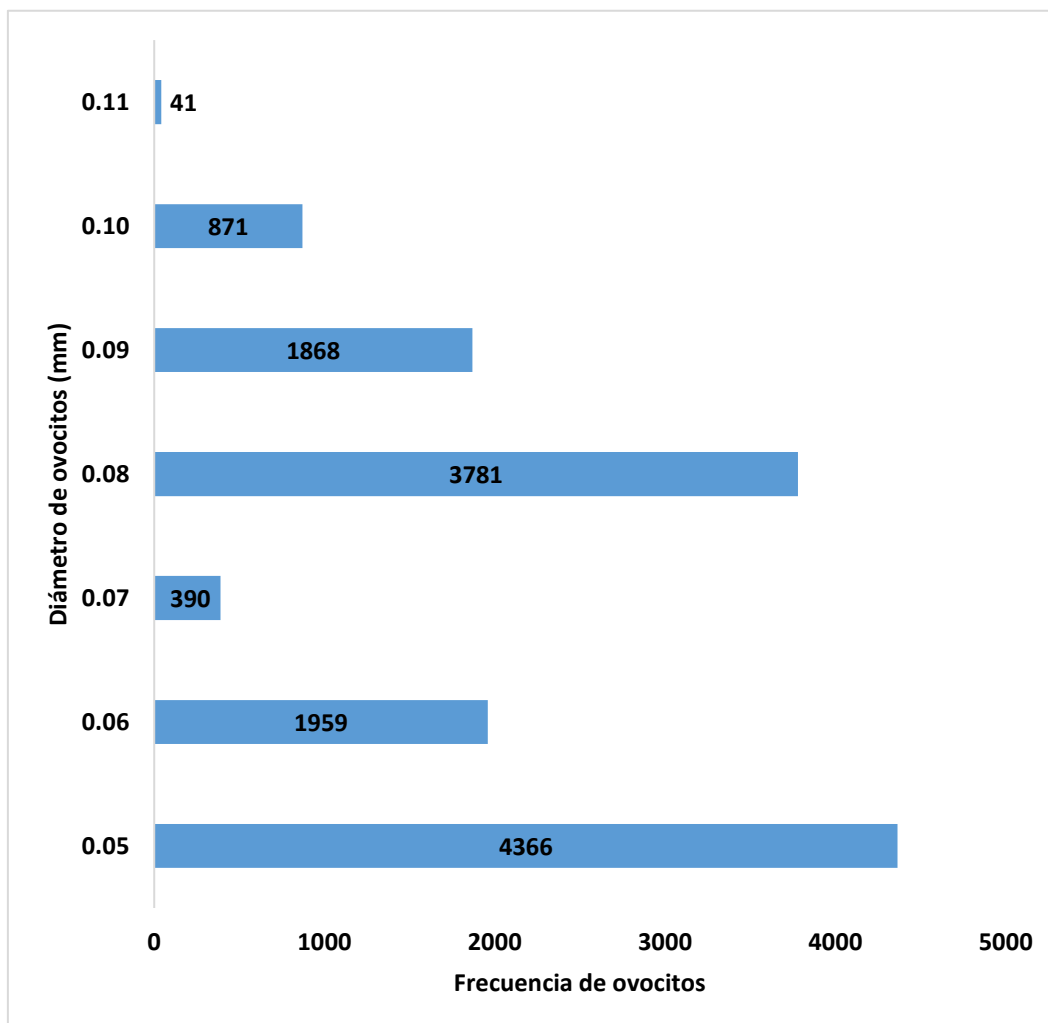


Figura 14.- Distribución de frecuencia de diámetros de ovocitos en gónadas hidratadas de *Ethmidium maculatum* “machete” proveniente de la región La Libertad, de mayo 2017 a abril 2018.

Caracterización de desarrollo de gametos

Para el proceso de identificación de cada uno de los estadios de madurez gonadal, primero se analizó las láminas histológicas en las cuales se observó diferentes tipos de células sexuales en distintos grados de desarrollo gonadal en hembras como en machos:

Principales tipos de células sexuales en hembras de *Ethmidium maculatum* “machete” proveniente de la región La Libertad, de mayo 2017 a abril 2018.

Ovocito Inmaduro (OI)

Ovocitos con un citoplasma de menor tamaño en relación al núcleo (Figura 15).

Afinidad cromática basófila.

Aumento: 100x

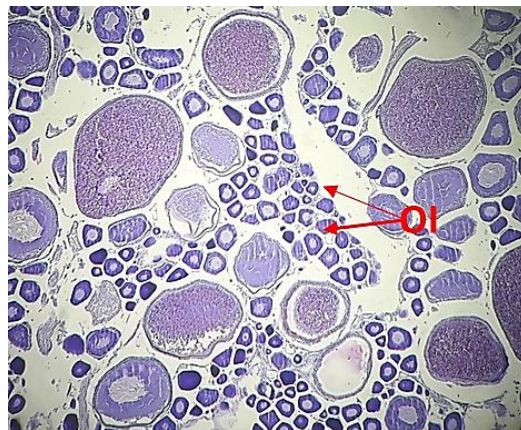


Figura 15.- Ovocito inmaduro (OI) de *Ethmidium maculatum* “machete”.

Ovocito Pre – Vitelogenado (OPV)

Ovocitos con un citoplasma con mayor tamaño en relación al núcleo (Figura 16).

Afinidad cromática basófila.

Aumento: 100x

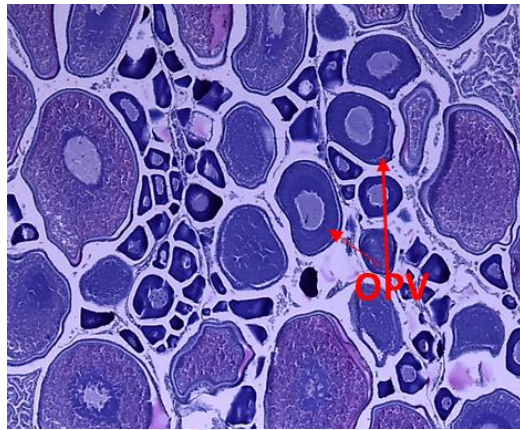


Figura 16.- Ovocito pre-vitelogenado (OPV) de *Ethmidium maculatum* “machete

Ovocito Vitelogenados (OV)

Ovocitos con un núcleo central y numerosos nucléolos (Figura 17).

La afinidad basófila disminuye.

Aumento: 100x

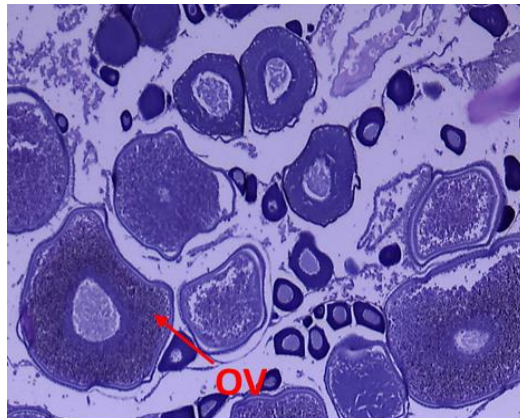


Figura 17.- Ovocito vitelogenado (OV) de *Ethmidium maculatum* “machete”.

Ovocito Maduro (OM)

Ovocitos con núcleo central y con numerosos nucléolos que ocupan totalmente el citoplasma. Las células se vuelven más eosinófilas (Figura 18).

Aumento: 100x



Figura 18.- Ovocito maduro (OM) de *Ethmidium maculatum* “machete”.

Ovocito maduro con núcleo migratorio a polo animal (fase avanzada) (Figura 19).

Aumento: 100x



Figura 19.- Ovocito maduro con núcleo migratorio (NM) de *Ethmidium maculatum* “machete”.

Ovocito Hidratado

Ovocitos incrementan su tamaño para la incorporación de agua a su citoplasma (Figura 20).

Afinidad cromática acidófila.

Aumento: 100x.

