

**Universidad de San Carlos de Guatemala
Centro de Estudios del Mar y Acuicultura**

**Informe final
Práctica Profesional Supervisada**

**Laboratorio de Análisis Biológico Pesquero de la Estación de Biología Marina,
Puntarenas, Costa Rica**



**Presentado por:
Leonel Estuardo Paiz Marroquín**

**Para otorgarle el Título de
Técnico en Acuicultura**

Guatemala, febrero de 2011

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

CENTRO DE ESTUDIOS DEL MAR Y ACUICULTURA

Consejo Directivo

Presidente	M.Sc. Erick Roderico Villagrán Colón
Coordinadora Académica	M.Sc. Norma Edith Gil Rodas de Castillo
Representante Docente	Ing. Agr. Gustavo Adolfo Elías Ogaldez
Representante del Colegio de Médicos Veterinarios y Zootecnistas	M.Sc. Aldo Vinicio Leiva Cerezo
Representante Estudiantil	T.A. Jesús Alfredo Guzmán Cáceres
Representante Estudiantil	Br. Sofía del Carmen Morales Navarro

ACTO QUE DEDICO

A DIOS:	Por darme vida, sabiduría y entendimiento.
A MIS PADRES:	Por ser ejemplo en mi vida y apoyarme sin condiciones.
A MI HERMANO:	Por los consejos y regaños.
A MIS ABUELITOS:	Por inculcarme el estudio y estar pendientes de mí, siempre.
A MI NOVIA:	Elsí, por estar conmigo en todo momento y darme tu apoyo y amor. Te amo cielo.
A MIS AMIGOS:	Ratpack por siempre.
A MI PATRIA:	Tierra querida.
A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS	Templo de sabiduría y conocimientos.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Estudios del Mar y Acuicultura, por los conocimientos y experiencias que obtuve durante mi periodo académico.

A la Universidad Nacional de Costa Rica, por darme la oportunidad de realizar mi Práctica Profesional Supervisada (PPS) en tan prestigiosa casa de estudios.

Al Laboratorio de Análisis Biológico Pesquero de la Estación Biológica Marina Puntarenas, Costa Rica por brindarme la oportunidad de adquirir nuevos conocimientos académicos.

A la Estación de Ciencias Marino Costeras, Costa Rica –ECMAR- Por brindarme el apoyo necesario durante nuestra estadía.

Al Ing. Pedro Julio García, por el apoyo brindado para realizar mi PPS.

Al M.Sc. Rosa Soto Rojas, por darme la oportunidad de aprender nuevas técnicas en análisis biológicos pesqueros.

A los Biólogos Fernando Arana-Mejía y Luis Hernández "Chaca" por compartir conmigo sus conocimientos, técnicas, consejos y amistad durante mi PPS.

Y a todos mis amigos por su apoyo y amistad.

RESUMEN

La Práctica Profesional Supervisada (PPS) se realizó en el Laboratorio de Análisis Biológico Pesquero de la Estación de Biología Marina (EBM), Puntarenas, de la Universidad Nacional de Costa Rica (UNA).

Durante el periodo de las PPS se llevaron a cabo actividades diarias de acuerdo a lo programado en el Laboratorio entre las cuales están: a) Captura de organismos para análisis de laboratorio, b) Análisis y extracción de gónadas de organismos capturados, c) Preparación de las muestras para el proceso de histología, d) Corte de las muestra, e) Montado de los cortes, f) Lectura de las láminas preparadas.

El objetivo del Laboratorio de Análisis Biológico Pesquero es generar información para los estudios realizados sobre el Golfo de Nicoya y las pesquerías de esa región que se llevan a cabo por esta institución o instituciones afines en colaboración conjunta, como lo es el caso de Instituto Costarricense de Pesca y Acuicultura (INCOPECA) para la determinación de madurez sexual de los organismos en las diferentes épocas del año con el fin de obtener un mejor aprovechamiento de los recursos pesqueros y para el desarrollo de la Acuicultura de esa región. Además de brindar apoyo a proyectos que se llevan a cabo dentro de la Estación de Biología Marina (EBM) y a diferentes productores interesados en el desarrollo de cultivos piscícolas.

La información presentada en este informe se enfoca en el conocimiento adquirido en los diferentes aspectos que se manejan para este tipo de análisis de histología en gónadas para la determinación de los diferentes estadios de madurez sexual, técnicas que se han desarrollado a lo largo de años de investigación y estudios en el Laboratorio de Análisis Biológico Pesquero por personal altamente calificado y ayuda de cooperación internacional.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos específicos	3
3. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA UNIDAD DE PRÁCTICA	4
3.1. Estación de Biología Marina (EBM)	4
3.2. Ubicación geográfica.....	4
3.3. Condiciones climáticas.....	5
3.4. Altitud.....	6
3.5. Zona de vida.....	6
3.6. Vías de acceso	8
3.7. Actividades productivas de la Unidad de Práctica.....	8
3.8. Pesquerías en el Golfo de Nicoya	8
4. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS	9
4.1. Organigrama	9
4.2. Objetivos de la Estación Biológica Marina.....	9
4.3. Misión.....	9
4.4. Academia.....	10
4.5. Control de personal y prestaciones laborales	10
4.6. Prestación de servicios externos.....	10
5. METODOLOGÍA DEL PROCESO HISTOLÓGICO GONADA DE PECES	11
5.1. Análisis macroscópico y disección de la muestra	11
5.2. Fijación de la muestra.....	12
5.3. Deshidratación de la muestra.....	13
5.4. Embebido o parafinado de la muestra	14
5.5. Corte de la muestra parafinada en el micrótopo	16
5.6. Hidratación y tinción de la muestra	18
5.7. Montaje con bálsamo del cubreobjetos	19
5.8. Secado de la muestra.....	19
5.9. Observación y análisis de las muestras terminadas	19

5.10. Estadios de madures sexual de las gónadas	20
5.10.1. Estadio I.....	21
5.10.2. Estadio II.....	21
5.10.3. Estadio III	22
5.10.4. Estadio IV	23
5.10.5. Estadio V.....	23
5.10.6. Estadios con maduración asincrónica	24
6. TÉCNICAS DE MUESTREO	25
6.1. Trasmallos.....	25
6.2. Red de Arrastre.....	26
7. ÁREA DE MUESTREO	28
8. PLAN DE ACCION	29
9. RESULTADOS	31
10. CONCLUSIONES	32
11. RECOMENDACIONES	33
12. BIBLIOGRAFÍA	34
13. ANEXO	36

INDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1. MEDIA DE TEMPERATURAS Y PRECIPITACIONES EN PUNTARENAS PERIODOS 2000-2008.....	6
CUADRO No. 2. DISTRIBUCIÓN DE LAS ZONAS DE VIDA PRESENTES EN COSTA RICA, SEGÚN PISO Y ÁMBITO ALTITUDINAL	7
CUADRO No. 3. PROCESO DE FIJACIÓN DE MUESTRAS POR REACTIVO Y TIEMPO.....	13
CUADRO No. 4. PROCESO DE DESHIDRATACIÓN DE MUESTRAS POR REACTIVO Y TIEMPO.....	14
CUADRO No. 5. PROCESO DE EMBEBIDO O PARAFINADO DE LA MUESTRA POR COMPONENTE Y TIEMPO	16
CUADRO No. 6. TABLA PROCESO DE TINCIÓN DE LAS MUESTRAS POR REACTIVO Y TIEMPO..	18
CUADRO No. 7. TAMAÑO DE TRASMALLOS PARA MUESTREOS	25
CUADRO No. 8. TABLA TOMA DE DATOS DE ORGANISMOS ANALIZADOS	31

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1 CROQUIS DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS BIOLÓGICO PESQUERO (TRABAJO DE CAMPO, 2010)	
ANEXO 2 CROQUIS DEL LABORATORIO DE PESQUERÍAS (TRABAJO DE CAMPO, 2010)	
ANEXO 3 DESPLIEGUE DE LOS TRASMALLOS EN LA ISLA PÁJAROS (TRABAJO DE CAMPO, 2010)	
ANEXO 4 LANCHAS UTILIZADAS PARA REALIZAR LOS MUESTREOS (TRABAJO DE CAMPO, 2010)	

