



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México

UNAM
POSGRADO
Ciencias del Mar y
Limnología



**DESCRIPCIÓN DEL DESARROLLO EMBRIONARIO
DEL TIBURÓN AZUL, *Prionace glauca*
(LINNAEUS 1758), EN LA COSTA OCCIDENTAL
DE BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO**

T E S I S

Que para obtener el grado académico de

Maestro en Ciencias

(Biología Marina)

p r e s e n t a

OSCAR URIEL MENDOZA VARGAS

Director de Tesis: DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA

Comité Tutoral: DR. FELIPE AMEZCUA LINARES

DR. FELIPE AMEZCUA MARTÍNEZ

DR. EDUARDO F. BALART PÁEZ

DR. AGUSTÍN HERNÁNDEZ HERRERA

Asesora Externa: DRA. ROSA ISABEL OCHOA BÁEZ

México, Distrito Federal, 2009

ÍNDICE

Lista de Tablas.	ii
Lista de Figuras.	iii
Resumen.	vi
Abstrac	vii
I. INTRODUCCIÓN.	1
II. ANTECEDENTES.	3
III. JUSTIFICACIÓN.	6
IV. OBJETIVOS	
3.1. Objetivo General.	7
3.2. Objetivos Específicos.	7
V. ÁREA DE ESTUDIO.	8
VI. MATERIAL Y MÉTODOS	
6.1. Trabajo de Campo.	11
6.2. Trabajo de Laboratorio	11
6.2.1. Datos Morfométricos	12
6.2.2. Estudios Histológicos	15
6.2.3. Transparentación.	17
VII. RESULTADOS	
7.1. Obtención de muestras.	18
7.2. Parámetros en la descripción de embriones	
7.2.1. Fecundidad	19
7.2.2. Distribución temporal de embriones.	20
7.2.3. Proporción de sexos.	21
7.2.4. Relación peso-longitud.	22
7.3. Descripción de embriones.	23
7.4. Cambios morfométricos durante el desarrollo embrionario de <i>P. glauca</i>	
7.4.1. Desarrollo de estructuras cefálicas.	29
7.4.2. Desarrollo morfológico de aletas.	31
7.5. Desarrollo osteológico en embriones de <i>P. glauca</i>	
7.5.1. Desarrollo osteológico de las estructuras cefálicas	34
7.5.2. Desarrollo osteológico de aletas.	38

7.6. Análisis histológico en embriones de <i>P. glauca</i>	41
VIII DISCUSIÓN	
8.1. Fecundidad	48
8.2. Distribución temporal de los embriones.....	48
8.3. Relación peso-longitud.....	49
8.4. Proporción de sexos	50
8.5. Descripción de embriones.....	51
8.6. Morfología del desarrollo embrionario en <i>P. glauca</i>	54
8.7. Desarrollo osteológico en embriones de <i>P. glauca</i>	55
8.8. Análisis histológico en embriones de <i>P. glauca</i>	56
IX. CONCLUSIONES	59
X. LITERATURA CITADA	61
XI. ANEXOS	
Anexo I	71
Anexo II.....	74
Anexo III	77
Anexo IV.....	90

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla I Abreviatura y nomenclatura de los datos morfométricos	14
Tabla II Tabla general de sexo, longitudes totales y peso	21
Tabla III Tabla general de valores morfométricos	73
Tabla IV Tiempos utilizados en la deshidratación de las muestras de histología	89

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Área de estudio	9
Figura 2 Localización y abreviación de datos morfométricas	13
Figura 3 Cortes transversales y longitudinales en embriones de menores tallas	16
Figura 4 Cortes transversales a lo largo del cuerpo del organismo	16
Figura 5 Hembras grávidas de tiburón azul registradas	18
Figura 6 Frecuencia de tallas de hembras grávidas	18
Figura 8 Frecuencia talla de los embriones registrados	19
Figura 9 Registro mensual de hembras grávidas durante los años de muestreo	20
Figura 10 Registro mensual de embriones	21
Figura 11 Frecuencia total de sexo	21
Figura 12 Frecuencia de sexos de embriones en cada hembra registrada	21
Figura 13 Relación peso-longitud obtenida de la muestra embrionaria	22
Figura 14 Orientación de embriones dentro de úteros maternos	23
Figura 15 Esquema de embrión menor de 6 cm LT	23
Figura 16 Fotografías de estructuras internas en diferentes embriones Fase I	24
Figura 17 Estructuras en diferentes embriones Fase I	25
Figura 18 Estructuras en diferentes embriones Fase II	26
Figura 19 Cambios en la coloración de los embriones	28
Figura 20 Hembra grávida expulsando embriones	28
Figura 21 Relación lineal de las diferentes de medidas del cuerpo y la cabeza contra la LT	30
Figura 22 Relación lineal de la primera y segunda aleta dorsal, aletas pectorales y saletas pélvicas contra la LT	32
Figura 23 Comparación de aletas pélvicas en embriones menores de 10 cm de LT	33
Figura 24 Relación lineal de medidas del gonopterigio, contra la longitud total	33
Figura 25 Relación lineal de medidas de aleta anal y aleta caudal contra la LT	34
Figura 26 Condrocráneo de <i>Prionace glauca</i>	35
Figura 27 Condrocráneo en embrión de 4.5 cm LT. Vista dorsal	36
Figura 28 Condrocráneo en embrión de 4.7 cm LT. Vista lateral	36

Figura 29	Condrocráneo en embrión de 31 cm LT. Vista dorsal	36
Figura 30	Condrocráneo en embrión de 9 cm LT. Vista dorsal	36
Figura 31	Cinturón pectoral en embriones de 4.5 cm LT y 9 cm LT	39
Figura 32	Cinturón pectoral hembra 8 cm LT. Azul de Toluidina 100X	39
Figura 33	Región pélvica en embrión de 4.5 cm LT	39
Figura 34	Región pélvica en hembra 9 cm LT y macho cm 9.7 LT.	39
Figura 35	Primer aleta dorsal en embrión de 4.5 cm LT y 9.7 cm LT	40
Figura 36	Aleta caudal macho 4.5 cm LT. Transparentación.	40
Figura 37	Dermis y epidermis. Embrión macho 32 cm LT. Mallory. 100X	45
Figura 38	Epidermis y denticulo dérmico. Embrión hembra 20 cm LT. Mallory. 400X	45
Figura 39	Denticulo dérmico. Embrión macho 20 cm LT. H-E. 400X	45
Figura 40	Denticulo dérmico. Embrión macho 20 cm LT. Von Kossa. 400X	45
Figura 41	Arcos branquiales. Embrión macho 31 cm LT. H-E. 40 X. Detalle de filamentos branquiales. Embrión macho 4 cm LT. Mallory. 100X	45
Figura 42	Laminilla branquial, células sanguíneas. Hembra 10 cm. Mallory. 400X	45
Figura 43	Cartílago hialino, condrocráneo embrión 4.8 cm LT. Mallory 400X.	45
Figura 44	Lamelas olfativas y detalle de lamelas olfativas. Embrión hembra 9 cm LT. Corte longitudinal. Mallory. 40X y 400X	45
Figura 45	Región óptica en embrión 3.8 cm LT. Azul Alciano 40 X.	46
Figura 46	Cuerpo vertebral. Embrión hembra 20 cm LT. H-E. 100X	46
Figura 47	Ámpula de Lorenzini. Embrión hembra 9 cm LT. Mallory. 400X	46
Figura 48	Detalle de sínfisis. Embrión hembra 20 cm LT. Mallory. 100X	46
Figura 49	Radio dérmicos en ceratotriquia. Hembra 10 cm LT. Mallory 400X	46
Figura 50	Filamentos branquiales. Embrión 3.8 cm LT. Azul alciano. 100X	46
Figura 51	Células sanguíneas en ventrículo. Hembra 10 cm LT. Mallory. 400X	46
Figura 52	Riñón. Embrión hembra 10 cm LT. Mallory. 400X	46
Figura 53	Hígado. Embrión macho 10 cm LT. Mallory. 400X	46
Figura 54	Arteria hepática. Embrión macho 10 cm LT. Azul de Toluidina. 400X	46
Figura 55	Corte longitudinal de intestino. Embrión 4 cm LT. H-E. 40X	47
Figura 56	Corte transversal en intestino. Hembra 10 cm LT. Mallory 100X	47

Figura 57	Arteria dorsal. Embrión hembra 10 cm LT. Mallory 100X	47
Figura 58	Paquetes musculares de región pectoral. Macho 4 cm LT. H-E. 40X	47
Figura 59	Paquetes musculares en mandíbula. Macho 11.2 cm LT. Mallory. 400X	47
Figura 60	Aurícula de corazón y musculatura estriada cardiaca. Embrión 4 cm LT. Mallory. 40 X y 400X	47
Figura 61	Musculatura estriada en ventrículo. Hembra 10 cm LT. Mallory. 400X	47
Figura 62	Neurona en cordón neural dorsal. Hembra 10 cm LT. Mallory. 400X	47

RESUMEN

El tiburón azul es una especie cosmopolita distribuida principalmente en aguas tropicales y templadas. Es capturada con fines comerciales en todo el mundo. Existen diversos estudios relacionados con su reproducción, sin embargo ningún estudio se ha enfocado al estudio del desarrollo embrionario. Dada la importancia de tener un conocimiento biológico integral de la especie, el presente trabajo aborda aspectos del desarrollo embrionario del tiburón azul, con énfasis en la morfología externa e interna de los embriones, el desarrollo osteológico, características histológicas, la fecundidad y la proporción de sexos intrauterina. Utiliza 1026 embriones provenientes de 46 hembras grávidas recolectadas en campos pesqueros de la costa occidental de Baja California Sur entre 2000 y 2004. Con un periodo de gestación de 12 meses, el tiburón azul presenta una talla de nacimiento de 46 cm LT. La fecundidad varió de 7 a 64 embriones distribuidos en ambos úteros. No se observó relación entre el número de embriones con respecto a la talla materna, y los embriones no presentan una disposición en particular dentro de los úteros. La proporción de sexos embrionaria fue de 1.04H:1M, sin diferencias significativas entre ellos ($p < 0.005$). La tasa de cambio de diferentes estructuras, o partes de ellas, con el crecimiento del embrión se describen a partir de modelos lineales simples. La relación peso-longitud resultó alométrica negativa (2.5). Se clasificó a los embriones en seis fases de acuerdo a las características morfológicas por intervalos de tallas. El cuerpo del embrión fue discernible desde los 2.8 cm LT. El gonopterigio se observó a partir de 3.6 cm LT. El desarrollo osteológico del condrocráneo evidencia esta estructura completamente formada desde los 10 cm LT. Histológicamente se evidenció la presencia de tejido cartilaginoso en el condrocráneo y aletas a partir de 3 cm LT. En organismos de 20 cm LT se identificó la presencia de material calcáreo en dentículos dérmicos.

ABSTRACT

The blue shark is a cosmopolitan species found in all oceans principally in tropical and temperate waters. This species of shark is fished with commercially intentions all over the world. Various studies related with its reproduction exist, however no study has focused to the study of embryonic development. Considered the importance to have a biological integral knowledge of species it, present work, discuss aspects of embryonic development of the blue shark, with emphasis in external morphology and intern of embryos, the development osteological, histological characteristics, fertility and the intrauterine proportion of sexes. The present study describes the embryonic development of the blue shark *Prionace glauca*, using 1026 embryos obtained from 46 gravid females collected in fishing fields of the western cost of south baja california during the years 2000 to 2004. The breeding period starts at the end of winter lasting all spring; and the births taking place during the warmest months of summer. Its period of gestation is 12 months, at birth the size of a blue shark is 46 cm TL. The fecundity varies from 7 to 64 embryos distributed in both uteruses. No relationship was observed between the number of embryos and the maternal size, embryos do not present a particular position in the uteruses. The embryonic sex ratio was of 1.04F:1M with out significant diference ($p < 0.005$). With a negative allometric growth. The embryos have been classified in six phases. the body was observed completely formed at 2.8 cm TL. The claspers were observed at 3.6 cm TL. The description of the osteological development of the chondrocranium is made using the transparent technic, primarily on organisms of smaller size. With histological cuts there was evidence of cartilaginous tissue present in the chondrocranium and fins at 3 cm TL. In organisms of 20 cm TL the presence of calcareous material in dermal denticle were identified.

I. INTRODUCCIÓN

Los Chondrichthyes son uno de los grupos vivientes más antiguos de los vertebrados mandibulados, los cuales presentan diversos modos reproductivos, que van de la oviparidad a la viviparidad (Wourms, 1977; Otake, 1990). El estudio formal de tiburones y rayas comienza con Aristóteles, quién realizó las primeras observaciones describiendo que algunos tiburones eran ovíparos mientras que otros eran vivíparos con placenta (Hamlett, 1999).

El desarrollo del embrión en los Chondrichthyes depende de la estrategia reproductiva. Las estrategias reproductivas en estos organismos han sido revisadas y clasificadas por diferentes autores (Otake, 1990). Wourms (1977) considera dos categorías: ovíparos y vivíparos, y a su vez subdivide la viviparidad en placentada y aplacentada. En la viviparidad aplacentada incluye a las especies que dependen solo de vitelo o las que presentan oofagia. En la viviparidad placentada agrupa aquellas que tienen una placenta análoga. Otake (1990) usa una clasificación similar, categorizando ovíparos y vivíparos, y divide a los vivíparos con base en la formación de compartimientos uterinos (Otake, 1990), siguiendo la siguiente clasificación:

1. Ovíparos
2. Vivíparos
 - A. Compartimientos uterinos no formados
 - Tipo I. Útero – Oofagia. (Ovovivíparos; vivíparos aplacentados)
 - Tipo II. Útero - Saco vitelino. (Ovovivíparos; vivíparos aplacentados)
 - B. Compartimientos uterinos formados
 - Tipo III. Útero - Saco vitelino. (Vivíparos placentados)
 - Tipo IV. Útero – Placenta. (Vivíparos placentados)

Actualmente existen más de 350 especies descritas de tiburones, que se dividen en ocho grupos u órdenes. En el Orden Carcharhiniformes se encuentran más del 55% de estas especies de tiburones, 48% de los géneros, y 27% de las familias. Muchos géneros y familias de tiburones son poco conocidos y su taxonomía necesita ser profundamente estudiada (Compagno, 2003).

La oviparidad se presenta en tres familias de quimeras, cuatro familias de rayas y en diez familias de tiburones. La viviparidad se ha observado en 453 especies de las aproximadamente 700 especies de condriictios, y es particularmente característica de tiburones, con un 69% de las especies (Otake, 1990). De 159 especies del orden Carcharhiniformes, alrededor del 34% son ovíparos, 18% ovovivíparos y 47% vivíparos placentados (Compagno, 2003). La totalidad de las especies de la familia Carcharhinidae son vivíparas placentadas, a excepción del tiburón tigre, *Galeocerdo cuvier*, que es vivíparo aplacentado (Compagno, 1984; Compagno *et al.*, 1995).

En la viviparidad placentaria, el vitelo se absorbe en las primeras etapas de gestación (Wourms 1977; Otake, 1990). Se desarrolla una placenta entre el saco vitelino y la pared uterina (Wourms 1977; Otake, 1990; Compagno *et al.*, 1995; Compagno, 2003). La placenta en tiburones es análoga a la de mamíferos, no presenta amnios ni alantoides. No se observa fuera del Orden Carcharhiniformes (Compagno, 2003).

La placenta en el tiburón azul *Prionace glauca*, se divide en porción distal y proximal. La porción distal incluye la placenta materna (red de epitelio simple columnar y capilares remarcados por pérdida de tejido conectivo de la pared uterina), placenta embrionaria (epitelio, red de capilares, tejido conectivo y línea de endotelio de celoma embrionario conectado al lumen intestinal por un ducto del cordón umbilical) y un espacio entre estas placentas. El epitelio materno está adherido directamente con el embrionario, sin ninguna membrana entre estos (Wourms 1977; Otake y Mizue, 1985).

Los aspectos estructurales de epitelios maternos y embrionarios en *P. glauca* indican un sistema activo en la transferencia placentar de nutrientes embrionarios por lo que el embrión se nutre a partir del intercambio de nutrientes y gases entre fluidos uterinos y la porción proximal de la placenta (Otake y Mizue, 1985; Otake, 1990). El tiburón azul presenta un periodo de 9 a 12 meses de gestación propuesto por diversos autores y una talla de nacimiento entre 35 y 50 cm LT (Suda, 1953; Strasburg, 1958; Aasen, 1966; Bass, *et al.*, 1975; Pratt, 1979; Cailliet y Bedford, 1983; Laughlin y Urogetz, 1999). El desarrollo embrionario del tiburón azul es desconocido. Por lo tanto, en el presente estudio se describen los cambios morfológicos y de proporciones del embrión a partir de material colectado en la costa occidental de Baja California Sur.

II. ANTECEDENTES

Existen estudios detallados sobre los elasmobránquios desde hace más de un siglo. Sin embargo los estudios realizados sobre la embriología de tiburones y rayas son escasos. Autores como Belon (1551) describe el enlace maternal del oviducto en los peces cartilaginosos como un “cordón umbilical”, Rondelet (1554) realiza dibujos de dicha conexión en *Mustelus lavéis*, mientras que Steno (1673) describe que dicha conexión es una placenta funcional, Malpighi (En: Adelman, 1966) realizó observaciones significativas acerca de la reproducción en peces incluyendo notas de la placenta en tiburones. Müller (1842) describió detalles del desarrollo y organización de la placenta (Hamlett, 1999). Balfour (1874, 1875, 1876, 1878) se concentró en estudios del desarrollo embrionario, haciendo comparaciones entre diferentes grupos de vertebrados (Balfour, 1875a; Balfour, 1875b), así como la descripción del desarrollo en estadios tempranos de elasmobranchios (Balfour, 1874, 1876a, 1876b, 1878). De Beer (1922) describe detalladamente la segmentación en la cabeza de *Squalus acanthias*, y el desarrollo del condrocraqueo de *Scyliorhinus canicula* (De Beer, 1931).

Holmgren (1940) describe el desarrollo del cráneo en tiburones y rayas, realizando reconstrucciones detalladas de diferentes estadios del condrocraqueo de *S. acanthias*, *Etmopterus spinax*, *Scyllium canícula*, *Heterodontus japonicus*, *Raja clavata*, *Torpedo ocellata*, *Urolophus halleri*. Compara generalidades y describe detalles específicos en las diferentes especies estudiadas. Jollie (1971), realiza cortes histológicos en dos embriones de *S. acanthias*, de 35-37 mm LT, comparando y confirmando parte de los resultados obtenidos por Holmgren en 1940.

En un estudio sobre reproducción, placentación y desarrollo embrionario de *Rhizoprionodon terraenovae*, Castro y Wourms (1993) describen una serie de estadios embrionarios con base en el desarrollo de los embriones, la placenta y pared uterina. Otro estudio donde describen estadios embrionarios, es el estudio sobre reproducción y desarrollo embrionario de *Isurus oxyrinchus* de Joung y Hsu (2005), donde clasifican el desarrollo embrionario en cinco estadios.

Francis y Stevens (2000) aportan datos acerca del desarrollo embrionario en *Lamna nasus* en el sureste del Océano Pacífico, así como la relación entre la talla y peso de los embriones con respecto al tamaño del saco vitelino. En un trabajo para reidentificar a un embrión lamniforme, Mollet *et al.* (2002), aplican diferentes metodologías, incluyendo anatomía esquelética, revisión de la dentición, análisis de ADN, concluyendo que se trata de un embrión de *I. oxyrinchus*.

Hamlett *et al.* (1993), en un estudio de viviparidad placentaria y aplacentaria en elasmobranquios, describen la formación de los dientes en *Carcharias taurus*. Reportan que en esta especie la dentición funcional aparece aproximadamente entre 40-45 mm de LT. Shimada (2002), realiza un estudio de la morfología dental embrionaria en diferentes especies de laminados, concluyendo que durante el desarrollo embrionario se presentan dos tipos de dentición, a los que define como “dentición embrionaria” y “dentición adulta”.

Con respecto a trabajos realizados en México enfocados al desarrollo embrionario de elasmobranquios, en Baja California Sur González-García (1998) describe el desarrollo embrionario de *Rhinobatos productus* a partir del registro de las características de 494 embriones, con énfasis en el desarrollo craneofacial y el de las aletas. Sánchez-Reyes (2004) describe el desarrollo embrionario del tiburón angelito, *Squatina californica*, en la Bahía de la Paz a partir de 68 embriones. En ambos estudios aplican metodologías de histología, transparentación, y morfométricas.

La amplia distribución del tiburón azul y su importancia pesquera, hacen posible que existan numerosos artículos publicados acerca de la especie. Sin embargo la mayoría están dirigidos al comportamiento, ecología y distribución (De Carvalho y Gomes, 1992). Algunos estudios de la reproducción del tiburón azul mencionan algunos detalles como la talla de nacimiento y el periodo de gestación. En un estudio de la ecología del tiburón azul, Suda (1953) propone un periodo de gestación de 9 meses, donde el nacimiento ocurre entre diciembre y abril, que son los meses en los que se encontraron los mayores embriones de 39 cm de LT, mientras que Pratt (1979) sugiere un periodo de gestación de 12 meses y propone que el nacimiento ocurre de marzo a julio, con una talla de nacimiento entre 35 y 44 cm de LT. Strasburg (1958), menciona que los embriones más grandes tienen una LT de 39 cm y se observan entre marzo y

mayo. Aasen (1966), en un estudio en Islas Canarias, encuentra embriones mayores de 40 cm de LT y concluye que el nacimiento ocurre entre febrero y abril. Cailliet y Bedford (1983) proponen que la talla de nacimiento es entre 34 y 63 cm de longitud total. Laughlin y Ugoretz (1999), al observar la expulsión de crías en las aguas costeras de California, concluyen que ésta podría ser una zona de alumbramiento y crianza. Carrera-Fernández (2004), en un estudio acerca de la biología reproductiva de esta especie en la costa occidental de Baja California Sur, propone una talla de nacimiento de 45 cm de LT.

Con respecto a trabajos enfocados a estructuras embrionarias en el tiburón azul, Otake y Mizue (1985) publican un estudio de la estructura de la placenta del tiburón azul, mientras que Otake (1990) en un estudio basado en la observación de tejidos y estructuras reproductivas concluyen que los aspectos estructurales de epitelios maternos y embrionarios en *P. glauca* indican un sistema activo en la transferencia placentar de nutrientes. Finalmente, Mendoza-Vargas (2006) describe la heterodoncia ontogenética y sexual presente en tiburón azul a partir de 32 mandíbulas en embriones de 10.3 a 41.5 cm LT. Este autor destaca que la formula dentaria de la especie se observa desde los primeros estadios del embrión.

Conocer aspectos embriológicos en elasmobranquios permite entender parte de la biología básica de las especies, aquella que involucra el tiempo de gestación. Sin embargo el desarrollo embrionario se desconoce en la mayoría de las especies de elasmobranquios. El presente estudio se enfoca en la descripción de diferentes aspectos del desarrollo embrionario del tiburón azul utilizando diferentes herramientas que permiten dilucidar el origen y los cambios morfológicos en el desarrollo de diferentes estructuras.

III. JUSTIFICACIÓN

Conocer aspectos embriológicos en elasmobranquios permite entender parte de la biología básica de las especies, en especial el de la progenie durante el tiempo de gestación de los tiburones, información relevante cuando se pretenden aplicar medidas de manejo en la explotación de la especie. Sin embargo el desarrollo embrionario se desconoce en la mayoría de las especies de elasmobranquios, el tiburón azul, *Prionace glauca*, no es la excepción. La carencia de dicha información motiva estas investigaciones biológicas.

El tiburón azul es una de las especies cosmopolitas que más se captura en las pesquerías de Elasmobranchii de todos los océanos. Por su fácil acceso y gran presión pesquera, puede ser un excelente modelo de estudio del desarrollo embrionario de los tiburones placentados. Un primer paso es obtener su descripción en nuestras aguas, bajo la influencia de masas de aguas características del océano Pacífico oriental. Es probable que el patrón descrito presente variaciones en los diferentes océanos donde se distribuye. Parte de esta información puede tener utilidad en términos de manejo pesquero, como la variación en el número de embriones con la talla de la madre, pero la mayor parte será una contribución importante al conocimiento básico sobre la biología de esta especie, parte de un grupo evolutivamente exitoso.

IV. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Describir aspectos del desarrollo embrionario del tiburón azul *Prionace glauca*, desde tres perspectivas metodológicas, morfometría, anatomía macroscópica e histología.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la fecundidad y la proporción de sexos embrionaria.
- Describir los cambios morfométricos de la anatomía externa en las diferentes fases del desarrollo embrionario del tiburón azul.
- Describir los cambios osteológicos en diferentes tallas.
- Describir los cambios morfológicos de la anatomía del tiburón azul.

V. ÁREA DE ESTUDIO

Las muestras utilizadas en esta investigación provienen de la pesquería artesanal de tres campos pesqueros de la costa occidental de Baja California Sur, México (Fig. 1), donde los pescadores otorgaron facilidades. Desde agosto del 2000 a agosto del 2004 se hicieron muestreos mensuales en Punta Belcher que se encuentra en el extremo sureste de Isla Magdalena entre los 24° 15' N y 112° 05' W, y quincenalmente en el campo pesquero Punta Lobos, ubicado a 23° 25' N y 110° 15' W, al sur de Todos Santos. En Las Barrancas, localizado a 26° 04' N y 112° 16' W, al sur de La Purísima, se realizaron muestreos mensuales durante el 2004.

Los campos pesqueros son los sitios de desembarque de la captura. Sin embargo la pesca de los tiburones se efectúa en zonas adyacentes, y se realiza de diferente manera en cada campo pesquero. En Punta Belcher los pescadores salen a pescar por la tarde, y permanecen en el mar toda la noche a una distancia aproximada entre 30 a 80 millas náuticas y regresan al amanecer. Utilizan redes de enmalle de deriva de aproximadamente 200 m de largo por 25 m de fondo, con luz de malla de 10 a 12 pulgadas. En Punta Lobos, los tiburones se capturaron con palangres colocados a una distancia de 40 millas náuticas de la costa, con una línea principal de aproximadamente 2.1 km, los pescadores salen al amanecer y regresan por la tarde. En Las Barrancas, los pescadores salen a pescar por la mañana y regresan al atardecer, utilizando red de enmalle y palangre a una distancia desde 30 a 50 millas náuticas.

La costa occidental de la península de Baja California forma parte de la región central del Océano Pacífico oriental, la cual posee en su conjunto una morfología compleja. Esta región contiene numerosas montañas, cordilleras y trincheras submarinas junto a zonas relativamente planas (Wooster y Cromweel, 1958). La plataforma continental es relativamente angosta, ensanchándose en regiones con golfos, bahías y lagunas costeras. El talud continental presenta anchuras variables y gradientes de diferentes pendientes, siendo en algunos lugares, los más pronunciados del mundo. Las mayores montañas y volcanes se ubican en la provincia de Baja California Sur, entre las zonas de fracturas de Murray y de las Clarión. En la costa occidental de Baja California Sur se encuentran algunos cañones y montañas submarinas como son: "Tío Sam",

“Rosa”, “Lusitania”, “Morgan” y “Golden Gate”; además de un sistema volcánico que se ubica entre las Islas Revillagigedo y la propia península (Chase, 1968).

La costa occidental de Baja California se encuentra influenciada por dos grandes sistemas de corrientes, la corriente de California y la corriente Norecuatorial. La corriente de California es una corriente de naturaleza geostrófica, con flujo de Norte a Sur; predomina durante los meses de invierno, primavera y principios de verano (De la Lanza, 1991). La corriente de California, fluye hacia el Sureste entre una celda de alta presión atmosférica hacia el Oeste y una celda de baja presión sobre el continente. Los vientos sobre la corriente de California, son en la mayoría provenientes del Norte y oeste (De la Lanza, 1991). La corriente de California transporta aguas con bajos valores de temperatura y salinidad (Reid, *et al.*, 1958). La corriente Norecuatorial transporta aguas de origen trópico-occidentales, caracterizadas por valores altos de temperatura y salinidad, y bajos niveles de oxígeno disuelto; aumenta su influencia durante los meses de verano y otoño (De la Lanza, 1991). Esta corriente y la de California se interconectan en las proximidades de Cabo San Lucas y Cabo Corrientes (De la Lanza 2001).

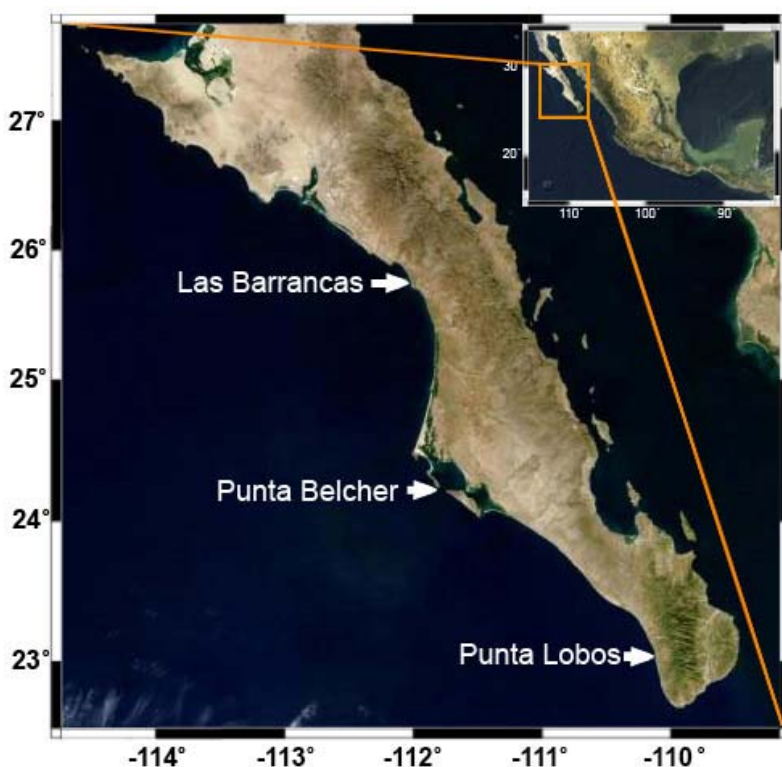


Figura 1. Área de estudio. Localización de los campos pesqueros donde se obtuvieron las muestras (Tomada y modificada de CONABIO, 2002)

Punta Belcher se encuentra en Bahía Magdalena dentro de un sistema lagunar dividido en tres áreas: zona noroeste o zona de canales; zona central, propiamente bahía Magdalena; y zona sureste o bahía Almejas. En general el clima en esta área es seco y desértico (De la Lanza 1991).