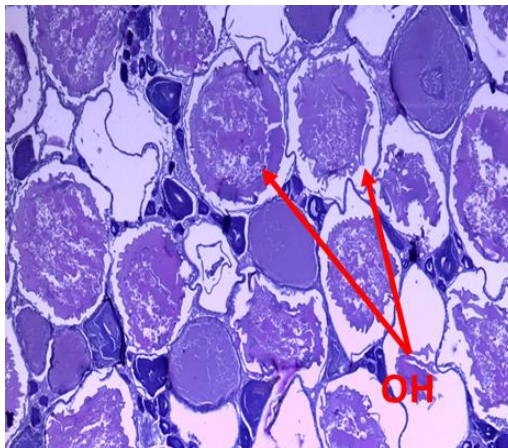


Figura 20.- Ovocito hidratado (OH) de *Ethmidium maculatum* “machete”.

Folículo Post – Ovulatorio (FPO)

Presentan un lumen y una pared conformada por granulosa. Forma irregular con muchos pliegues (Figura 21).

Aumento: 100x.

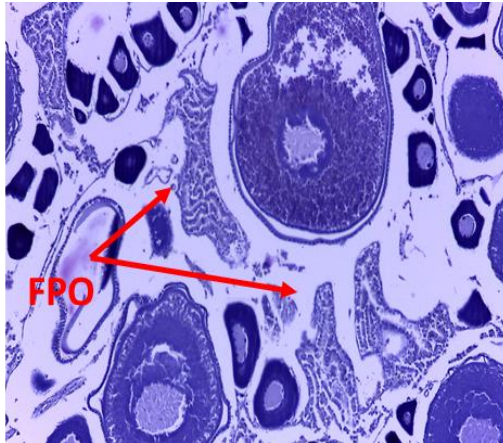


Figura 21.- Folículo Post-Ovulatorio (FPO) de *Ethmidium maculatum* “machete”.

Principales tipos de células sexuales en machos de *Ethmidium maculatum* “machete” proveniente de la región La Libertad, de mayo 2017 a abril 2018.

Espermatogonios (EG)

Células inmaduras de gran tamaño, adosadas la pared del túbulo (Figura 22).

Afinidad basófila

Aumento: 100x.

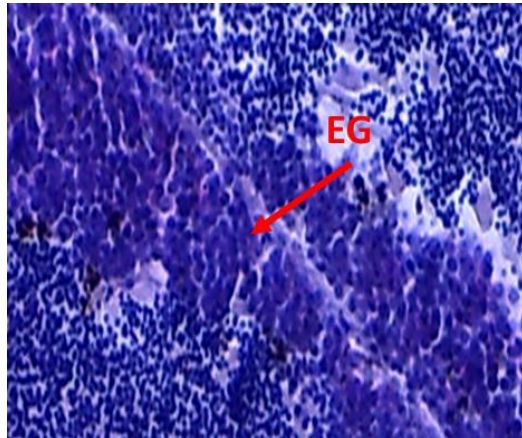


Figura 22.- Espermatogonios (EG) de *Ethmidium maculatum* “machete”.

Espermatocitos (EC)

Células que se desarrollan a partir de la maduración del espermatogonio (Figura 23).

Ligeramente basófilos.

Aumento: 100x.

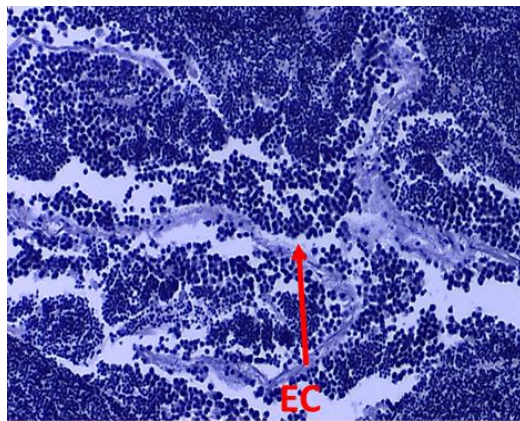


Figura 23.- Espermatocitos (EC) de *Ethmidium maculatum* “machete”.

Espermatozoides (EZ)

Células ubicadas en la luz o al centro del túbulo (Figura 24).

Afinidad cromática fuertemente acidófila.

Aumento: 100x.

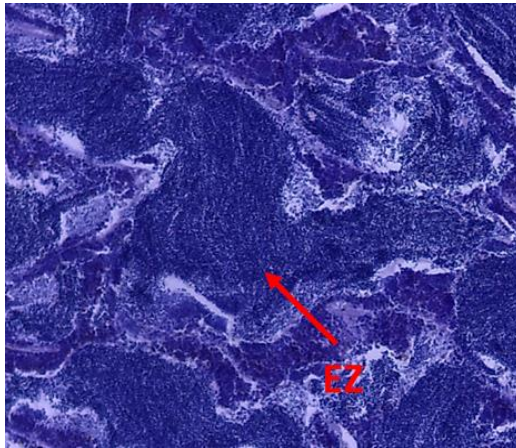


Figura 24.- Espermatozoides (EZ) de *Ethmidium maculatum* “machete”.

ESCALA DE MADUREZ GONADAL

Descripción de Estadios en hembras

De acuerdo a las características internas de las gónadas se logró determinar cinco estadios de maduración.

- **Virginal (Estadio 0)**

Características macroscópicas: Ovarios pequeños un poco transparente o con una ligera coloración que puede ser rosada o naranja claro. Los ovocitos no se visualizan a simple vista. Poseen nulo o escaso desarrollo vascular.

Características microscópicas: La pared de la gónada es delgada y también se observan la presencia de ovocitos inmaduros que están dispuestos dentro de las lamelas de manera ordenada.

- **Reposo (Estadio 1)**

Características macroscópicas: Las gónadas presentan una coloración entre naranja claro o naranja rojizo. Tienen un mayor tamaño con respecto al estadio 0 (virginal) se puede observar signos de vascularización debido al desarrollo gonadal.

Características microscópicas: La pared de la gónada es gruesa y presenta también ovocitos inmaduros, pero a diferencia del estadio 0 (virginal) estos se encuentran de manera dispersa o desordenada.

- **En maduración (Estadio 2)**

Características macroscópicas: Se observa que las gónadas tienen un color rojizo con presencia de ovocitos que se pueden observar a simple vista y los vasos sanguíneos más claramente.

Características microscópicas: Comienza la maduración gonadal donde se observa la presencia de ovocitos inmaduros, pre-vitelogenados y vitelogenados. Con una pared gonadal más gruesa.

- **Maduro (Estadio 3)**

Características macroscópicas: Las gónadas se vuelven más turgentes con una coloración naranja más intensa, los ovocitos se ven claramente a simple vista, el vaso sanguíneo principal y los secundarios se observan totalmente desarrollados.

Características microscópicas: Se observa en mayor cantidad ovocitos maduros los cuales son de mayor tamaño ya que presentan gránulos de vitelo a diferencia de los inmaduros, pre-vitelogenados y vitelogenados. Así mismo, se pueden observar ovocitos maduros con núcleo migratorio (polo animal).

- **Desovante (Estadio 4)**

Características macroscópicas: Las gónadas alcanzan su tamaño máximo, tienen una coloración naranja intensa, los ovocitos blanquecinos se ven a simple vista. Cuando las gónadas están hidratadas la pared se torna más traslúcida al igual que los ovocitos.

Características microscópicas: La mayor característica de este estadio es la presencia de ovocitos hidratados y/o folículos post ovulatorios (FPO). Además, se observa también ovocitos inmaduros, pre-vitelogenados, vitelogenados y maduros en menor número.

- **Recuperación (Estadio 5):** No se pudo observar ejemplar.