INDICE DE FIGURAS

Figura No. 1. Estación de Biología Marina, Puntarenas Costa Rica. Fuente: Archivo	4
Figura No. 2. Mapa de la República de Costa Rica y sus Provincias. Fuente: Mapoteca virtual, UNA (2005)	5
Figura No. 3. Ubicación de las zonas de vida de Costa Rica. Fuente: Quesada (2007)	7
Figura No. 4. Medición de longitud y peso del organismo. Fuente: Archivo	11
Figura No. 5. Disección ventral de <i>Arius</i> sp. Fuente: Archivo.....	11
Figura No. 6. Horno contenedor de parafina para el embebido. Fuente: Archivo	15
Figura No. 7. Montaje de muestras parafinadas en trocitos de madera. Fuente Archivo	16
Figura No. 8. Corte de muestra al micrótopo. Fuente Archivo	17
Figura No. 9. Estadio I, oocitos muy pequeños de formas irregulares y color azul intenso. Corvina reina. (HE, 40X) Fuente: Archivo	21
Figura No. 10. Estadio II, oocitos con aparición del núcleo de una <i>Salema</i> (HE, 40X) Fuente: Archivo	22
Figura No. 11. Estadio III, oocitos con diferenciación del núcleo de <i>Sardina gallerapecosca</i>	22
Figura No. 12. Estadio IV, oocitos totalmente hidratados, evidencia el comienzo del proceso de desove de un Mero. (HE, 40X) Fuente: Archivo	23
Figura No. 13. Estadio V, oocitos en proceso de reabsorción. Lisa común. (HE, 40X) Fuente: Archivo	24
Figura No. 14. Maduración asincrónica, con la presencia de diferentes estadios de un <i>Jurel bonito</i> . (HE, 40X) Fuente: Archivo.....	24
Figura No. 15. Lujado de los trasmallos. Foto: Archivo	26
Figura No. 16. Extensión y lance de la red de arrastre para muestreos de fondo. Foto: Archivo	27
Figura No. 17. Medición de peso de captura de red de arrastre. Foto: Archivo.....	27
Figura No. 18. Ubicación de Trasmallos y Red de arrastre en Isla Pájaros. Fuente: Google earth.	28

1. INTRODUCCIÓN

La Práctica Profesional Supervisada es un curso del Pensum (2004), de la Carrera de Técnico en Acuicultura del Centro de Estudios del Mar y Acuicultura de la Universidad de San Carlos de Guatemala (CEMA-USAC). Este curso brinda al estudiante la oportunidad de adquirir conocimientos relacionados a su campo de acción. La práctica, como parte del proceso de aprendizaje, se puede llevar a cabo dentro del país, Guatemala, o fuera de el, en este caso, Costa Rica. La actividad debe ser integradora del conocimiento teórico-práctico, para comprobar, analizar e integrarlos a situaciones reales de las actividades diarias del trabajo de un acuicultor.

La Práctica Profesional Supervisada se llevó a cabo en la Estación de Biología Marina (EBM) de la Universidad Nacional de Costa Rica (UNA) , en Puntarenas; con el objetivo que el estudiante participe en las actividades diarias del Laboratorio de Análisis Biológico Pesquero y lleve a cabo tareas específicas del área asignada. Las actividades realizadas durante el período de la Práctica Profesional Supervisada en el Laboratorio de Análisis Biológico Pesquero fueron:

- **Captura y muestreo de organismos:** Esta actividad se llevaba a cabo en los alrededores de la isla Pajaritos y se utilizaron diferentes artes de pesca y técnicas de muestreo para la obtención de las mismas.
- **Extracción y preparación de muestras de los organismos:** La actividad se lleva a cabo en el área de Biológicos Pesqueros, con el fin de disectar el organismo y extraer las gónadas de los mismos, para iniciar con el proceso de preparación histológica.
- **Preparación de muestras para el proceso histológico:** Con la extracción de las muestras, se inicia con los procesos de: fijación, deshidratación, parafinado, y montado de muestras para el corte.
- **Corte de las muestras:** Esta actividad consiste en cortar con un micrótopo los bloques de muestras previamente parafinadas.

- **Montado de los cortes:** Aquí se fijan las muestras cortadas y se lleva a cabo un proceso de secado, tinción y embalsamado para su observación bajo el microscopio.
- **Lectura de láminas:** Aquí se analizan las láminas con las muestras de gónadas de peces para determinar su estadio de madurez sexual.

El laboratorio de Análisis Biológico Pesquero cuenta con dos áreas, una de ellas es utilizada para la preparación de los organismos para su disección y extracción de muestras, que cuenta con mesas de trabajo, congeladores y utensilios de disección; y la otra área es específicamente para los procesos y análisis de las muestras que cuenta con todo el equipo necesario para llevar a cabo estas pruebas como lo son los reactivos, micrótopo, balanzas digitales, microscopios, estereoscopios, hornos y refrigerador.

Este laboratorio trabaja con una amplia variedad de especies marinas de la región y específicamente del Golfo de Nicoya. Esto con el fin de identificar los estadios de madurez sexual de las especies en estudio y así determinar sus características reproductivas que ayudaran a un mejor aprovechamiento de las pesquerías de esa región. En el laboratorio se trabajan con una clasificación de cinco estadios de madurez sexual que ha sido ajustado y modificado de otras clasificaciones de autores, con el objetivo de adaptar mejor los estadios de madurez para las especies de las regiones tropicales como lo es el caso de Costa Rica y el Golfo de Nicoya.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Confrontar al estudiante en el ambiente de trabajo de la Carrera de Técnico en Acuicultura, a través de una práctica directa, en un contexto empresarial o institucional, y un espacio territorial determinado.

2.2. Objetivos específicos

- 2.2.1. Proveer la oportunidad de participar en actividades reales propias del Manejo de los Recursos Hidrobiológicos y Pesqueros de la República de Costa Rica, mediante la inserción en el Laboratorio de Análisis Biológico Pesquero de la Estación Biológica Marina, Puntarenas.
- 2.2.2. Retroalimentar el proceso de enseñanza-aprendizaje mediante la integración de los conocimientos y experiencias teórico-prácticas adquiridas.
- 2.2.3. Propiciar el desarrollo y ejercicio de los valores morales y éticos en el desempeño profesional.

3. DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA UNIDAD DE PRÁCTICA

3.1. Estación de Biología Marina (EBM)

La Estación de Biología Marina inició labores en febrero de 1997 y fue diseñada con el esfuerzo de los académicos de las áreas de pesquería y acuicultura de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Costa Rica, es por esta razón que cada uno de los espacios presentes tiene una función definida y cuenta con dos áreas principales: Manejo Costero y Maricultura.

El área de Manejo Costero cuenta con laboratorios de Fitoplancton Marino y Mareas Rojas, de Extensión Pesquera, de Control de Calidad de Productos Pesqueros, de Microbiología Marina, de Informática Pesquera y dos laboratorios de Biología Pesquera.

El área de Maricultura cuenta con laboratorios para Cultivo de Moluscos, Cultivo de Peces Marinos y un laboratorio para Cultivo de Algas y Rotíferos. (EBM, 2008).



Figura No. 1. Estación de Biología Marina, Puntarenas Costa Rica
(Trabajo de Campo, 2010)

3.2. Ubicación geográfica

La Estación se encuentra ubicada en la provincia de Puntarenas en el área de Puntarenas Centro en Costa Rica según Vargas (2009) coordenadas $09^{\circ}58'35''\text{N}$, $84^{\circ}50'18''\text{O}$, en cuanto al área territorial es una franja bastante angosta, pero ocupa dos tercios del litoral del

Pacífico y tiene una extensión 11,276 Km². Limita al norte con Alajuela y San José al noroeste con Guanacaste, al sur con el Océano Pacífico y al sureste con Panamá.

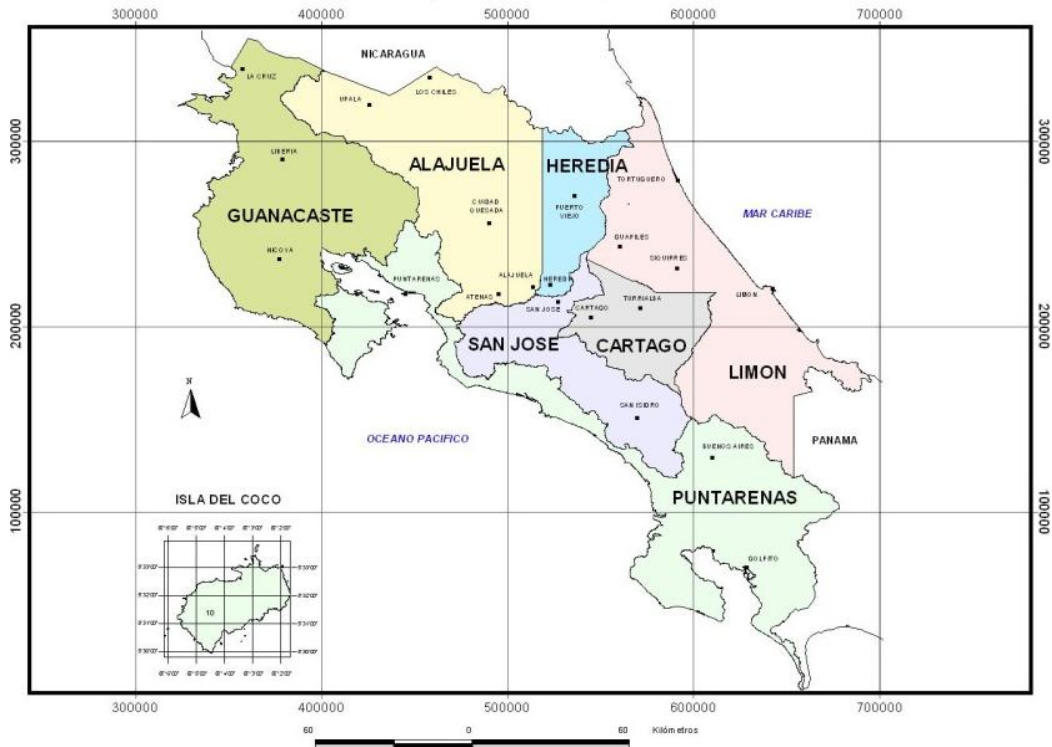


Figura No. 2. Mapa de la República de Costa Rica y sus Provincias (UNA, 2005)

3.3. Condiciones climáticas

La provincia de Puntarenas se caracteriza por tener un clima cálido y húmedo, del tipo tropical húmedo, con temperaturas máximas que rondan los 35 °C, y mínimas que rara vez bajan de 20 °C. Las marca históricas de temperatura son de 17°C y 42°C, esta última representa también la temperatura más alta registrada en Costa Rica en un periodo de 8 años (Instituto Meteorológico Nacional, 2008).