Punta Lobos presenta características oceanográficas muy particulares originadas por la presencia de la corriente de California, la contracorriente meridional e intensas surgencias a lo largo de la costa (De la Lanza 2001).

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. TRABAJO DE CAMPO

Durante el periodo de muestreo en Las Barrancas, Punta Belcher y Punta Lobos, el tiburón azul fue la especie más abundante en las capturas; lo que coincide con diversos autores que han trabajado en Baja California Sur (Ramírez-González, 2002; Guerrero-Maldonado, 2002; Blanco-Parra, 2003; Carrera-Fernández, 2004). El tiburón azul es una especie oceánica, que se encuentra por lo general en aguas superficiales (Bass, *et al.*, 1975; Compagno *et al.*, 1995). En Baja California Sur, esta especie es capturada principalmente con palangre (Ramírez-González, 2002). En los sitios de muestreo, los pescadores artesanales facilitaron la obtención de las muestras.

Para la colecta de las muestras de embriones de tiburón azul, se realizó una incisión en hembras desde la cloaca hasta el centro de las aletas para permitir el acceso a la cavidad visceral. Se recolectó todo el aparato reproductor de las hembras, fijándolo con formol al 10%, para su posterior análisis en laboratorio. En la bitácora de campo se registró localidad de muestreo, fecha, distancia de la costa a la zona de pesca, método de pesca y tipo de carnada utilizada para la captura. En todos y cada uno de los ejemplares se identificó la especie, se determinó el sexo y se midió la longitud total de cada organismo. Los embriones fueron contados, fijados con formol al 10% y marcados con el número de la hembra a la que pertenecían, para la formulación de la base de datos.

6.2. TRABAJO DE LABORATORIO

Se revisaron los úteros de cada hembra colectados en campo. Al abrirlos se contó el número de embriones, se observó su posición y se tomaron fotografías. En los embriones se determinó el sexo, se pesaron y midieron. Para clasificarlos por talla y sexo. Para determinar la proporción de sexos se contó el total de embriones de cada sexo y se dividió el número de hembras entre el número de machos. Con la información de peso y tallas para cada embrión se evaluó la relación peso-longitud con la siguiente fórmula:

$$PT = a * LT^b$$

Donde:

PT = Peso total (g)

LT = Longitud total (cm)

a = Ordenada al origen o factor de condición

b = Pendiente o parámetro de alometría

Esta relación se estimó por sexo y sus diferencias se evaluaron por medio de un análisis de covarianza (ANCOVA). Para conocer el tipo de crecimiento que presentaron los embriones se comparó el valor del coeficiente (b) ó parámetro de alometría con la prueba t-student. Si el coeficiente es igual a un valor de 3, entonces el crecimiento es isométrico, y si resulta diferente de 3 es alométrico.

Con base en las características morfológicas externas se agruparon a los embriones en intervalos de tallas en VI fases (menores de 6 cm LT, de 6 a 13 cm LT, de 13 a 18 cm LT, de 18 a 25 cm LT, de 25 a 49 cm LT, y mayores de 40 cm LT). Los embriones se describen e diferentes niveles de organización, fotografiando embriones o parte de ellos, y disectándolos para ver estructuras internas. Para lograr una descripción mas completa de la estructura interna de los organismos se usaron técnicas histológicas y de transparentación.

6.2.1. DATOS MORFOMÉTRICOS.

Medidas de estructuras externas y sus proporciones han sido una parte de la sistemática de elasmobranquios, desde Müller y Henle (1838-1841); Bigelow y Schroeder (1948); Springer (1964); Bass (1973) y Compagno (1984) han definido las medidas rutinarias usadas, así como la forma de tomarlas. En el presente trabajo, para la obtención de los datos morfométricos se tomó como base las medidas propuestas por Compagno (1984; 2003). Se utilizó un vernier, con precisión de 0.01 mm. Para medir organismos de tallas menores se uso un microscopio estereoscópico con rejilla graduada.

Se registró en total 27 medidas en machos y 26 en hembras. La figura 2 ilustra las medidas tomadas en cada organismo. La abreviación y nomenclatura de cada medida, se muestran en la tabla I.

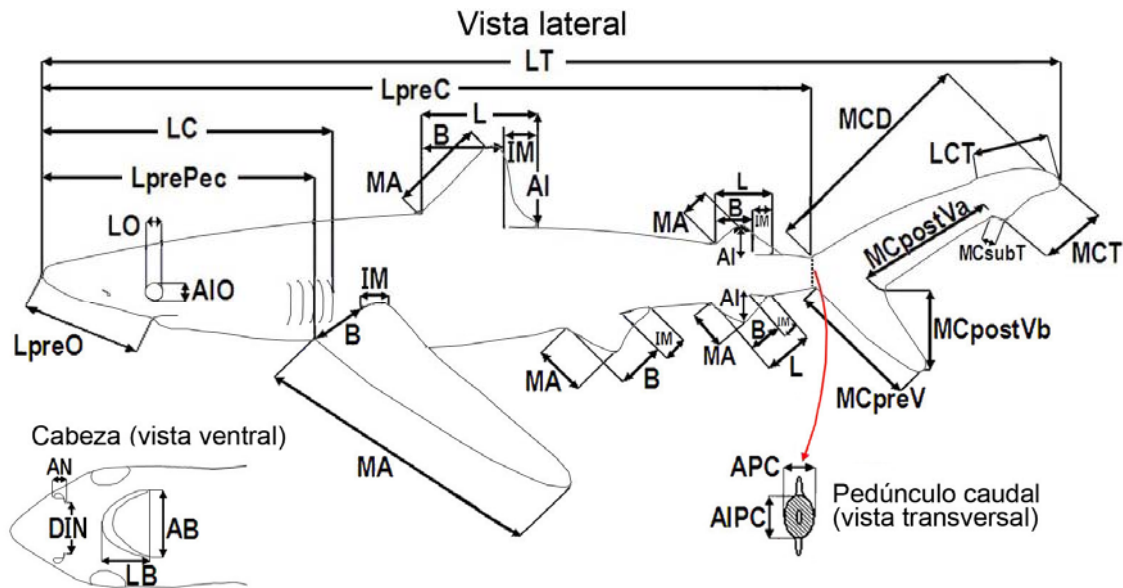


Figura 2. Localización y abreviación de los datos morfométricos tomados en el cuerpo de embriones de tiburón azul.

Aunque la forma del cuerpo es raramente constante, la tasa de cambio de la forma del cuerpo es generalmente constante (González-García, 1998), por lo cual se usó un método de crecimiento relativo para evidenciar las alometrías en el crecimiento de las estructuras. Este método consiste en graficar los logaritmos o longitudes de alguna parte del cuerpo contra la longitud total del mismo, buscando las tasas de cambio de la relación lineal entre ellos durante el crecimiento.

La longitud de la cabeza (LC) es la distancia entre la punta anterior de la nariz, hasta el borde post-ventral de la quinta abertura branquial (Compagno, 2003). El margen anterior es la medida de la distancia entre la base de la aleta, hasta el ápice de ésta (Compagno, 2003). El intermargen es la distancia entre la base de la aleta y la parte posterior libre (Compagno, 2003).

Todas las medidas morfométricas tomadas, se graficaron en relación a la LT (variable independiente), realizando para una regresión lineal. Se determinó la ecuación de la recta que mejor ajusta los datos presentados, trabajando con un nivel de confianza de $\alpha = 0.05$.

Tabla I. Abreviatura y nomenclatura de los datos morfométricos en el cuerpo de embriones de tiburón azul.

Simbología Medida	
Medidas del cuerpo	
LT	Longitud Total
LpreC	Longitud Precaudal
LprePec	Longitud Prepectoral
APC	Ancho del Pedúnculo Caudal
AlPC	Altura del Pedúnculo Caudal
Medidas de la cabeza	
LC	Longitud de la cabeza
LpreO	Longitud Preoral
LB	Longitud de la Boca
AB	Anchura de la Boca
AN	Anchura del orificio Nasal
DIN	Distancia Internasal
LO	Longitud del Ojo
AIO	Altura del Ojo
EIO	Espacio interorbitario
Medidas de Aletas precaudales impares	
Primera (1D), segunda dorsal (2D), anal (An)	
MA	Margen Anterior
B	Base
IM	Intermargen
Al	Altura
L	Longitud
Medidas de Aletas precaudales pares	
Pectorales (PecDer, PcIzq), pélvicas (PelDer, PelIzq)	
MA	Margen Anterior
B	Base
IM	Intermargen
Medidas de Aleta Caudal	
MCD	Margen Caudal Dorsal
MCpreV	Margen Caudal Preventral
MCpostVb	Margen Caudal Postventral Bajo
MCpostVa	Margen Caudal Postventral Alto
LCT	Lóbulo Caudal Terminal
MsubT	Margen Caudal Subterminal
MCT	Margen Terminal Caudal
Medidas de Gonopterigio	
LG	Longitud de Gonopterigio

6.2.2. ESTUDIOS HISTOLÓGICOS

El proceso histológico se realizó de manera rutinaria según Humason (1979). Para la fijación de las muestras se utilizó formol al 10% (preferentemente desde campo, haciéndose un recambio de formol al llegar al laboratorio). Se realiza una deshidratación de las muestras, en alcoholes en orden creciente de concentración, y después se incluyen las muestras en un medio no hidrosoluble. La deshidratación de las muestras, es la remoción del agua de los tejidos (Humason, 1979). Las muestras se someten a baños de alcohol de creciente concentración, usando un procesador de tejidos (Marca Leica, Modelo Jung Histokinette 2000). Los tiempos usados en la deshidratación se describen en el Anexo IV.

Las muestras fueron incluidas en bloques de parafina “Paraplast Plus” con un punto de fusión de 56° a 60° C. Se cortaron a un grosor de 3 a 7 μm en un micrótopo Marca Microm, Modelo HM 355 S.

Para realizar el análisis histológico en los embriones menores de 10 cm LT se hicieron tanto cortes longitudinales como transversales (Fig. 3). En embriones menores de 30 cm. de LT, se seccionó el organismo transversalmente a todo lo largo del cuerpo (Fig. 4).

Debido a que los cambios morfológicos externos no son notorios entre embriones de talla similar, se seleccionaron organismos con un intervalo de tallas promedio de tres centímetros de LT. Asimismo se tiene un archivo fotográfico de los organismos antes de haber sido seccionados. De esta forma se tiene una imagen de la anatomía de las características observadas al estereoscopio antes de ser seccionados.

Se realizaron cortes histológicos en diferentes regiones de 15 organismos de diferentes tallas, obteniendo un total de 225 laminillas. El organismo de menor tamaño utilizado en estudios histológicos midió 4 cm de LT, y el de mayor tamaño alcanzó 31 cm LT.



Fig. 3. Cortes transversales y longitudinales en embriones menores de 5 cm de LT. (vista lateral y dorsal. Barra = 1 cm).

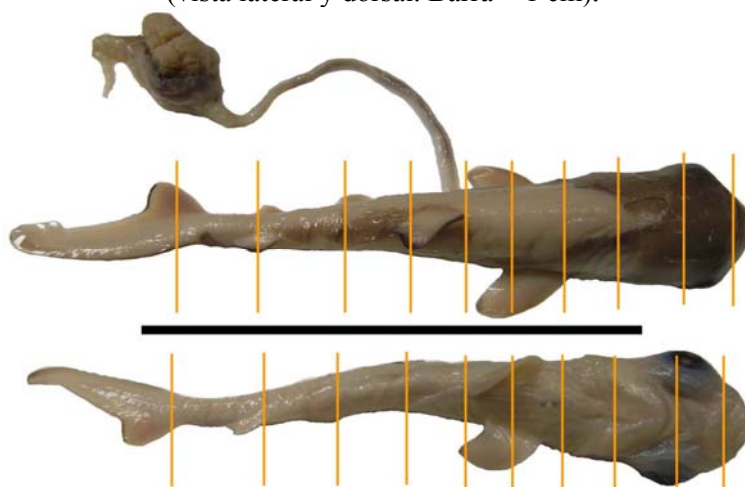


Fig. 4. Cortes transversales a lo largo del cuerpo del organismo (vista dorsal y ventral. Barra = 10 cm).

Coloración o tinción

Para evidenciar las estructuras celulares es necesario realizar técnicas de tinción en los cortes. Se realizaron diferentes técnicas de tinción para observar la estructura general de la anatomía microscópica como: Técnica Hematoxilina-Eosina (técnica general de tinción), Técnica Tricrómica de Mallory (técnica tricrómica para fibras musculares), Técnica de Azul Alciano (técnica histoquímica para mucopolisacáridos), Técnica de Von Kossa (técnica para identificación de iones Ca^{++}), Técnica Azul de Toluidina (técnica histoquímica para mucinas), Técnica de Feulgen (técnica para determinación de ácidos nucleicos), Técnica General de Río - Horteiga con Carbonato de Plata Amoniacal, Piridinado (técnica de impregnación argéntica, para fibras de colágenas y tejido nervioso) (Martoja y Martoja, 1970; Humanson, 1979). Las tinciones son descritas en el Anexo IV.

6.2.3. TRANSPARENTACIÓN

Para realizar las observaciones del sistema esquelético *in toto* se realizó una tinción con azul de Alciano y un proceso de transparentación de los especímenes de acuerdo a la metodología de Dingerkuts y Uhler (1977); modificada por Potthoff (1984).

El proceso comienza con la fijación de los especímenes en formol al 10% durante 24 horas. Después se deshidratan los especímenes dos días en alcohol al 50%, dos días en alcohol al 80%, dos días en alcohol absoluto, con un recambio de dos días en alcohol absoluto. El cartílago se tiñó durante 24 horas con azul alciano (cada 100 ml de solución: 70 ml alcohol absoluto, 30 ml ácido acético glacial, 20 mg azul alciano). Los especímenes teñidos se neutralizaron con solución sobresaturada de borato de sodio de 12 a 14 horas. La transparentación se realizó con digestión en tripsina (cada 100 ml de solución: 35 ml de solución sobresaturada de borato de sodio, 65 ml de agua destilada con 0.15 g de Trypsin powder), colocando los especímenes y realizando recambios cada 10 días hasta que se transparentaron. Para la preparación final se colocaron una semana en solución 35% glicerina, 70% KOH; una semana en solución 60% glicerina, 40 % KOH, y la preservación definitiva se hizo en glicerina 100%, adicionándose algunos cristales de timol.

Con esta metodología el cartílago aparece en color azul, lo que permite observar los caracteres esqueléticos en los embriones.

VII. RESULTADOS

7.1. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Durante el periodo de muestreo el tiburón azul resultó la especie más abundante en las capturas de tiburón en Las Barrancas, Punta Belcher y Punta Lobos. De los muestreos mensuales realizados del 2000 al 2004 en Punta Belcher, se registraron 35 hembras grávidas. Para ese mismo intervalo de tiempo, en Punta Lobos se registraron 8 hembras grávidas. Durante el 2004, en muestreos mensuales en las Barrancas se registraron solo 3 hembras grávidas. En total se obtuvieron datos y muestras de 46 hembras grávidas (Fig. 5) con un intervalo de tallas entre 150 cm y 250 cm de LT. El mayor número de hembras grávidas se presentó en el intervalo de 190 y 200 cm LT (Fig. 6).

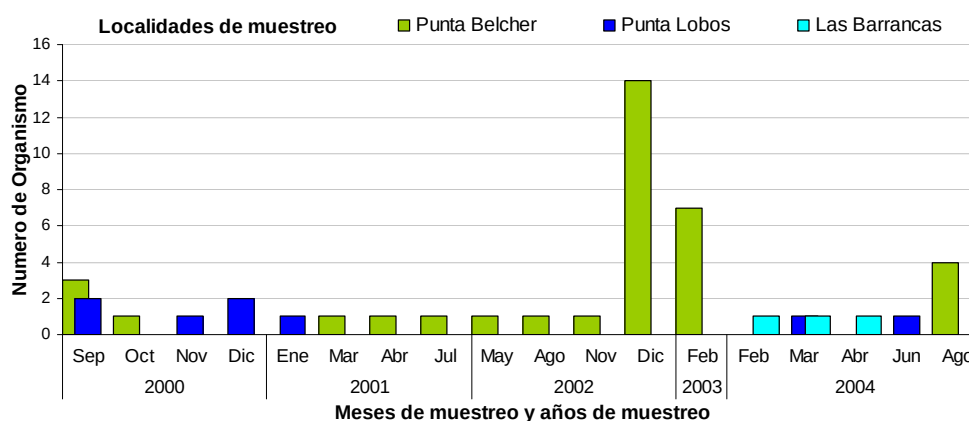


Figura 5. Hembras grávidas de tiburón azul registradas por mes, año y localidad de muestreo, en la costa occidental de Baja California Sur, México.

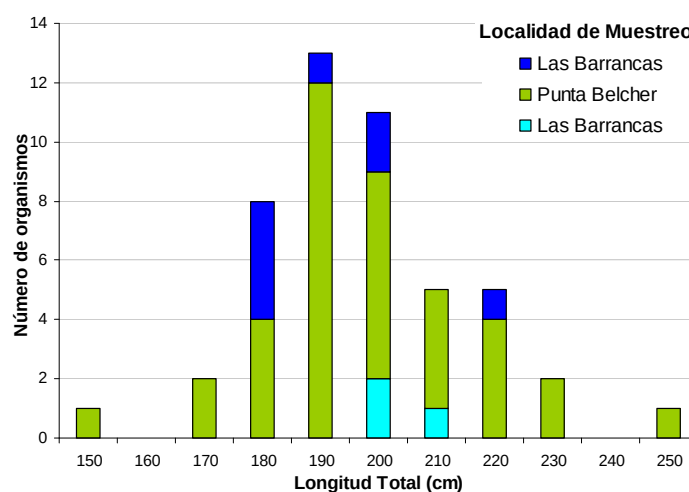


Figura 6. Frecuencia de tallas de 46 hembras grávidas de tiburón azul, registradas en las tres localidades de muestreo en la costa occidental de Baja California Sur, México.

7.2. PARÁMETROS EN LA DESCRIPCIÓN DE EMBRIONES

7.2.1. Fecundidad

El aparato reproductor femenino en tiburón azul, consiste de dos ovarios, de los cuales solo el derecho es funcional; el órgano epigonal; un par de oviductos; dos glándulas oviducuales (ensanchamiento de la región anterior de los oviductos); y dos úteros (modificación de la región posterior de los oviductos) (Pratt, 1979). De las 46 hembras grávidas observadas durante el periodo de muestreo, se registraron un total de 1076 embriones. El número de embriones observados por hembra grávida varió ampliamente de 7 a 64 organismos distribuidos en ambos úteros (Fig. 7), con un promedio de 23 embriones por hembra grávida. El número mas frecuente de organismos por hembra fue de 33 embriones, registrado en 4 hembras. Los embriones en cada una de las hembras presentan un estadio de desarrollo similar. No se encontró una relación entre el número de embriones con respecto a la LT de la madre, ya que la regresión lineal entre ambas variables mostró una bondad de ajuste $R^2=0.0078$. Los embriones midieron entre 2.8 y 45 cm LT, siendo más abundantes alrededor de los 30 cm LT (Fig. 8).

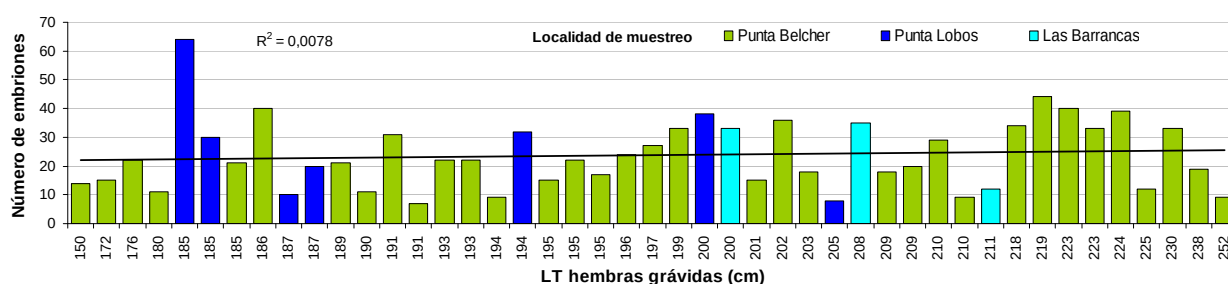


Figura 7. Número total de embriones observados en cada una de las hembras de tiburón azul registradas en la costa occidental de B.C.S., durante los años de muestreo (2000-2004).

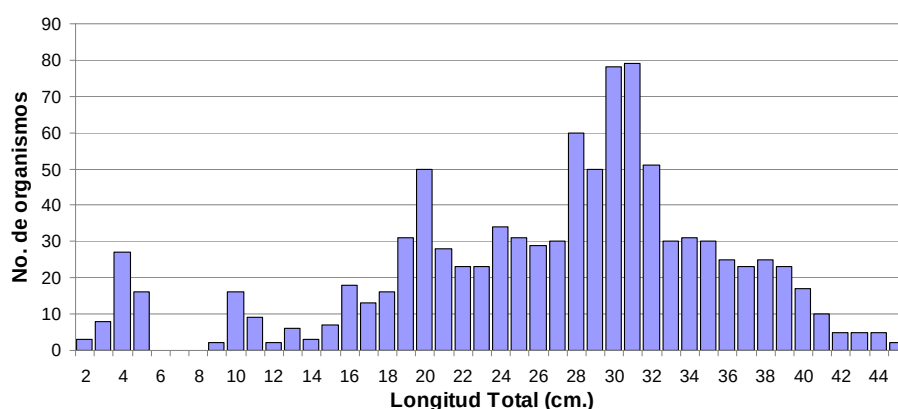


Figura 8. Frecuencia de talla de los embriones registrados en 46 hembras grávidas de tiburón azul en la costa occidental de B.C.S., durante los años de muestreo (2000-2004).

Aunque todos los embriones recolectados fueron medidos, solo 788 fueron pesados y se identificó el sexo en 965 organismos. La tabla II, del Anexo II, muestra los datos tomados de 974 embriones.

7.2.2. Distribución temporal de embriones

En el área de estudio se registraron hembras grávidas durante todo el año, excepto en el mes de junio (Fig. 9). El año con más registros de hembras grávidas fue 2002, con 16 registros, mientras que en el 2001 se registraron solo 7 hembras grávidas (Fig. 5 y 9). Durante los años 2000, 2003 y 2004 se registraron 9, 7 y 9 hembras grávidas respectivamente (Fig. 5 y 9). Los meses con mayor número de hembras grávidas fueron diciembre y febrero, con 16 y 9 registros respectivamente (Fig. 9).

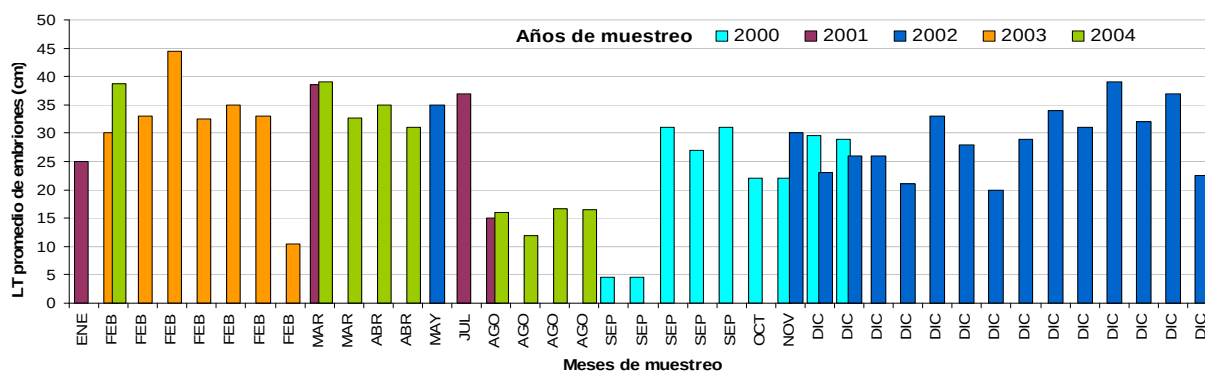


Figura 9. Registro mensual de la talla promedio de los embriones encontrados en cada hembra grávida de tiburón azul, durante el muestreo del 2000 al 2004.

Los embriones de menor talla (menores de 6 cm LT) se encontraron principalmente durante los meses de agosto y septiembre; aunque para el mes de febrero se tiene un registro de embriones <15 cm LT. Los embriones de tallas alrededor de 30 cm LT se observaron de diciembre a marzo, pero principalmente entre febrero y marzo. Los embriones de tallas mayores a los 40 cm LT, se encontraron principalmente entre abril y julio (Fig. 10).

Esto sugiere que el periodo de apareamiento se presenta en la primera mitad del año, al final del invierno y durante la primavera. Mientras que el nacimiento posiblemente ocurre durante el verano en los meses más cálidos. Por lo tanto se sugiere un periodo de gestación de 12 meses.

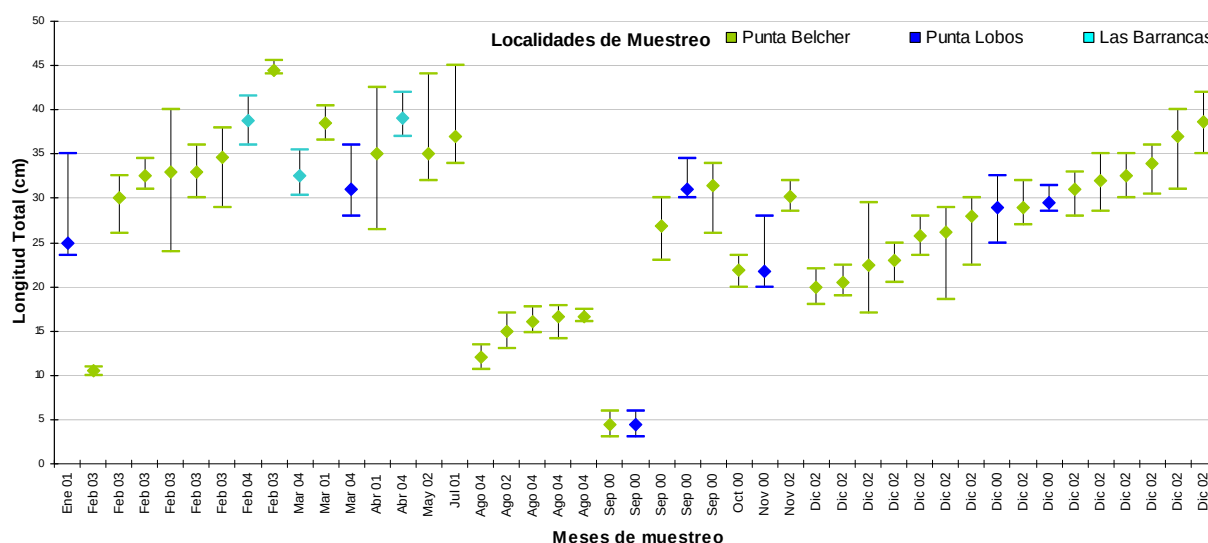


Figura 10. Registro mensual de embriones; donde se observa la LT máxima, LT mínima y LT promedio de los embriones encontrados en cada hembra de tiburón azul.

7.2.3. Proporción de sexos

Fue posible identificar el sexo (con gonopterigio, macho; sin él, hembra) desde los embriones más pequeños, salvo escasas excepciones. De los 965 embriones sexados, 492 fueron hembras y 473 machos, con una diferencia mínima (Fig. 11). La proporción de sexos global fue de 1.04H:1M, sin presentar diferencias significativas ($p < 0.005$) entre machos y hembras. Dentro de cada hembra grávida la proporción de sexos de los embriones varió desde 0.5H:1M hasta 5H:1M, sin llegar a existir una diferencia significativa (Fig. 12).

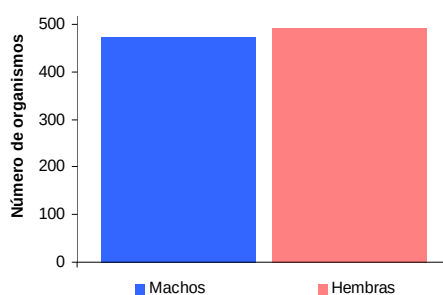


Figura 11. Frecuencia de cada sexo del total de embriones registrados de tiburón azul.

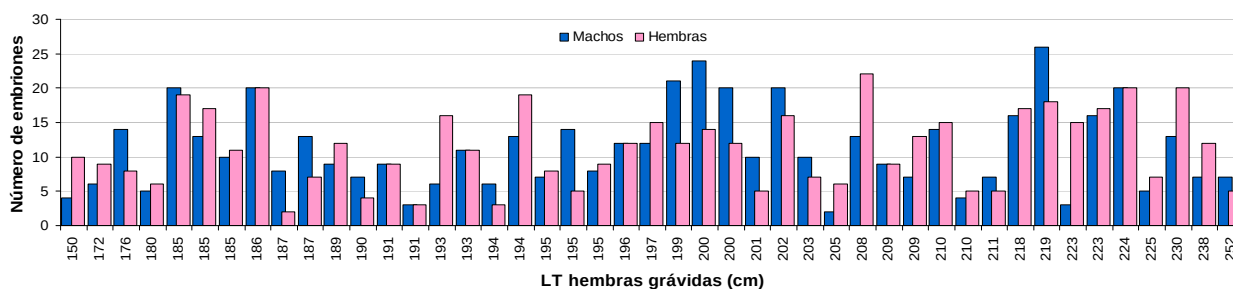


Figura 12. Frecuencia de sexos de embriones encontrados en cada hembra de tiburón azul.