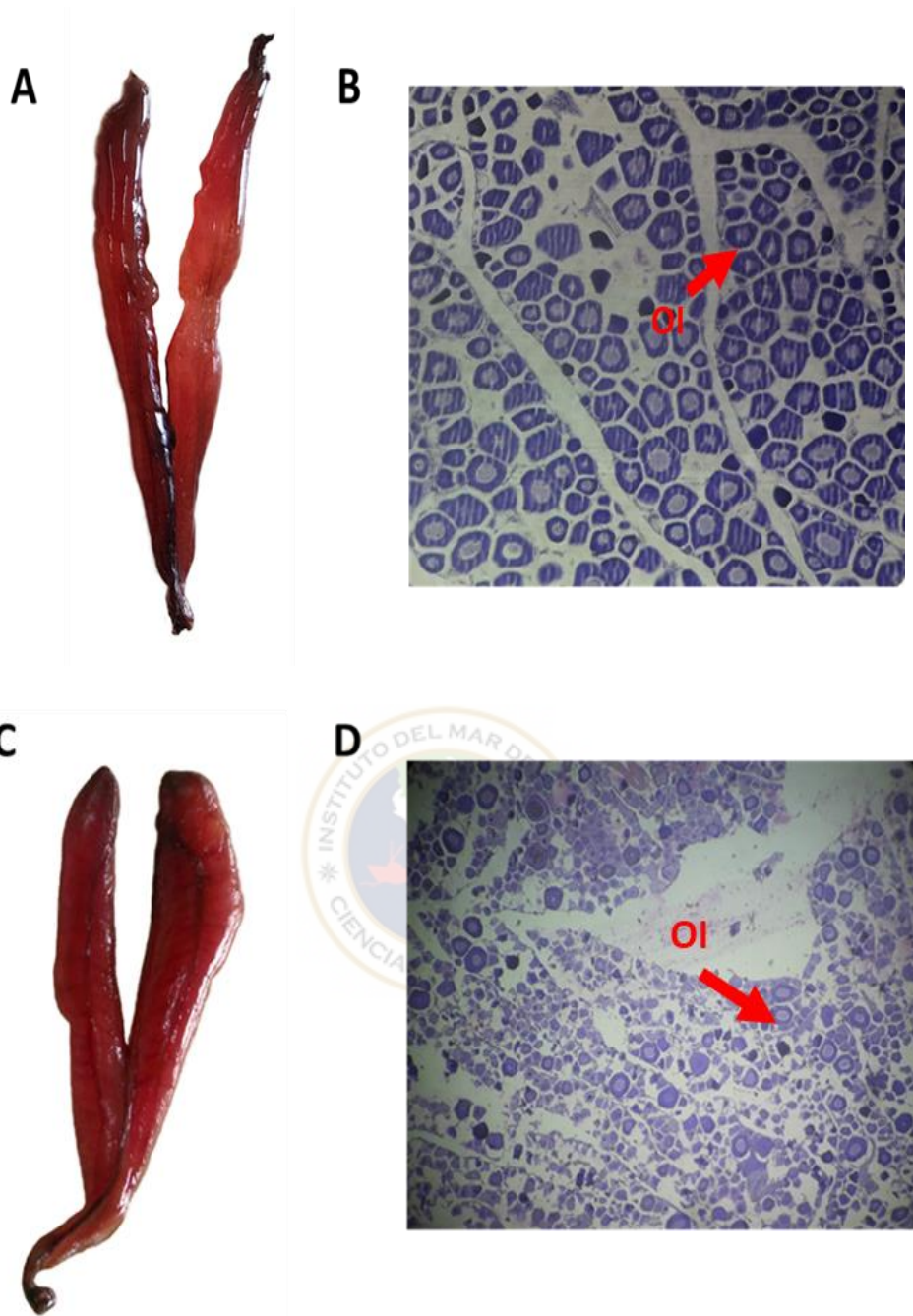


Figura 25.- Cortes histológicos en hembras de *Ethmidium maculatum* “machete” (A y B) Estadio 0: células inmaduras (OI) dispuestas de forma ordenada; (C y D) Estadio I: células inmaduras (OI) dispuestas de manera desordenada.

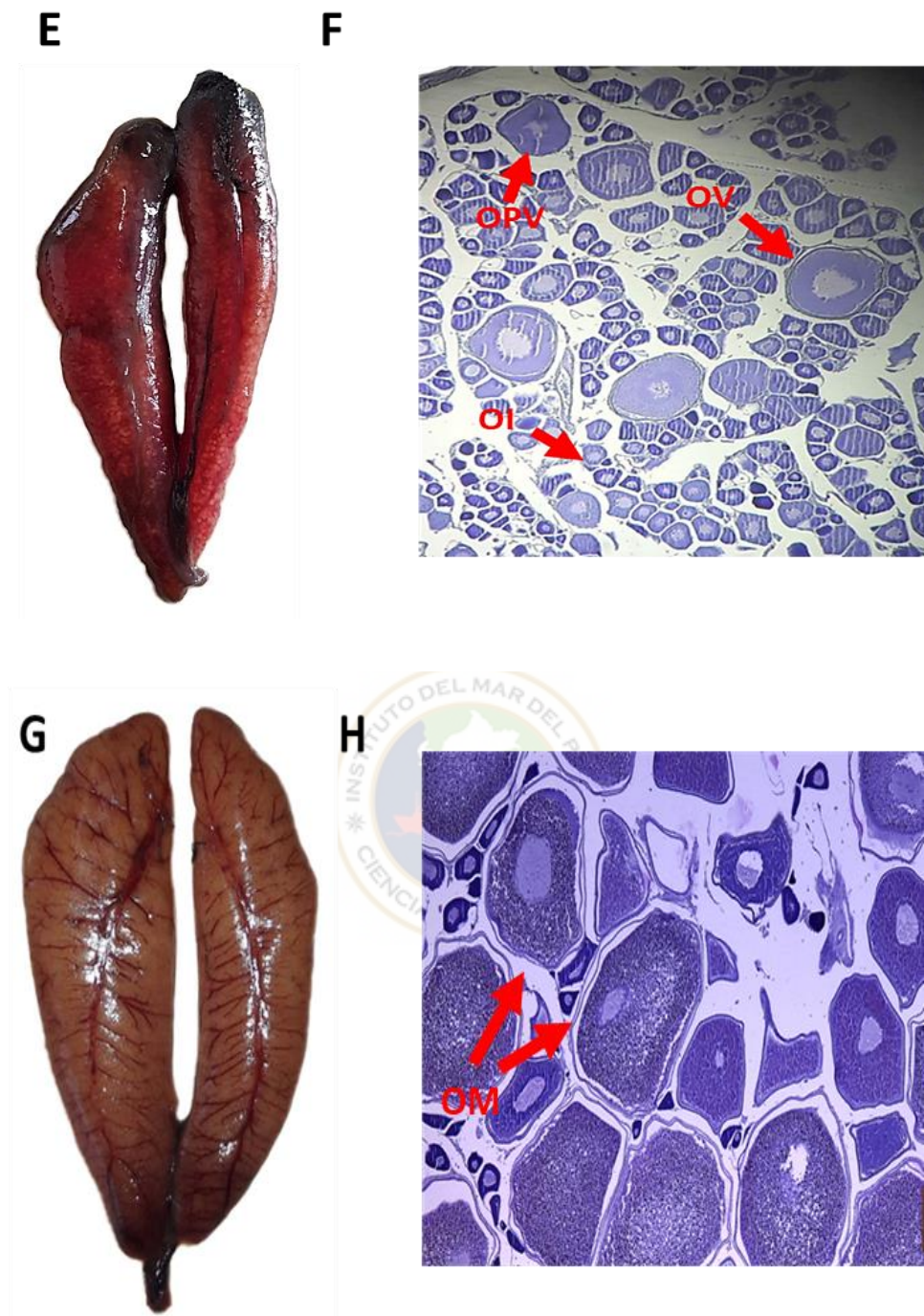


Figura 26.- Cortes histológicos en hembras de *Ethmidium maculatum* “machete”
 Estadio II: células inmaduras (OI), pre-vitelogenadas (OPV) y vitelogenadas (OV); (G y H) Estadio III: células maduras (OM).