Cuadro No. 1. Media de temperaturas y precipitaciones en Puntarenas periodos 2000-2008

Mes	Temperatura Media °C		Precipitación Total media (mm)	Promedio de días con lluvia
	Mínimo	Máximo		
Enero	24.0	30.5	5.4	2
Febrero	24.2	31.3	2.3	1
Marzo	25.0	31.5	2.9	2
Abril	25.4	31.2	29.9	3
Mayo	24.7	29.8	233.6	16
Junio	24.0	29.1	177.2	17
Julio	23.8	29.1	106.1	19
Agosto	23.9	29.2	167.0	19
Septiembre	23.5	28.8	238.1	21
Octubre	23.2	27.9	318.4	21
Noviembre	23.4	28.5	73.7	12
Diciembre	23.6	29.4	18.6	6

Fuente: IMN, 2008.

3.4. Altitud

La provincia de Puntarenas se encuentra ubicada a una altitud de 3 msm, aunque su geografía es irregular, contando con zonas pantanosas (Corcovado), islas (Chira, Venado, Cuchillo, Pájaros, etc.), manglares y penínsulas (Osa).

3.5. Zona de vida

La posición geográfica, cercanía de los océanos y la orografía define las condiciones ambientales para que exista una gran variedad de ambientes. Quesada (2007) ubica en Costa Rica 12 zonas de vida y estas abarcan los tipos de bosques clasificados en zonas de

vida como: bosques húmedos, muy húmedos, secos y pluviales y paramo, que se encuentran distribuidos en 5 diferentes pisos altitudinales.

Cuadro No. 2. Distribución de las zonas de vida presentes en Costa Rica, según piso y ámbito altitudinal

Piso Altitudinal	Límites de temperatura °C	Rango altitudinal (msnm)	Zonas de vida
Basal	Más de 24 (21)	0 – 700 Según región	Bosque seco Bosque húmedo Bosque muy húmedo
Pre montano	Entre 24 – 18 (26)	700 – 1400 Según región	Bosque húmedo Bosque muy húmedo Bosque pluvial
Montano bajo	Entre 18 – 12 (11)	1400 – 2700	Bosque húmedo Bosque muy húmedo Bosque pluvial
Montano	Entre 12 – 6 (13-5,5)	± 2400 – 3700	Bosque muy húmedo Bosque pluvial
Subalpino (Montano alto)	Entre 6 – 3 (6,5-2,7)	2800 – 4000	Paramo pluvial

Fuente: Quesada, 2007.

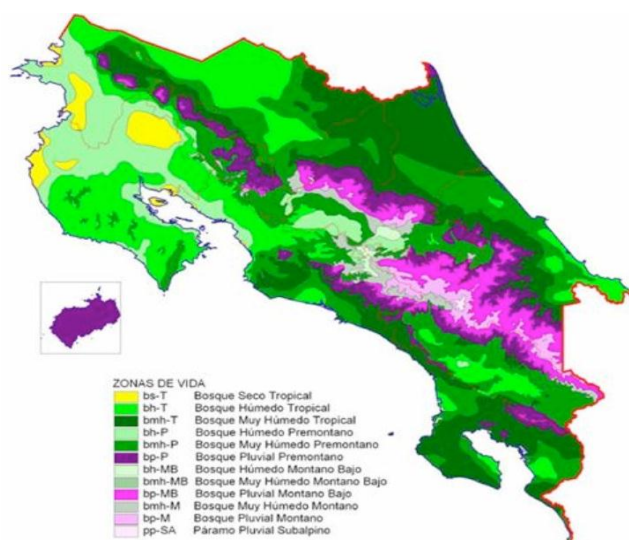


Figura No. 3. Ubicación de las zonas de vida de Costa Rica (Quesada, 2007)

3.6. Vías de acceso

Las carreteras están en buen estado, aunque hay que tener precauciones en las temporadas de lluvias. Por lo general, los ingresos terrestres a Costa Rica son por el norte, en la frontera con Nicaragua se ingresa por Peñas Blancas ruta Interamericana y por el sur, en la frontera con Panamá se ingresa por Sixaola (Limón), en la costa del Caribe.

3.7. Actividades productivas de la Unidad de Práctica

El laboratorio de Análisis Biológico Pesquero realiza estudios que apoyan a otros proyectos de las diferentes unidades de la Estación de Biología Marina enfocado a comunidades pesqueras o personas individuales que quieran llevar a cabo alguna actividad acuícola o pesquera en el área del Golfo de Nicoya y proyectos propios, además de los estudios requeridos por empresas privadas con relación a las pesquerías de la región.

3.8. Pesquerías en el Golfo de Nicoya

Las pesquerías en el Golfo de Nicoya juegan un papel importante ya que se extraen aproximadamente más de 12 mil toneladas de pescado al año (Soto, 2007).

4. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS

4.1. Organigrama

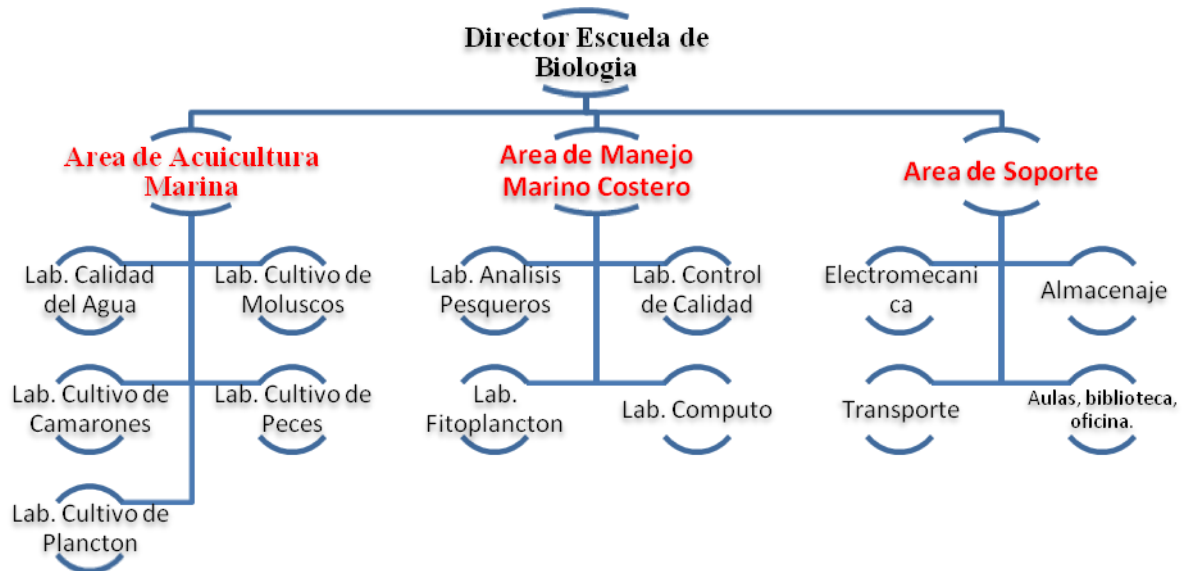


Figura No. 4. Organigrama de la Estación de Biología Marina, Puntarenas (EBM, 2005)

4.2. Objetivos de la Estación Biológica Marina

- Proporcionar la infraestructura básica para el desarrollo de los estudiantes de Biología Marina.
- Contribuir con el desarrollo sostenible de la zona marino costera.
- Contribuir con el desarrollo del conocimiento científico de la zona marino costera del Golfo de Nicoya.

4.3. Misión

Formar profesionales, generar conocimiento y resolver problemas al sector productivo. Se caracterizan por ser profesionales identificados con la problemática de la zona costera y oceánica, de alto nivel, de carácter interdisciplinario con una infraestructura especializada.