7.2.4. Relación peso-longitud

La relación peso-longitud de los embriones indica que la longitud total aumenta ligeramente más de lo que aumenta en peso: $W=0.0075981 \cdot Lt^{2.5246}$ (Fig. 13).

El análisis de covarianza (ANCOVA) mostró que no existen diferencias en la relación longitud total-peso entre sexos (Fig. 13). Hembras: $W=0.0075981 \cdot Lt^{2.504}$. Machos: $W=0.0075981 \cdot Lt^{2.5455}$. Por lo que se estimó el coeficiente de alometría para sexos combinados.

La prueba t-Student utilizada, demostró que el crecimiento es de tipo alométrico negativo ($b \neq 3$) ($p < 0.05$), es decir el crecimiento es más rápido en talla, que en peso.

Las embriones machos presentaron un peso mínimo de 0.15 g para una LT de 3.47 cm y un máximo de 313.85 g para una LT de 44.5 cm. En hembras el peso mínimo registrado fue 0.25 g para una LT de 4.21 cm. El mayor peso registrado fue de 313.85 g para una LT de 44.5 cm.

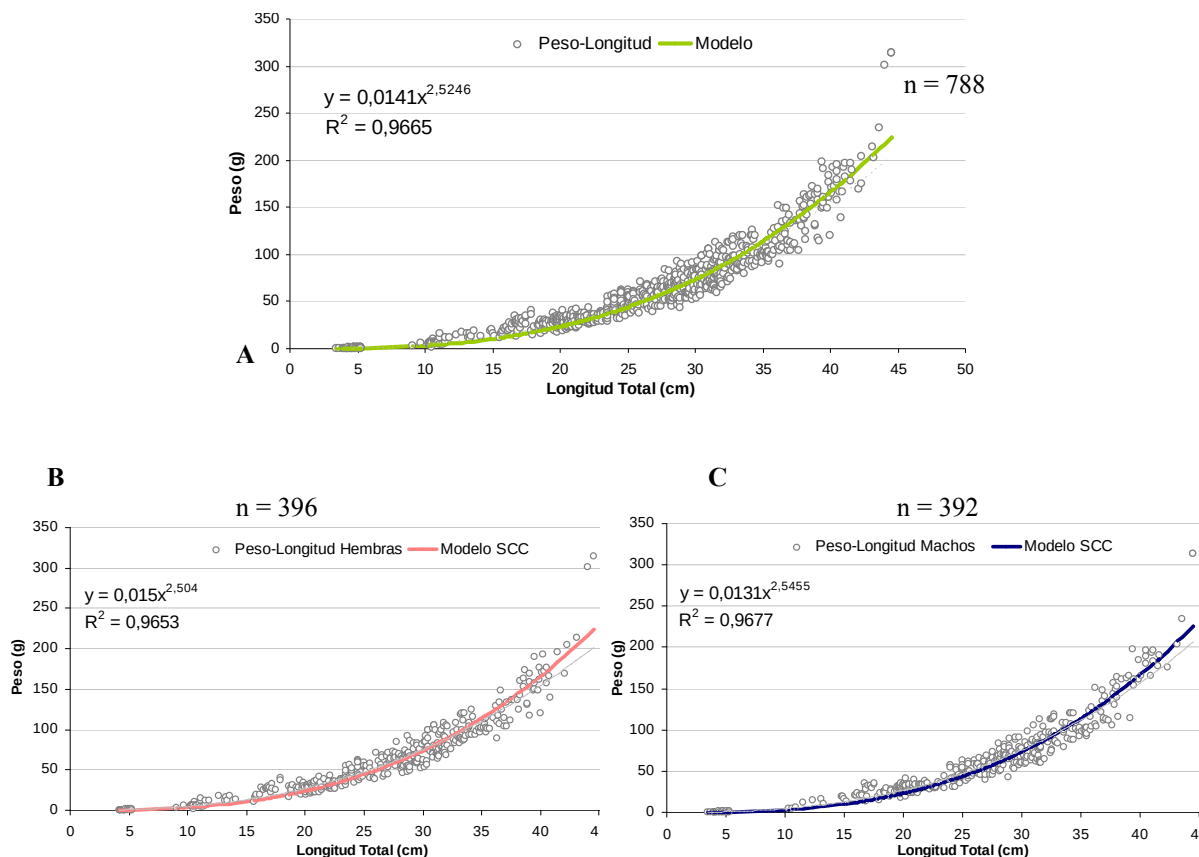


Figura 13. A. Relación peso-longitud obtenida de la muestra embrionaria de *P. glauca*. B. Relación peso-longitud en hembras. C. Relación peso-longitud en machos.

7.3. DESCRIPCIÓN DE EMBRIONES

Se observó que los embriones no muestran alguna posición particular dentro de los úteros. En los casos donde se encontraron menos de diez embriones de tallas mayores, estos embriones están orientados hacia la parte anterior del cuerpo de la madre. Mientras que, en úteros con un mayor número de embriones de tallas mayores no se observó alguna posición ni orientación en particular (Fig. 14). En úteros con embriones de tallas menores, éstos tampoco presentan alguna posición ni orientación en particular.



Figura 14. Orientación de embriones dentro de úteros maternos.

Fase I (Embriones menores de 6 cm LT)

Presentan filamentos branquiales externos expuestos. El embrión mas pequeño de 2.8 cm LT, presentó el cuerpo ya con las aletas pectorales, pélvicas, primera y segunda aleta dorsal, la aleta anal y la aleta caudal heterocerca, aunque es evidente que aun no son una replica exacta de un adulto (Fig. 15). La piel es delgada, y no presentan coloración. En la aleta caudal se observa el margen caudal rizado característico de la familia Carcharhinidae. La figura 17 muestra fotografías de estructuras en diferentes embriones menores de 6 cm LT, desde diferentes vistas.

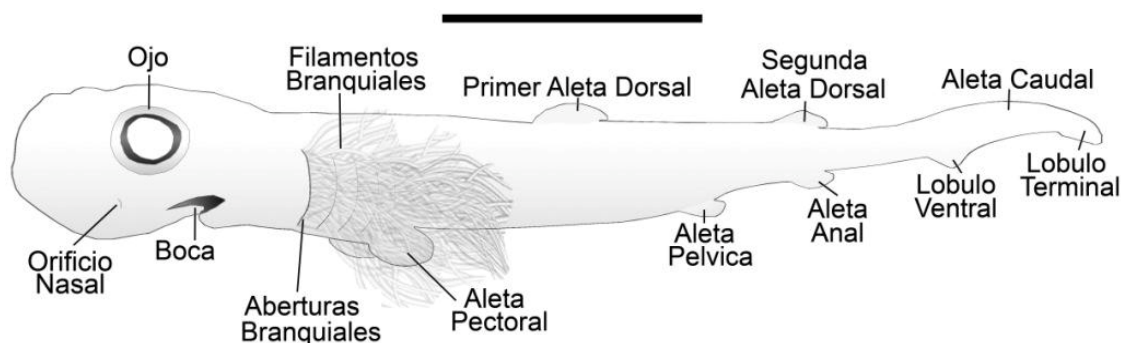


Figura 15. Esquema de embrión menor de 6 cm de longitud total. Barra=1 cm.

Internamente ya presentan los órganos bien diferenciados. El corazón consta de cuatro cámaras, el seno venoso, la aurícula, el ventrículo y el cono arterial (Parker y Haswell, 1987) (Fig. 16). En los arcos branquiales destacan las papilas dérmicas en los bordes interiores de cada arco. El estómago mide aproximadamente la mitad de lo que mide el intestino. El corto intestino del tiburón no le permitiría absorber los nutrientes si su superficie no estuviera incrementada por la válvula espiral (Mojetta, 2005). Esta válvula consiste en un pliegue en espiral de la mucosa absorbente que forma una serie de anillos, cuyo número es de 4 en *P. glauca*. Estos pliegues se encuentran espaciados de forma más o menos regular, y se observaron con disecciones e histológicamente. El hígado es bilobulado y es el órgano de mayor tamaño en el sistema digestivo. La glándula rectal es una glándula accesoria que secreta cloruro de sodio (Romer y Parsons, 1981) y se observa claramente en esta fase (Fig. 16). Los riñones, se observan en la región dorsal de la cavidad visceral.

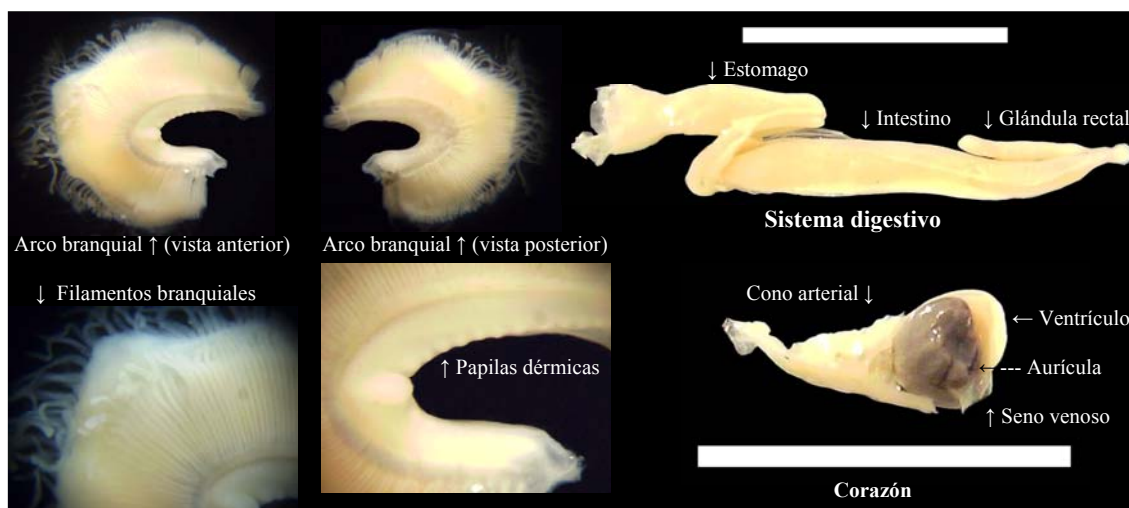


Figura 16. Estructuras internas en diferentes embriones menores de 6 cm LT. Barra 5 mm.

Fase II (Embriones entre 6 cm y 13 cm LT)

Los filamentos branquiales externos son menos notorios después de los 6 cm LT, y aproximadamente a los 8 cm LT, ya no se observan. La piel, aún es delgada y no presenta coloración; cerca de los 13 cm LT en algunos casos se observa una ligera coloración en los ápices de aletas impares (Fig. 18). En estos organismos es posible determinar el sexo a simple vista. No se observan cambios morfológicos en la anatomía interna.

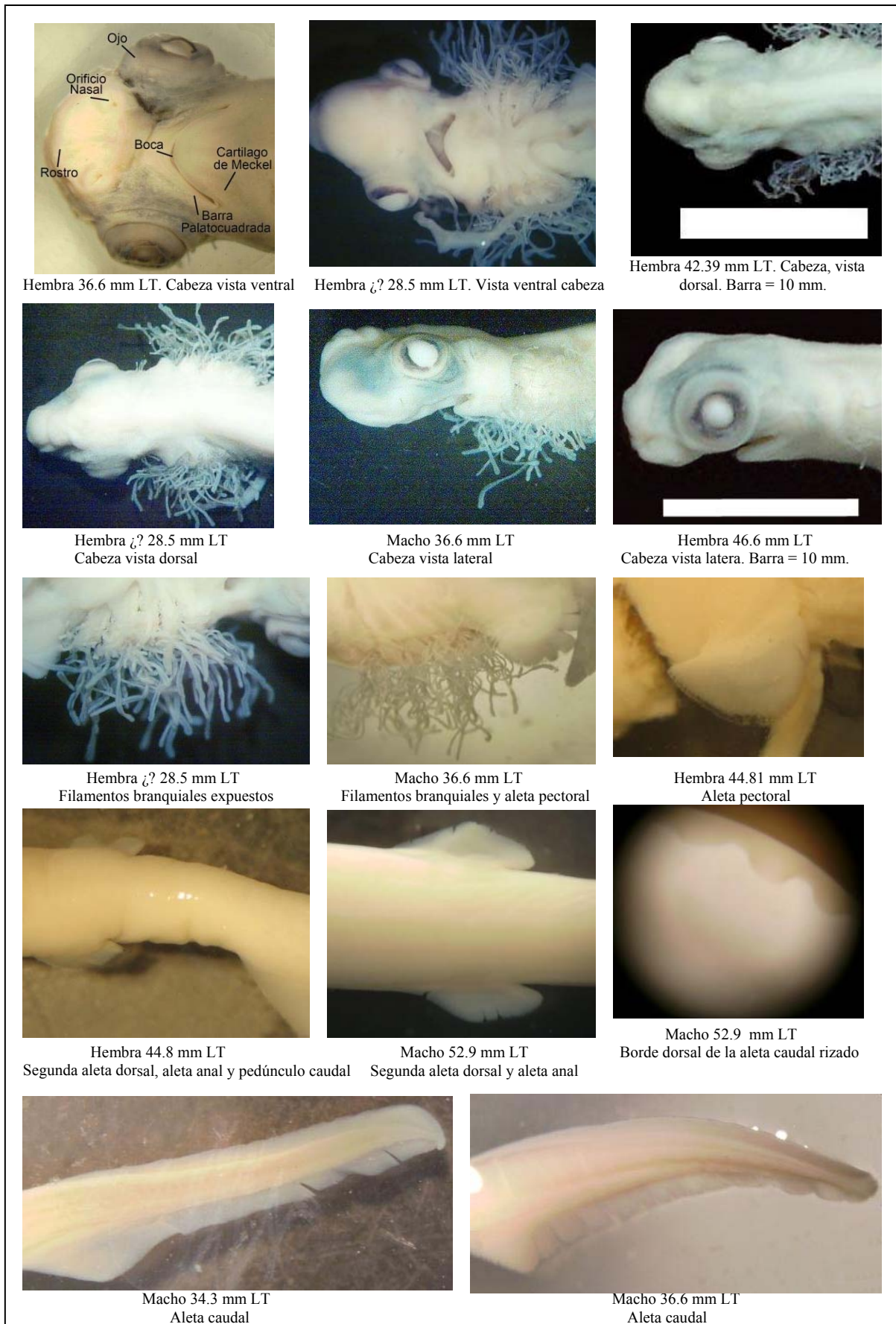


Figura 17. Estructuras en diferentes embriones Fase I, desde diferentes vistas.

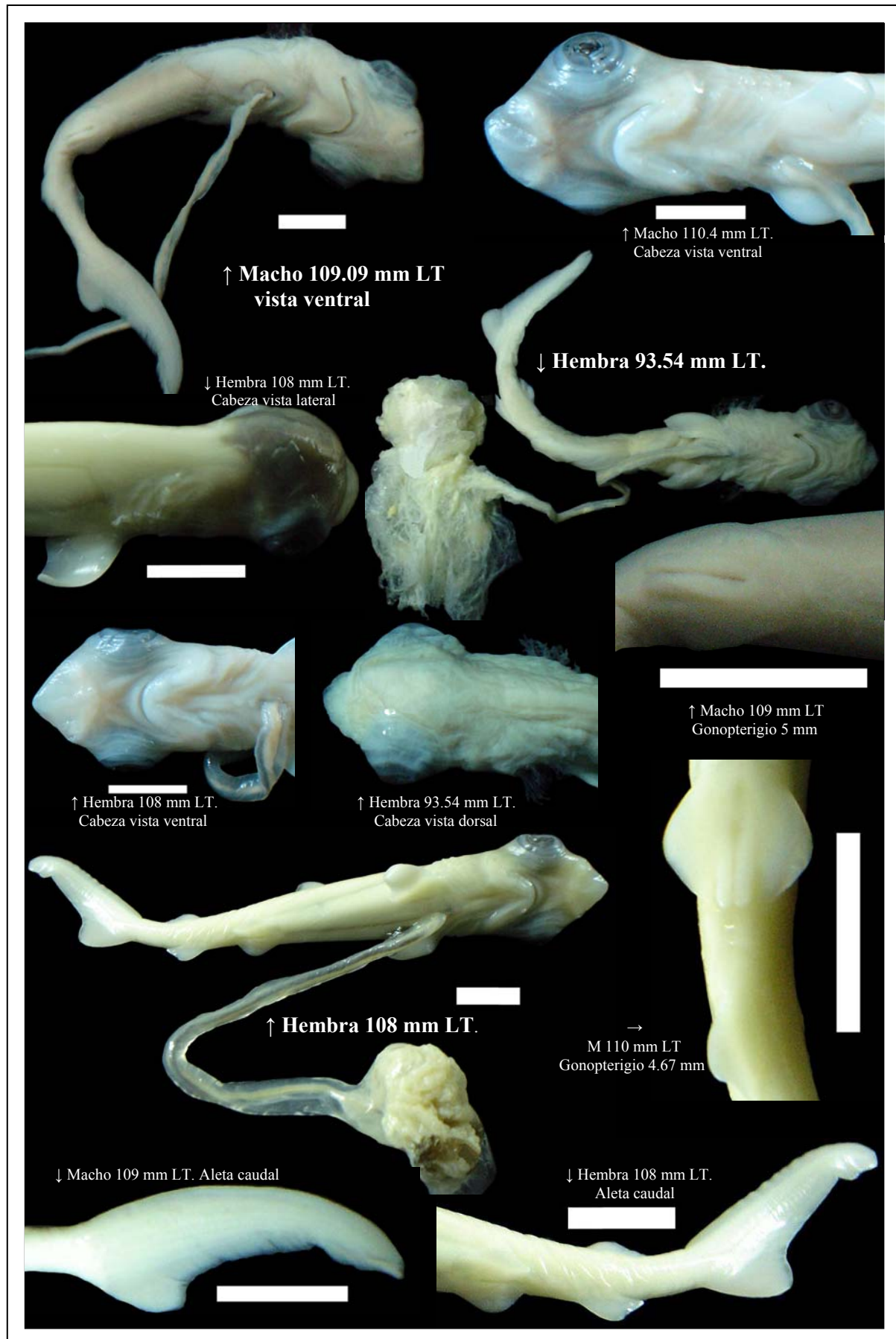


Figura 18. Estructuras en diferentes embriones Fase II, desde diferentes vistas. Barra=1 cm.

Fase III (Embriones entre 13 cm y 18 cm LT)

Aproximadamente a partir de 13 cm de LT la forma del cuerpo no cambia. En la coloración y estructura interna se observaron modificaciones discretas. Después de los 13 cm de LT se aprecia una coloración café intensa en los bordes externos de las aletas dorsales y en el margen caudal post ventral bajo. En la región anterior del cuerpo se observa la piel de un color café tenue, con pequeños puntos oscuros intensos (Fig. 19).

Fase IV (Embriones entre 18 cm y 25 cm LT)

Alrededor de los 18 cm de LT se observa una coloración café en el dorso del cuerpo, más intenso y remarcado hacia la región anterior. Después de los 20 cm de LT, la coloración café es general en el dorso del cuerpo y aletas, remarcando un tono más intenso en los ápices de estas (Fig. 19).

Fase V (Embriones entre 25 cm y 40 cm LT)

A partir de esta fase se observa la coloración característica de la especie, donde el dorso es azul oscuro, en los flancos es azul intenso, el vientre es blanco y los ápices de las aletas son oscuros (Fig. 19). Es notoria la presencia de dentículos dérmicos al tacto. Las aletas pectorales presentan mayor parecido con las aletas características de la especie. Desde esta talla no se observan cambios estructurales importantes, y solo se observa un incremento en el tamaño de los embriones.

Fase VI (Talla de nacimiento, embriones mayores de 40 cm LT)

Los embriones más grandes observados midieron 45 cm LT, por lo que se considera que la talla de nacimiento es de 45 cm LT. Los embriones de 40 cm LT, tienen una forma corporal muy similar a la de adultos, y están morfológica y estructuralmente completos, y posiblemente aptos para sobrevivir en vida libre. Durante el trabajo de campo se observó una hembra grávida de 200 cm LT que en la playa liberó embriones de alrededor de 40 cm LT (Fig. 20). Las crías liberadas estaban separadas del cordón umbilical, y se movían suavemente. El cordón umbilical y la placenta, quedaron dentro de la hembra.

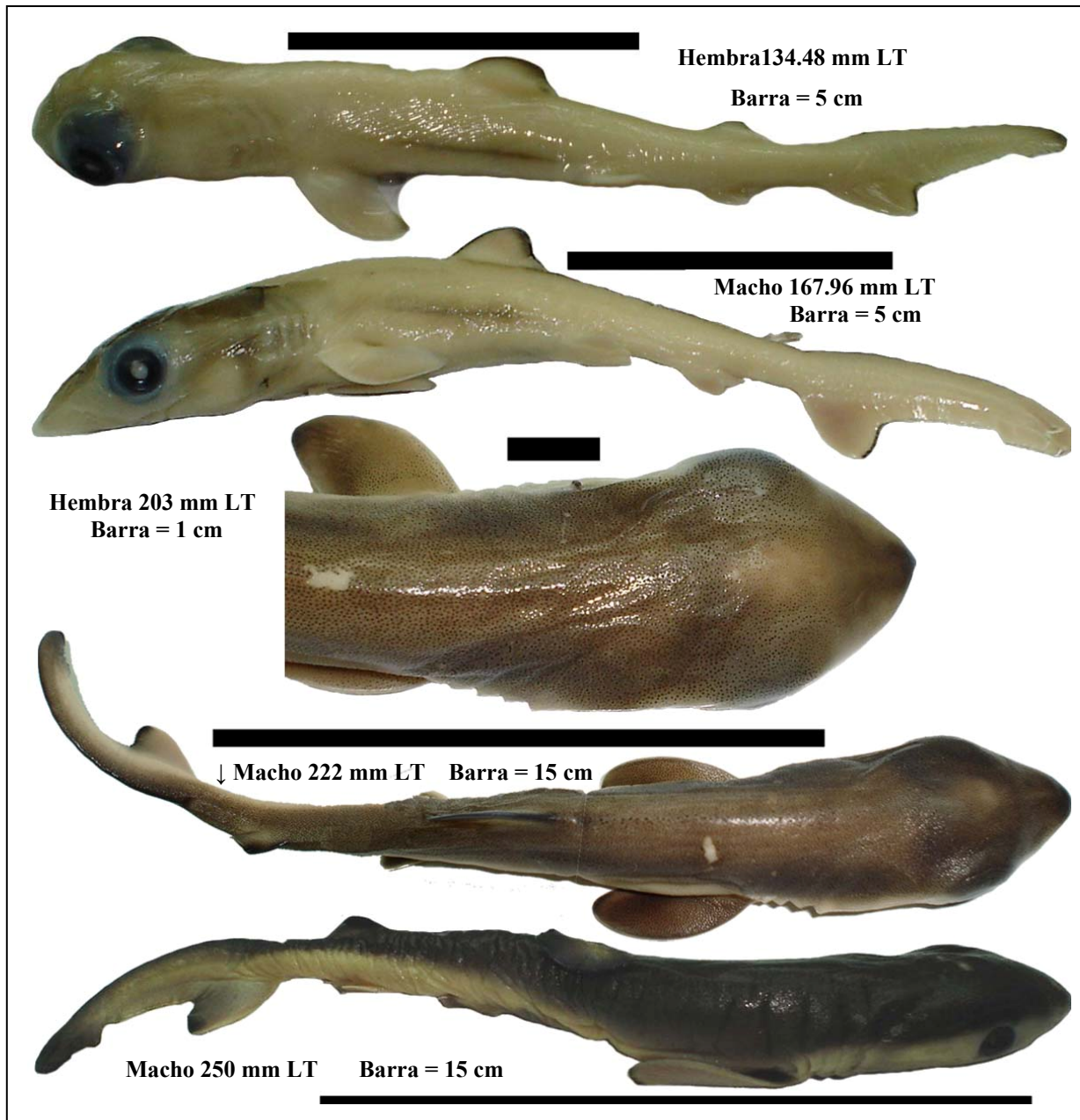


Figura 19. Cambios en la coloración de los embriones a diferentes tallas.



Figura 20. Hembra grávida expulsando embriones.

7.4. CAMBIOS MORFOMÉTRICOS DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO DE *P. glauca*

Se analizaron los cambios en las proporciones corporales con medidas morfométricas. En total se midieron 49 variables (solo 48 en hembras porque carecen de gonopterigio) en 154 embriones, 72 machos y 82 hembras. En la tabla III del Anexo III se muestran todas las mediciones. Con cada una de las diferentes medidas morfométricas se hizo una relación (proporción) con la LT. Así es posible visualizar de manera grafica y analítica (estudiándose la pendiente) el crecimiento de diferentes estructuras. Los datos morfométricos se graficaron agrupándose las medidas del cuerpo, de la cabeza, primer aleta dorsal, segunda aleta dorsal, aletas pectorales, aletas pélvicas, aleta anal, aleta caudal y el gonopterigio. En la Tabla I en Materiales y Métodos se muestra la simbología de las medidas. La ubicación de cada medida en el cuerpo del embrión se presenta en la figura 4. En las graficas se presenta la línea de tendencia calculada, y los datos son presentados en milímetros. Todas las regresiones lineales resultaron con un nivel de significancia ($\alpha = 0.05$).

Se observó que la longitud precaudal (LpreC) aumenta conforme aumenta la LT, con un crecimiento isométrico (Fig. 21 A), mientras que en la longitud prepectoral (LprePec), el ancho del pedúnculo caudal (APC), y el alto del pedúnculo caudal (AlPC), se observa un crecimiento alométrico negativo (Fig. 21 A). En el caso de la LprePec en los embriones más pequeños, se observa la región anterior del cuerpo “achatada”, y no presenta la forma de la cabeza de un adulto. La LprePec aumenta más que el APC o la AlPC, pero menos que la LPC (Fig. 21 A).

7.4.1. Desarrollo de estructuras cefálicas

En embriones menores de 6 cm LT la región anterior de la cabeza está retraída, redondeada, y no esta completamente formado el cartílago rostral hacia adelante. Con respecto al ancho del cuerpo, la cabeza es aproximadamente 150% más ancha. En la región cefálica se distinguen los ojos, boca, orificios nasales y aberturas branquiales. Aun no se observan parpados nictitantes. Están presentes elementos del esplancocráneo como arcos branquiales mandibulares, hyomandibular y branquiales. Se observan las papilas dérmicas de los bordes interiores de cada arco branquial. Después de los 6 cm

LT, la cabeza, ya no esta redondeada, pero el cartílago rostral aun no es tan alargado como en adultos. Alrededor de los 15 cm LT, en la cabeza es posible diferenciar el cartílago rostral alargado.

La longitud de la cabeza (LC) crece a mayor tasa que otras estructuras (Fig. 21 B), y este crecimiento es isométrico con respecto al cuerpo. Su crecimiento constante se asocia al alargamiento del cartílago rostral. Sin embargo, la boca y los ojos lo hacen a una tasa bastante menor.

En los embriones más pequeños se observa una coloración evidente en la retina (Fig. 15 y 17). La altura del ojo (AIO) y la longitud del ojo (LO) incrementan conforme aumenta la LT. Lo mismo ocurre con la longitud de la boca (LB), anchura de la boca (AB) y la distancia internasal (DIN) (Fig. 21 B). La longitud preoral (LpreO) y el espacio interorbitario (EIO) presentan un desarrollo similar entre si, y proporcional a la estructura que les da nombre, y representa un menor crecimiento que la LC (Fig. 21 B). La anchura del orificio nasal (AN) es la estructura de la cabeza donde se observó una menor tasa de crecimiento (Fig. 21 B).

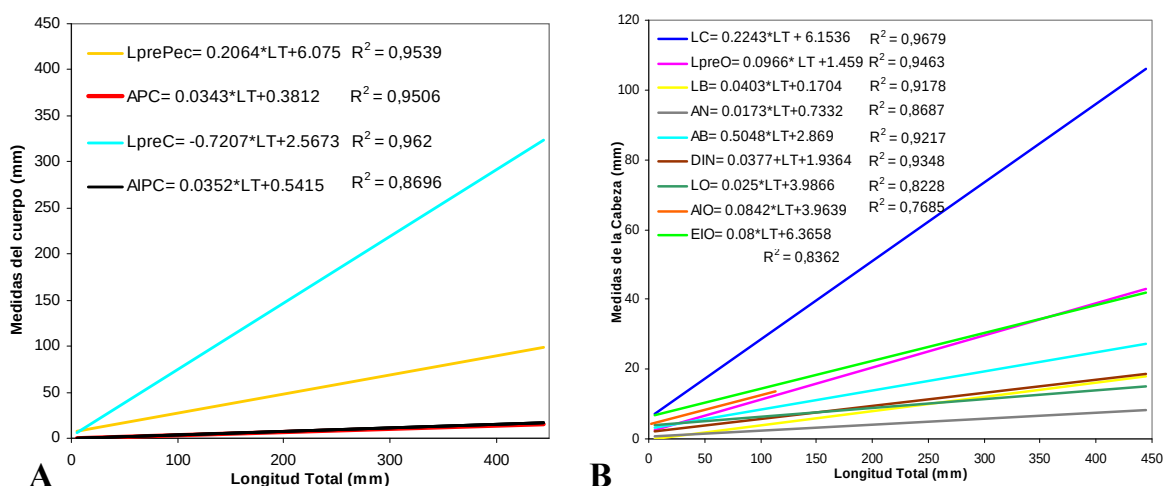


Figura 21. A. Relación lineal de las diferentes de medidas del cuerpo contra la longitud total.
B. Relación lineal de medidas de la cabeza, contra la longitud total.

7.4.2. Desarrollo morfológico de aletas

Primera y segunda aleta dorsal

Desde los 2.8 cm LT todas las aletas están en la posición característica de la especie, y la forma inicial es solo un primordio de aleta (Fig. 15 y 17). En los organismos más pequeños la primera y segunda aleta dorsal no difieren en tamaño (Fig. 15 y 17). Después de los 6 cm LT las aletas comienzan a diferenciarse, adquiriendo una forma más parecida a la característica de la especie, y aproximadamente a la proporción respectiva (Fig. 18). La tasa de crecimiento de las aletas dorsales fue similar (Fig. 22 A y B). Sin embargo, el margen anterior (MA-1D) mostró una tasa mayor de crecimiento que el intermargen (IM-1D). Aunque el crecimiento de la segunda aleta dorsal (Fig. 22 B) es similar al de la primera aleta dorsal, la altura de la segunda aleta dorsal (Al-2D) aumenta a una tasa menor que la altura de la primera aleta dorsal (Al-1D). También se observa una tasa menor crecimiento en el MA-2D con respecto al MA-1D (Fig. 22 A y B).