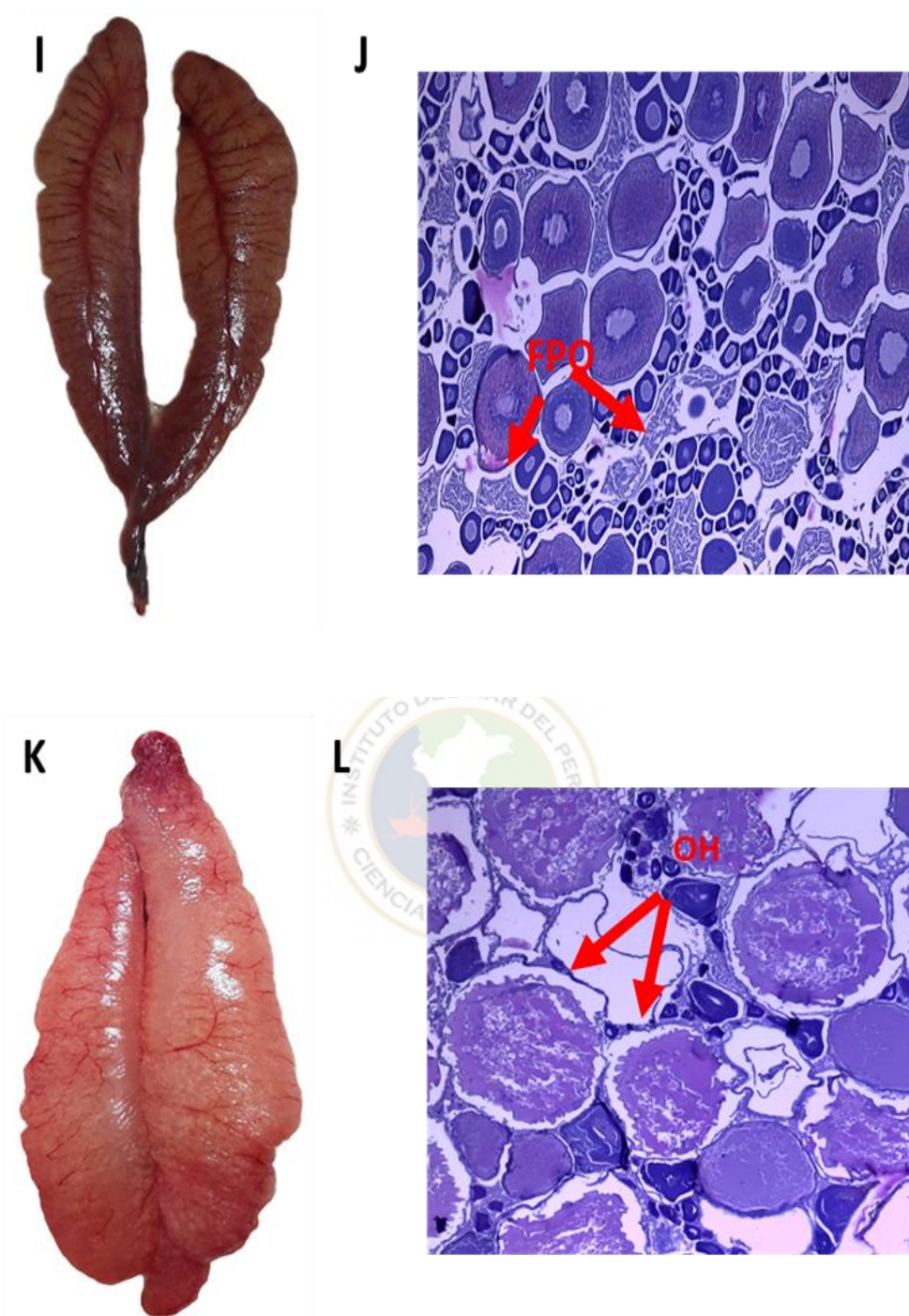


Figura 27.- Cortes histológicos en hembras de *Ethmidium maculatum* “machete” (I y J) Estadio IV: folículos post-ovulatorios (FPO) y (K y L): células maduras hidratadas (OH).

Descripción de Estadios en machos

De acuerdo a las características internas de las gónadas se logró determinar cinco estadios de maduración.

- **Virginal (Estadio 0):** No se pudo observar ejemplar.
- **Reposo (Estadio 1)**

Características macroscópicas: Los testículos son tamaño mediano, angostos y de poca turgencia. Tienen una coloración de un rosado pálido, se encuentran en inactividad sexual.

Características microscópicas: Túbulo de colección común semivacío. Presenta la pared del testículo gruesa, gran cantidad de tejido conectivo, presencia de espermatogonios y pocos espermatozoides.

- **En maduración (Estadio 2)**

Características macroscópicas: Las gónadas tienen un color cremoso con manchas rojizas oscuras y un tamaño de mediano a grande con algunos pliegues.

Características microscópicas: Túbulo de colección común semivacío con una gran capa de espermatogonios en el borde y pocos espermatozoides y se observa espermatozoides en un número reducido.

- **Maduro (Estadio 3)**

Características macroscópicas: Las gónadas son de gran tamaño con un color cremoso con manchas rojizas oscuras, presentan mayor turgencia y con pliegues más pronunciados.

Características microscópicas: Túbulo de colección común completamente lleno y turgente con cada túbulo lleno. Afinidad basófilo y tejido conjuntivo escaso.

- **Expulsante (Estadio 4)**

Características macroscópicas: Las gónadas tienen un color blanco lechoso, son muy turgentes y presentan los pliegues bien marcados.

Características microscópicas: Túbulo de colección común semivacío con túbulos llenos de espermatozoides con pocos espermatogonios. Así mismo, se observan zonas vacías debido a la expulsión de los espermatozoides.

- **Post - Expulsante (Estadio 5)**

Características macroscópicas: Las gónadas se vuelven más flácidas debido a la expulsión de los espermatozoides, con un color blanco lechoso y un menor tamaño.

Características microscópicas: Túbulo de colección común casi vacío con gran cantidad de zonas vacías debido al proceso de expulsión de espermatozoides, escasa presencia de células.