4.4. Academia

- Docencia: cursos regulares dentro de los que se incluyen clases para los niveles de Bachillerato y Licenciatura en Biología Marina, y la Maestría en Ciencias Marinas y Costeras.
- Extensión: proyectos en temas tales como la transferencia tecnológica, comercialización de productos acuícolas, educación ambiental.
- Investigación: operan proyectos en su mayoría aplicados a problemáticas propias de las zonas costeras y el océano.

4.5. Control de personal y prestaciones laborales

El personal docente y administrativo cuenta con una jornada de trabajo de 8 horas diarias en un horario de 8:00 AM a 5:00 PM de lunes a viernes, en cuanto a prestaciones las personas que tienen más de cinco años de laborar en la institución y que no han fraccionado ningún contrato tienen derechos a prestaciones laborales.

4.6. Prestación de servicios externos

La Estación se encuentra inscrita en la Fundación UNA, como la Unidad de Maricultura, Ecología y Manejo Costero (UNEMACO). Dicha unidad elabora proyectos en temas relacionados con la problemática costera y marina, dirigidos a dar una respuesta rápida y eficiente a los sectores privados y de interés social de la región costera (EBM, 2005).

5. METODOLOGÍA DEL PROCESO HISTOLÓGICO GONADA DE PECES

5.1. Análisis macroscópico y disección de la muestra

Se debe de hacer una evaluación externa del pez, con el objetivo de identificar la especie y ver la integridad del pez en su totalidad. Se toman medidas como el tamaño y peso del pez (Figura No. 4).



Figura No. 4. Medición de longitud y peso del organismo (Trabajo de Campo, 2010)

Una vez analizado el pez externamente, este se debe diseccionar para observar la gónada (Figura No. 5) y a su vez determinar el sexo, las gónadas en las hembras generalmente son dos sacos de color rojizo cuando está inmadura y anaranjada cuando está madurada o desovando, por el contrario en los machos la gónada son dos sacos blanquecinos cuando están maduros y grisáceos cuando son inmaduros.

Las gónadas se encuentran centralmente a la columna vertebral y la vejiga natatoria, recordando que si el espécimen está muy maduro, esta va a ocupar casi la totalidad de la cavidad ventral.



Figura No. 5 Disección ventral de *Arius* sp. (Trabajo de Campo, 2010)

La disección se lleva a cabo realizando un corte desde el ano hasta la cavidad branquial mediante el uso de unas tijeras o un bisturí, se debe de tener cuidado al realizar el corte para cortar únicamente piel, ya que, se puede romper las gónadas o algún otro órgano y dificultar así la extracción del mismo, una vez hecho el corte se podrá observar en primer plano cada uno de los lóbulos de la gónada dispuestos ventralmente.

Una vez disectado el espécimen y localizada la gónada, se extrae con cuidado, estas se pueden tomar individualmente el par de gónadas o se retira por completo todo el material visceral para una extracción más cuidadosa, ya con las gónadas extraídas se lleva a cabo al menos dos cortes a un lóbulo (para obtener dos porciones de la misma), con el fin que en los procesos de deshidratación penetren bien los compuestos químicos y obtener muestras de un tamaño viable para su manejo y análisis. Se debe de tomar en cuenta que una etiquetación apropiada del espécimen es vital a lo largo de todos los procesos para evitar una confusión en las muestras.

5.2. Fijación de la muestra

El proceso de fijación tiene como objetivo evitar los cambios post-mortem como la putrefacción, la autólisis; y este con el fin de fijar con algunos compuestos químicos y preservar las células lo más similares posible a cuando estaban vivas o sea que se debe inmovilizar la célula y conservar exactamente todas las partes constitutivas. El éxito de este proceso depende de la rapidez con que sean fijados los tejidos después de muerto el organismo. Por lo que es de suma importancia: la selección correcta del fijador (Cuadro No. 3) su velocidad de penetración, así como utilizar la cantidad suficiente para cubrir sobradamente el tejido.

Una acción rápida y enérgica del reactivo impide las alteraciones espontáneas post-mortem, aunque este modifica la estructura celular. Los mejores fijadores son los que además de actuar rápidamente producen el menor número posible de reacciones (modificaciones) secundarias o artificios, capaces de darnos una lectura errónea de la morfología interna de la célula. El fijador ideal sería aquel que conservase la célula en un estado idéntico al estado original.

El tamaño de las gónadas varía mucho en especies, si son pequeñas es recomendable que se fijen en una sola pieza, si son grandes es necesario dividir las en segmentos de 1cm² aproximadamente, para que el fijador pueda penetrar adecuadamente; si esto no es posible, se pueden hacer algunas incisiones, de lo contrario la muestra no quedará debidamente fijada y la imagen microscópica quedará defectuosa.

Una vez extraídas, se colocarán en un frasco en el que previamente se ha vertido el fijador adecuado al ovario o al testículo, en un volumen suficiente para cubrirlas sobradamente. Si se fraccionó, se les puede numerar o dar una clave a cada uno para su reconocimiento anatómico, y se etiqueta con los datos correspondientes a la especie, localidad, fecha y colector, de preferencia en una tarjeta blanca y a lápiz ya que si se utiliza cualquier tinta será diluida por los químicos en este proceso o en los posteriores.

Cuadro No. 3. Proceso de fijación de muestras por reactivo y tiempo

Proceso de Fijación	
Reactivo	Tiempo
Fijador (Bouin o Formalina 10%)	Si es Bouin no debe de ser mayor a 24 horas
Lavado con Agua	Toda la noche
Etanol al 70%	Indefinido hasta Deshidratación

Fuente: Trabajo de Campo, 2010.

5.3. Deshidratación de la muestra

En este proceso el tejido es sometido a una serie de solventes para conservar la posición original de cada elemento que conforma el corte. Este método consiste en deshidratar, aclarar, infiltrar el tejido a manera de retirar el agua en los mismos.

Las muestras son puestas en unas cajas pequeñas plásticas con rendijas que permiten la penetración de las diferentes concentraciones de compuestos. Esta se lleva a cabo en una

batería de frascos de vidrio, cada uno identificado apropiadamente con el contenido en ellos, los cuales van a contener diferentes concentraciones de alcohol y serán sometidas durante un tiempo determinado en sus diferentes etapas (Cuadro No. 4). Es importante que antes de comenzar con el proceso de deshidratación la muestra sea sumergida en agua por un periodo de no más de 20 min para eliminar cualquier restante del fijador.

Cuadro No. 4. Proceso de deshidratación de muestras por reactivo y tiempo

Proceso de Deshidratación	
Reactivo	Tiempo
Etanol al 70%	1 hora
Etanol al 80%	1 hora
Etanol al 90%	1 hora
Etanol al 95%	1 hora
Etanol Absoluto	1 hora
Etanol Absoluto: Xilol 50:50	30 minutos
Xilol 1	1 hora
Xilol 2	30 minutos

Fuente: Trabajo de Campo, 2010.

5.4. Embebido o parafinado de la muestra

En esta etapa del procesamiento se somete las muestras a una serie de frascos con parafina y otros compuestos (Cuadro No. 5) que se mantienen en un horno a 60°C para mantenerla líquida durante el proceso (Figura No. 6) con el objetivo de llenar los espacios restantes entre las células ubicadas en las gónadas y conservar la posición de las mismas.



Figura No. 6. Horno contenedor de parafina para el embebido
(Trabajo de Campo, 2010)

Para la elaboración del bloque final, los tejidos ya deshidratados, aclarados, infiltrados y parafinados se colocan en un molde dándoles la orientación adecuada respecto al plano estructural del órgano.

Se colocan en los cubos de plástico o metal y se llenan con parafina, teniendo cuidado que el tejido conserve la posición correcta; hay que recordar que cuando la parafina se enfría se contrae debiendo llenar lo suficiente para prever esta situación.

Después de haberse solidificado se procede a retirar la muestra parafinada del recipiente y se corta el excedente de parafina, esto con el objetivo de dejar expuesta la mayor cantidad de tejido gonadal y realizar un mejor corte al micrótopo, luego este es ubicado en un pequeño trozo rectangular de madera, calentando un poco de parafina en el y presionando la muestra parafinada contra él hasta que se solidifique.

También es pertinente, que una vez que se ha solidificado se le coloque una tarjeta con el número o clave del tejido hacia arriba y agregar una pequeña capa de cera, de esta manera se facilitará su identificación definitiva.

Cuadro No. 5. Proceso de Embebido o Parafinado de la muestra por componente y tiempo

Proceso Embebido	
Componente	Tiempo
Xilol: Parafina $\frac{3}{4}$: $\frac{1}{4}$	1 hora
Xilol: Parafina $\frac{1}{2}$: $\frac{1}{2}$	Toda la Noche
Xilol: Parafina $\frac{1}{4}$: $\frac{3}{4}$	30 minutos
Parafina 1	30 minutos
Parafina 2	30 minutos

Fuente: Trabajo de Campo, 2010.