Aletas pectorales

Antes de los 6 cm LT las aletas pectorales se observan cortas y redondeadas, y no guardan ningún parecido con las aletas pectorales características de la especie (Fig. 15 y 17). En embriones de tallas mayores son largas y delgadas. El margen anterior de las aletas pectorales (MA-Pec) es la parte de mayor tasa de crecimiento (Fig. 22 C), lo cual es evidente por la forma de esta aleta en adultos, que es un carácter distintivo de la especie. La base de las aletas pectorales (B-Pec) y el intermargen (IM-Pec) tienen una tasa menor de crecimiento con respecto al MA-Pec (Fig. 22 C).

Aletas pélvicas

Antes de los 6 cm LT las aletas pélvicas también son redondeadas, y muestran ligero parecido a la forma característica de las aletas pélvicas en adultos. En las aletas pélvicas también se observa una tasa mayor de crecimiento en el margen anterior (MA-Pel), sin que se compare con el crecimiento del MA-Pec. La base (B-Pel) y el intermargen (IM-Pel) crecen de manera similar entre sí (Fig. 22 D).

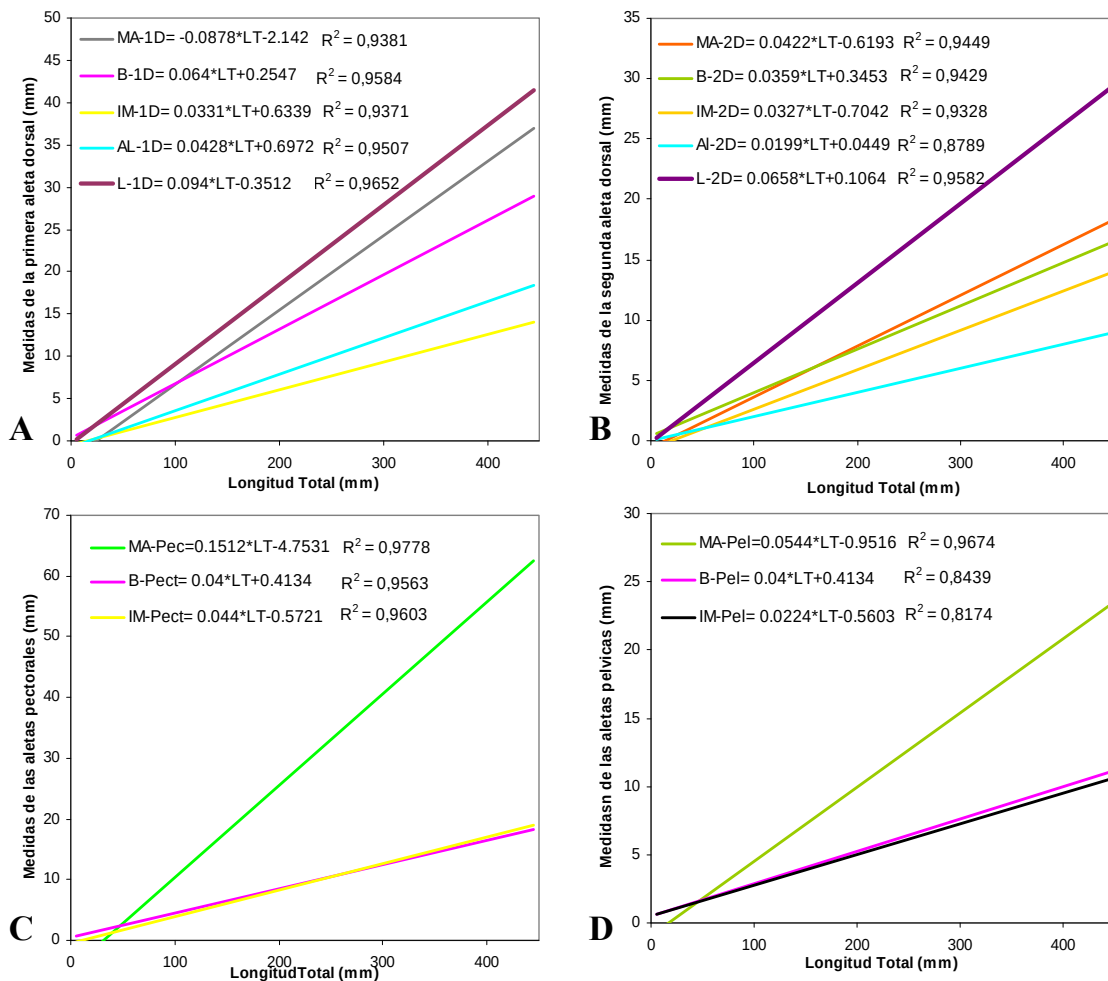


Figura 22. A. Relación lineal de medidas de la primera aleta dorsal, contra la longitud total. B. Relación lineal de medidas de la segunda aleta dorsal, contra la longitud total. C. Relación lineal de medidas de las aletas pectorales, contra la longitud total. D. Relación lineal de medidas de las aletas pélvicas, contra la longitud total.

Gonopterigio

Se observan los gonopterigios en embriones desde 3.6 cm de LT usando estereoscopio. Conforme aumenta la talla del organismo, se logra diferenciar claramente esta estructura reproductiva. En la figura 23 se comparan las aletas pélvicas de tres machos de LT diferentes y de una hembra de LT intermedia a la de los machos. En la cloaca de todos los organismos menores de 60 mm LT se observan pliegues; en los machos además se observa un doblez en el intermargen de cada aleta pélvica. En embriones mayores de 6 cm LT se puede apreciar claramente el gonopterigio. En los gonopterigios se observó un crecimiento lineal isométrico durante su desarrollo embrionario (Fig. 24).

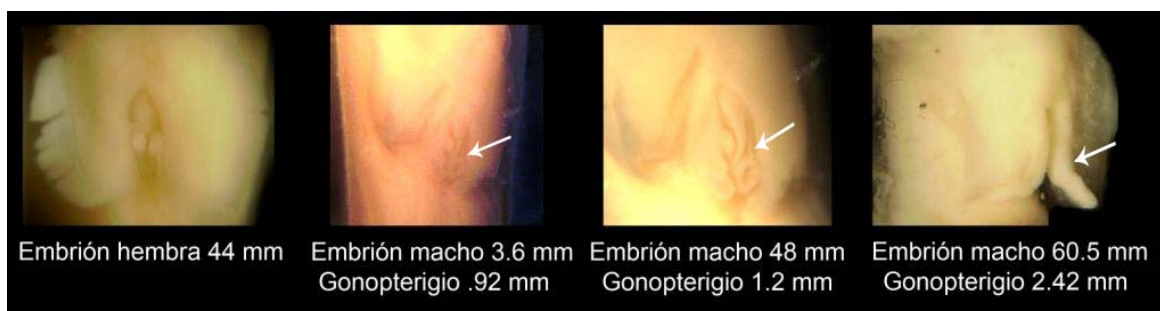


Figura 23. Comparación de aletas pélvicas en embriones menores de 10 cm de LT. Las flechas señala el gonopterigio.

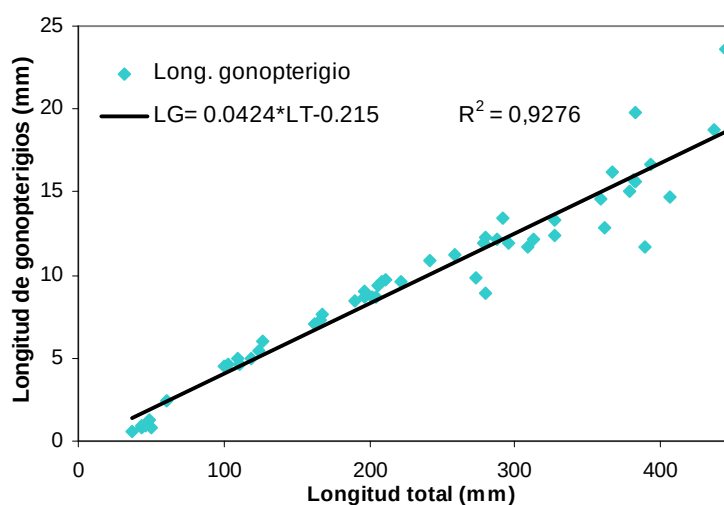


Figura 24. Relación lineal entre la longitud del gonopterigio y la longitud total en embriones de *P. glauca*. Datos observados y calculados

Aleta anal

En la figura 25, A se grafican la tasa de crecimiento de diferentes medidas de la aleta anal. Se observa que la longitud (L-An) aumenta a una tasa mayor, seguida por el margen anterior (MA-An), siendo la altura (Al-An) la que aumento en menor proporción.

Aleta caudal

Desde los organismos de tallas menores utilizados en esta investigación, se observa la aleta caudal heterocerca, donde se diferencian claramente el lóbulo ventral y el lóbulo terminal (Fig. 15 y 17). Al estereoscopio es posible observar el margen caudal rizado característico de la familia Carcharhinidae (Fig. 17). Después de los 6 cm LT la forma de la aleta caudal está completamente diferenciada, y se observan a simple vista todas las medidas evaluadas (Fig. 18): margen caudal dorsal (MCD), el margen caudal

preventral (MCpreV), el margen caudal postventral bajo (MCpostVb), el margen caudal postventral alto (MCpostVa), el lóbulo caudal terminal (LCT), el margen caudal subterminal (MCsubT), y el margen terminal caudal (MCT).

Las medidas de la aleta caudal se grafican en la figura 25, B. Se observó que el MCD creció a una tasa mayor que las otras, mientras que el MCsubT tiene la menor tasa de crecimiento de esta estructura.

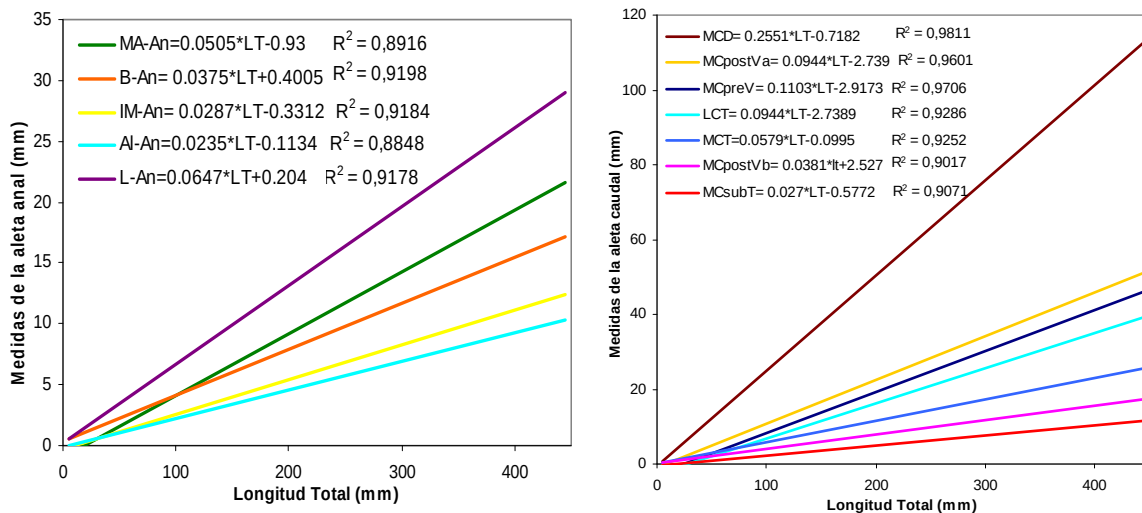


Figura 25. A. Relación lineal de medidas de la aleta anal, contra la longitud total. **B.** Relación lineal de medidas de la aleta caudal, contra la longitud total.

7.5 DESARROLLO OSTEOLÓGICO EN EMBRIONES DE *P. glauca*

Se usó la tinción de azul de Alciano y transparentación en 9 especímenes menores de 15 cm LT, para realizar observaciones del sistema esquelético, así como para determinar cambios osteológicos durante las primeras fases del desarrollo embrionario.

7.5.1 Desarrollo osteológico de las estructuras cefálicas

Condrocráneo

El condrocráneo, neurocráneo cartilaginoso, condroneurocráneo o endocráneo (Compagno, 2003), es una caja que carece de suturas, y que da forma al componente primario del cráneo en tiburones y rayas. Se caracterizan tres regiones: etmoidal, órbito-temporal, ótico-occipital (Fig. 26) (Cappetta, 1987; Compagno, 2003).

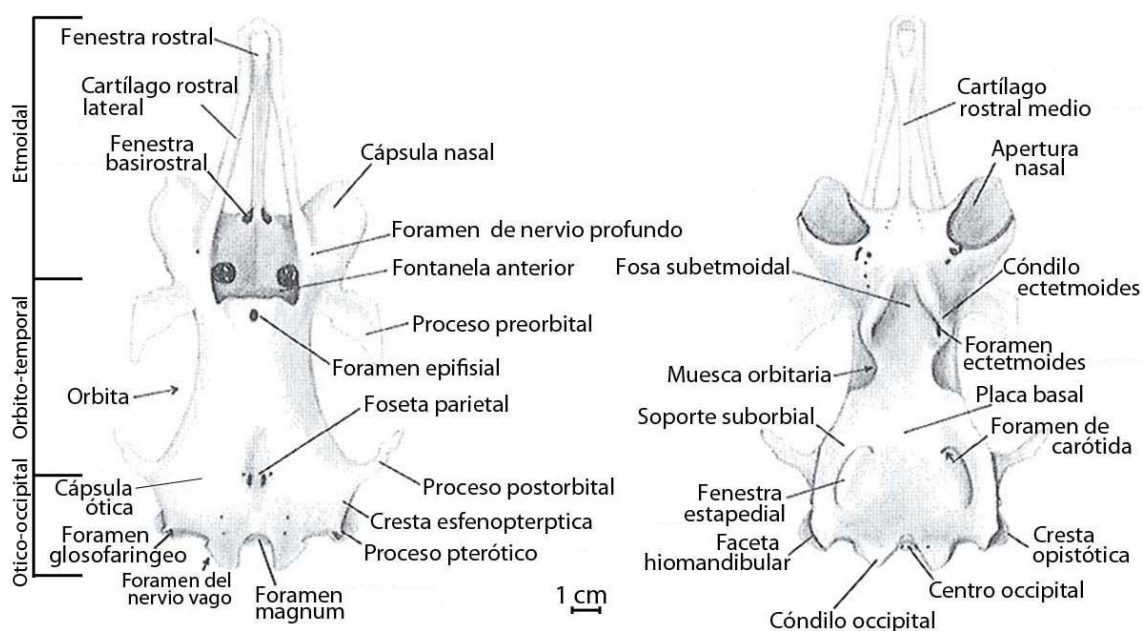


Figura 26. Condrocráneo de *Prionace glauca*, macho inmaduro 150.7 cm LT. Vista dorsal (izquierda), vista ventral (derecha). Tomado y modificado de Compagno, 2003.

La región etmoidal incluye el rostro y las cápsulas nasales (Compagno, 2003). En embriones menores de 6 cm LT las estructuras de la región etmoidal son poco discernibles (Fig. 27). Alrededor de los 9 cm LT las cápsulas nasales son notorias y presentan su forma definida; a partir de esta talla no se observan cambios notables en estas estructuras. Dentro de las fosas nasales se observan lamelas olfatorias, como estructuras en forma de peine (Fig. 28).

El rostro es un trípode con una barra ventral, cartílago rostral medio (barra medianamente central y oblicua, que se origina entre las cápsulas nasales), unida con dos delgadas barras dorsales, cartílago rostral lateral (que se originan en la parte superior de cada capsula nasal) (Cappetta, 1987). En embriones de tiburón azul menores de 6 cm LT, se aprecian las dos barras dorsales del cartílago rostral lateral, las cuales no confluyen hacia el centro (formando el trípode), sino que están abiertas hacia los lados; y no se observa el cartílago rostral medio ventralmente (Fig. 27). Un cartílago rostral con la forma característica de adultos se observa claramente definido desde los 9 cm LT (Fig. 28).

La región órbito-temporal incluye las órbitas, la placa basal y el límite entre ellos (Compagno, 2003). Ventralmente la región orbital es medianamente estrecha, y se

observa bien definida desde los embriones más pequeños. Los procesos post-orbitales son prominentes en el dorso (Cappetta, 1987), pero poco notorios en las tallas menores, donde solo se localizaron con estudios histológicos (Fig. 45). A los 10 cm LT, se observan los procesos preorbital y postorbital, formados por un cartílago muy delgado (Fig. 30).

La región ótico-occipital esta conformada por las cápsulas óticas, y el límite entre ellas y la región occipital es la región posterior, o final del cráneo (Compagno, 2003). En los embriones menores de 6 cm se observa esta región muy delgada. Alrededor de los 10 cm LT esta región se observa ensanchada (Fig. 30). En vista ventral es muy notoria la fenestra estapedial a partir de organismos de 3 cm LT (Fig. 27). Las cápsulas óticas parecen estar separadas en los organismos de tallas menores (Fig. 27 y 29).

Esplacnocráneo

Incluye un arco mandibular, hyomandibular, y cinco arcos branquiales (Cappetta, 1987). El arco mandibular esta compuesto de un palatocuadrado en la parte superior, y un cartílago de Meckel en la parte inferior, a cada lado de la mandíbula (Cappetta, 1987), observados desde embriones de 2.8 cm LT (Fig. 17, 28 y 30). El palatocuadrado presenta anteriormente un proceso orbital o entopalatal (palatobasal) el cual es mas o menos protuberante, y posteriormente un proceso ótico. Dichos procesos en el palatocuadrado, no se observan en los embriones de menores tallas. Sin embargo a partir de los 9 cm LT se observan claramente.

El ceratobranquial y el hyomandibular son elementos del esplacnocráneo que sirven en la suspensión mandibular (Cappetta, 1987). Estos elementos se observan claramente desde los organismos de menor talla (Fig. 27 y 28). Los arcos branquiales están formados por hipobranquiales, cereatobranquiales y epibranquiales (Cappetta, 1987) estructuras visibles desde los 3 cm LT.

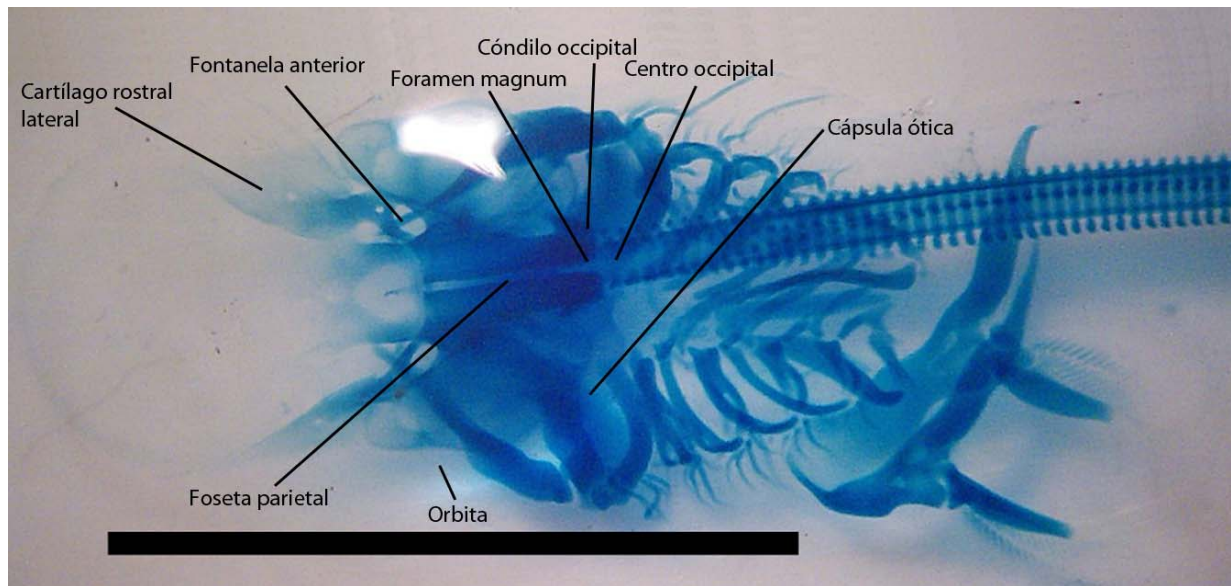
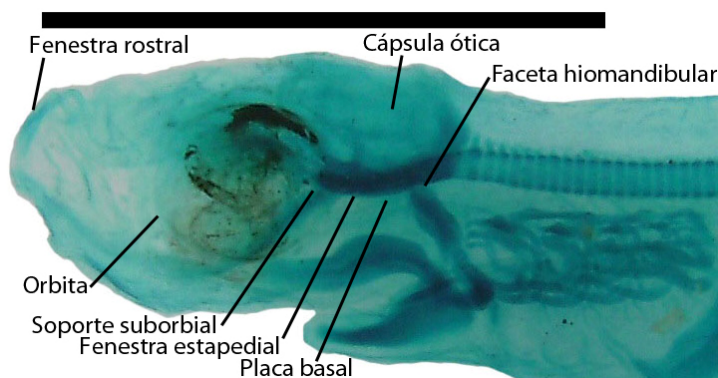
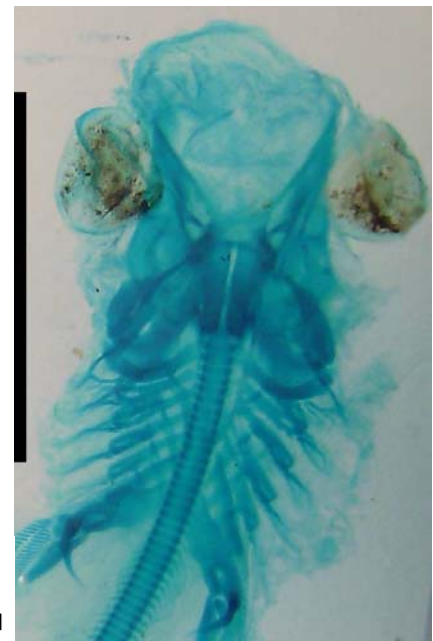


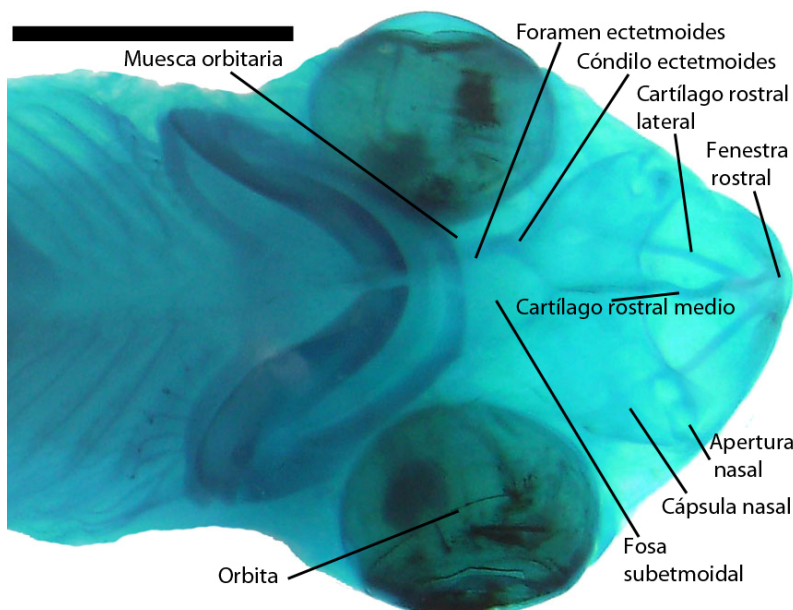
Figura 27. Condrocráneo en embrión de 4.5 cm LT. Vista dorsal. Barra = 1 cm.



↑ **Figura 28.** Condrocráneo en embrión de 4.7 cm LT. Vista lateral. Barra=1cm.



↑ **Figura 29.** Condrocráneo de embrión de 3.1 cm LT. Vista dorsal. Barra=1cm



← **Figura 30.** Condrocráneo vista dorsal. Embrión hembra 9 cm. Barra=1cm.

7.5.2 Desarrollo osteológico de aletas

Desarrollo osteológico de aletas pectorales

En tiburones el cinturón pectoral es totalmente independiente de la columna vertebral, lo cual se observó desde embriones menores de 6 cm LT (Fig. 35). Cada mitad de la cintura consiste en un coracoides y una escápula (generalmente dirigida hacia arriba y hacia atrás) (Cappetta, 1987). El proceso articular para la base de la aleta pectoral es un coracoides; el área articular está dirigida vertical u oblicuamente, y está atravesada por un foramen para la arteria branquial y para los nervios de la aleta pectoral, características observadas en los organismos (Fig. 30).

En carcharhiniformes se observan dos tipos de aletas pectorales: aplesódicas y plesódicas, estas últimas características de las especies de la familia Carcharhinidae (Compagno, 2003). En las aletas pectorales plesódicas los cartílagos distales de las aletas se alargan hasta el ápice de esta (Compagno, 2003). Las aletas pectorales en tiburones están soportadas por un esqueleto de tipo tribasal (conformado por protopterigio, mesopterigio y metapterigio), soportando los segmentos de cartílagos radiales (Cappetta, 1987). Dichas estructuras se encuentran presentes en organismos de 5 cm LT, pero no están totalmente definidos (Fig. 27 y 31 A). Alrededor de los 10 cm LT, se observan completamente formados (Fig. 31 B). Histológicamente se confirmó la presencia de estas estructuras en organismos desde 3.8 cm LT, ya que el cartílago hialino es claramente evidente con la tinción de azul de toluidina (Fig. 32).

Desarrollo osteológico de aletas pélvicas

El cinturón pélvico es una barra transversal de cartílago que está ligeramente arqueada; a ella se articulan dos estructuras protopterigio y basipterigio, que a su vez soportan los cartílagos radiales (Cappetta, 1987). Los elementos de las aletas pélvicas se pueden distinguir desde embriones menores de 6 cm LT (Fig. 33). En la estructura de las aletas pélvicas, se diferencian machos y hembras claramente después de los 6 cm LT (Fig. 34 A y B).

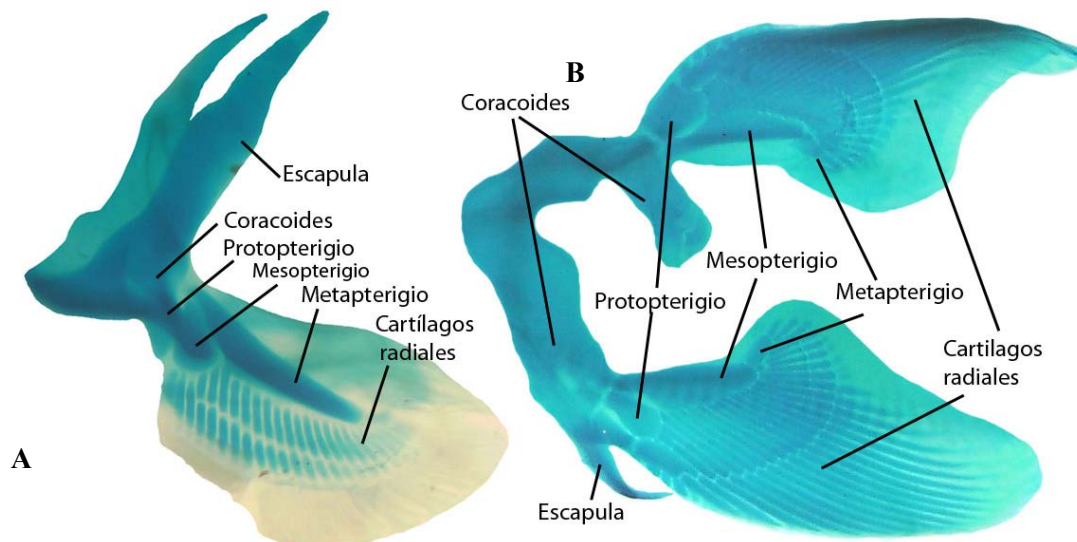
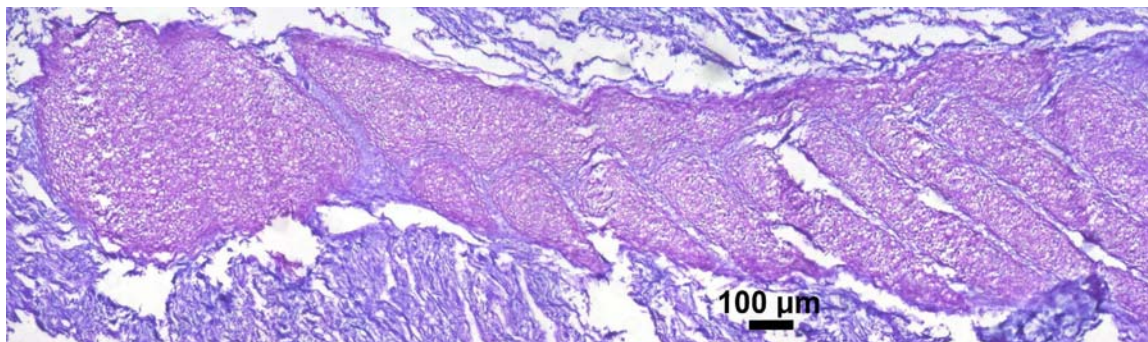
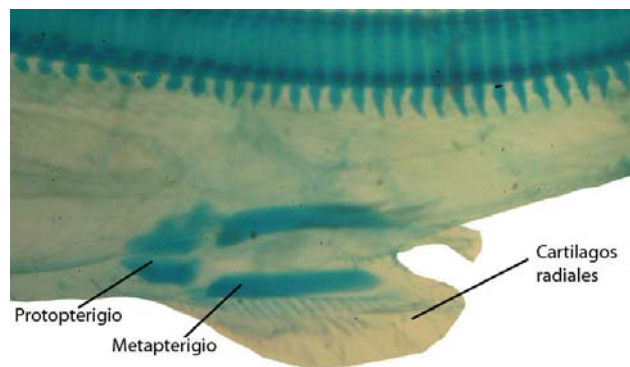


Figura 31. Cinturón pectoral. Embriones: 4.5 cm LT (A), 9 cm LT (B).