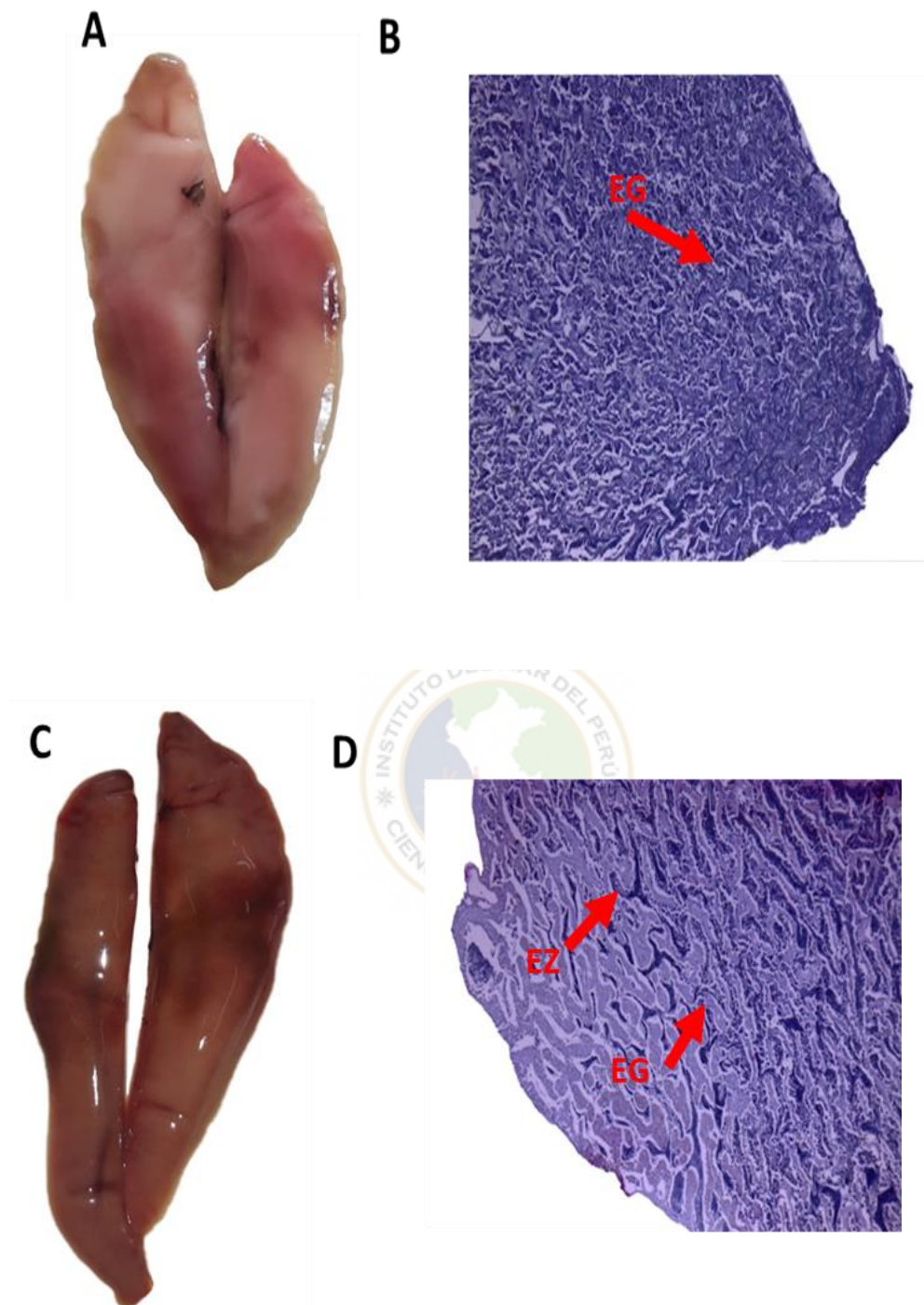


Figura 28.- Cortes histológicos en machos de *Ethmidium maculatum* “machete” (A y B) Estadio I: células inmaduras (EG) dispuestas de forma ordenada; (C y D) Estadio II: presencia células inmaduras (EG) y células maduras (EZ).

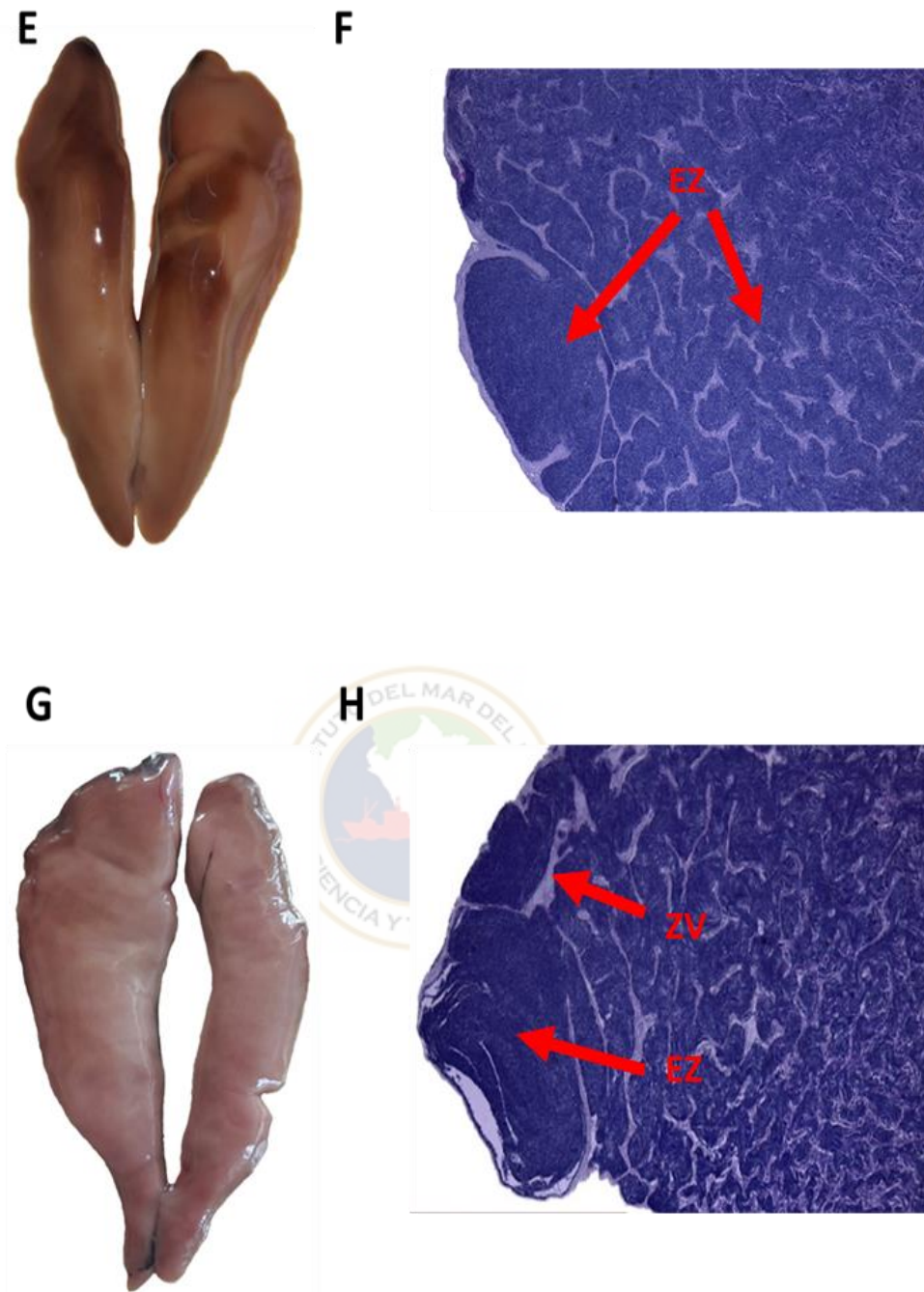


Figura 29.- Cortes histológicos en machos de *Ethmidium maculatum* “machete” (E y F) Estadio III: células maduras en su totalidad (EZ); (G y H) Estadio IV: células maduras (EZ) y zonas vacías (ZV).

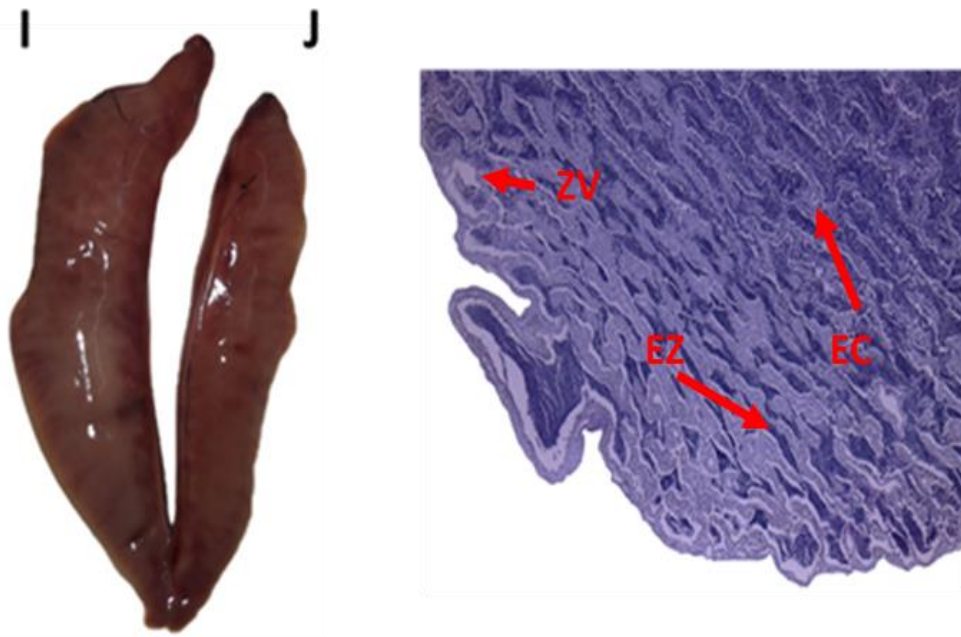


Figura 30.- Cortes histológicos en machos de *Ethmidium maculatum* “machete” (I y J) Estadio V: células inmaduras (EC), células maduras (EZ) y zonas vacías (ZV).