5.5. Corte de la muestra parafinada en el micrótopo

La muestra previamente montada en trozos pequeños de madera (Figura No. 7) se debe enfriar en una plancha con agua y hielo para endurecer la parafina y evitar que los cortes se peguen o se plieguen, de tal manera que no se puedan extender, además que de esta manera la parafina se solidifica más, facilitando el corte con la cuchilla del micrótopo (Figura No. 8).



Figura No. 7. Montaje de muestras parafinadas en trocitos de madera (Trabajo de Campo, 2010)

Los cortes deben ser lo más delgados posibles para que puedan ser atravesados por la luz del microscopio. Para el grosor del corte del ovario, algunos autores como Yamamoto y Yamazaki (1961) recomiendan que sea de 10 μ ; mientras que Benítez (1991) recomienda

que sea entre 6 y 8 μ . El grosor del corte se ajustara durante el corte y dependerá también de la madurez de la gónada.



Figura No. 8. Corte de muestra al micrótopo (Trabajo de Campo, 2010)

Una vez que se obtenga el corte deseado se colocan en los porta objetos que has sido previamente preparados frotándoles una pequeña gota de albúmina de Mayer sobre una plancha de calentamiento a una temperatura de entre 35 a 45°C y aplicando una cantidad de agua en el para qué caliente y el corte se extienda en el.

Se puede utilizar también el baño María que contenga agua destilada a una temperatura entre 48 y 50 °C con 5 gramos de gelatina farmacéutica (gelatina USP marca Baker) por cada 100 ml. de agua (Rodríguez, 1992). También para recoger cortes se puede tomar un portaobjeto seco, al que se le deposita en su centro una gota pequeña de albúmina de Mayer, se extiende esta gota con el borde externo del dedo meñique, la gota debe quedar extendida por completo, formando una película sumamente delgada, casi invisible.

Ahora se lleva el portaobjetos al agua de modo que su cara untada esté arriba. Se coloca esta cara por debajo de un corte sin defectos. El corte puede ser sujetado por un pincel. Se levanta el portaobjetos y se extrae del agua junto con el corte en el centro del portaobjetos, se escurre el agua y se colocan en una plancha desparafinadora, buscando que el corte quede bien adherido y sin parafina para iniciar el proceso de tinción.

5.6. Hidratación y tinción de la muestra

Considerando que la mayoría de los colorantes son afines al agua, los cortes deben estar desparafinados e hidratados para que puedan teñir bien.

Como último paso, antes de hacer la lectura de la muestra, está la tinción que se hace con el fin de teñir las estructuras celulares y titulares para su posterior identificación. Estas se hacen pasar por una batería de reactivos y soluciones por determinado tiempo, para su tinción (Cuadro No. 6) que van de acuerdo con las estructuras que se quieran identificar en las células.

Cuadro No. 6. Tabla Proceso de tinción de las muestras por reactivo y tiempo

Proceso de Tinción	
Reactivo	Tiempo
Xilol 1	10 minutos
Xilol 2	10 minutos
Etanol Absoluto	5 minutos
Etanol al 90%	10 minutos
Etanol al 80%	10 minutos
Agua	Lavados
Hematoxilina	4 minutos
Agua	Lavados
Etanol Ácido	10 segundos
Agua	Lavados
Agua Amoniacal suave	3 segundos
Eosina	4 minutos
Etanol al 80%	1 minuto
Etanol al 90%	1 minuto
Etanol Absoluto	1 minuto
Xilol 1	2 minutos
Xilol 2	1 minuto

Fuente: Datos de laboratorio, (2010).

5.7. Montaje con bálsamo del cubreobjetos

Después que el tejido está debidamente teñido, aún humedecido con el Xilol, se coloca una gota de bálsamo de Canadá que le cubra completamente, enseguida se instala en el secador. Deberá permanecer en observación, con el fin que no hayan burbujas de aire entre el cubreobjetos y la muestra, puesto que esto dificultaría la observación de la misma. De haber presencia de burbujas de aire, se procederá a colocar una pequeña gota de bálsamo Canadá y otra de Xilol, frotando con suavidad y un poco de presión, con el propósito de eliminarlas. Cada lámina debe rotularse bien.

5.8. Secado de la muestra

Coloque la lámina en un secador de láminas, esto puede durar varios días. Una vez que las láminas estén bien secas puede proceder a la observación y análisis de las mismas. De ser necesario se puede repetir el proceso de bálsamo si quedara alguna burbuja de aire que se formó durante ese proceso de secado.

5.9. Observación y análisis de las muestras terminadas

Una vez que se tienen las láminas bien secas y teñidas se procede a analizarlas en el microscopio y a agruparlas de acuerdo con las diferentes escalas de desarrollo gonádico. Existen muchas variaciones de ellas, pero en el Laboratorio de Análisis Biológico Pesquero se trabaja con uno modificado de Vásquez (1999).

Una vez elaborados los cortes, permitirán el reconocimiento de la anatomía microscópica en donde la pared del ovario está formada por tres capas: la externa compuesta por epitelio cúbico-ciliar; la media de tejido conectivo en donde se localizan los vasos sanguíneos que la irrigan y la más interna de naturaleza compacta y fibrosa.

El interior está ocupado por el estroma ovárico que es lameliforme y en el se encuentran embebidas las ovogonías, a pesar de su sencillez morfológica tiene gran importancia porque contiene los vasos sanguíneos y las células somáticas que se asocian al desarrollo del

oocito: las células foliculares y las tecales, y es además, una zona que puede responder a condiciones adversas con fenómenos proliferativos e inflamatorios (Benítez, 1991).

Durante el ciclo reproductor, el ovario presenta cambios que pueden ser detectados macroscópicamente y entonces se aplicará alguna de las Escalas de Maduración Empírica o bien, estos cambios pueden ser analizados histológicamente y no tiene correspondencia con los primeros. En este caso el número de estadíos variará de acuerdo con los autores y especies, aunque fundamentalmente es el mismo patrón. Es conveniente señalar que en peces con desarrollo asincrónico se pueden encontrar todos los estadíos; mientras que en los de desarrollo sincrónico y sincrónico por grupos, solo habrá uno o uno por región el ovario respectivamente.

Las ovogonias se reconocen por ser células de citoplasma claro, que pueden según la especie, encontrarse aisladas o formando acúmulos. A diferencia de la gran mayoría de mamíferos, permanecen en la etapa adulta por lo tanto, pueden formar oocitos durante toda la vida (Benítez, 1991).

La oogonia origina los oocitos primarios, los cuales se encuentran rodeados de células foliculares, que constituyen la unidad estructural que se conoce como folículo y en donde los distintos autores (Bieniarz; Epler, 1976; Benítez, 1991), proponen los diferentes estadíos de desarrollo microscópico que con algunas variantes son similares para la mayoría de las especies.

5.10. Estadios de madurez sexual de las gónadas

Para la clasificación de los estadios de madurez sexual de las gónadas, se utiliza la clasificación modificada de Vásquez (1999). Esto se debe por qué la latitud en la que se encuentra Costa Rica es un ambiente de climas cálidos y los ciclos reproductivos de las especies son muy variables y pueden tener varios desoves al año. La clasificación varía dependiendo también de la especie observada por lo que generalmente se irán haciendo ajustes de la misma durante el proceso de clasificación.

5.10.1. Estadío I

En esta etapa los oocitos se pueden observar en un estado previtelogénico, caracterizados por ser unos de forma irregular y otros más redondeados, también se caracterizan por su coloración azul intensa (Figura No. 9). Se puede decir que la gónada a iniciado su proceso de maduración y sus oocitos se encuentran aparentemente en reposo.

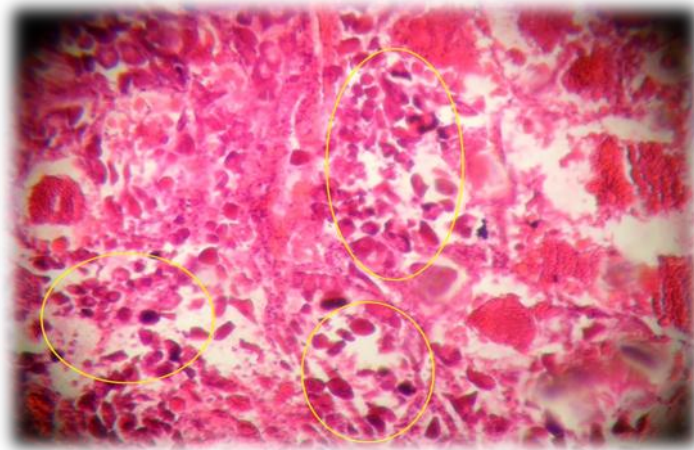


Figura No. 9. Estadío I, oocitos muy pequeños de formas irregulares y color azul intenso. Corvina reina (HE, 40X) (Trabajo de Campo, 2010)

5.10.2. Estadío II

Los oocitos se observan mucho más grandes, de varios tamaños y en diferentes estadíos previtelogénicos y vitelogénicos, también presentan un desarrollo trofoplasmático. Evidente que el proceso de maduración ha iniciado y el diámetro de los oocitos aumenta progresivamente. Aquí da inicio el desarrollo gonadal con la primera fase de la vitelogénesis. Comienza a definirse la estructura de la membrana del oocito, el epitelio granular y la membrana interna, aunque una de las características más notorias en este estadío es la aparición de su núcleo y un color menos intenso (Figura No. 10).