↑ **Figura 32.** Cinturón pectoral hembra 8 cm LT. Azul de Toluidina 100X.



← **Figura 33.** Región pélvica en embrión de 4.5 cm LT.

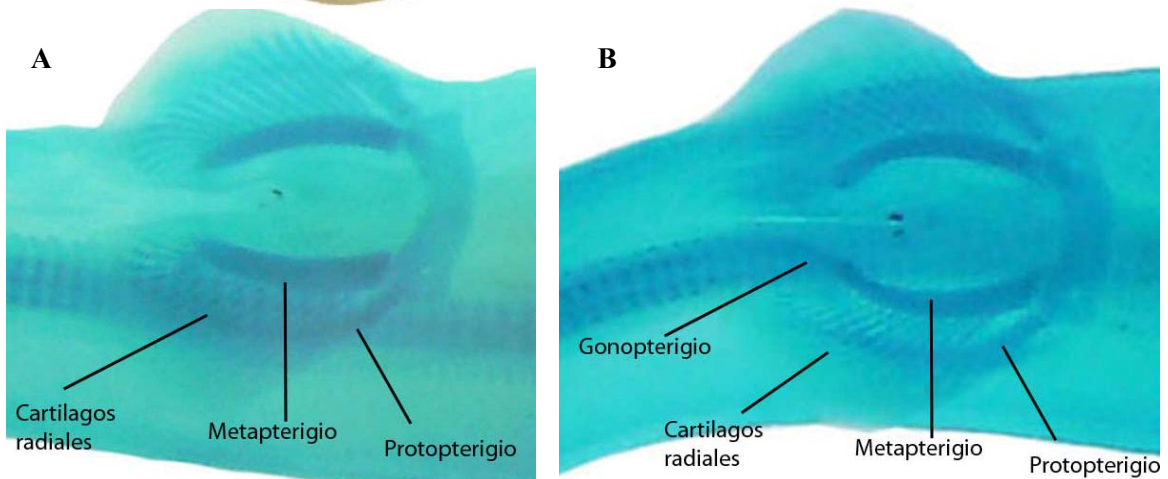


Figura 34. A. Región pélvica en hembra 9 cm LT. B. Macho 9.7 cm LT. Transparentación.

Desarrollo osteológico de aletas dorsales y aleta anal

Estas aletas están soportadas generalmente por un pequeño número de segmentos y cortos cartílagos radiales (Cappetta, 1987). Estos últimos no se observan en organismos menores de 6 cm LT (Fig. 35 A) y en organismos de alrededor de 10 cm LT se observan claramente (Fig. 35 B). La parte periférica de la aleta está soportado por ceratotriquias. En elasmobranquios, el cartílago radial de las aletas dorsales puede estar soportado por una o varias placas basales (Cappetta, 1987), pero en embriones de tiburón azul no se observó ninguna placa basal en las aletas dorsales. La aleta anal esta constituida muy similar a las aletas dorsales, sin embargo nunca tiene una placa basal (Cappetta, 1987)

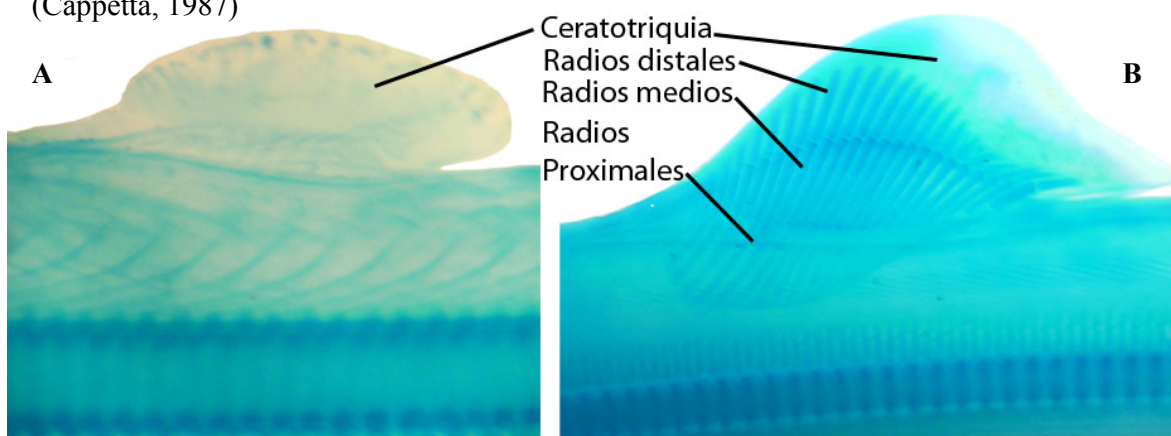


Figura 35. A. Primer aleta dorsal en hembra 4.5 cm LT. B. Primera dorsal en macho 9.7 cm LT.

Desarrollo osteológico de la aleta caudal

La aleta caudal pose solo elementos radiales proximales, situados por encima y debajo de los arcos hemales y neurales de las últimas vértebras de la columna vertebral (Cappetta, 1987). En embriones de tiburón azul se observó la aleta caudal heterocerca desde los 2.8 cm LT (Fig. 17 y 36). El lóbulo inferior no está soportado por cartílagos radiales, y está conformado por ceratotriquias.

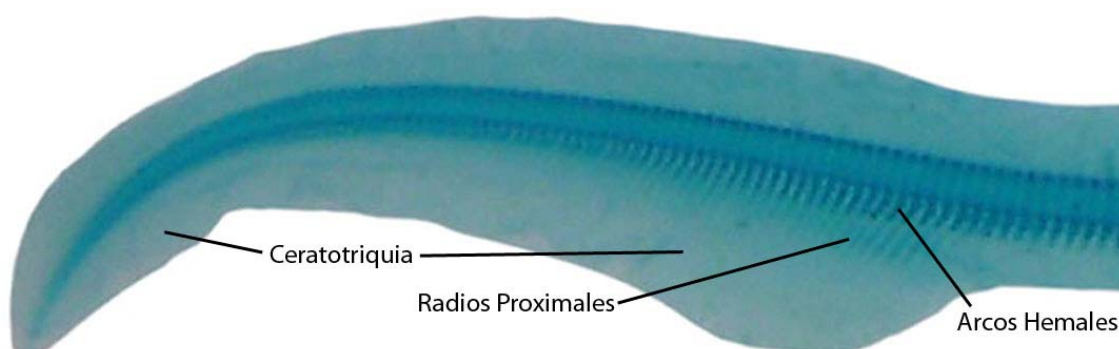


Figura 36. Aleta caudal de macho 4.5 cm LT. Transparentación.

7.6 ANÁLISIS HISTOLÓGICO EN EMBRIONES DE *P. glauca*

Los vertebrados presentan cuatro tejidos básicos: epitelial, conjuntivo, muscular y nervioso (Estrada-Flores y Uribe-Aranzábal, 2002). Se realizaron cortes histológicos con el fin de observar diferentes tejidos y/o su posible aparición durante el desarrollo embrionario del tiburón azul.

Tejido Epitelial

Los epitelios están formados típicamente por células unidas entre si directamente por especializaciones de la membrana plasmática y constituyen láminas que recubren superficies externas e internas del cuerpo, se pueden clasificar como epitelios de revestimiento, glandulares y neuroepitelios (Estrada-Flores y Uribe-Aranzábal, 2002). Los epitelios de revestimiento forman membranas que pueden participar en procesos tales como protección, absorción, secreción, excreción, digestión y sensibilidad; y se clasifican de acuerdo a sus características morfológicas (Leeson, *et al.*, 1990; Geneser, 1993). Solamente en dos localizaciones estos epitelios tienen nombres especiales: endotelio y mesotelio (Estrada-Flores y Uribe-Aranzábal, 2002). El endotelio recubre la superficie interna del corazón, vasos sanguíneos y linfáticos. El mesotelio recubre las membranas serosas en la superficie peritoneal (Leeson, *et al.*, 1990; Geneser, 1993).

Los epitelios estratificados están formados por un número variable de capas, en el tiburón se localizaron en la cavidad oral, faringe, esófago, piel y branquias. El esófago en tiburones es corto, histológicamente el revestimiento interno del órgano presentó epitelio estratificado cúbico, con células ciliadas entre las que se encontraron algunas células mucosas.

El epitelio plano estratificado queratinizado con función protectora, se encontró en la piel a nivel de la epidermis formada por la capa basal y células columnares (Fig. 37). En la epidermis de embriones de tallas menores se observó una delgada capa de células (Fig. 38), mientras que en embriones de mayor tamaño, la epidermis es más gruesa ya que se observaron más células formando esta capa (Fig. 37). Se identificaron dentículos dérmicos en la piel de embriones desde los 20 cm LT (Fig. 39). Además con la técnica de Von Kossa (técnica para identificación de iones Ca^{++}) se identificó la presencia de material calcáreo en dentículos dérmicos desde 20 cm LT (Fig. 40). Los

resultados con esta técnica son los depósitos calcáreos teñidos de negro sobre un fondo ligeramente teñido (Nezelof, *et al.*, 1975; Humanson, 1979).

El aparato respiratorio está formado por pares de arcos branquiales; a su vez cada arco presenta una hilera de filamentos branquiales perpendiculares al arco branquial formados de tejido conjuntivo vascularizado que contiene un eje cartilaginoso central, los cuales se observaron desde 3 cm LT (Fig. 41). De cada uno de los filamentos branquiales laterales, salen numerosa prolongaciones laterales finas, que forman laminillas braquiales o lámela secundarias branquiales; estas contienen tejido conjuntivo con abundantes vasos sanguíneos capilares y están rodeados por epitelio simple plano (Fig. 42).

Tejido Conjuntivo

El tejido conjuntivo se caracteriza por la presencia de células y matrices extracelulares formadas por sustancias intercelulares amorfas y fibrilares entre las cuales circula líquido tisular (Leeson, *et al.*, 1990; Geneser, 1993). Las fibras son de tres tipos: colágena, reticular y elástica. Existen dos tipos de tejido conjuntivo: general y especializado. Los generales son: mesenquima, tejido conjuntivo reticular, laxo, fibroso, elástico, adiposo y mucoso; todos están formados por células de diferentes formas y características (Estrada-Flores y Uribe-Aranzábal, 2002; Leeson, *et al.*, 1990). Los especializados son: cartílago, hueso, sangre, hematopoyético y linfático (Estrada-Flores y Uribe-Aranzábal, 2002).

El cartílago está constituido por células llamadas condroblastos y condrocitos. Existen tres tipos de cartílago: hialino, elástico y fibroso (Leeson, *et al.*, 1990; Geneser, 1993). Se evidenció la presencia de cartílago hialino en condrocráneo, cinturón pectoral y cinturón pélvico de embriones de tiburón azul, desde 4 cm LT (Fig. 32, 43). A esta talla en la región etmoidal del condrocráneo, el rostro y las cápsulas nasales están formados por una delgada capa de cartílago hialino; en cortes longitudinales se observó el cartílago rostral, de algunas micras de grosor. Alrededor de los 9 cm LT, las cápsulas nasales son notorias y presentan su forma definida (Fig. 30), alojando lámelas olfativas que se apreciaron como estructuras en forma de peine (Fig. 44). En organismos menores de 6 cm LT la región órbito-temporal es de algunas micras de grosor; se observó un aumento en el grosor, conforme se incrementa la LT. Desde 3.8 cm LT se identificó

cartílago hialino alrededor de la orbita ocular (Fig. 45) y cartílago fibroso en el cuerpo de la vertebra desde 3.8 cm LT (Fig. 46). Las aletas están sostenidas por cartílagos radiales, formado por ceratotriquia. Histológicamente se observaron en la aleta caudal los radios flexibles, que constituyen el sostén de las aletas (Fig. 47).

Se lograron cortes histológicos longitudinales y transversales en dientes en los embriones desde 20 cm LT, sin evidenciar presencia de depósitos calcáreos (Fig. 48). Desde organismos de 10 cm LT se localizó lo que al parecer son las ámpulas de Lorenzini (Fig. 49).

La sangre es un tipo de tejido conectivo especializado, que transporta nutrientes y gases, distribuyéndolos en todos los tejidos. La sangre está constituida por plasma, eritrocitos, leucocitos y trombocitos (Estrada-Flores y Uribe-Aranzábal, 2002; Leeson, *et al.*, 1990). En embriones desde 3 cm LT se observaron células sanguíneas en los filamentos branquiales (Fig. 50). Se observó claramente la sangre dentro del ventrículo de una hembra de 10 cm LT (Fig. 51).

El tejido hematopoyético, realiza el proceso de diferenciación de las células sanguíneas (Estrada-Flores y Uribe-Aranzábal, 2002). Se localiza principalmente en el bazo, hígado y riñón. Desde embriones de 10 cm LT, se observó el riñón (Fig. 52) y el hígado (Fig. 53) bien diferenciados. En ambos se observaron abundantes células sanguíneas. El hígado es la glándula más grande del organismo, irrigado por la arteria hepática y recibe sangre venosa proveniente del tubo digestivo (Estrada-Flores y Uribe-Aranzábal, 2002). El hígado se observó en los embriones desde 3 cm LT, siendo el órgano de mayor tamaño en la cavidad visceral durante casi todo el desarrollo embrionario. Histológicamente se localizó la arteria hepática desde embriones de 10 cm LT (Fig. 54).

El intestino corto del tiburón se incrementa en superficie de absorción por la válvula espiral (Mojetta, 2005). Esta válvula consiste en un pliegue en espiral de la mucosa absorbente que forma una serie de anillos, cuyo número varía según la especie de 4 en *P. glauca*, a 45 en *Alopias vulpinus*. Estos pliegues se encuentran espaciados de forma más o menos regular, se observaron con disecciones e histológicamente, desde embriones alrededor de 4 cm LT (Fig. 16, 55). La pared interna del intestino esta formada por células cilíndricas ciliadas (Fig. 56).

Tejido muscular

El tejido muscular está constituido por células alargadas, llamadas miocitos o fibras musculares especializadas en la contracción; es responsable de los movimientos voluntarios e involuntarios del cuerpo (Estrada-Flores y Uribe-Aranzábal, 2002). Las células musculares se ordenan formando haces de diferente grosor y colocados en distintas direcciones (Leeson, *et al.*, 1990; Geneser, 1993). De acuerdo a su estructura y función se clasifican en tres tipos: músculo liso, estriado esquelético y estriado cardíaco (Estrada-Flores y Uribe-Aranzábal, 2002).

El músculo liso es de movimiento involuntario, donde las células se contraen lentamente, pero con actividad contráctil larga (Geneser, 1993). Se observaron células de músculo liso en disposición circular alrededor de arterias (Fig. 57). El músculo estriado esquelético es de movimiento voluntario, las células se pueden contraer con rapidez y gran fuerza, pero se fatigan relativamente pronto (Estrada-Flores y Uribe-Aranzábal, 2002). Se observaron delgados paquetes musculares en embriones desde 3 cm LT (Fig. 58), conforme el organismo incrementa la talla, estos paquetes aumentan el grosor. (Fig. 59). El músculo estriado cardíaco es de movimiento involuntario, las células se contraen rítmica y constantemente durante toda la vida (Leeson, *et al.*, 1990). Estas células se observaron en el corazón (Fig. 60) y ventrículo (Fig. 61) desde organismos de 3 cm LT.

Tejido Nervioso

El sistema nervioso representa el nivel de organización más alto en la materia viva (Estrada-Flores y Uribe-Aranzábal, 2002). Histológicamente dispone de dos tipos de células específicas: neuronas y neuroglías (Leeson, *et al.*, 1990; Geneser, 1993). Las neuronas intervienen directamente en los procesos informativos, enviando información entre ellas a través de prolongaciones y forman redes intercomunicadas, en las que se elabora y almacena dicha información. Las neuroglías tienen la función de protección, alimentación y soporte (Estrada-Flores y Uribe-Aranzábal, 2002; Leeson, *et al.*, 1990; Geneser, 1993). Se identificaron células nerviosas desde 10 cm LT, al parecer formando los lóbulos del cerebro. Fue en el cordón neural dorsal donde se observaron claramente las neuronas (Fig. 62).

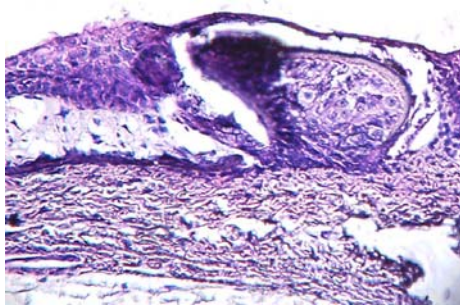


Figura 37. Dermis y epidermis, en embrión macho 32 cm LT. Mallory. 100X



Figura 38. Epidermis y denticulo dérmico, embrión hembra 20 cm LT. Mallory. 400X

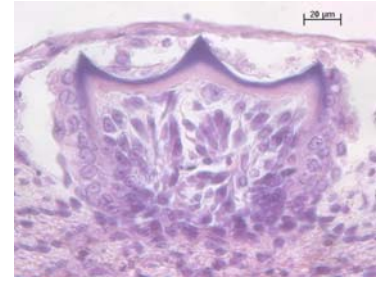


Figura 39. Denticulo dérmico. Embrión macho 20 cm LT. H-E 400X.

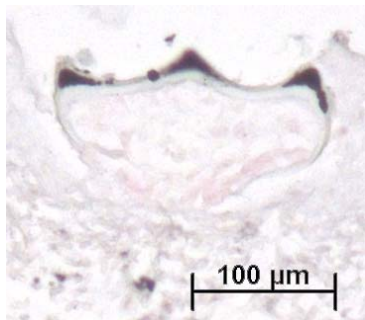


Figura 40. Denticulo dérmico. Embrión macho 20 cm LT. Von Kossa. 400X

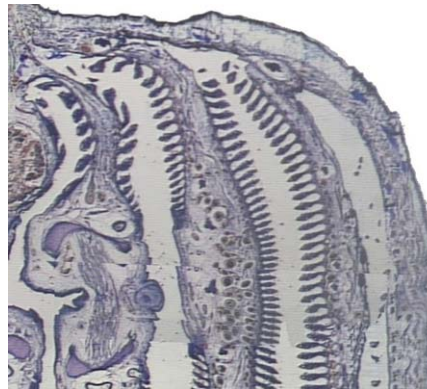


Figura 41. A. Arcos branquiales. Embrión macho 31 cm LT. H-E 40X. **B.** Detalle de filamentos branquiales. Embrión macho 4 cm LT. Mallory. 100X

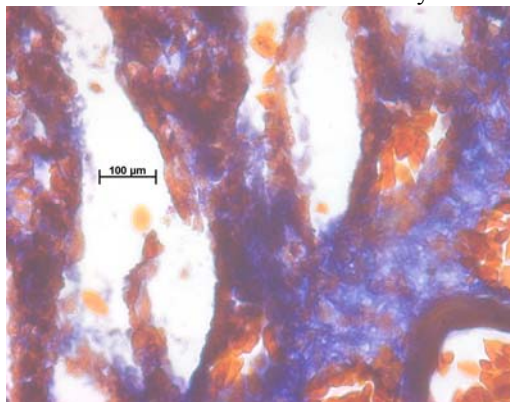
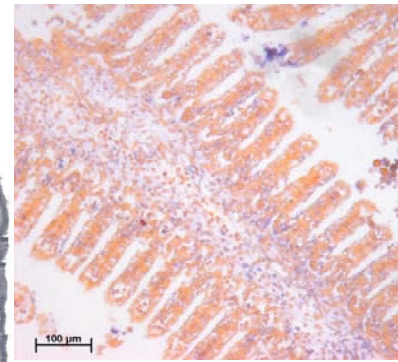


Figura 42. Laminilla branquial, células sanguíneas. Embrión hembra 10 cm LT. Mallory. 400X

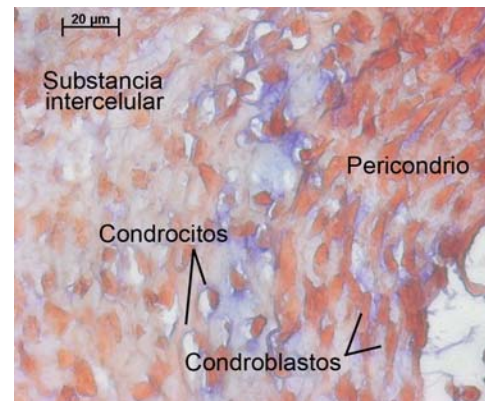


Figura 43. Cartilago hialino en condrocraqueo. Embrión macho 4.8 cm LT. Mallory 400X.



Figura 44. A. Lámelas olfativas. Hembra 9 cm LT. Corte longitudinal. Mallory 40X. **B.** Detalle de lámelas olfativas. Hembra 9 cm LT. Mallory 400X.

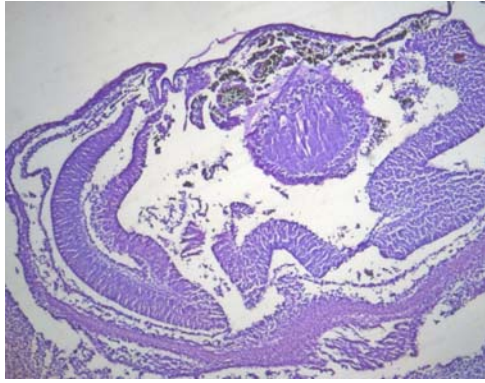


Figura 45. Región óptica en embrión 3.8 cm LT. Azul Alciano. 40 X.

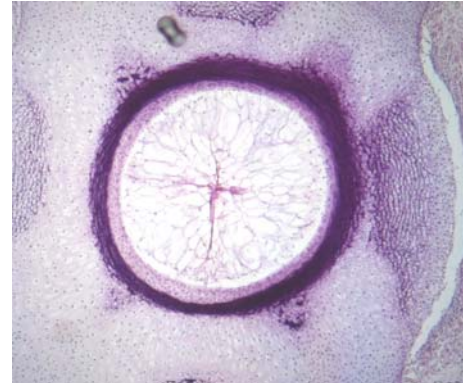


Figura 46. Cuerpo vertebral. Embrión hembra 20 cm LT. H-E. 100X

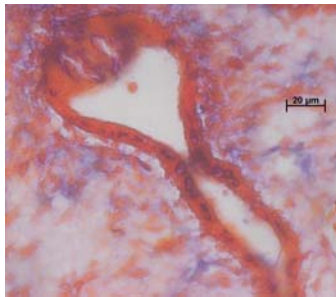


Figura 47. Ámpula de Lorenzini. Embrión hembra 10cm LT. Mallory. 400X

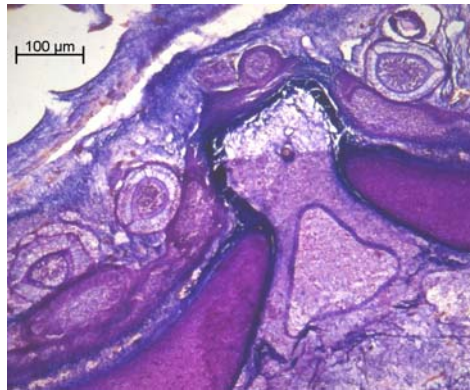


Figura 48. Detalle de sínfisis, corte transversal en dientes. Embrión hembra 20 cm LT. Mallory 100X

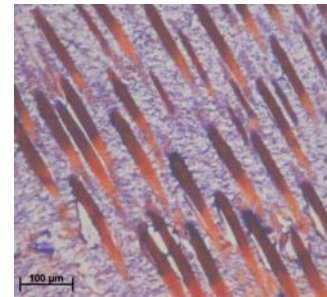


Figura 49. Radio dérmicos en ceratotriquia. Hembra 10 cm LT. Mallory 400X.

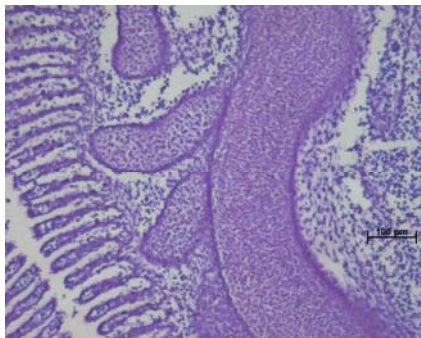


Figura 50. Filamentos branquiales. Embrión 3.8 cm LT. Azul alciano. 100X.

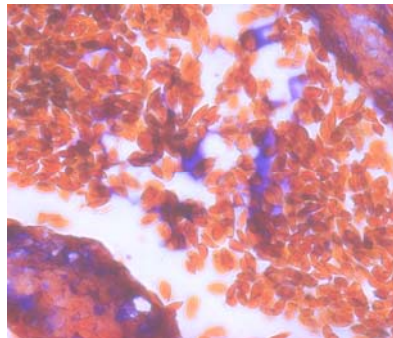


Figura 51. Células sanguíneas en ventrículo. Embrión hembra 10 cm LT. Mallory. 400X.

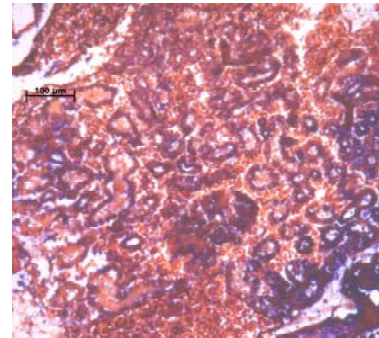


Figura 52. Riñón. Embrión hembra 10 cm LT. Mallory. 400X.

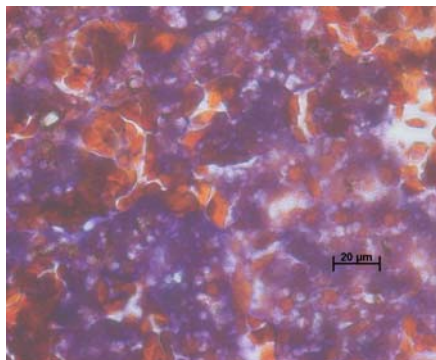


Figura 53. Hígado. Embrión macho 10 cm LT. Mallory. 400X.

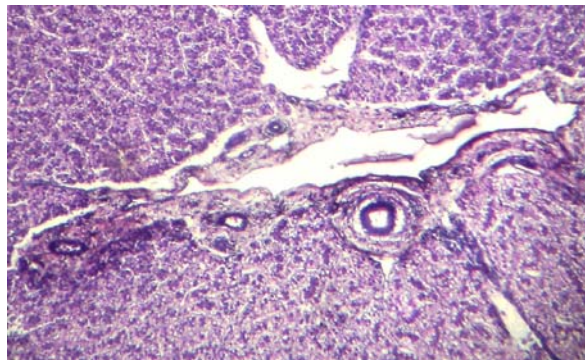


Figura 54. Arteria hepática. Embrión macho 10 cm LT. Azul de Toluidina. 400X.

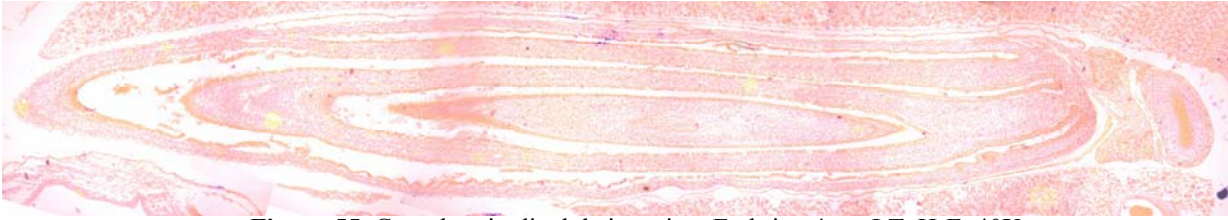


Figura 55. Corte longitudinal de intestino. Embrion 4 cm LT. H-E. 40X.

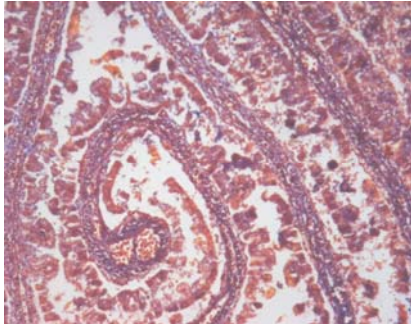


Figura 56. Corte transversal en intestino. Embrión hembra 10 cm LT. Mallory. 100X.

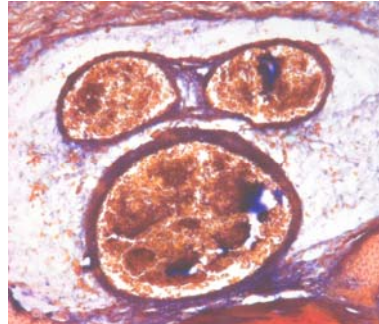


Figura 57. Arteria dorsal. Embrión hembra 10 cm LT. Mallory. 100X.

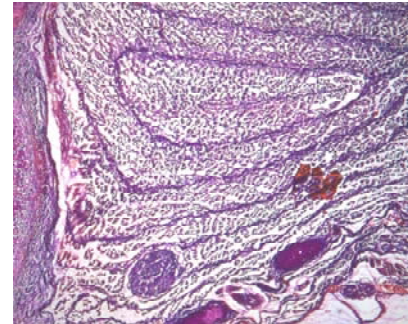


Figura 58. Paquetes musculares de región pectoral. Embrión macho 4 cm LT. H-E. 40X.