DISCUSIÓN

Los valores del Índice Gonadosomático (IGS) muestran un incremento en los meses de marzo y abril para ambos sexos lo que indica un mayor desove en la época de otoño coincidiendo con Cahuana, (1995), quien determino que el machete estudiado en la zona de Callao evidencio proceso reproductivo en otoño. Por otro lado, difiere con Atoche, (2011), quien reporta un periodo de desove en la época de invierno.

Un aspecto importante en este tipo de reproductores es la relación directa existente con la temperatura, un factor que tiene la función de acelerar o retardar la madurez sexual a lo largo del año, así como indica Cotero, (2015) donde menciona que el machete presenta dos picos de desove durante los periodos fríos, uno el segundo trimestre (otoño) del año con 79,27% y el otro en el cuarto trimestre (primavera) con el 79,21% (Wasiw, 2000), de igual manera, se determinó para este trabajo que el IGS tuvo sus valores más altos en otoño(abril y marzo). Así mismo, se dio con la salinidad, que cumple una función importante en la maduración, ovulación y la puesta (Sower et al. 1982 y Arantes et al. 2010).

La Actividad Reproductiva y la Fracción Desovante presentaron dos épocas de desove bien marcadas para ambos índices los cuales se dieron en verano y otoño, en cambio, Leal et al. (2011) mencionan que para la especie *Sprattus fuegensis* “sardina austral” representante de la misma familia mostro un incremento de la actividad reproductiva durante los meses de primavera. A diferencia de Carlos et al.

(2008) que reportan una mayor actividad reproductiva en los meses de enero-mayo y un segundo pico en octubre-diciembre.

El aumento proporcional de la fecundidad se debe al incremento en el peso corporal del pez (Lowe-McConnell, 1999) como se evidencia en este trabajo donde la relación de las variables de peso corporal y fecundidad es alta aumentando así el factor de condición que en este caso tuvo un $r = 0.57$, se ignoró el valor del ejemplar de 222g debido a que se encontraba en mayor contenido de ovocitos pequeños, lo que elevó el peso de producción y se produjo un sesgo en el análisis. Por otro lado, Miñano (1986) menciona que la fecundidad es dependiente, en forma principal del peso del pez.

La regresión peso de la gónada con la fecundidad fue significativo con una $r = 0.51$ donde se pudo observar que a mayor peso de la gónada se obtiene una alta fecundidad; por lo tanto, la variabilidad en el peso del ovario fue producto de la hidratación.

La fecundidad es una variable reproductiva que se ve fuertemente influenciada por la talla del pez (Fulton, 1891). La relación entre el grado de dependencia entre las variables de la fecundidad y la longitud total del pez mostro una correlación lineal positiva, lo que indica que a mayor talla se obtendrá una fecundidad más alta, esto debido a que los peces más grandes podrían estar en un estado avanzado de maduración gonadal (Miñano, 1986). Concordando con Alheit (1989) quien menciona que las fluctuaciones de los valores de la fecundidad parcial, están influenciadas entre otros aspectos, por la estructura de tallas de la muestra. Por el

contrario, Joseph (1963) que estudiado la fecundidad de *Anchoa naso* determinó que el grado de variación entre la fecundidad de los peces de igual tamaño, era debido a la variabilidad de la técnica y no a la diferencia biológica.

La fracción parcial estimada corresponde solo a los individuos que estuvieron en época desove (gónadas hidratadas), donde simultáneamente con los ovocitos hidratados se observó otros ovocitos en distintos estados de desarrollo, frecuencia y diámetro (mm) de las diferentes partes de la gónada, lo cual muestra una relación directa de la fecundidad con el tamaño de los ovocitos, así como Peña (1986) quien encontró en su investigación una disminución de los ovocitos hidratados de la parte apical del ovario hacia la distal, así mismo hace referencia que si se utiliza una sola submuestra, es recomendable que esta debe ser tomada de la sección central del ovario.

Se observaron diferentes tipos de células sexuales distribuidas a lo largo de la gónada, definidas por características resaltantes del desarrollo ovocitario sexual. En las hembras se identificaron 5 tipos de ovocito: inmaduro, pre-vitelogenado, vitelogenado, maduro e hidratado al igual como reporta Cota, 2012. Por otro lado, en los machos se observó en los testículos todos los tipos de células espermatogénicas como: espermatogonios, espermatocitos y espermatozoides; pero en distintas proporciones, lo que indica que en hembras como en los machos se muestra a una especie de maduración asincrónica y desove parcial (Carrillo y Zanuy, 1993).

Las escalas utilizadas son generalmente macroscópicas o empíricas, es decir basadas en la observación directa de características externas de las gónadas, como color o visibilidad de las células (Tresierra et al. 2002), así como también la introducción de las técnicas histológicas que permite conocer en detalle el desarrollo de las células sexuales.

En la determinación de los estadios de madurez gonadal se basó en observaciones de las gónadas comprobándose con los cortes histológicos para tener una mayor seguridad en la clasificación de estas. Para las hembras se identificó cinco estadios del 0 al IV, por otro no se logró identificar el estadio de recuperación (IV) que se caracteriza por la presencia de atresia.

El tamaño de los ovocitos varía de acuerdo al estado de madurez y el grosor del tejido disminuye a medida que se desarrolla la gametogénesis y aumenta durante la post evacuación (Rodríguez, 2002). Barbieri y Barbieri (1985) mencionan que a cada estadio de maduración le corresponde ovocitos en diferentes estadios de desarrollo, presentes en distintas proporciones.

Un indicador en la maduración de los ovocitos es la formación y acumulación de gránulos de vitelo, situación que se presenta a partir de los ovocitos vitelogenados (Vazzoler, 1996), que se caracterizan por adquirir una coloración rosada.

En *Sardinops sagax* especie de la misma familia la presencia de folículos post ovulatorios (FPO) es un indicador del estadio desovante (Alarcón et al. 1984). Así también, West (1990) menciona que los FPO cerca al periodo de desove son fácilmente identificables, pero de degeneran rápidamente debido a la temperatura.

En los machos al igual que las hembras se identifican cinco estadios del I al IV, pero se diferenciaron porque no se logró encontrar estadio virginal (0). La determinación de los estadios se realizó mediante las observaciones del grado de llenura del túbulo de colección común y los tubos seminíferos, que son criterios para determinar diferentes grados de maduración testicular a nivel microscópico (Cure, 2013).

La clasificación de los estadios de madurez gonadal de los machos es más difícil que de las hembras (West 1990), ya que macroscópicamente no presentan muchas diferencias durante su desarrollo, sin embargo, la histología es una metodología importante utilizada para distinguir los estadios



CONCLUSIONES

- La actividad reproductiva estuvo definida por dos épocas de desove una en verano y la otra en otoño al igual que la fracción desovante, lo que indica que es un reproductor parcial.
- El índice gonadosomático muestra un mayor desove en la época de otoño.
- La fecundidad parcial promedio fue de 52212 ovocitos por desove, presentando ovocitos de diferente diámetro.
- *Ethmidium maculatum* presento cinco estadios para hembras (0 = virginal; I = reposo; II = en maduración; III = maduro; IV = desovante y/o expulsante) a excepción del estadio V = recuperación, mientras en machos también de identifico cinco estadios menos el estadio 0 = virginal.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alarcón, V.; S, Goldberg y J, Alheit. 1984. Histología de folículos post- ovulatorios de la sardina (*Sardinops sagax*) del Perú. Boletín del Instituto del Mar del Perú. 8: 1-16.
- Alheit, J. (1989). Comparative spawning biology of anchovies, sardines and sprats. Rapp. P.-v. Reún. Cons. Int. Explor. Mer, 191: 7-14.
- Arantes, F.; H, Santos.; E, Rizzo.; Y, Sato. y N, Bazzoli. (2010). Profiles of sex steroids, fecundity and spawning of the curimata-pacu *Prochilodus argenteus* in The Sao Francisco River, downstream from the Tres Marias Dam, Southeastern Brazil. Anim. Reprod. Sci. 118: 830-336
- Atoche, D. 2011. Biología y pesquería de *Ethmidium maculatum* “machete” procedente de la pesca artesanal en la región la libertad durante el 2010. Tesis para optar el título de Biólogo Pesquero. Universidad Nacional de Trujillo. 53p.
- Barbieri, M. y G, Barbieri. 1985. Reprodução de *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) na represa do Lobo (SP), Morfologia e histologia de ovário. Variação sazonal. (Pisces, Gymnotidae). Revista Biológica de Brasil: 45 (1 / 2). 3-12p.