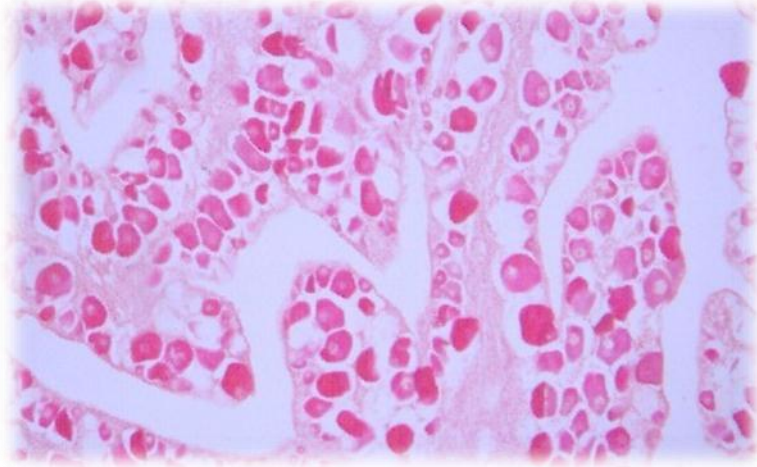


Figura No. 10. Estadio II, oocitos con aparición del núcleo de una Salema (HE, 40X) (Trabajo de Campo, 2010)

5.10.3. Estadío III

En esta fase de crecimiento trofoplasmático intenso la diferenciación de su núcleo y nucléolos es más evidente (Figura No. 11) y el tamaño de los oocitos aumenta considerablemente, los oocitos desarrollados son eosinófilos, por lo que se tornan en un color rosado tenue mostrando más notable el proceso discontinuo en el desarrollo de los oocitos y observándose oocitos previtelogénicos y vitelogénicos. El núcleo ocupa una posición central.

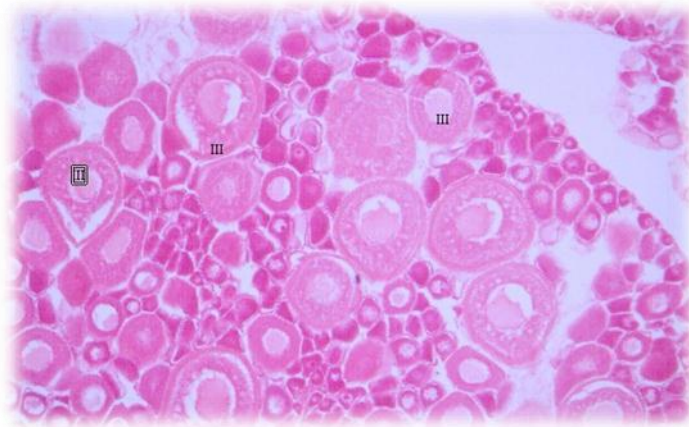


Figura No. 11. Estadio III, oocitos con diferenciación del núcleo de Sardina gallerá pecosa (HE, 40X) (Trabajo de Campo, 2010)

5.10.4. Estadío IV

Los oocitos tienen una apariencia distinta porque están totalmente hidratados y transparentes (Figura No. 12), con un diámetro mayor que en el estadío anterior, este es un periodo muy corto y solamente se observa antes o durante el desove, aquí se puede encontrar folículos vacíos que son evidencia del proceso de ovulación.

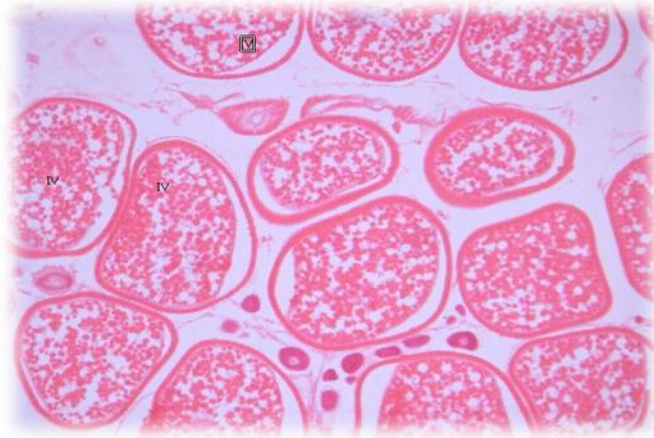


Figura No. 12. Estadío IV, oocitos totalmente hidratados, evidencia el comienzo del proceso de desove de un Mero (HE, 40X) (Trabajo de Campo, 2010)

5.10.5. Estadío V

Este es un proceso intenso de reabsorción de los folículos vacíos y oocitos residuales no desovados (Figura No. 13), observándose una masa de tejidos sobrantes y presenta la membrana plasmática discontinua y deshecha, casi transparente, característica que permite diferenciar claramente esta fase.

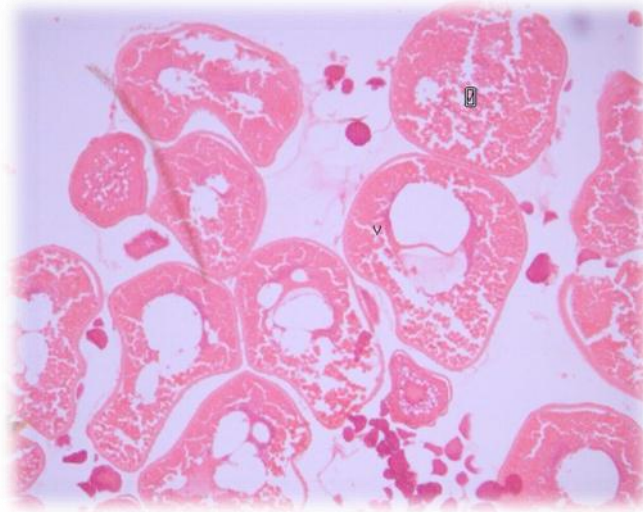


Figura No. 13. Estadio V, oocitos en proceso de reabsorción. Lisa común (HE, 40X) (Trabajo de Campo, 2010)

5.10.6. Estadios con maduración asincrónica

En estos casos la presencia de diferentes etapas de estadio de madurez sexual es evidente y se caracteriza por tener oocitos de diferentes tamaños y estadios (Figura No. 14) lo que dificulta su clasificación, de tal manera que se hace un recuento de los oocitos que presentan una mayoría para establecer su estadio de madurez sexual.

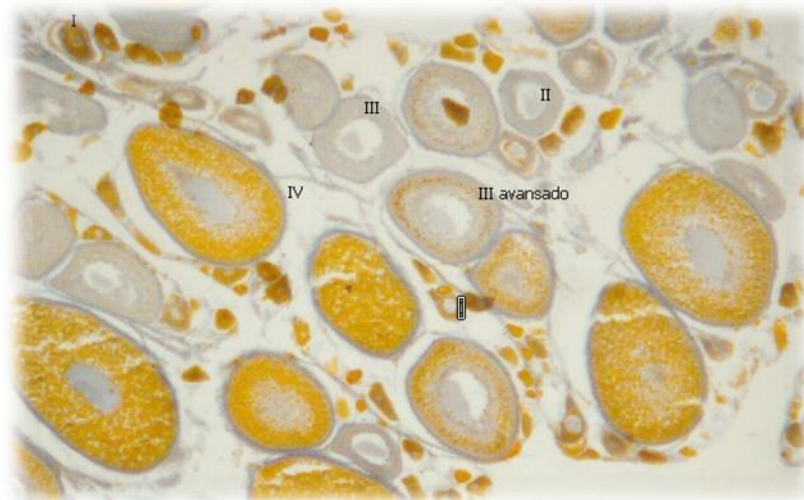


Figura No. 14. Maduración asincrónica, con la presencia de diferentes estadios de un Jurel bonito (HE, 40X) (Trabajo de Campo, 2010)

6. TÉCNICAS DE MUESTREO

Para la obtención de la muestra se utilizaron varias técnicas de recolección o artes de pesca. Las muestras se tomaron en los alrededores de la isla de Pájaros (Figura) en lugares estratégicos y previamente ubicados.

6.1. Trasmallos

Fueron utilizados tres tipos de trasmallos para la recolección de muestras (Cuadro No. 7) que previamente a su lance fueron lujados (Figura No. 15) para evitar que estos se enredaran. Se dejaban los trasmallos por un periodo de 2 a 3 horas y posteriormente se recogían y recolectaban las muestras atrapadas en el.