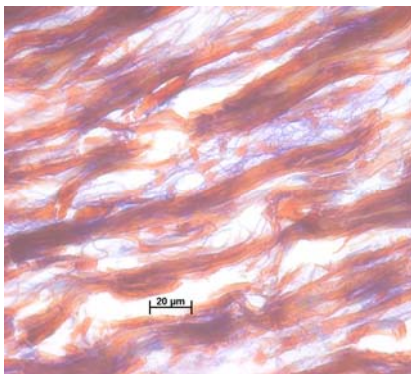
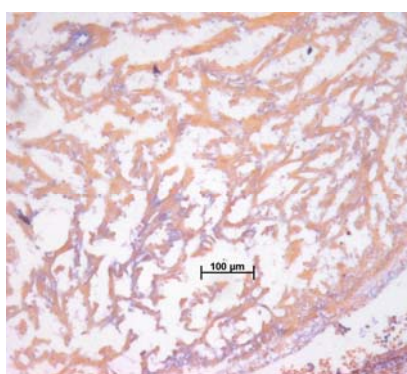
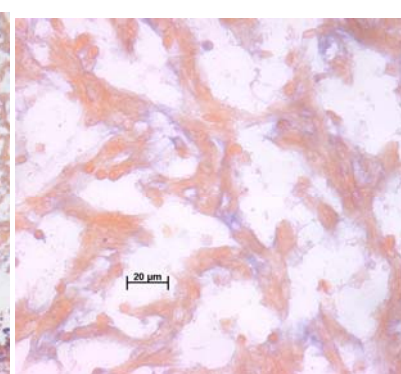


Figura 59. Paquetes musculares en mandíbula. Embrión macho 11.2 cm LT. Mallory. 400X.



A
Figura 60. A. Aurícula de corazón. Embrión 4 cm LT. Mallory. 40X.



B
Figura 60. B. Musculatura estriada cardíaca. Embrión 4 cm LT. Mallory. 100X.

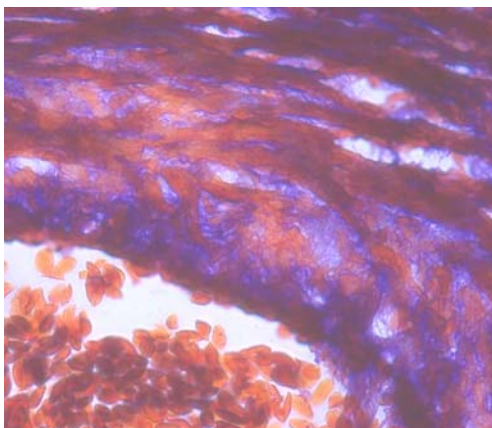


Figura 61. Musculatura estriada en ventrículo. Embrión hembra 10 cm LT. Mallory. 400X.

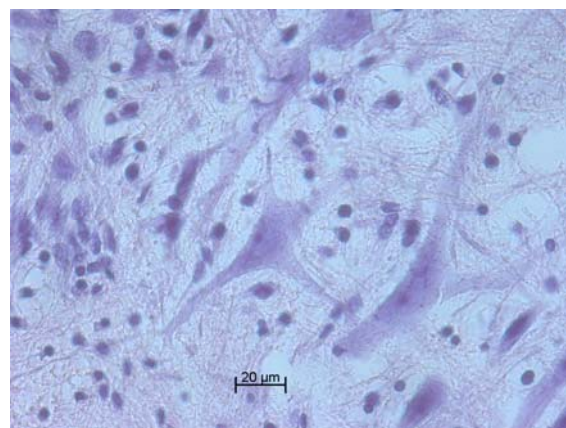


Figura 62. Neurona en cordón neural dorsal. Embrión hembra 10 cm LT. Mallory. 400X.

VIII. DISCUSIÓN

Existen algunos estudios acerca de diferentes aspectos del desarrollo embrionario de elasmobranquios, autores como los de Belon (1551), Rondelet (1554), Steno (1673), Malpighi (*En*: Adelman, 1966). Asimismo Müller (1842) describe diversos detalles acerca de la embriología y de la placenta en elasmobranquios (Hamlett, 1999). Sin embargo, pocos son los estudios que se han realizado acerca de todo el proceso embrionario. Los trabajos de Balfour (1876, 1877, 1878) y Holmgren (1940) describen detalladamente el condrocáneo en *S. acanthias*. Con respecto a *P. glauca*, se desconocen los cambios morfológicos que suceden durante el desarrollo del embrión, por lo que el presente trabajo es la primera referencia para la especie.

8.1 FECUNDIDAD

El número de embriones observados por hembra grávida varió de 7 a 64 embriones, lo que cae dentro del rango comúnmente reportado por la literatura, esto es entre 4 y 63 crías (Compagno *et al.*, 1995; Strasburg, 1958), aunque hay registros que indican que pueden alcanzar las 135 crías (Guvanob y Grigor'yev, 1975; Compagno, 1984).

La amplia variación en el número de embriones registrado por hembra grávida en el presente trabajo, sugiere que en la costa occidental de Baja California Sur el número de embriones no es directamente proporcional con la LT de la madre (Fig. 7), contrario a lo registrado por Castro y Mejuto (1995), donde reportan que el número de embriones está en relación directa con la longitud total de la madre.

8.2 DISTRIBUCIÓN TEMPORAL DE LOS EMBRIONES

En los sitios de muestreo se registraron hembras grávidas durante todo el año. Los embriones de menor talla se observaron principalmente en los meses de agosto y septiembre; mientras que los embriones de mayor talla sobrepasaron 40 cm LT y se registraron durante la primera mitad del año de febrero a julio, fechas en las que probablemente ocurre el nacimiento. Suda (1953), Aasen (1966) y Pratt (1979) proponen que el nacimiento ocurre entre diciembre y abril, febrero y abril, y entre marzo y julio, respectivamente. Suda (1953) propone un periodo de gestación de 9

meses, pero Pratt (1979) propone que son 12 meses de gestación. De acuerdo con la temporalidad de las muestras obtenidas durante el presente trabajo se propone que la gestación probablemente dura un año en esta área del Pacífico.

La talla de nacimiento se deduce al comparar la talla máxima embrionaria con la longitud total más pequeña de un organismo de vida libre. En el presente trabajo la talla máxima embrionaria registrada fue de 45 cm LT, por lo que se propone que la talla de nacimiento es de 46 cm LT. Pratt (1979) sugiere una talla de nacimiento entre 35 y 44 cm LT, mientras que Cailliet y Bedford (1983) proponen que el nacimiento ocurre de los 34 a 63 cm LT en aguas de California. Carrera-Fernández (2004), propone que la talla de nacimiento es de 45 cm LT en la costa occidental de Baja California Sur, y Bigelow y Schroeder (1953) reportan que el nacimiento en el Atlántico es aproximadamente a los 50 cm LT. Esta diferencia en los tamaños de nacimiento podría ser debido a las características oceanográficas de cada zona de estudio, en donde la temperatura del agua es diferente y tal vez sea el factor que determine la talla a la cual las crías alcanzan su desarrollo (Castro y Wourms, 1993).

Las áreas de crianza son partes geográficas discretas dentro del rango geográfico de la especie, en donde ocurre el alumbramiento y donde los juveniles pasan sus primeros meses (especies de aguas templadas) o años (especies tropicales) de su ciclo de vida (Springer 1967; Castro 1987; 1993). En la zona de muestreo, la presencia de hembras grávidas con embriones cerca de la talla de nacimiento indica que la zona es un área de crianza.

8.3 RELACIÓN PESO-LONGITUD DE EMBRIONES

Se observó que la relación peso-longitud (Fig. 13) de los embriones indica que crecen de forma alométrica negativa, evaluada con la prueba t-Student ($b \neq 3$) ($p < 0.05$). No se observó diferencia entre el crecimiento embrionario y peso entre hembras y machos. Los valores de los parámetros son ligeramente diferentes, aunque no se alejan mucho uno del otro. El cálculo en la relación peso longitud para machos y hembras por separado, se realizó con la finalidad de saber si la relación es diferente entre sexos. La relación no es estadísticamente (ANCOVA) diferente, por lo que los valores de los parámetros a y b tampoco son diferentes.

En un estudio sobre la reproducción y crecimiento embrionario de *S. acanthias*, Demirhan y Seyhan (2006) no encuentran diferencias estadísticamente significativas en la relación peso-longitud en embriones de diferente sexo, así como tampoco entre embriones colectados en ambos úteros. Balart (*et al.*, 2000) sugieren que la relación peso-longitud en *Cephalurus cephalus* y *Parmaturus xaniurus* presenta un crecimiento alométrico.

8.4 PROPORCIÓN DE SEXOS

Con observaciones minuciosas de la presencia/ausencia del gonopterigio se identificó el sexo desde los embriones más pequeños, salvo en escasas excepciones. Asimismo no fue posible identificar el sexo en los casos donde la región pélvica del embrión se encontraba destruida, aunque se tratara de embriones con tallas donde el sexo se puede identificar a simple vista. De los 965 embriones sexados, 492 fueron hembras y 473 machos, por lo que la proporción de sexos fue de 1.04H:1M, sin diferencias significativas entre ellos ($p < 0.005$). González-García (1998) reporta para *R. productus* una proporción de sexos embrionaria de 1.37H:1M, sin presentar diferencias significativas entre sexos ($p < 0.005$). Mientras que Sánchez-Reyes (2004) reportó para *S. californica* una proporción de sexos embrionaria de 1.45H:1M. Para *Carcharhinus acronotus* Hazin, *et al.* (2002) reportan una proporción de sexos embrionaria de 1.25H:1M, sin diferencias significativas ($p < 0.005$). Jensen *et al.*, (2002) reportan una proporción de sexos embrionaria de 1:1 para *Lamna nasus*.

Con respecto a la proporción de sexos de los embriones dentro de cada hembra grávida, está varió desde 0.5H:1M hasta 5H:1M aunque en promedio la proporción fue de 1.19H:1M, sin llegar a existir una diferencia significativa ($p < 0.005$). Al no observar una producción diferencial a favor de un sexo, se infiere que la segregación por sexos ocurre posteriormente en organismos juveniles y en adultos que están alcanzando la madurez sexual (Carrera-Fernández, 2004).

8.5 DESCRIPCIÓN DE EMBRIONES

En general no se observó que los embriones dentro de los úteros presenten alguna posición particular. La excepción fueron dos casos en que se encontraron pocos embriones de tallas mayores de 25 cm LT, en donde estos estaban orientados longitudinalmente hacia la parte anterior del cuerpo de la madre. Francis y Stevens (2000) reportan dos embriones de *L. nasus* en cada útero, uno orientado hacia parte posterior y el otro hacia la parte anterior.

Debido a las tallas de embriones muestreados durante el presente trabajo, no se estudiaron los acontecimientos celulares durante la gastrulación, desarrollo de somitas y placentación. Las principales dificultades para observar estas etapas en carcharhinidos podrían ser la corta duración de estas etapas y/o los problemas para muestrear tales especímenes tan frágiles (Castro y Wourms, 1993). Parsons (1983) menciona que el desarrollo embrionario es rápido, y comienza después de la fertilización. De acuerdo con Holmgren (1940), los blastemas en tiburones y rayas, son reconocibles a los 20 mm LT, mientras que los elementos esqueléticos básicos a los 25 mm LT.

Autores que describen fases o estadios en el desarrollo embrionario de diferentes especies de elasmobranquios, nombran las fases con base en descripciones de tallas o intervalos de tallas. Holmgren (1940) describe fases en el desarrollo del condrocraqueo de *S. acanthias*, *E. spinax*, *S. canícula*, *H. japonicus*, *R. clavata*, *T. ocellata*, *U. halleri*, asociado a la LT (e.g. fase 2 mm, fase 3mm, 320 mm), con la finalidad de describir secuencialmente las características en el condrocraqueo de dichas especies. Castro y Wourms (1993) clasifican y describen las fases del desarrollo embrionario de *R. terraenovae* con base en la LT. Joung y Hsu (2005) basados en observaciones morfológicas de las crías de 24 camadas de *I. oxyrinchus*, clasifican a los embriones en cinco estadios describiendo placentación y cambios morfológicos.

Las características más notorias en la fase I que observamos es que los embriones presentan filamentos branquiales externos, y la región anterior de la cabeza redondeada. Los embriones no dependen del saco vitelino, ya que la placenta esta completamente formada. Castro y Wourms (1983), observaron que los embriones de *R. terraenovae*, de alrededor de 4 cm LT, aún dependen del saco vitelino. También destaca que los embriones en un rango entre 4 y 11 cm LT, presentan prominentes filamentos

branquiales. González-García (1998) reporta para *R. productus* que los filamentos branquiales externos son reabsorbidos paulatinamente, donde a los 90 mm LT están ausentes por completo. Francis y Stevens (2000), mencionan que alrededor de los 9 cm LT en *L. nasus* no se observan filamentos branquiales expuestos. Mientras que en embriones de *I. oxyrinchus* entre 10 y 14 cm LT, Joung y Hsu (2005) reportan notorios filamentos branquiales expuestos, donde presumiblemente los embriones absorben leche intrauterina. Mientras que en el tiburón azul los filamentos branquiales son menos notorios después de los 6 cm LT, y aproximadamente a los 8 cm LT ya no se observan.

Desde el embrión más pequeño de 2.8 cm LT se observó el cuerpo formado y todas las aletas. Balfour (1874) destaca que primero se observan los cambios en la cabeza y después en el resto del cuerpo.

Con observaciones minuciosas usando estereoscopio, se identificaron estructuras internas. Las papilas dérmicas en los bordes interiores de cada arco branquial, que son características de la especie, se identificaron desde la fase I. Dichas papilas dérmicas también son características de especies de la familia Scyliorhinidae así como en algunos géneros de la familia Proscylliidae (Compagno, 2003).

La diferenciación de las formas del seno venoso, aurícula, ventrículo y el cono arterial del corazón, indican que este órgano ya está en funcionamiento desde la fase I. En el sistema digestivo el intestino mide aproximadamente el doble de lo que mide el estómago, condición similar en todo el proceso embrionario, pero diferente en juveniles y adultos, donde el estómago tiene mayor tamaño que el intestino. Debido al modo reproductivo, la condición embrionaria de Lamniformes es diferente, donde como unos de los rasgos más notables en el desarrollo embrionario es que alrededor de los 20 cm LT el estómago comienza a expandirse; observándose enormemente distendido después de los 30 cm LT (Francis y Stevens, 2000;). Debido a que durante el desarrollo embrionario los nutrientes son proporcionados por la madre y son absorbidos en el intestino, no es importante el desarrollo del estómago. El corto intestino del tiburón incrementa la superficie de absorción por la válvula espiral (Mojetta, 2005). El número de anillos en la válvula espiral varía por especie de 4 en *P. glauca*, a 45 en *Alopias vulpinus* (Mojetta, 2005). La glándula rectal es un tipo de glándula accesoria que secreta cloruro de sodio (Romer y Parsons, 1981) y se observa desde embriones menores de 6 cm LT (Fig. 16).

Aproximadamente a partir de 13 cm de LT la forma del cuerpo no cambia, sin embargo en la coloración y estructura interna se observaron modificaciones discretas Balfour (1874) menciona que durante el desarrollo de elasmobránquios, después de que se forma el embrión, solo se observa incremento la talla, sin experimentar cambios importantes, con excepción de los dos lóbulos de la aleta caudal.

En embriones de *P. glauca* no se observó coloración antes de los 13 cm LT, después de esta talla se observó una coloración café en los ápices de las aletas, la cual remarca un tono intenso después de los 18 cm LT. Al igual que en *L. nasus* donde Francis y Stevens (2000) no observaron pigmentación en embriones menores alrededor de 20 cm LT, y el cuerpo tiene una coloración rosa debido a la presencia de vascularización debajo de la piel. Joung y Hsu (2005) reportan pigmentación en la punta de la aleta caudal en embriones de *I. oxyrinchus* de aproximadamente 40 cm LT, y la pigmentación característica de esta especie se observa cerca de la talla de nacimiento aproximadamente entre 62 y 72 cm LT. Joung y Hsu (2005). Mientras que la coloración característica del tiburón azul es notoria entre los 25 y 40 cm LT, también cerca de la talla de nacimiento.

Los embriones de mayores tallas observadas midieron 45 cm LT, por lo que se considera que la talla de nacimiento es de 46 cm LT. Sin embargo alrededor de 40 cm LT, los embriones son bastante parecidos a los adultos, y al parecer son morfológica y estructuralmente completos y aptos para sobrevivir en vida libre. En especies vivíparas aplacentadas con oofagia ejemplo *I. oxyrinchus* y *L. nasus* los neonatos presentan estómagos distendidos (Joung y Hsu, 2005; Jensen *et al.*, 2002).

Strasburg (1958) reportó una hembra de tiburón azul que después de ser capturada liberó crías entre 34 y 48 cm LT completamente desarrolladas y activas. Laughlin y Ugoretz (1999) reportan la expulsión de 4 crías de tiburón azul en las aguas costeras de California, estimando la talla de las crías entre 30 y 40 cm LT; después de nacer, las 4 crías nadaron activamente. No se observó el cordón umbilical ni sangrado. Durante el presente trabajo, en los muestreos de campo se observó una hembra grávida (muerta, de 200 cm LT) en la playa que expulsó crías de alrededor de 40 cm LT (Fig. 20). Las crías se movían suavemente, por lo que una se dejó en libertad en dicha playa. El organismo nadó pocos metros y murió (dejó de nadar y quedó flotando). Lo más probable es que se haya ahogado debido a la escasa profundidad. Tal vez el organismo

habría sobrevivido si el nacimiento hubiese ocurrido lejos de la costa, ya que la columna de agua de mayor profundidad proveería al neonato de la oxigenación suficiente para respirar. En las tres observaciones, las crías están cerca de la talla de nacimiento y se encontraba en su última fase de desarrollo (González-García, 1998; Laughlin y Ugoretz, 1999). En los sitios de muestreo no se registró la captura de tiburones azules neonatos. La ausencia de neonatos en las capturas se podría explicar por la selectividad del arte de pesca, ya que no existe pesca dirigida o incidental de neonatos de tiburón azul (Guerrero-Maldonado, 2002).

8.6 MORFOLOGÍA DEL DESARROLLO EMBRIONARIO DE *P. glauca*

Con base en el método de crecimiento relativo, las tasas de cambio obtenidas con la serie de 29 caracteres morfométricos de los embriones, indica que diversas estructuras del cuerpo tienen tasas de crecimiento diferentes. Pratt (1979), sugiere que el crecimiento en embriones de tiburón azul, es lineal (o isométrico). Nosotros encontramos que el crecimiento en embriones es isométrico y alométrico dependiendo de la estructura.

Las modificaciones observadas en las medidas tomadas en el cuerpo, indican que la longitud total aumenta de igual manera que la longitud precaudal, lo que implica que la aleta caudal también crece isométricamente con respecto de estas dos medidas. El ancho del pedúnculo caudal (APC) y la altura del pedúnculo caudal (AIPC), crecen de forma similar; en embriones de tallas mayores ya se observa la foseta precaudal, posiblemente debido a esto, es que no se observa una diferencia de crecimiento en la gráfica.

En embriones de tiburón azul, se observó completamente formada la aleta caudal heterocerca desde los 2.8 cm LT, donde fué posible tomar todas las medidas morfométricas. Francis y Stevens (2000) describen que en embriones de *L. nasus* de 9 cm LT la aleta caudal es notablemente curvada, con el lóbulo superior mucho mas largo que el lóbulo inferior. Joung y Hsu (2005) describen las mismas características en la aleta caudal en embriones de *I. oxyrinchus* de 10 a 14 cm LT, y reportan que esta aleta esta completamente formada cerca de la talla de nacimiento, entre 62 y 74 cm LT.

Gonopterigio

El gonopterigio se forma del enrollamiento del intermargen de las aletas pélvicas, y es probable confundir el pliegue de la cloaca con el enrollamiento de las aletas pélvicas. El crecimiento embrionario del gonopterigio, no ha sido reportado en otras especies.

Primera y segunda aleta dorsal

Es probable que en organismos menores de 2 cm LT, se observen primordios de las aletas. González-García (1998), menciona que el primordio de las aletas pectorales y pélvicas se observó en *R. productus* desde los 0.6 cm LT; mientras que la aleta caudal se origina tempranamente como primordio desde 1 cm LT. Las aletas pélvicas, pectorales y caudal presentan una tasa de crecimiento muy semejante. Mientras que los primordios de las aletas dorsales aparecen aproximadamente a los 2 cm LT, en *R. productus*; en *P. glauca* ya presenta estas aletas en la posición y con una forma muy parecida a la forma característica en esta especie.

8.7 DESARROLLO OSTEOLÓGICO EN EMBRIONES DE *P. glauca*

Elementos de la región etmoidal en embriones menores de 6 cm LT, son poco discernibles. Sin embargo es evidente la presencia de las aberturas nasales, incluso externamente. Histológicamente se evidenció el primordio de las cápsulas nasales, al identificar la presencia de tejido cartilaginoso de algunas micras de grosor. Lo delgado del cartílago en esta estructura en estas tallas, podría ser la razón por la que no se observen en la transparentación. Alrededor de 9 cm LT, las cápsulas nasales presentan la forma característica de esta estructura en adultos, y los cambios que ocurren a partir de dicha talla son el engrosamiento del cartílago que conforma las cápsulas. La presencia de las lámelas olfativas localizadas a partir de 9 cm LT, tanto en transparentaciones, como en cortes histológicos indican que las cápsulas nasales ya están formadas a tallas menores, y que a partir de entonces los cambios en dichas estructuras solo son el incremento en tamaño y grosor del cartílago.

El cartílago rostral presenta cambios más drásticos en organismos menores de 6 cm LT, a organismos alrededor de 9 cm LT. Los cambios son la conformación de la

forma característica del trípode del cartílago rostral, confluyendo hacia el centro. Lo que podría ser la razón, por la que en los organismos de tallas menores se observa redondeada. Morfométricamente también se evidencia este cambio al ser la LC, la medida con un mayor crecimiento.

En la región orbito-temporal de los organismos de menores tallas se observan las orbitas, donde los procesos preorbital y postorbital, están formados por un cartílago muy delgado, ubicado con estudios histológicos. A partir de aproximadamente 10 cm LT, se observan aunque no son tan prominentes como en organismos adultos, como lo menciona Cappetta (1987). Al parecer, las capsulas óticas están separadas en los organismos de menores tallas, esta región del condrocáneo toma la forma característica de la especie aproximadamente a los 10 cm LT.

La mandíbula esta sostenida al condrocáneo por los procesos orbital y ótico del palatoc cuadrado, así como por el proceso postorbital del condrocáneo; los procesos sirven como punto de inserción para ligamentos y sostener los palatoc cuadrados en la base del neurocráneo. Los procesos que sostienen los palatoc cuadrados se observan a partir de los 9 cm LT, ya en fases anteriores son poco discernibles.

Desde organismos de menores tallas, se identificaron histológicamente células sanguíneas en los filamentos. También se observa lo que parece ser el cono arterial, con células sanguíneas.

8.6 ANÁLISIS HISTOLÓGICO EN EMBRIONES DE *P. glauca*

La mayoría de los trabajos de histología que existen en elasmobranquios, son enfocados a estructuras reproductivas (Wourms, 1977; Pratt, 1979; Otake y Mizue, 1985; Otake, 1990; Gilmore 1996; Carrera-Fernández, 2004). Los diversos tejidos epiteliales pueden originarse en cualquiera de las tres capas blastodérmicas del embrión (Estrada Flores-Urbe-Aranzábal, 2002).

Con la tinción de Von Kossa, método fundamentado en la sustitución de metales (Nezelof, *et al.*, 1975; Humanson, 1979) se identificó la presencia de material calcáreo. El resultado con esta tinción es que las depositaciones de calcio, se tiñen de un color oscuro, debido a que los iones de calcio son sustituidos por iones de nitrato de plata,

mientras que el resto de tejido no se tiñe. Se identificaron depósitos de calcio en dentículos dérmicos en embriones desde 20 cm LT. La dentina, principal constituyente duro y hasta cierto punto elástico de los dientes, es semejante al hueso químicamente y en su estructura, dicho material calcáreo se encuentra también en los dentículos dérmicos (Álvarez del Villar, *et al.*, 2007). Mendoza-Vargas (2006), menciona que después de los 20 cm LT es cuando comienza a formarse la raíz en los dientes de embriones de tiburón azul. Esto sugiere que en los dientes a esta talla no se ha formado la dentina, aunque sea evidente la presencia de la cubierta de esmalte. Lorch (1949) usando la tinción de Von Kossa, reporta que en embriones de *Scyliorhinus canicula* de 58 mm LT no se observa calcificación en el cartílago del condrocraqueo, pero se observan los primeros signos de calcificación en la matriz debajo del estrato periférico de los cuerpos vertebrales; mientras que en embriones de 74 mm ya se observan los primeros signos de calcificación en el condrocraqueo y en las vértebras dicha calcificación progresa considerablemente. El hecho de que en el presente trabajo no se hayan identificado zonas calcificadas en otra región del cuerpo podría deberse a errores en la primera fijación de las muestras.

De cada uno de los filamentos branquiales laterales, salen numerosas prolongaciones laterales, muy delgadas que forman laminillas braquiales o lamela secundarias branquiales; estas contienen tejido conjuntivo con abundantes vasos sanguíneos capilares y están rodeados por epitelio simple plano (Fig. 41 y 42). La barrera de difusión en este nivel de las branquias, con una estructura muy delgada entre la sangre y el agua del ambiente, permite el intercambio gaseoso de manera eficiente (Estrada Flores-Urbe-Aranzábal, 2002).

La presencia de cartílago alrededor de la orbita ocular, en organismos de 38 mm LT, indica que la condricación del cráneo en *P. glauca* ocurre aproximadamente a los 35 mm LT. González-García reporta la condricación del cráneo en embriones de *R. productus* aproximadamente a los 27 mm LT. Nuestros resultados coinciden con Holmgren (1940), que indica que la condricación en el cráneo de elasmobránquios inicia entre los 35 y 37 mm LT. El mismo autor reportó los primeros rudimentos del cartílago orbital, en el área supraorbital de *S. acanthias* a los 22 mm LT (Holmgren, 1940). Lorch (1949) reportó que no hay presencia de tejido cartilaginoso en embriones de *S. canicula* de 18-20 mm LT.

Al identificar las lamelas olfativas en organismos de 9 cm LT, también se observa que el grosor del cartílago que conforma las capsulas nasales ha incrementado considerablemente en comparación con tallas menores. Se identificaron como ámpulas de Lorenzini, por la ubicación, y la forma, y la gran cantidad de estructuras similares en la misma región de la cabeza.

El músculo liso es de movimiento involuntario, donde las células se contraen lentamente, pero con actividad contráctil larga (Geneser, 1993). Se observaron células de músculo liso en disposición circular alrededor de arterias (Fig. 57). El músculo estriado esquelético es de movimiento voluntario, las células se pueden contraer con rapidez y gran fuerza, pero se fatigan relativamente pronto (Estrada-Flores y Uribe-Aranzábal, 2002). Se observaron delgados paquetes musculares en embriones desde 3 cm LT (Fig. 58), conforme el organismo incrementa la talla, estos paquetes aumentan el grosor. (Fig. 59). El músculo estriado cardíaco es de movimiento involuntario, las células se contraen rítmica y constantemente durante toda la vida (Leeson, *et al.*, 1990). Estas células se observaron en el corazón (Fig. 60) y ventrículo (Fig. 61) desde organismos de 3 cm LT.

De las células nerviosas que se observaron, no fué posible fotografiarlas en el cerebro. Hace falta mayor tiempo de revisión de laminillas.

IX. CONCLUSIONES

El tiburón azul, *P. glauca* es una especie importante en la pesquería artesanal de la costa occidental de Baja California Sur, México, donde se presentaron hembras grávidas durante todo el año.

Existe una amplia variabilidad en el número de embriones registrado por hembra grávida, lo que demuestra una variación en extremo en la fecundidad de esta especie. No se encontró una relación entre el número de embriones con respecto a la talla materna. Los embriones registrados en cada una de las hembras grávidas presentan una fase de desarrollo similar.

La proporción de sexos embrionaria global fue 1.04H:1M, por lo que no hay diferencias significativas ($p < 0.005$) entre machos y hembras. Sin embargo la proporción de sexo en embriones en cada hembra grávida puede variar desde 0.5H:1M hasta 5H:1M.

La variación mensual de talla de los embriones sugiere que el tiempo de gestación dura aproximadamente 12 meses, donde el nacimiento ocurre posiblemente durante el verano. Se propone que la talla de nacimiento es de 46 cm LT. La presencia de hembras grávidas con embriones cerca de la talla de nacimiento indica que la zona es un área de crianza.

Los cambios morfométricos en las diferentes fases del desarrollo embrionario del tiburón azul, presentan crecimiento isométrico y alométrico dependiendo de la estructura medida, aunque la relación peso-longitud indica crecimiento alométrico negativo.

Los embriones de tiburón azul se observaron morfológicamente formados por completo desde los 28 mm de LT. Aunque no son una replica exacta de adultos. Fue posible identificar la forma característica de la especie aproximadamente a la mitad del desarrollo embrionario.

Los cambios condrológicos notables ocurren principalmente durante las primeras fases del desarrollo embrionario, entre 4 y 9 cm LT, cuando el condrocráneo sufre cambios significativos. Los cambios osteológicos de aletas fueron mínimos, ya que fue posible observar estas estructuras completas desde embriones de 3 cm LT.

Histológicamente se identificaron diversos tejidos. Se destaca que la condricificación ocurre antes de los 3 cm LT. Y la depositación de calcio en dentículos dérmicos en embriones es antes de los 20 cm LT. Se sugiere ampliar el análisis histológico.

VIII. LITERATURA CITADA

Aasen, O. 1966. Blahaien, *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758). Fisker Havet. 1: 1-16 pp.

Adelmann, H. B. 1966. Marcelo Malpighi and the Evolution of the Embryology, Vol. 5. Cornell University Press. Ithaca. N. Y.

Álvarez del Villar, J. Álvarez T. y Álvarez-Castañeda, S. T. 2007. Diccionario de anatomía comparada de vertebrados. Instituto Politécnico Nacional, Dirección General de Publicaciones, México. 252 p.

Balart, E. F. González-García, J. y C. Villavicencio-Garayzar, C. 2000. Notes on the biology of *Cephalurus cephalus* and *Parmaturus xaniurus* (Chondrichthyes: Scyliorhinidae) from the west coast of Baja California Sur, México. Fishery Bulletin, 98 (1): 219-221 pp.

Balfour, F. M. 1874. A preliminary Account of the Development of the Elasmobranch Fishes. Quart. Journ. of Micro. Science, Oct. 1874. Vol. XIV: 323-364 pp.