- Bazzoli, N. (2003). Parámetros reproductivos de peixes de interesse comercial na regio de Pirapora. En H.P. GODINHO (edit.). Água, peixes e pescadores do Sao Francisco das Minas Gerais. SOGRAFE. 291-306.
- Buitrón, B.; A, Perea.; J, Mori.; J, Sánchez. y C, Roque. (2011). Protocolo para estudios sobre el proceso reproductivo de peces pelágicos y demersales. Inf. Inst. Mar Perú. 38(4): 373-383.
- Cahuana, A. (1995). Estudio de algunos aspectos biológicos del “machete” *Ethmidium maculatum* en las zonas de Callao e Ilo.
- Carrillo, M y S. Zanuy. (1993). Fisiología de la reproducción de los Teleósteos. En: "Acuicultura marina: fundamentos biológicos y tecnología de la producción". Coord. F. Castelló Orvay. Ed.Universitat. Barcelona. p. 125-142
- Cota, N. (2012). Escala de madurez gonadal del lenguado *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867). Tesis para optar al Título Profesional de Biólogo con mención Hidrobiológica y Pesquera. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Cotero, C.; E, Valles. y B, Venegas. (2015). Biología reproductiva de la sardina del Pacifico *Sardinops sagax* de la costa occidental de Baja California, México. Ciencia pesquera, 23(2): 25-43.

- Cure, A. 2013. Aspectos reproductivos de *Vinciguerria lucetia* (German, 1899).
Tesis para optar por el Título Profesional de Biólogo con mención en
Hidrobiología y Pesquería. Universidad Mayor de San Marcos.
- Fulton, T. 1981. On the comparative fecundity of sea fish. Rep. Fish. Bd. Sest. 9.
Part III: 243-268.
- Gupta, S. (1975). The development of carp gonads in warm Water aquaria. J. Fish
Biol. 7: 775-782.
- Humason, G. (1979). Animal tissue techniques. W. Freeman Eds. 4ta Ed. 661 pp.
- Hunter, J. y B, Macewicz. (1985). Rates of atresia in the ovary of captive and wild
northern anchovy, *Engraulis mordax*. Fishery Bulletin US 83(2): 119-136.
- Inga, C.; E, Ordinola.; J, Rujel. y E, Gomez. (2008). El machete de hebra,
Opisthonema spp., Parámetros Biológico-Pesqueros y talla mínima de
Captura. Tumbes, Perú. Inf. Inst. Mar Perú. 35(3): 215-220.
- Instituto del Mar del Perú (IMARPE) (2008). Pesquerías de recursos marinos
costeros, *Ethmidium maculatum* “machete” (Valenciennes, 1847).
- Instituto del Mar del Perú. (IMARPE). (2008). Estudios en Biología Reproductiva.
- Joseph, J. (1963). Contribution to the Biology of the *Eugraulid Anchoa naso*
(Gilbert and Pierson, 1968) from Ecuadorian waters. Inter-Amer. Trop.
Tuna Comm., Bull. Vol. VIII. N° 1, pp. 1-30

- Kaczuba, C.; Q, Flores.; C, Bechara. y A, José. (2006). Fecundidad y desarrollo gonadal de especies de importancia económica en el alto paraná. Universidad Nacional del Norte.
- Leal, E.; M, Canales.; A, Canales. y M, Margarita. (2011). Actividad reproductiva y longitud de madurez de sardina austral *Sprattus fuegensis* en el mar interior de Chiloé, Chile. Vol. 46, N°1: 43-51.
- Laevastú, T. (1971). Manual de Métodos de Biología Pesquera. Acribía. España. 243pp.
- León, E. (2011). Muestreo estacional del contenido graso o en musculo de “CABALLA” *Scomber japonicus*,” JUREL” *Trachurus picturatus* Murphy,” LORNA” *Sciaena deliciosa* y “MACHETE” *Ethmidium maculatum chilcae*. Universidad Nacional del Callao.
- Lowe-Mcconnell, R. 1999. Estudios ecológicos de comunidades de peixes tropicais. São Paulo: EDUSP.
- Mejía, M. (1970). Información Básica de los Principales Peces de Consumo. Serie de Informes Especiales N° IM-62. Instituto del Mar del Perú.
- Miñano, J. (1968). Estudio de la fecundidad y ciclo sexual de la anchoveta (*Engraulis ringens*, J.) en la zona de Chimbote. Inf. Inst. Mar Perú. vol. 1, N° 9, 505 – 552.

- Peña, N.; J, Alheit. y M, Nakama. (1986). Fecundidad parcial de la caballa del Perú (*Scomber japonicus peruanus*). Bol. Inst. Mar Perú. vol. 10, N° 4, 91 – 104.
- Pola, M. y M, Padilla. (2012). Prácticas de Zoología Aplicada Biometría pesquera. Determinación de parámetros y cálculo del índice gonadosomático. Reduca (Biología). Serie Zoología. 5 (3): 92-103.
- Rodríguez, S.; M, Villalejo y F, García. 2002. Biochemical composition of *Spondylus leucacanthus* Broderip, 1833 (Bilvalvia: Spondylidae) and its relationship with the reproductive cycle at isla Danzante, Gulf of California, Mexico. Journal Shellfish Research. 46: 111 – 116.
- Saborido, F (2004). Ecología de la reproducción y potencial reproductivo en las poblaciones de peces marinos. Curso doutoramento do bienio 2001-2003. Universidad de Vigo. 72 pp.
- Sower, S.; B, Schereck. y E, Donaldson. (1982). Hormone induced ovulation of coho salmon (*Onchorhynchus kisutch*) held in sea water and fresh water. Canadian Journal of Fishery and Aquaculture Science 39: 627-632.
- Tarazona, J., D, Gutierrez. y A, Indacochea. (2003). Overview and challenges of marine biodiversity research in Peru. Gayana, 67(2), 206-231.
- Tello, S.; V. Montreuil.; J. Maco; R. Ismiño y H. Sánchez. 1992. Bioecología de peces de importancia económica de la parte inferior de los ríos Ucayali y Maraón, Perú. Folia Amazónica. 4: 75-93

- Tresierra, A. y Z, Culquichicón. (1993). Biología pesquera. Trujillo (Perú): Editorial Libertad.
- Tresierra, A.; Z, Culquichicón. y B, Veneros. (2002). Biología reproductiva en peces. 2nd. Ed. Perú, Ed. Nuevo Norte. 285 p.
- Vazzoler, A. (1996). Biología da reproducao de peixes teleosteos: teoria e pratica. Sao Pablo, Maringá: EDUEM.
- Villamil, L. y Arias, J. (2011). Fecundidad de *Otocinclus spectabilis*. Orinoquia. Vol. 15, N°1: 41-47.
- Wasiw, J. (2000). Aspectos biológicos pesqueros de la lorna (*Sciaena deliciosa*) y el machete (*Ethmidium maculatum*) en el área de Huacho durante un periodo frío y otro cálido. Informe progresivo N° 128. Instituto del Mar del Perú.
- West, G. 1990. Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. Marine and freshwater research. Vol. 41, N° 2. 199 – 222 pp.
- Whitehead, P. (1985). Clupeoid fishes of the world (suborder Clupeoidei). An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, shads, anchovies and wolf-herrings. FAO Fish. Synop. 125(7/1):1-303.