Cuadro No. 7. Tamaño de trasmallos para muestreos

Tamaño de Trasmallos			
	Luz del trasmallo	Longitud del trasmallo	Alto del trasmallo
Trasmallo A (Dos tipos de trasmallos unidos)	1.5 Pulg.	50 m	1.5 m
	3 Pulg.	100 m	2 m
Trasmallo B	2 Pulg.	150 m	2.5 m

Fuente: Trabajo de Campo, 2010.



Figura No. 15. Lujado de los trasmallos (Trabajo de Campo, 2010)

6.2. Red de Arrastre

La red de arrastre que se utilizó era de cuerda de nylon con una luz de maya de $\frac{1}{2}$ pulgada y una longitud total de 4 metros, una longitud de copo de 2 metros, ancho de copo de .65 metros, ancho de abertura de 2.5 metros y alto de abertura de .90 metros.

Esta se arrastraba desde una lancha de 13 pies con un motor fuera de borda de 100 caballos de fuerza (Figura No. 16), y se utilizaba un GPS para marcar los puntos de georeferencia de lance y levantamiento de la red así como su ruta y recorrido. Al terminar el tiempo y distancia del recorrido se levanta la red de arrastre y se colectan los organismos capturados, se pesan y se clasifican (Figura No. 17) para su posterior análisis en el laboratorio.



Figura No. 16. Extensión y lance de la red de arrastre para muestreos de fondo (Trabajo de Campo, 2010)



Figura No. 17. Medición de peso de captura de red de arrastre (Trabajo de Campo, 2010)

7. ÁREA DE MUESTREO

Las muestras fueron tomadas en los alrededores de la isla Pájaros ubicada en el Golfo de Nicoya coordenadas geográficas $10^{\circ}04'09.43''\text{N}$, $84^{\circ}58'41.62''\text{O}$, y los puntos georeferenciales de la colocación de trasmallos y red de arrastre se especifica en el mapa (Figura No. 18).

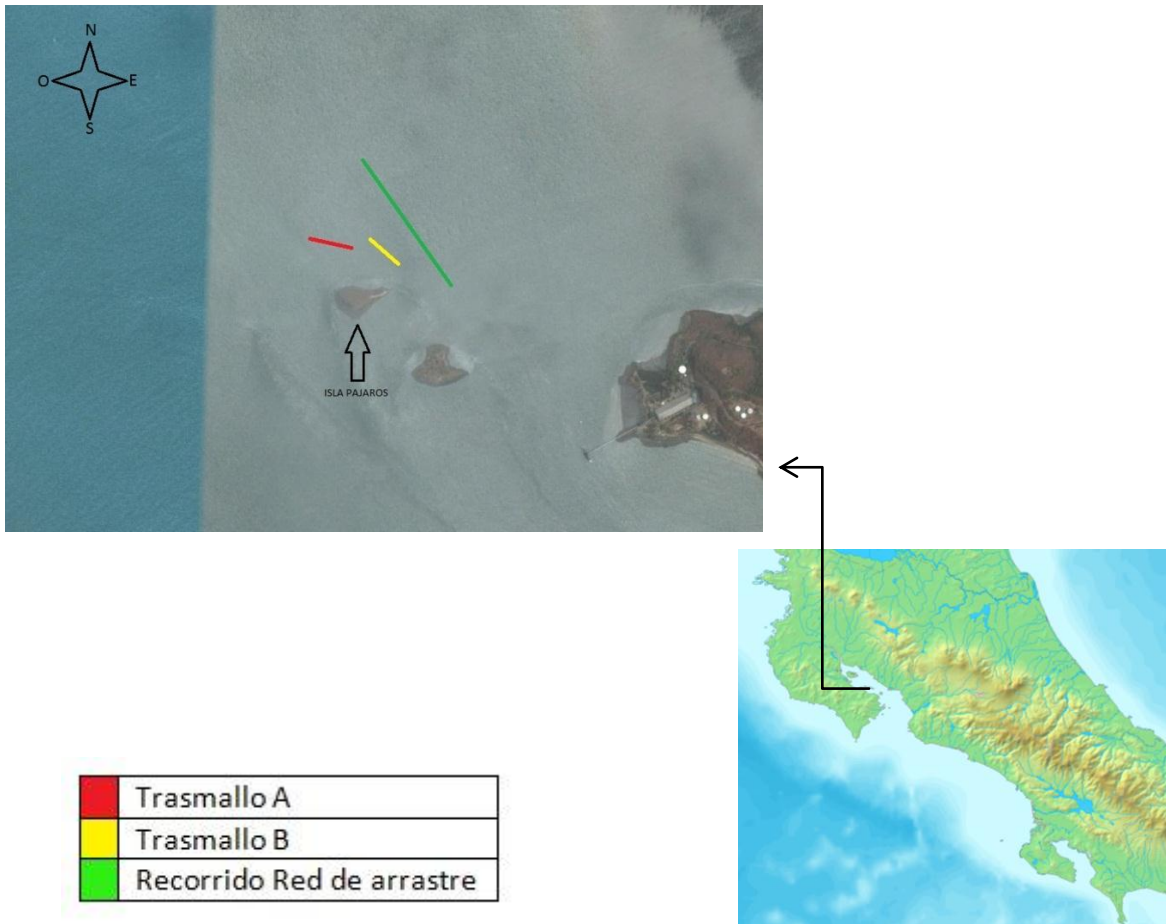


Figura No. 18. Ubicación de trasmallos y red de arrastre en Isla Pájaros (Google earth, 2010)

8. PLAN DE ACCION

Semana	Actividad	Objetivo
<p>Semana 1 11/10/2010</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Presentación del personal de la Estación de Biología Marina, Puntarenas y sus instalaciones. - Presentación de procedimientos del laboratorio de análisis biológico pesquero. - Gira de campo para recolección de organismos y medición de biodiversidad con trasmallos y red de arrastre en isla de Pájaros. 	<ul style="list-style-type: none"> - Aprender las técnicas utilizadas en el procesamiento de muestras para histología gonadal. - Realizar los muestreos y aprender las técnicas de pesca y muestreos.
<p>Semana 2 18/10/2010</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Procesamiento de muestras en el laboratorio de análisis biológico pesquero, de muestras de isla Pájaros. - Gira de recolección de organismos y medición de biodiversidad con trasmallos y observación subacuática en isla Cuchillo. 	<ul style="list-style-type: none"> - Utilizar las técnicas de análisis histológico en gónadas de peces. - Preparar muestras de moluscos para análisis histológico. - Poner en práctica las técnicas de pesca para los muestreos.
<p>Semana 3 25/10/2010</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Procesamiento de muestras en el laboratorio de análisis biológico pesquero, corte de muestras isla Pájaros. - Apoyo conjunto con personal de la Universidad de El Salvador en preparación y corte de otolitos. - Procesamiento de muestras del laboratorio de cultivo de moluscos de la –EMB–, 	<ul style="list-style-type: none"> - Utilizar las técnicas de análisis histológico en gónadas de peces y moluscos. - Realizar los procedimientos de preparación, corte y análisis de otolitos

	Pianguas (<i>Anadara tuberculosa</i>).	
--	--	--

Semana	Actividad	Objetivo
Semana 5 08/11/2010	- Curso en Evaluación de Stock, impartido por el Profesor Ing. Msc. Cristian Canales (IFOP, Chile).	Entregar las herramientas cuantitativas necesarias para el análisis y modelamiento de datos pesqueros, con énfasis en la evaluación de poblaciones.
Semana 6 15/11/2010	- Curso en Evaluación de Stock, impartido por el Profesor Ing. Msc. Cristian Canales (IFOP, Chile).	Entregar las herramientas cuantitativas necesarias para el análisis y modelamiento de datos pesqueros, con énfasis en la evaluación de poblaciones.
Semana 7 22/11/2010	- Procesamiento de muestras en el laboratorio de análisis biológico pesquero, de muestras de isla Cuchillo.	- Realizar de muestras de peces para análisis histológico gonadal.
Semana 8 29/11/2010	- Gira de campo para recolección de organismos y medición de biodiversidad con trasmallos y red de arrastre en isla Caballo. - Procesamiento de muestras de peces para histología de gónadas.	Llevar a cabo los muestreos para recolección de organismos con trasmallos y red de arrastre.
Semana 9 06/12/2010	- Muestreo aleatorio con anzuelo. - Preparación de informe de Práctica Profesional Supervisada.	- Desarrollar técnica de muestreo con anzuelo.

9. RESULTADOS

Se llegó a determinar los estadios de madurez sexual del primer muestreo en isla Pajaritos el 10 de octubre del 2010, las muestras analizadas fueron seleccionadas en base a la importancia comercial de la especie y otras por características particulares.