_____, 1875a. A comparison of the Early Stages in the Development of Vertebrates. Quart. Journ. of Micro. Science, 1875, Vol. XV: 207-226 pp.

_____, 1875b. On the Origin and History of the Urino-genital Organs of Vertebrates. Quart. Journ. of Micro. Science, 1875, Vol. XV: 17-49 pp.

_____, 1876a. The Development of the Elasmobranch Fishes. Development of the Trunk. Journal of Anatomy & Physiology. Vol. XI: 128-172 pp.

_____, 1876b. The Development of the Elasmobranch Fishes. From Stages B to G. Journal of Anatomy & Physiology. Vol. XI: 672-706 pp.

- _____, 1878. The Development of the Elasmobranch Fishes. The Organs of Excretion. Journal of Anatomy & Physiology. Vol. XII: 177-216 pp.
- Bass, A.J. D'Aubrey y Kistnasamy, N. 1975. Sharks of the coast of southern Africa. III. The families Carcharhinidae (excluding *Mustelus* y *Carcharhinus*) and Sphyrnidae. The Oceanographic Research Institute, Republic of South Africa. Investigational Report No.38: 100 pp.
- Belon, P. 1551. L'Histoire Naturelle des Etranges Poisons Marins. Paris. En: Hamlet, W.C. (Editor) 1999. Sharks, Skates and Rays. The Biology of Elasmobranch Fishes. Ed. The Johns Hopkins University Press. Baltimore and London. 515 p.
- Bigelow, H. B. y Schroeder, W. C. 1953 (en línea). Fishes of the Gulf of Maine. Fishery Bulletin 74. Fishery Bulletin of the Fish and Wildlife Service, Vol. 53. p. 38. U.S.A. Acceso libre: <http://octopus.gma.org/fogm/Default.htm>
- Cailliet, G. M. y Bedford, D. W. 1983. The biology of three pelagic sharks from California waters, and their emerging fisheries: A review. CalCOFI Rep. 24: 57-68 pp.
- Cappetta, H. 1987. Handbook of Paleoichthyology. Vol 3B: Chondrichthyes II, Mesozoic and Cenozoic Elasmobranchii. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart. New York. 193 p.
- Carey, F. G. y Scharold, J. V. 1990. Movements of blue sharks (*Prionace glauca*) in depth and course. Mar. Biol. 106: 329-342 pp.
- Carrera-Fernández, M. 2004. Biología Reproductiva del Tiburón azul *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) en la costa Occidental de Baja California Sur, México. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Departamento de Pesquerías y Biología Marina. 67 p.

Castro, J. I. 1993. The Nursery of Bull Bay, South Carolina, with a Review of the Shark Nurseries of the Southeastern Coast of the United States. *Env. Biol. Fish.* 38: 37-48 pp.

_____, y Wourms, P. 1993. Reproduction, Placentation and Embryonic Development of the Atlantic Sharpnose Shark, *Rhizoprionodon terraenovae*. *Journal of Morphology* 218: 257-280 pp.

_____, y Mejuto, J. 1995. Reproductive parameters of Blue Shark, *Prionace glauca*, and others Sharks in the Gulf of Guinea. *Mar. Freshwater Res.* 46: 967-973 pp.

Chase, T. E. 1968. Sea floor topography of the central eastern Pacific Ocean. U.S. Fish and Wild Life Service Circ. 291: 33 p.

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), 2002. México: Imagen desde el espacio. Satélite Terra-Modis. Mosaico 2002 de imágenes Modis sin nubes del satélite Terra, bandas 1,4,3 (RGB).

Compagno, L. J. V., 1984. FAO Species Catalogue, Vol. 4. Sharks of the World: an Annotated and Illustrated Catalogue of Shark Species Known to Date. Part 2 Carcharhiniformes. Roma, FAO Fisheries Synopsis (125) Vol.4, Parte 2: 251-655 pp.

_____, 1999. Checklist of Living Elasmobranchs. *In: Sharks, Skates and Rays. The Biology of Elasmobranch Fishes.* Ed. Hamlett, W. C. The Johns Hopkins University Press. Baltimore and London. Appendix: 471-498 pp.

_____, J.L.V 2003. Sharks of the Order Carcharhiniformes. The Blackburn Press. E.U.A. 486 p. + ilustraciones.

_____, Krupp, F y Schneider. 1995. Tiburones *En: Fischer, W., Krupp, F., Schneider, W., Sommer, C., Carpenter, K. E. y Niem, V. H (eds). Guía FAO para*

- la identificación de especies para los fines de pesca. Pacífico Centro-Oriental. Vol. II. Vertebrados - Parte 1. Roma, FAO. Vol. II: 647-743 pp.
- Cooper, P. 2004. Blue Shark (en línea): Education, Biological Profiles: Blue Shark. Ichthyology at the Florida Museum of Natural History. Florida Museum of Natural History, Ichthyology Department, U.S.A. Acceso libre.
<http://www.flmnh.ufl.edu/fish/Gallery/Descript/BlueShark/BlueShark.html>.
- Daniel, W. W. 2002. Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. 4ª Edición. Editorial Limusa. México. 755 p.
- Demirhan, S. A. y Seyhan, K. 2006. Seasonality of Reproduction and Embryonic Growth of Spiny Dogfish (*Squalus acanthias* L., 1758) in the Eastern Black Sea. Turkey Journal Zoology. 30: 433-443 pp.
- De Beer, G. R. 1924. Studies on the Vertebrate Head. Part. I. Fish. *Quart. Journ. Micro. Sci.* 68: 287-341 pp.
- _____, 1931. The development of the skull on *Scyllium* (*Scyliorhinus*) *canicula* L. *Quart. Journ. Micro. Sci.* 74: 591-645 pp.
- De Carvalho, M. R. y Gomes, U. L. 1992. Reinterpretation of the Clasper Morphology of *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) (Chondrichthyes, Carcharhiniformes), with Notes on Clasper Terminology. Academia Brasileña de Ciencias. 64 (2): 199-206 pp.
- De la Lanza-Espino, G. (compiladora) 1991. Oceanografía de Mares Mexicanos. A. G. T. Editor S. A., México. 569 p.
- _____, 2001. Características físico-químicas de los mares de México. Instituto de Geografía, UNAM y Plaza Valdés eds. México, DF, 149 p.

- Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (DINARA), 2003. Imagen: *Prionace glauca* (en línea). Peces cartilagosos, Fichas de especies cartilaginosas, Tiburones: Tiburón azul. Instituto Nacional de Pesca, Uruguay. Acceso libre.
http://www.dinara.gub.uy/Peces_Cartilagosos.htm.
- Dood, J.M. 1983. Reproduction in cartilaginous fishes (Chondrichthyes), 31-86 pp. En: Fish Physiology. Hoar, W. S. y D. J. Randall (Eds). Academic Press Inc. New York, E.U.A.
- Estrada-Flores, E. y Uribe-Aranzábal, M. (compiladoras) 2002. Atlas de Histología de vertebrados. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 222 p.
- Francis, M. P. y Stevens, J. D. 2000. Reproduction, embryonic development, and growth of the porbeagle shark, *Lamna nasus*, in the southwest Pacific Ocean. Fish. Bull. 98:41-63 pp.
- Geneser, F. 1993. Histología. Ed. Panamericana, Argentina. 740 pp.
- Gilmore, R. G. 1993. Reproductive biology of lamnoid sharks. Environment Biology of Fishes. 38: 95-114 pp.
- González-García, M. J. 1998, Desarrollo embrionario de *Rhinobatos productus* (Girard, 1854) (Chondrichthyes: Rajiformes: Rhinobatidae). Baja California Sur, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 91 p.
- Guerrero-Maldonado, L. A. 2002. Captura comercial de elasmobranquios en la costa suroccidental del Golfo de California, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 54 p.

- Guvanob, Y. P. y Grigor'yev, V. N. 1975. Observations on the distribution and biology of the blues shark (*Prionace glauca*) of the Indian Ocean. Journal of Ichthyology 15: 37-43 pp.
- Hamlet, W.C. (Editor) 1999. Sharks, Skates and Rays. The Biology of Elasmobranch Fishes. Ed. The Johns Hopkins University Press. Baltimore and London. 515 p.
- _____, Eulitt, A.M., Jarrell, R. L. Y Kelly, M. A. 1993a. Uterogestation and placentation in elasmobranch. J. Expl. Zool. Cytol. 17:31-40. In: Hamlet, W.C. y Koob, T. J. 1999. Chapter 15: Female Reproductive System. Sharks, Skates and Rays. The Biology of Elasmobranch Fishes. Hamlett, W. C. (editor) The Johns Hopkins University Press. Baltimore and London. Chapter 15:398-443 pp.
- Harvey, J. T. 1989. Food habits, seasonal abundance, size, and sex of the blue shark, *Prionace glauca*, in Monterey Bay, California. Calif. Fish and Game. 75 (1): 33-44 pp.
- Hazin, F. H. V., Oliveira, P. G., Broadhurst, M. K. 2002. Reproduction of the blaknose shark (*Carcharhinus acronotus*) in coastal waters off northeastern Brazil. Fish. Bull. 100: 143-148 pp.
- Holmgren, N. 1940. Studies on the head in Fishes. Embriological, and Phylogenetical Researches. Part 1: Development of the Skull in Sharks and Rays. Acta Zoologica, 1940. Bd. XXI. 52-264 pp.
- Humason, G.L. 1979. Animal Tissue Techniques. W.H. Freeman and Co. 4a ed. 661 p.
- Ichthyology at the Florida Museum of Natural History. World distribution map for the blue shark (en línea). Education, Biological Profiles: Blue Shark. Florida Museum of Natural History, Ichthyology Department, U.S.A. Acceso libre. <http://www.flmnh.ufl.edu/fish/Gallery/Descript/BlueShark/BlueShark.html>.

- Jensen, F. C., Natanson, L. J., Pratt, H. L., Kohler, N. E., Campana, S. E. 2002. The reproductive biology of the portbeagle shark (*Lamna nasus*) in the western North Atlantic Ocean. Fish. Bull. 100: 727-738 pp.
- Jollie, M. 1971. Some Developmental Aspects of the Head Skeleton of the 35-37 MM *Squalus acanthias* Foetus. Journal Morphology, 133: 17-40 pp.
- Joung, S. J. y Hsu, H. H. 2005. Reproduction and Embryonic Development of the Shortfin Mako, *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810, in the Northwestern Pacific. Zoological Studies. 44 (4): 487-496 pp.
- Laughlin, L. y Ugoretz, J. 1999. An observation of the blue shark parturition in the southern California Bight. Calif. Fish and Game. 85(2): 83-84 pp.
- Leeson, T., Leeson, R., Paparo, A. 1990. Texto/Atlas de Histología. Ed. Interamericana McGraw Hill, México. 741 pp.
- Lorch, I. J. 1949. The Distribution of Alkaline Phosphatase in Relation to Calcification in *Scyliorhinus canicula*. Development of the Endoskeleton. Quarterly Journal Microscopical Science. Vol. 90, Part 4: 381-390 pp.
- Macnaughton, R., Rogan, E., Hernández-García, V. y Lordan, C. 1998. The importance of cephalopods in the diet of blue shark (*Prionace glauca*), south and west of Ireland ICES, Copenhagen (Denmark). 12 pp.
- Martoja, R. y Martoja-Pierson, M. 1970. Técnicas de Histología Animal. Ed. Toray - Masson, S. A. Barcelona, España. 350 p.
- Mendoza-Vargas, O. U. 2006. Descripción del desarrollo ontogenético en dientes de tiburón azul, *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) (Carcharhiniformes: Carcharhinidae) en la costa Occidental de Baja California Sur, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 70 p.

- Mojetta, A. 2005. Guía del mundo submarino. Tiburones. Editorial Libsa, España. 167 p.
- Mollet, H. F., Testi, A. D., Compagno, L. J. V., Francis, M. P. 2002. Re-identification of a lamnid shark embryo. Fish. Bull. 100: 865-875 pp.
- Müller, J. 1842. Über den Glatten Hai des Aristoteles and Über die Verschiedenheiten unter den Haifishchen and Rochen in der Entwicklung des Eies. Abhandol. Aiad. Wiss., berlin (1940) 27: 187-257. En: Wourms, J. P. 1977. Reproduction and Development in Chondrichthyan Fishes. Amer. Zool. 17: 379-410 pp.
- Nezelof, C., Galle, P. y Hinglais, N., 1975. Técnicas microscópicas. Editorial Jims. Barcelona, España.
- Otake, T. y Mizue, K. 1985. The fine structure of the placenta of the blue shark, *Prionace glauca*. Journal Ichthyology 32(1): 52-59 pp.
- _____, 1990. Clasificación of Reproductive Modes in Sharks with Comments on Female Reproductive Tissues and Structures. NOAA Technical Reports/NMFS90. Academic Journal: 111-130 pp.
- Parker, T. J. y Haswell, W. A. 1987. Zoología. Cordados Vol. II. Editorial Reverté. Barcelona, España. 981 p.
- Parsons, G. R. 1983. The reproductive biology of the Atlantic sharpnose shark, *Rhizoprionodon terraenovae* (Richardson). Fish. Bull. Vol. 81 (1): 61-73 pp
- Potthoff, T. 1983. Clearing and Staining Techniques, pp 35-37. En: H. G. Moser, W. J. Richards, D. M. Cohen, M. P. Fahay, A. W. Kendall, y S. L. Richardson (Eds), Ontogeny and systematics of Fishes. Special Publication Number 1, American Society of Ichthyologist and Herpetologist.

- Pratt, H. L. Jr. 1979. Reproduction of the blue shark, *Prionace glauca*. Fish. Bull. 77: 445-470 pp.
- Ramírez-González, J. 2002. Captura comercial de tiburones pelágicos en la costa occidental de Baja California Sur, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 56 p.
- Reid, J.L Jr. Roden, G. I. y Wyllie, J. G. 1958. Studies of the California Current System, CalCOFI Progres Report, 1 July 1956-1, January. 27-56 pp.
- Reyes-González. J. A. 2001. Biología reproductiva y pesquería del tiburón azul (*Prionace glauca*) en la costa adyacente a Bahía de San Quintín, Baja California. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. 78 p.
- Romer, S. A. y Parsons, T. S. 1981. Anatomía Comparada. 5ª edición. Editorial Interamericana, México. 428 p.
- Rondelet, G. 1554. De Piscibus Marinus. Matias Bonhomme Lyons. En: Wourms, J. P. 1977. Reproduction and Development in Chondrichthyan Fishes. Amer. Zool. 17: 379-410 pp.
- Sánchez-Reyes, N. A. 2004. Desarrollo Embrionario del tiburón angelito *Squatina californica* (Ayres, 1856) (Choncrichthyes: Squatinidae) en la Bahía de la Paz. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 64 p.
- Shimada, K. 2002. Teeth of embriyos in lamniform sharks (Chondrichthyes: Elasmobranchii). Kluwer Academic Publishers. Netherlands. Enviromental Biology of Fishes. 63: 309-319 pp.

- Springer, S. 1967. Social organization of shark populations. *En: Sharks, skates and rays*. Gilbert, P. W., Mat Ewson, R. F. y Rall. D. P. (eds). The Johns Hopkins Press. USA. 9:149- 174 pp.
- Steno, N. 1673. Observations anatomicae spectantes ova viviparorum. Acta Med. Hafniensia , 1963, No. 2.
- Wourms, J. P. 1977. Reproduction and Development in Chondrichthyan Fishes. Amer. Zool. 17: 379-410 pp.
- Strasburg, D. W. 1958. Distribution, abundance and habits of pelagic sharks in the Central Pacific Ocean. U.S. Fish. Wild. Serv. Fish. Bull. 58: 335-361 pp.
- Suda, A. 1953. Ecological study on the blue shark (*Prionace glauca* L.), South Sea Area Fish. Res. Lab. Rep. 26: 1-11 pp.
- Tricas, T. C. 1979. Relationship of the blue shark, *Prionace glauca* and its prey species near Santa Catalina Island, California. Fish. Bull. NOAA /NMFS. 77 (1): 175 - 82 pp.
- Wooster, W. S. y Cromwell, T. 1958. An oceanographic description of the Eastern Tropical Pacific. Bull. Scripps Inst. Ocean. 7 (3): 169-282 pp.
- Wourms, J. P. 1977. Reproduction and Development in Chondrichthyan Fishes. Amer. Zool. 17: 379-410 pp.

ANEXO I

Características generales del tiburón azul, *Prionace glauca*

El tiburón azul es una de las especies de tiburones grandes más comunes y fácilmente reconocibles (Fig. 1), el cuerpo es esbelto y fusiforme, con un hocico largo y estrechamente redondeado, presenta párpados nictitantes, arcos branquiales con branquiespinas papilares en sus bordes internos. Sus dientes son aserrados, anchos y triangulares, encorvados en la mandíbula superior y más angostos en la inferior. El origen de la primera aleta dorsal está situado muy por detrás de los extremos libres de las aletas pectorales, más cerca de las aletas pélvicas; la segunda dorsal es mucho más pequeña que la primera. Las aletas pectorales son muy largas, angostas y levemente falciformes. El pedúnculo caudal presenta una débil quilla a cada lado (Compagno, 1984; Compagno *et al.*, 1995; Compagno, 2003). La coloración del dorso es azul oscuro, en los flancos es azul intenso, el vientre es blanco, los ápices de las pectorales y de la anal son oscuros. La talla máxima registrada es de 3.83 m (Compagno, 1984; Compagno *et al.*, 1995; Compagno, 2003).

El género *Prionace* solo tiene una especie. El nombre científico proviene del griego “*prion*” que significa sierra, y “*akis*”, que significa punto; y del latín “*glaucas*” que significa gris o verde azulado (Cooper, 2004).

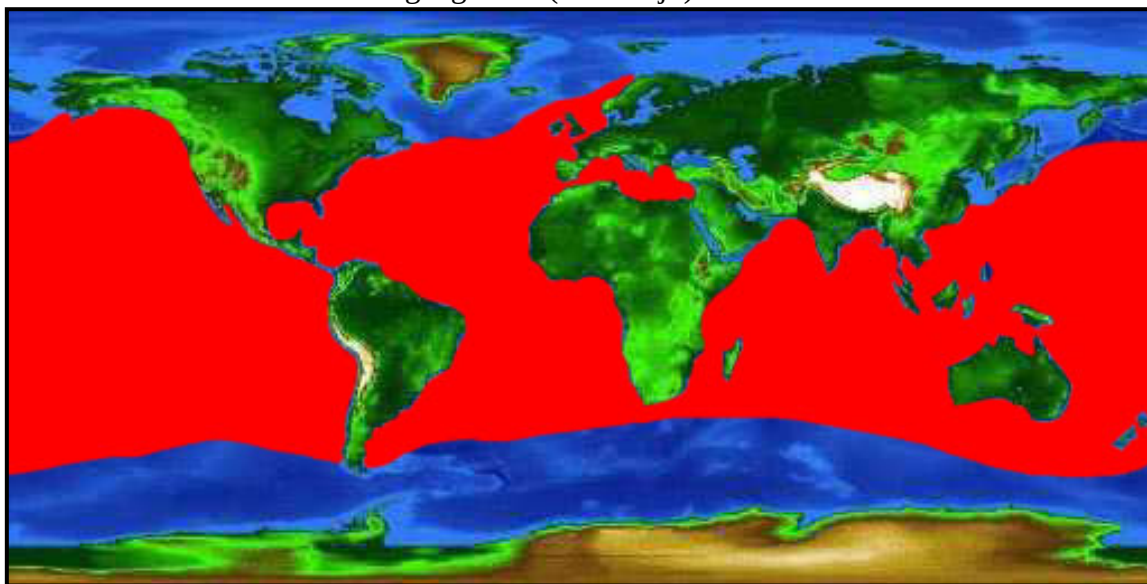
Tiburón azul *Prionace glauca*



(Tomada de Dirección Nacional de Recursos Acuáticos, 2003).

Se encuentra a lo largo de los océanos tropicales y templados; tiene el rango geográfico mas extenso de cualquier pez cartilaginoso, y uno de los mas amplios de vertebrados marinos (Compagno, 2003). Habita en la zona oceánica epipelágica y margen litoral, desde la superficie hasta más de 152 metros de profundidad (Compagno, 1984).

Distribución geográfica (color rojo) del tiburón azul



(Tomada de Ichthyology at the Florida Museum of Natural History).

La alimentación del tiburón azul consiste de peces óseos (arenque, sardinas y otros clupeidos, anchovetas, congrios, belonidos (agujones), macarelas, atunes), calamares, otros invertebrados y tiburones pequeños; también consume restos de mamíferos marinos y ocasionalmente aves marinas (Compagno, 1995; Compagno, 1984). Sin embargo, los cefalópodos de hábitat pelágico componen la presa principal (Tricas, 1979; Macnaughton et al., 1998). Se considera peligroso, aunque es tímido en encuentros con seres humanos (Compagno, 2003).

Reproducción.

El aparato reproductor femenino consiste en dos ovarios en la región anterior de la cavidad abdominal, de los cuales solo el derecho es funcional y el ovario izquierdo se encuentra muy reducido (Pratt, 1979). El ostium se bifurca en oviducto izquierdo y derecho; Los oviductos se expanden en la región anterior formando la glándula oviducal y en la región posterior formando los úteros (Castro y Mejuto, 1995). Los ovocitos más desarrollados se encuentran en la parte anterior del ovario, son de un color rosa blanquecino y a medida que van madurando toman un color amarillento. Pratt (1979) menciona que los ovocitos son las últimas estructuras en madurar en esta especie. Una vez que los ovocitos han madurado se desprenden del ovario para llegar al ostium y pasan a los oviductos. En la glándula oviducal, se almacena el esperma, fertiliza a los ovocitos y da una cubierta al huevo, que también se conoce como tercer membrana

(Dood, 1983). Los úteros varían su diámetro dependiendo de su condición reproductiva, en las hembras inmaduras mide entre 2 y 3 cm. de diámetro. En las hembras grávidas, los úteros pueden medir hasta 30 cm. de ancho o más, ya que contienen a los embriones o huevos uterinos. En las hembras desovadas los úteros se encuentran distendidos con restos de material placentario, el cual se encuentra en reabsorción.

Existe segregación sexual en las poblaciones, siendo las hembras más abundantes que los machos en altas latitudes (Compagno, 1984).

En machos, en la parte anterior de la cavidad abdominal se encuentran los testículos, son alargados y redondeados, con un color crema a blanquecino. Presentan lateralmente un pliegue donde se encuentra la zona germinal. Embebido en la parte anterior de la cavidad abdominal se encuentra el órgano epigonal el cual tienen una función hematopoyética y de soporte (Pratt, 1979).

ANEXO II

Tabla II. Tabla general de sexo, longitudes totales (cm.) y peso(g.). Se muestra el sexo, LT, y peso de 974 especímenes.

Sexo	LT	Peso	Sexo	LT	Peso	Sexo	LT	Peso	Sexo	LT	Peso	Sexo	LT	Peso	Sexo	LT	Peso
H	2.8			5.84	0.92	H	16.7	27.04	H	19.6	18.8	M	20.8	32.76	H	22.5	27.15
M	2.9		H	9.1	3.03	M	16.7	34.43	M	19.7	27.06	M	20.8	23.13	M	22.5	28.72
M	2.9		H	9.7	5.53	H	16.8	26.25	M	19.7	32.81	H	20.8	33.24	H	22.5	35.86
H	3.1		M	10.3	4.59	M	16.8	30.62	M	19.8	17.7	H	20.8	33.12	H	22.5	31.27
H	3.1		H	10.3	5.94	H	16.8	28.09	M	19.8	25.87	M	20.8	32.39	H	22.5	26.89
H	3.4		H	10.3	5.8	M	16.8	27.75	H	19.8	26.4	H	20.8	35.48	M	22.7	29.19
M	3.47	0.25	M	10.6	4.38	M	16.8	13.7	H	19.8	31.72	M	20.8	35.01	H	22.8	36.04
M	3.5		H	10.6	5.53	M	16.9	18.75	M	19.8	21.6	M	20.8	25.54	M	22.8	29.58
M	3.63	0.29	H	10.6	6.51	H	16.9	26.28	M	19.8	30.91	H	20.8	22.69	M	22.8	31.22
M	3.93	0.32	H	10.6	9.96	H	16.9	29.14	M	19.8	35.39	H	20.9	22.74	H	23	38.96
M	3.97	0.15	H	10.4	6.51	H	17	28.82	M	19.9	27.54	M	20.9	39.83	H	23	38.88
H	4		H	10.4	6.17	M	17	32.05	M	19.9	23.06	H	20.9	27.4	H	23	37.11
M	4	0.35	H	10.5	2.04	H	17.1	22.38	H	19.9	33.15	H	21	37.62	M	23	36.04
M	4.06	0.33	H	10.5	4.9	H	17.2	32.16	H	19.9	33.66	M	21	33.51	H	23.1	28.93
M	4.18	0.37	H	10.5	6.1	H	17.2	26.05	H	19.9	29.14	M	21	33.95	M	23.2	35.53
H	4.2	0.49	H	10.7	6.65	M	17.2	31.6	M	19.9	28.51	M	21.1	25.01	H	23.2	37.16
H	4.2	0.43	H	10.7	5.42	M	17.3	29.35	M	20	26.58	H	21.1	28.84	H	23.4	34.67
H	4.21	0.25	H	10.8	6.37	M	17.5	32.98	H	20	28.69	H	22.1	42.8	M	23.4	30.77
M	4.21	0.31	M	10.9	5.46	H	17.5	25.39	M	20	30.96	M	21.2	25.07	M	23.5	44.01
H	4.28	0.6	H	11	7.35	M	17.5	35.05	M	20	34.29	H	21.2	24.42	H	23.5	35.92
M	4.35	0.47	H	11.1	3.82	H	17.9	40.04	M	20	33.14	H	21.2	21.76	M	23.5	29.32
M	4.35	1.65	H	11.1	11.18	H	17.9	36.52	H	20.1	19.82	M	21.2	23.01	H	23.5	31.32
H	4.4	0.42	H	11.1	15.54	M	17.9	19.25	H	20.1	21.89	H	21.2	41.46	H	23.5	43.8
M	4.51	0.5	H	11.3	4.38	M	18	15	M	20.1	34.69	M	21.3	34.01	H	23.5	54.53
H	4.55	0.53	H	11.5	7.46	M	18.1	23.65	M	20.2	22.12	H	21.3	33.81	H	23.5	39.24
H	4.59	0.51	H	11.5	11.86	M	18.4	25.02	M	20.2	40.97	H	21.4	25.47	H	23.5	39.83
H	4.64	0.45	M	11.5	11.77	M	18.5	26.89	H	20.2	31.32	H	21.4	24.57	H	23.5	48.49
H	4.65	0.46	H	11.8	11.94	M	18.5	26.91	H	20.2	28.53	M	21.4	33.52	H	23.5	37.16
M	4.69	0.47	M	12.3	13.96	M	18.5	24.16	M	20.2	33.72	M	21.4	28.45	H	23.5	34.89
M	4.7	0.32	H	12.7	17.29	H	18.6	16.37	M	20.2	28.45	H	21.4	28.78	H	23.8	40.86
M	4.7	1.71	M	13.1	16.43	M	18.6	29.58	M	20.2	31.28	M	21.5	30.67	H	23.8	56.1
H	4.76	0.97	H	13.2	12.06	H	18.6	29.85	M	20.2	18.53	M	21.5	28.78	H	23.9	39.84
M	4.79	1.26	M	13.3	10.42	H	18.8	21.87	M	20.2	32.57	M	21.5	28.68	M	24	39.46
M	4.86	0.61	H	13.3	15.84	H	18.8	28.45	H	20.3	30.9	M	21.5	33.43	M	24	56.82
H	4.86	0.52	H	13.4	12.35	H	18.8	23.83	H	20.3	31.18	H	21.6	38.32	M	24	57.43
	4.93	0.51	H	13.6	18.53	H	18.8	25.65	M	20.3	24.85	M	21.6	33.59	M	24	53.66
H	4.93	0.76	H	14.1	12.83	M	18.9	22.23	H	20.3	28.03	M	21.7	28.83	H	24	48.28
H	4.99	1.67	M	14.8	18.49	M	18.9	18.63	H	20.4	22.31	M	21.8	38.32	H	24	45.61
M	5.06	0.82	M	14.9	19.69	H	18.9	30.55	H	20.4	22.85	M	21.8	33.07	H	24	49.1
	5.07	0.93	M	15	16.56	M	19	28.54	M	20.5	24.02	H	21.9	27.45	H	24	52.16
	5.08	0.8	M	15.2	13.09	M	19	24.16	M	20.5	33.51	M	22	34.45	M	24.1	40.45
H	5.13	0.75	H	15.6	10.97	M	19	25.85	H	20.5	32.44	M	22	29.18	H	24.2	33.95
	5.14	1.76	H	15.7	16.12	H	19.2	28.58	H	20.5	32.07	H	22	29.18	M	24.2	31.32
M	5.16	0.7	H	15.8	16.3	H	19.3	22.97	H	20.5	32.04	H	22	34.96	M	24.4	42.58
H	5.24	0.73	H	15.8	19.51	M	19.3	24.4	H	20.5	20.17	M	22	34.96	M	24.4	31.15
H	5.27	0.8	M	15.9	21.02	H	19.3	25.3	M	20.5	29.67	H	22.1	26.57	H	24.5	139.2
H	5.28	0.49	M	16	20.29	H	19.4	28.22	M	20.5	31.69	H	22.1	29.01	H	24.5	53.12
M	6.28	0.8	M	16.1	23.25	M	19.5	26.09	M	20.5	34.25	H	22.2	26.35	M	24.5	39.46
M	5.3	0.71	H	16.2	19.02	M	19.5	28.25	H	20.6	24.6	M	22.2	27.54	M	24.5	54.13
	5.31	0.76	M	16.3	20.23	H	19.5	37.26	H	20.6	21.64	H	22.2	29.86	H	24.5	44.06
	5.34	0.86	H	16.3	27.81	M	19.5	26.27	M	20.6	23.15	H	22.3	33.06	M	24.5	41.32
	5.44	1.75	M	16.5	22.51	M	19.5	30.95	H	20.6	30.84	H	22.4	35.72	M	24.5	50.6
	5.51	1.03	M	16.5	21.17	M	19.6	29.89	H	20.6	27.52	H	22.4	29.76	H	24.5	62.8
	5.74	0.86	H	16.5	25.31	M	19.6	32.72	H	20.7	29.09	M	22.5	31.35	H	24.5	60.08