ANEXOS



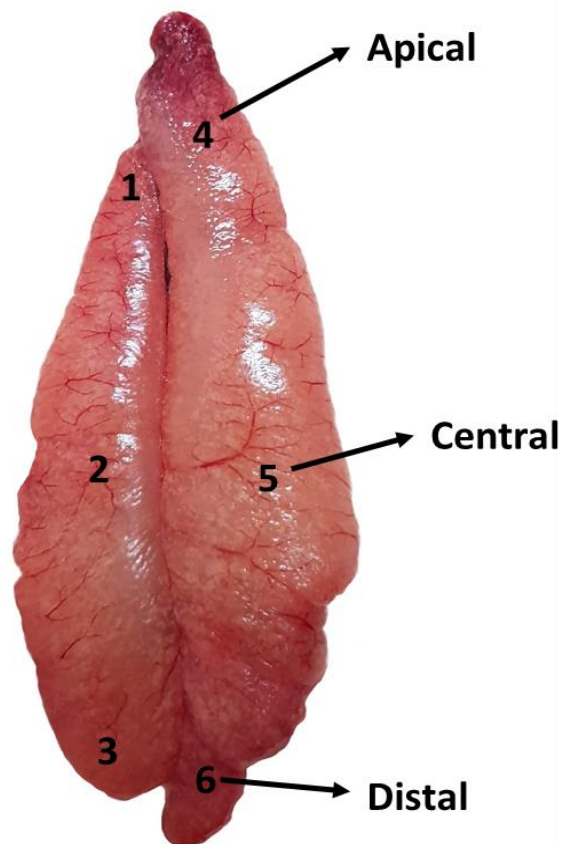


Figura 31. - Posiciones de las submuestras en ovario de *Ethmidium maculatum* “machete”.

FORMOL BUFFERADO AL 10% (Para 10 litros de formol)

Difosfato de sodio (Na_2HPO_4 , granular anhidro). $7\text{H}_2\text{O}$	65 g
Monofosfato de sodio (NaH_2PO_4 , granular). H_2O	40 g
Solución de Formaldehído al 40%	1 L
Agua	9 L
Total	10 L

HEMATOXILINA (Para 200 ml)

Ácido acético glacial	2- 3 gotas
Alcohol etílico	10 ml
Hematoxilina	1 g
Sulfato de amonio o potasio	20 g
Oxido mercurico	0,5 g
Agua destilada	200 ml

La hematoxilina se disuelve en alcohol. El sulfato de potasio se disuelve en agua y se hierve por medio minuto luego se agrega mercurio y se enfría rápidamente. Se agrega el ácido acético para sacar el residuo metálico y aclarar el núcleo

EOSINA (Para 250 ml)

Eosina Y	0,25 g
Alcohol etílico al 70 %	250 ml
Ácido acético glacial	2- 3 ml

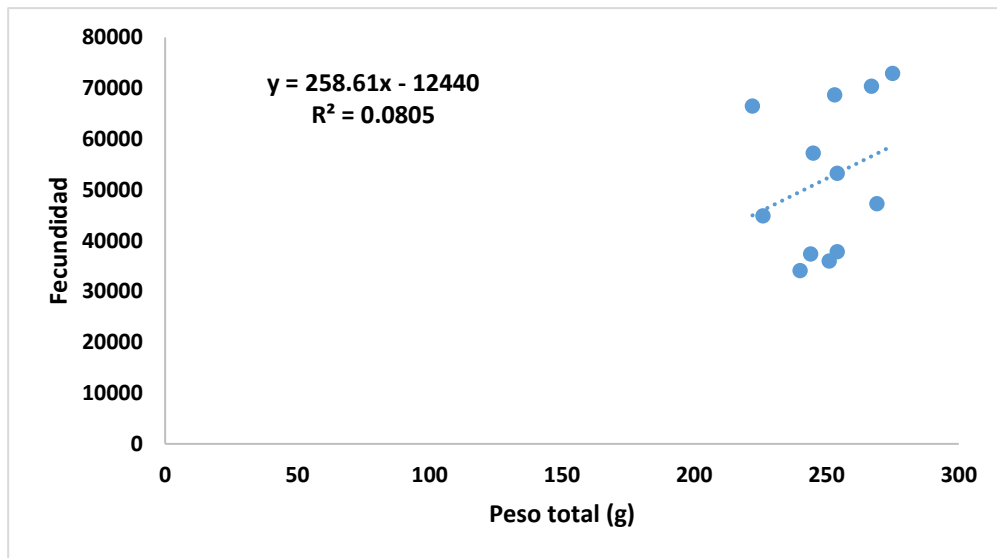


Figura 32. - Regresión lineal con todos los datos de fecundidad con respecto al peso total de *Ethmidium maculatum* “machete” proveniente de la región La Libertad, de mayo 2017 a abril 2018.

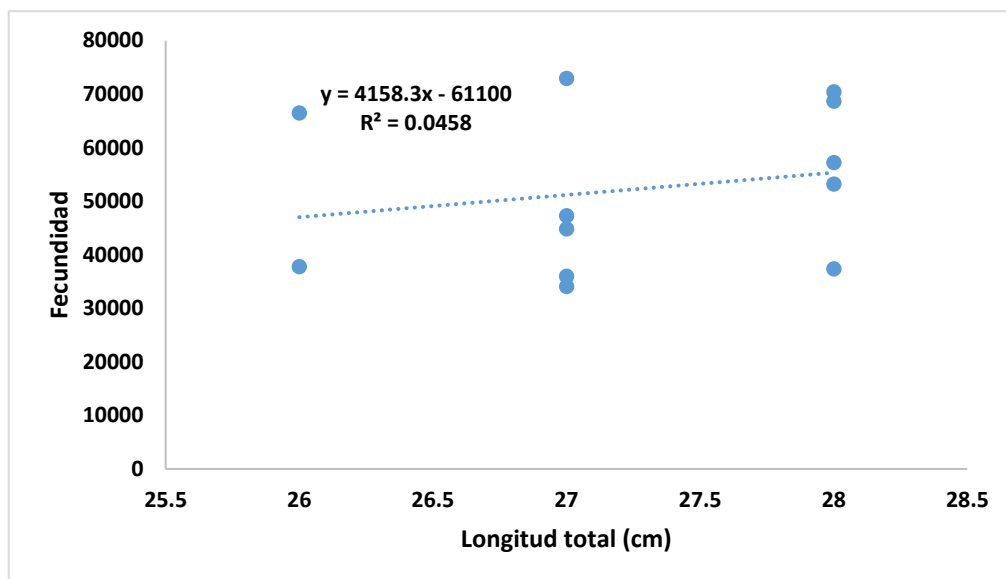


Figura 33.- Regresión lineal con todos los datos de fecundidad con respecto al peso total de *Ethmidium maculatum* “machete” proveniente de la región La Libertad, de mayo 2017 a abril 2018.



MUESTREO BIOLÓGICO DE PECES

ESPECIE			
MUESTRA N°			
CRUCERO			
NOMBRE: BUQUE/LANCHA			

PUERTO						
LONGITUD	FECHA DE A	DIA	MES	AÑO		
TOTAL						
HORQUI.						

N° PARA COMPUTO				
-----------------	--	--	--	--

N°	LONG. (cm)	PESO TOTAL (g)	PESO EVISCE. (g)	SEXO	MADU	PESO DE GONADA (g)	COLECTO		EDAD	AREA	N°	LONG. (cm)	PESO TOTAL (g)	PESO EVISCE. (g)	SEXO	MADU	PESO DE GONADA (g)	COLECTO		EDAD	AREA	
							OTOLITOS N° SERIE	G										OTOLITOS N° SERIE	G			
1											22											
2											23											
3											24											
4											25											
5											26											
6											27											
7											28											
8											29											
9											30											
10											31											
11											32											
12											33											
13											34											
14											35											
15											36											
16											37											
18											38											
19											39											
20											40											

Figura 34. - Ficha de Muestreo biológico