Cuadro No. 8. Tabla Toma de datos de organismos analizados

No.	Especie	Talla (cm)	Peso (gr)	Peso Eviscerado (gr)	Sexo	Estadio Macroscópico	Peso Gónadas (gr)	Estadio Microscópico
1	Mentichirus nasus	20.5	34.28	27.8	H	3	0.67	2
2	Garrobo Picuda	21.6	56.35	43.5	M	n/a	0.77	2
3	Arius	28	194.9	172.1	n/a	Juvenil	0.09	macho
4	Arius	27	233.98	206.2	H	juvenil 2	0.16	n/a
5	Garrobo Picuda	37.2	321.2	287.6	H	2	6.2	5
6	Arius	32	306.1	137.5	H	n/a	no	5
7	Roncador pecoso	20.8	120.8	106.6	H	4	4.7	4
8	Corvina cinchada	19.9	72.9	67.6	M	n/a	n/a	n/a
9	Salmonete	21.3	127.7	113.7	M	n/a	n/a	n/a
10	Salmonete	21	122.9	109.1	H	3	2.4	3
11	Roncador pecoso	23.2	126.9	116.2	M	4	0.4	n/a
12	Salema	18.1	84.4	71.5	H	2	0.2	2
13	Jurel arenero	19.5	100.1	86.6	H	n/a	0.1	n/a

Fuente: Trabajo de Campo, 2010.

10. CONCLUSIONES

1. La madurez sexual de los organismos no está determinada por un periodo específico o estación climática dada, las características biológicas de cada especie varían unas de otras y así sus periodos de madurez sexual.
2. La determinación de madurez sexual por el método macroscópico será poco confiable comparado a la del método microscópico en algunas especies por sus características biológicas que posean gónadas de un tamaño pequeño y sean difíciles de identificar a simple vista.
3. Los estadios de madurez sexual de peces analizados microscópicamente comparten generalmente las mismas características que las identifican durante cada estadio y serán ligeramente diferentes en cada especie con variaciones de tamaño de oocitos o estructuras de paredes celulares.
4. El método histológico para la determinación de madurez sexual brinda la oportunidad de identificar con bastante exactitud el estadio de madurez que se encuentra el pez.

11. RECOMENDACIONES

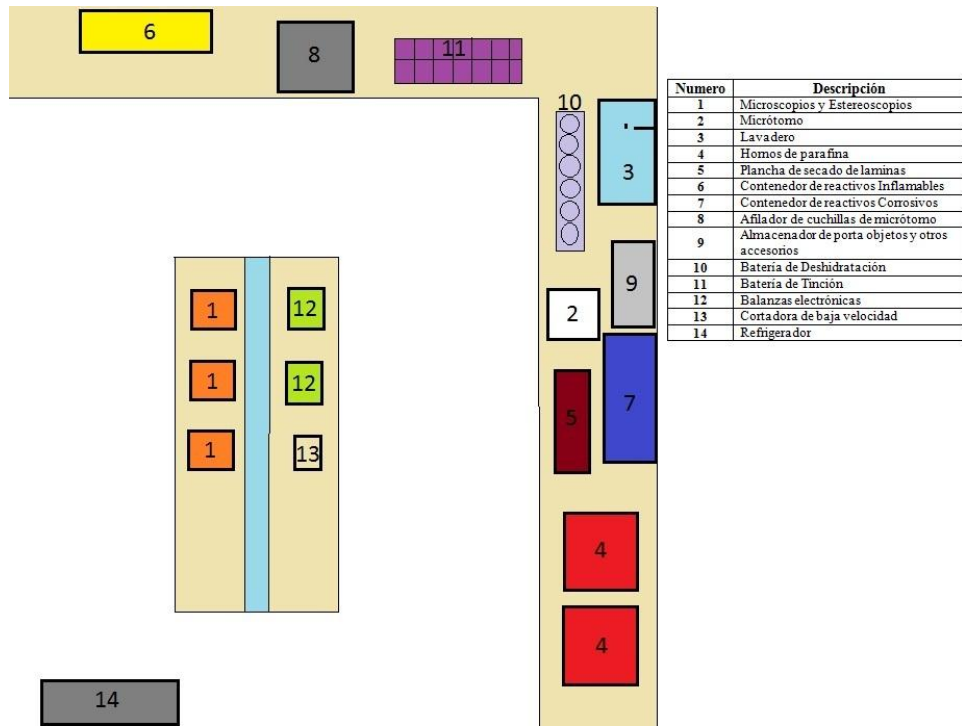
1. Fomentar al estudiante a actividades de manejo de recursos pesqueros y conservación de los mismos para el desarrollo de las pesquerías en Guatemala.
2. Crear diferentes estructuras de informe para Prácticas Profesionales Supervisadas para diferentes tipos de actividades realizadas en la carrera, ya que el actual hace énfasis en la producción piscícola exclusiva y no toma en cuenta las áreas de investigación, protección y manejo de diferentes recursos hidrobiológicos.
3. Hacer énfasis de la importancia del manejo de recursos pesqueros en el pensum de la carrera de Técnico en Acuicultura.
4. Establecer convenios con instituciones para llevar a cabo proyectos, asesorías, intercambio de conocimientos y estudiantes para fomentar el crecimiento de la acuicultura en el istmo centroamericano.

12. BIBLIOGRAFÍA

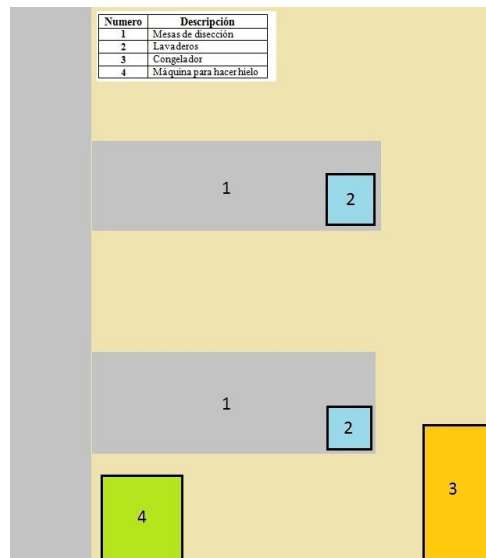
1. Bolaños, R. y Watson, V. 1993. Mapa ecológico de Costa Rica. Sistema de Clasificación de Zonas de Vida de Holdridge. Centro Científico Tropical. San José, Costa Rica. Escala 1:200.000.
2. Chacón C.; Soto R.; Shimazu Y, 2007. Estadísticas pesqueras del Golfo de Nicoya - 1994 a 2005-, Incopesca, UNA, JICA, Costa Rica.
3. Datos Climáticos, Puntarenas. 2008. Instituto Meteorológico Nacional. Consultado el 6 nov. 2010. Disponible en : <http://www.imn.ac.cr/IMN/>
4. EBM (Estación de Biología Marina Puntarenas). 2007. Universidad Nacional de Costa Rica, UNA. Consultado el 27 nov. 2010. Disponible en <http://www.una.ac.cr/biol/una/ebm/ebmsp.htm>
5. Lynch, M., S. Raphael, L. Mellor, P. Spare, M. Inwood 1972. Métodos de laboratorio.
6. Lynch, R.; Mellor, S.; Sapare, L.; Inwood, P. 1972. Métodos de Laboratorio. 2a. Edición, Ed. Interamericana. México, Argentina, España, Brasil, Colombia, Chile, Ecuador, Perú, Uruguay y Venezuela. 1522 pp.
7. Mapoteca Virtual Escuela de Geografía, Facultad de Tierra y Mar, Universidad Nacional de Costa Rica (2005) Consultado el 27 dic. 2010. Disponible en: <http://www.mapoteca.geo.una.ac.cr>
8. Martoja, R.; Martoja-Pierson, M. 1970. Técnicas de histología animal. Toray-Masson, S.A. Barcelona. Interamericana. México. 350pp.
9. Quesada M, R. 2007. Los bosques de Costa Rica, Centro de investigación integración bosque industria, Escuela de Ingeniería Forestal, 16pp
10. Rodríguez, M. 1992. Técnicas de evaluación de la madurez gonádica en peces. A.G.T.: Editor, S.A. México, D.F. 65 pp.
11. Toral-Barza, L. & E. Gómez, 1985. Reproductive cycle of the cocle *Anadara antiquata* L. in Calatagan, Batangas, Philippines. J. Coast. Res. 1 (3): 241-245.
12. Vargas Ulate, Gilbert, 2009. Geografía de Costa Rica. Segunda Edición, San José, C.R., EUNED, 265 pp.

13. Vásquez, A. 1999. Aspectos de la biología reproductiva de la corvina aguada (*Cynoscion squamispinnis*) en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. Tesis de Licenciatura. Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. 68 pp.
14. Yamamoto, K.; Yamazaki, F. 1961. Rhythm of development in the oocyte of the gold-fish, *Carassius auratus* Bul. Fac. Fish. Hokkaido Univ. XII: (2) 93-110.

ANEXO



Anexo No.1. Croquis del Laboratorio de Análisis biológico Pesquero (Trabajo de Campo, 2010)



Anexo No.2. Croquis del Laboratorio de Pesquerías (Trabajo de Campo, 2010)



Anexo No.3. Despliegue de los trasmallos en la isla Pájaros (Trabajo de Campo, 2010)



Anexo No.4. Lancha utilizada para realizar los muestreos (Trabajo de Campo, 2010)