Continuación Anexo II

Sexo	LT	Peso	Sexo	LT	Peso	Sexo	LT	Peso	Sexo	LT	Peso	Sexo	LT	Peso	Sexo	LT	Peso
H	24.5	59.11	M	26.3	58.1	H	28	68.22	H	29		H	30		H	30.5	
H	24.5	40.62	H	26.4	56.13	H	28	70.19	M	29		H	30		H	30.5	
H	24.6	36.86	H	26.4	51.44	M	28.1	51.49	M	29		M	30		M	30.5	
M	24.6	43.05	M	26.4	66.58	M	28.1	68.18	M	29		M	30		H	30.7	
H	24.6	43.58	M	26.5	54.38	M	28.1	82.86	H	29		M	30		H	30.7	72.39
H	24.7	40.67	H	26.5	67.53	M	28.2	58.63	M	29	68.4	M	30		M	30.8	
M	24.7	45.77	H	26.5	65.87	H	28.2	53.6	M	29		M	30		M	30.8	
M	24.8	35.11	H	26.5		M	28.2	49.22	M	29	89.9	M	30		M	30.8	
M	24.8	42.85	M	26.5	45.47	H	28.2	50.84	M	29	80.32	H	30		M	30.8	
M	24.9	42.25	M	26.5	45.83	H	28.2	67.03	H	29		H	30		M	30.8	67.32
H	24.9	41.38	H	26.6	42.13	H	28.2	55.37	M	29	77.82	H	30		M	30.8	63.34
M	24.9	42.59	M	26.8	53.5	M	28.2	65.16	H	29		H	30		M	30.8	83.48
M	25	51.04	M	26.8	63.72	M	28.2	75.75	M	29.1	66.75	H	30		H	30.9	76.62
H	25	58.12	M	26.8	60.97	H	28.3	45.34	H	29.2	83.63	H	30		H	30.9	70.61
H	25	53.37	H	26.8	43.87	M	28.3	51.22	H	29.2	67.03	H	30		H	30.9	69.81
M	25	62.35	M	26.8	50.66	H	28.3	63.16	M	29.2	73.57	H	30		M	30.9	86.86
H	25	58.89	M	26.9	39.72	H	28.3	61.63	M	29.2	72.5	M	30		M	30.9	65.32
M	25	44.22	M	26.9	45.59	M	28.3	66.38	H	29.2	75.7	M	30	59.85	H	30.9	64.94
M	25	56.91	H	27	55.37	H	28.3	53.5	M	29.2	64.35	H	30	62.7	M	30.9	88.58
M	25	52.74	H	27	67.83	M	28.3	69.57	M	29.3	53.82	M	30	77.25	H	30.9	100.7
M	25	54.23	M	27	68.3	H	28.4	54.23	H	29.3	59.34	M	30		H	31	
H	25	54.92	H	27	66.99	M	28.5		M	29.4	53.27	H	30.1	84.48	H	31	
M	25.2	39.88	H	27	57.01	H	28.5	67.57	M	29.4	59.85	H	30.1	53.28	H	31	
H	25.2	53.84	H	27.1	70.71	M	28.5	56.39	H	29.4	59.79	M	30.2	68.4	H	31	
H	25.2	47.34	H	27.1	44.9	M	28.5	62.84	H	29.5	83.07	H	30.2	84.17	M	31	
H	25.2	55.03	H	27.1	52.65	H	28.5	73.73	M	29.5	79.53	M	30.2	68.4	M	31	
M	25.3	37.58	H	27.2	59.27	M	28.5	70.76	H	29.5	58.93	H	30.2	91.9	M	31	
M	25.3	46.52	M	27.2	60.28	M	28.6	74.77	M	29.5		M	30.3	59.25	H	31	
M	25.4	47.25	H	27.2	61.83	M	28.6	78.59	H	29.5		M	30.3	72.95	H	31	105.6
M	25.5	40.98	M	27.3	61.62	M	28.6	64.5	H	29.5	58.6	M	30.3		H	31	105.7
M	25.5	49.82	H	27.3	64.36	M	28.6	68.87	M	29.5	70.34	M	30.3	84.52	M	31	105.6
M	25.5	61.28	M	27.3	18.66	M	28.6	81.53	H	29.5	57.8	M	30.3	61.51	H	31	
M	25.5	59.13	M	27.3	45.09	H	28.6	58.55	H	29.5	59.56	H	30.3	75.42	H	31	
H	25.5	40.03	M	27.5	45.32	M	28.6	74.91	M	29.5	87.53	M	30.4	59.86	H	31	79.92
H	25.5	57.67	M	27.5	53.12	M	28.6	78.37	M	29.5	90.14	M	30.4	66.03	H	31	
H	25.5	51.7	M	27.5	65.61	H	28.6	67.76	H	29.5		H	30.4	60.24	H	31.1	99.71
M	25.5	44.5	H	27.5	72.75	H	28.7	92.13	M	29.6	59.8	H	30.4		M	31.1	70.1
M	25.6	50.13	H	27.6	63.91	M	28.7	70.22	H	29.6	63.5	H	30.4	56.22	M	31.1	72.03
H	25.7	46.96	M	27.6	73.47	M	28.7	68.78	H	29.6		H	30.5	88.43	H	31.1	
M	25.8	44.33	M	27.8	61.94	H	28.7	46.9	H	29.6	64.04	M	30.5	74.2	H	31.2	69.52
H	25.8	40.03	H	27.8	60.88	H	28.7	52.78	H	29.7	76.01	H	30.5	78.52	H	31.2	76.25
M	25.9	46.95	H	27.8	84.1	H	28.7	69.85	H	29.8	51.56	M	30.5		M	31.2	61.97
H	25.9	38.28	H	27.7	70.51	H	28.7	54.22	M	29.8	90.64	M	30.5		M	31.2	86.17
H	26		M	27.7	50.42	H	28.8	67.55	M	29.8	79.54	H	30.5		M	31.2	80.68
M	26	62.35	H	27.7	54.66	H	28.8	54.56	M	29.8	56.57	M	30.5	80.6	M	31.3	64.62
H	26	71.38	H	27.7	65.72	H	28.8	71.79	M	29.8	74.07	M	30.5	73.13	H	31.3	81.69
M	26	59.09	M	27.8	52.56	M	28.9	66.07	M	29.9	67.01	H	30.5	98.63	M	31.3	83.08
H	26		M	27.8	59.06	H	28.9	48.95	H	29.9	82.21	H	30.5	98.63	M	31.3	81.41
M	26		M	28	64.64	M	28.9	65.07	M	29.9	60.04	M	30.5	98.63	H	31.3	72.78
M	26.2	55.46	M	28	64.64	H	28.9	66.85	M	29.9	76.39	H	30.5	77.88	H	31.3	82.5
M	26.2	58.91	H	28	65.07	H	28.9	64.23	H	30		M	30.5		M	31.3	81.29
H	26.2	61.05	M	28	67.25	H	28.9	53.6	H	30		M	30.5		M	31.3	90.49
M	26.2	56.11	M	28		H	28.9	85.37	M	30		M	30.5		H	31.3	63.56
M	26.3	46.99	H	28		M	28.9	42.8	M	30		M	30.5	67.72	H	31.3	68.59

Continuación Anexo II

Sexo	LT	Peso	Sexo	LT	Peso	Sexo	LT	Peso	Sexo	LT	Peso	Sexo	LT	Peso	Sexo	LT	Peso
M	31.4	68.29	M	32		H	33.3	119.6	H	35	100.9	H	37		H	39.5	190.4
H	31.4	68.33	M	32		H	33.3	99.97	H	35	101.9	H	37		H	39.5	156.9
M	31.4	75.47	H	32		H	33.3	87.66	M	35.1	98.6	M	37		H	39.5	150.3
H	31.4	67.25	M	32		H	33.4	86.39	H	35.2	102.2	H	37.1	104.1	M	39.5	154.1
H	31.4	93.7	H	32		H	33.4	111.1	H	35.3	106.9	M	37.1	112.2	H	39.8	148.3
H	31.4	75.49	H	32		M	33.5	108.1	H	35.3	112.8	H	37.1	133.7	H	39.9	161.2
M	31.5		H	32		H	33.5	87.13	M	35.3	99.97	M	37.3	110.6	M	39.9	183.9
H	31.5	96.09	H	32		H	33.5	119.8	M	35.4	102.4	H	37.4	111.1	H	39.9	175.9
M	31.5	62.98	H	32		H	33.5	87.4	M	35.4	96.52	H	37.5		M	39.9	160.9
H	31.5		H	32		M	33.6	79.57	H	35.4	101.9	H	37.5	136.3	M	39.5	160.8
M	31.5		H	32.1	79.52	M	33.6	96.28	H	35.4	113.7	M	37.7	135.4	M	40	
M	31.5		H	32.1	103.8	M	33.6	99.01	H	35.4	97.04	H	37.7		H	40	
M	31.5		M	32.2	84.7	H	33.6	91.67	H	35.5	100.9	M	37.7	104.7	M	40	
M	31.5	61.9	M	32.3	96.97	M	33.8	107.9	H	35.5	101	M	37.8	156.1	H	40	119.8
H	31.5		M	32.3		M	33.9	89.87	M	35.5	91.95	M	37.8	143.1	H	40.1	170.5
H	31.5		M	32.4	112.4	H	33.9	101.9	M	35.5	95.23	H	37.8	135.8	M	40.1	165.5
M	31.5	112.6	M	32.4	71.19	H	33.9	107.6	M	35.5		M	37.8	135.3	H	40.2	192.8
M	31.5	60.44	M	32.4	89.77	H	33.9	103.7	M	35.5	102.4	M	37.9	129.8	H	40.3	171.5
H	31.5		H	32.4	75.43	H	34		H	35.5		H	38		M	40.5	188.2
H	31.5		M	32.5	112.6	M	34		M	35.7	122.7	M	38		H	40.5	175.9
M	31.5	78.03	M	32.5		H	34		H	35.7	100.4	H	38		M	40.5	179.7
H	31.6	78.77	M	32.5	95.22	M	34		M	35.8	115.1	H	38		M	40.5	195.9
M	31.6	94.08	M	32.5		H	34		M	35.8	100.1	M	38		H	40.5	157.2
M	31.6	78.18	H	32.5		M	34		M	35.9	104.5	M	38	149.8	H	40.6	
M	31.6	78.96	M	32.5	76.05	H	34	92.86	M	35.9	126.9	M	38.1	152.1	H	40.7	166.3
M	31.6	59.83	H	32.6	87.82	M	34.1	119.8	H	36		H	38.1	137.1	H	40.8	139.1
H	31.6	98.91	H	32.6	95.81	H	34.2	125.1	M	36		M	38.1	163.6	M	40.9	165.8
M	31.7		M	32.6	73.97	M	34.2	103.4	H	36		M	38.1	138.9	H	41	
H	31.7	76.68	M	32.7		M	34.2	120.6	H	36		H	38.2	124.6	M	41	
H	31.7	72.87	H	32.7	82.99	M	34.2	106.7	H	36	113.7	M	38.2	115.6	H	41	
H	31.7	73.36	M	32.7	114.3	H	34.2	92.86	H	36.2	128.5	H	38.3	142.2	M	41	192.8
H	31.7		M	32.7	92.5	M	34.2	87.14	M	36.2	151.2	H	38.3	160.8	M	41.1	196.9
M	31.8	104.2	M	32.8	118.7	H	34.3	115.5	M	36.2	107.5	M	38.5		M	41.1	182.9
H	31.8	103.9	H	32.8	107.8	M	34.3	101.1	M	36.3	103.6	M	38.5	161.5	H	41.5	196.4
H	31.8	73.53	M	32.8		M	34.4	87.89	H	36.3	89.31	H	38.6	153.5	M	41.6	190.1
H	31.8	91.67	M	32.8	116.2	M	34.4	119.5	H	36.3	109.	H	38.6	163.4	M	41.5	177.8
H	31.8	108.3	H	32.8	86.62	H	34.5		H	36.4	117.4	H	38.7	172.8	M	41.8	
M	31.8	85.96	M	32.8	98.53	H	34.5	92.86	M	36.5		H	38.8		H	42	
H	31.8		M	32.9	85.35	M	34.5		M	36.5	124.4	M	38.8		M	42	
M	31.8	90.47	M	32.9		M	34.6	104.9	H	36.5	133.9	M	38.8		H	42.1	268.7
H	31.9	80.14	H	32.9	98.99	H	34.6	97.26	H	36.5	106.6	H	38.9	130.7	M	42.3	175.1
H	31.9	75.33	M	32.9	85.88	M	34.6	101.4	H	36.6	148.3	H	38.9	131.9	H	42.3	204.5
M	31.9	64.79	M	33		M	34.8	98.04	H	36.7	124.7	M	38.9	62.87	H	43	
H	31.9	90.53	M	33		H	34.8	100.2	M	36.7	121.2	H	39.1	158.1	M	43	
H	31.9	70.81	M	33		M	34.9	97.06	M	36.8	148.5	M	39		H	43.1	213.9
H	32	68.59	H	33		H	34.9	98.56	M	36.8	135.3	H	39		M	43.2	203.1
H	32	105.8	M	33		H	34.9	96.6	H	36.9	113.7	M	39		M	43.6	234.8
M	32	96.86	H	33		M	34.9	102.6	H	36.9	103.9	M	39.1	165.2	H	44	
H	32		H	33	90.58	M	35		M	36.9	110.6	H	39.1	169.1	H	44	300.8
M	32		H	33.1	82.5	H	35		M	36.9	114.5	H	39.1	117.8	M	44.5	313.8
H	32		M	33.1	83.68	M	35		M	37	141.3	M	39.2	114.5	H	44.5	313.8
M	32		H	33.1	89.03	H	35		M	37		H	39.2		M	44.5	313.8
H	32		H	33.2	118.2	H	35		H	37		H	39.2		H	45	
M	32		H	33.2	89.35	H	37		M	37		H	39.2		M	45	
			M	34.9	91.81	H	39.5		M	39.4	197.5	H	39.4	148.4			

ANEXO III

Tabla III. Tabla general de valores morfométricos. Se muestran 154 columnas, con 49 valores cada una. Cada columna corresponde a un espécimen y cada hilera a una de las medidas tomadas por espécimen.

Clave	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	H1M1	H1M2	H1M3	H1M4	H1M5	H1M6	H1M7	H1M8	H1M9	H1M10	H1M11
Sexo	H	M	M	H	H	H	M	M	M	M	M
LT	36.14	36.56	43.51	48.92	5.29	54.75	55.24				46.52
LpreC	28.79	30.64	35.11	39.46	38.36	41.45	42.63	31.75	31.06	26.82	34.65
LC	10.14	11.11	12.27	14.61	14.38	15.34	16.07	10.91	1.63	10.79	10.97
LpreO	3.98	4.34	4.63	5.29	5.46	5.28	6.57	3.96	4.66	5.94	4.47
LB	1.26	1.27	1.34	1.68	1.88	2.08	2.12	1.16	1.01	1.06	1.93
AB	2.54	2.22	2.94	3.66	4.04	4.08	4.84	2.48	2.44	2.89	4.2
AN	1.47	0.56	0.63	0.78	0.82	0.61	1.06	0.78	0.62	0.57	0.93
DIN	1.7	1.75	2.2	2.99	3.13	2.76	4.43	1.42	1.85	1.82	3.18
LO	1.98	2.35	2.49	3.29	3.19	3.37	3.35	2.77	2.15	2.78	2.88
AIO	1.58	1.75	2.36	3.07	3.28	3.35	2.72	2.61	2.51	2.61	3.78
EIO	3.83	2.61	4.33	4.6	5.85	3.98	6.85	2.87	2.72	2.48	5.1
LprePec	9.73	11.43	12.58	13.72	14.19	14.36	14.43	11.39	11.48	10.18	10.32
APC	1	1.31	1.89	2.2	2.17	2.28	1.84	1.55	1.48	1.77	1.76
AlPC	1.6	1.53	2.29	2.58	2.54	2.6	2.37	1.91	2.05	2.61	2.46
MA-1D		2.15		2.59	1.24	2.18	2.78	1.3	1.62	1.55	2.94
B-1D	2.37	2.93		3.24	2.77	2.79	2.28	2.92	3.11	2.5	3.25
IM-1D						0.68	0.62	0.7	0.68	0.96	1.12
Al-1D	0.41	0.84		1.03	0.91	1.4	1.1	0.9	0.98	0.8	1.09
L-1D		2.94	3.69	4.44	4.51	3.8	3.87	3.6	3.57	3.51	3.82
MA-2D	0.69				2.23		0.71	0.87	0.82		1.8
B-2D	1.82				2.89	1.76	2.01	2.05	1.39		2.48
IM-2D					0.93	0.67	0.64	0.42	0.57		0.54
Al-2D	0.25			0.57	0.69		0.62	0.57	0.49		0.73
L-2D	1.38			3.9	3.4	2.43	2.38	2.07	2.33		2.91
MA-PcDer	1.68	1.48	1.46	2.49	2.52	3.08	2.49	1.85	1.77	1.57	2.63
B-PcDer	1.59	2.01	1.37	1.78	2.46	2.46	1.56	1.96	1.38	1.23	2.22
IM-PcDer	0.62	0.62	0.4	2.27	1.48	1.49	0.73	1.39	1.06	0.6	1.03
MA-PcIzq	1.68	1.48	1.46	2.49	2.52	3.08	2.49	1.85	1.77	1.57	2.63
B-PcIzq	1.59	2.01	1.37	1.78	2.46	2.46	1.56	1.96	1.38	1.23	2.22
IM-PcIzq	0.62	0.62	0.4	2.27	1.48	1.49	0.73	1.39	1.06	0.6	1.03
MA-PIDer	1.03	1.04	2.28	1.78	1.93	1.81	1.53	2.01	0.86	1.29	1.43
B-PIDer	1.17	1.13	1.12	1.27	1.37	1.27	1.27	1.02	0.84	0.78	1.11
IM-PIDer	0.69	0.56	0.57	1.28	1.65	0.62	0.94	0.97	0.98	0.46	1.23
MA-PIIzq	1.03		2.28	1.78	1.93	1.81	1.53	2.01	0.86	1.29	1.43
B-PIIzq	1.7		1.12	1.27	1.37	1.27	1.27	1.02	0.84	0.78	1.11
IM-PIIzq	0.69		0.57	1.28	1.65	0.62	0.94	0.97	0.98	0.46	1.23
MA-An	0.92				1.47	1.35		2.19	1.29		1.71
B-An	2.63				2.19			2.8	2.41		1.87
IM-An					0.65			0.7	0.8		1.04
Al-An	0.28			0.67	0.51	0.68		0.92	0.68		0.69
L-An	2.68				2.9			3.26	3.09		2.55
MCD	7.5	7.74	8.75	10.25	11.47	12.75	13.85				12.23
MCpreV	1.6	1.75	1.38	2.28	2.44	2.41	2.14				1.97
MCpostVb			0.92	1.5	2.02	0.58	2.48				2.64
MCpostVa	2.91	3.29	3.44	4.85	5.23	6.49	5.69				5.04
LCT				2.4	3.29	3.44	3.44				3.47
MCsT				0.53	0.41	0.47	0.44				0.45
MCT				2.09	2.72	2.65	3.03				3.34
LG		0.56	0.92					0.77		0.96	0.92

Continuación anexo III

12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
H1M12	H1M13	H1M14	H1M15	H1M16	H1M17	H1M18	H1M19	H1M20	H1M21	H1M22	H1M23
H	M	M	M	H	H	H	M	H	M	M	H
49.85	48.78	49.75	43.37	54.49	50.1	53.99	44.12				
38.97	37.63	37.86	36.7	42.06	38.4	40.5	34.87	25.26			
14.35	13.17	12.06	13.39	14.13	14.02	14.53	12.85	9.98	10.42	11.85	9.72
5.4	5.45	4.85	5.03	4.9	3.93	4.92	4.71	4.06	4.57	5.17	4.53
1.64	1.92	1.6	1.53	2.08	2.28	2.18	1.29	1.2	1.9	2.1	1.4
3.33	4.06	4.2	3.78	3.54	3.62	3.44	3.41	2.63	2.99	2.29	2.84
0.65	0.54	1.02	0.79	0.98	0.79	1	0.74	0.62	0.68	0.6	0.55
2.85	2.96	2.85	2.33	2.87	2.9	3.67	2.15	1.71	1.87	2.35	2.16
3.14	3.72	3.25	3.44	4.17	4.05	3.79	3.58	2.29	2.69	2.64	2.2
2.87	3.65	3.41	3.1	3.69	3.71	3.59	3.26	2.14	2.6	2.23	1.83
5.67	6.48	6.16	4.65	5.78	4.85	6.04	4.14	3.8	4.27		3.87
13.25	12.19	13.25	13.2	14.07	13.7	13.33	11.94	9.61	11.29	12.72	10.26
2.04	2.93	2.15	1.71	2.2	2.36	3.44					
2.29	2.37	2.29	2.03	2.31	2.61	2.4					
1.4	2.59	2.15	2.15	1.95	2.29	2.03	2.78	2.04	1.75	1.24	
2.85	2.64	3.05	3.99	4.1	3.06	3.41	4.58	3.31	2.95	3.05	
0.76	0.7	1.1	1.25	1.06	1.01	0.91	0.66	0.77	0.45	0.97	
1.61	1.26	1.43	0.81	1.5	1.27	1.37	0.82	0.77	1.03	0.82	
4.05	3.85	4.16	4.17	4.61	4.07	4.32	5.24	4.08	3.4	3.01	
1.47	1.81	1.84	2.12	1.24	1.62	1.49	1.2				
1.92	0.74	2.53	1.66	2.69	2.01	2.43	2.15				
0.86	1.53	0.82	0.76	1.1	0.9	0.83	0.6				
1.79	0.85	0.75	0.53	0.73	0.62	0.88	0.98				
2.47	2.79	3.07	3.23	3.79	2.91	3.26	2.75				
2.67	3.96	3.37	2.21	2.93	2.63	1.44	1.8	1.65	1.48	1.48	1.41
2.25	1.72	2.7	3.31	2.26	1.98	2.92	1.85	1.89	1.29	1.98	1.64
1.74	1.66	1.35	1.22	1.6	2.64	1.31	1.05	0.76	0.72	0.84	1.17
2.67	3.96	3.37	2.21	2.93	2.63	1.44	1.8	1.65	1.48	1.48	1.41
2.25	1.72	2.7	3.31	2.26	1.98	2.92	1.85	1.89	1.29	1.98	1.64
1.74	1.66	1.35	1.22	1.6	2.64	1.31	1.05	0.76	0.72	0.84	1.17
1.87	1.82	1.37	1.76	1.48	1.58	1.43	0.89	0.71	0.71	0.9	
0.26	1.06	1.58	1.1	1.51	1.17	1.15	1.15	0.9	1.12	0.98	
1.88	1.35	1.14	1.5	1.08	1.48	1.31	1.39	1.08	1.49	1.48	
	1.82	1.37	1.76	1.48	1.58	1.43	0.89	0.71	0.71	0.9	
	1.06	1.58	1.1	1.51	1.17	1.15	1.15	0.9	1.12	0.98	
	1.35	1.14	1.5	1.08	1.48	1.31	1.39	1.08	1.49	1.48	
2.22	1.43	1.69	1.39	2.35	1.58	2.4	1.4				
2.87	2.16	1.88	1.26	2.87	2.24	2.39	2.37				
0.8	0.42	0.58	0.56	0.58	1.23	1.05	0.52				
0.89	2.78	0.71	0.49	0.78	1.12	1.18	0.61				
3.15		2.6	1.8	3.45	3.47	3.44	2.89				
11.53	11.36	13.29	11.96	11.5	12.18	13.62	10.35				
20.07	2.43	2.39	1.93	2.68	2.54	2.46	2.39				
2	1.34	2.14	1.18		2.8	2.46	1.83				
4.81	5.7	5.87	6.29		4.58	6.12	4.55				
2.72	2.9	2.39	2.55	4.27	3.51	3.41	2.55				
0.48	0.65	0.3	0.47	0.17	0.53	0.39	0.4				
2.27	2.26	3.15	2.56	2.12	2.15	3.05	2.72				
	1.33	0.8	0.8				0.83		0.97	0.89	

Continuación anexo III

24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
H1M24	H1M25	H1M26	H1M27	H1M28	H1M29	H1M30	H1M31	H1M32	H1M33	H1M34	H1M35
M	H	H	H	H	M	M	M	H	M	M	H
44.98	45.84	5.65	51.14	52.02	49.03	52.54	45.08	46.5	50.24	43.49	47.13
36.41	37.08	39.47	38.16	41.55	37.46	40.84	35.09	34.21	38.17	33.81	34.98
13	13.77	14.2		15.28	2.83	13.84		12.21	14.04	12.2	12.55
4.84	5.06	4.28	4	4.81	6.05	4.67	5.46	4.79	4.75	4.3	4.88
1.5	1.63	2.79	1.98	2.4	1.73	1.92	2.08	1.46	1.67	1.34	1.3
3.55	3.53	3.6	4.17	3.96	2.87	3.91	2.91	3.53	3.47	3.87	3.24
0.78	0.5	0.49	0.9	0.58	0.57	0.7	0.53	0.56	0.64	0.61	0.5
2.83	2.21	3.16	2.58	3.05	2.4	2.79	2.6	2.33	2.66	2.28	2.56
2.99	2.79	3.25	3	3.31	3.46	3.24	3.49	2.65	3.18	2.54	2.87
3.04	2.77	3.51	2.55	3.32	3.22	3.2	3.38	2.88	2.98	2.88	2.14
3.74	2.76	4.06		3.57	5.84	3.84	4.16	3.9	5.03	4.53	4.39
13.03	13.72	13.32	13.23	15.13	12.25	13.87		12.28	14.84	11.73	12.08
2.04	2.16	2.11	1.99	2.15	2.79	2.37	1.54	1.67		1.43	2.14
3.74	2.55	3.21	3.04	3.17	3.72	3.31	3.54	3.05		2.84	3.52
0.82	0.94	0.98	1.03	0.94	0.85	0.87	0.68	0.62		0.55	0.85
0.89	0.95	1.14	1.55	1	1.38	0.84	0.84	0.69		0.81	0.9
4.56	3.49	4.19	4.07	4.11		4.19	4.22	3.67		3.39	4.37
1.53	1.19	1.41	1.29	0.94	1.21	1.01	1.34	1.13	0.88	1.13	1.72
2.33	1.96	1.82	1.82	1.49	2.15	2.32	2.58	2.01	2.23	2.68	2.49
0.88	0.47	1.04	0.75	0.71	0.59	0.57	0.55	0.62	0.6	0.45	0.63
0.73	0.67	0.89	0.79	0.59	0.76	0.78	0.69	0.75	0.65	0.53	0.54
	2.43	2.86	2.57	2.2		2.89	3.13	2.63	2.83	3.13	3.12
2	1.89	2.32	2.2	2.16		2.36	1.98	1.76	2.48	2.56	1.75
2	1.9	2.03	1.77	1.99		2.11	1.91	2.27	2.6	1.99	1.7
1.4	1.21	1.19	1.16	1.74		1.48	1.03	1.03	0.91	0.98	0.73
2	1.89	2.32	2.2	2.16		2.36	1.98	1.76	2.48	2.56	1.75
2	1.9	2.03	1.77	1.99		2.11	1.91	2.27	2.6	1.99	1.7
1.4	1.21	1.19	1.16	1.74		1.48	1.03	1.03	0.91	0.98	0.73
1.13	1.48	0.93	1.36	1.23	158	1.36	1.18	1.29	1.38	1.19	1.2
1.22	1.62	1.25	1.07	1.29	1.43	1.13	1.12	1.08	1.1	1.1	1.05
1.23	0.8	1.37	0.78	1.04	1.56	0.9	1.04	1.08	0.72	0.73	1.16
1.13	1.48	0.93	1.36	1.23	158	1.36	1.18	1.29	1.38	1.19	1.2
1.22	1.62	1.25	1.07	1.29	1.43	1.13	1.12	1.08	1.1	1.1	1.05
1.23	0.8	1.37	0.78	1.04	1.56	0.9	1.04	1.08	0.72	0.73	1.16
2	1.33	1.59	1.03	1.04	1.31	1.73	1.25	1.42	1.48	1.36	1.67
2.39	2.29	2.3	2.02	1.63	1.53	2.57	2.54	2.66	2.4	2.55	2.56
0.54	0.56	0.63	0.77	0.6	1.66	0.73	0.55	0.42	0.54	0.7	0.69
0.71	0.79	0.82	0.51	0.83	0.79	0.71	0.54	0.78	0.68	0.72	0.9
2.93	2.85	2.93	2.79	2.23	3.19	3.3	3.09	3.08	2.94	3.25	2.25
9.66	10.14	11.28	11.97	12.28	8.55	1.09	9.53	9.46	13.61	9.34	11.18
2.47	2.54	2.93	2.1	1.69	1.95	2.1	2.58	2.29	2.41	1.85	2.05
2.06	1.45	1.9	1.47	1.33	2.67	1.85		1.86	2.59	1.39	1.64
3.91	4.69	5.64	5.62	5.38	4.71	6.27	3.07	5.61	5.77	3.96	9
2.33	0.82	2.64	3.11	0.64		2.6	2.84	2.6	3.16	2.17	4.28
0.36	0.28	0.56	0.44	3.81	0.85	0.39	0.49	0.14	0.69	0.5	0.64
2.09	2.55	2.78	3.23	3.29		2.56	2.66	3.68	2.5	2.4	2.69
0.93					1.2	1.1	0.64		0.92	0.85	

Continuación anexo III

36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47
H1M36	H1M37	H1M38	H1M39	H1M40	H1M41	H1M42	H1M43	H2bM1	H2bM2	H2bM3	H2bM4
H	H	M	H	H	H	M	H	M	H	H	H
43.07	49.62	35.87	40.65	44.36	42.06	39.31		39.54	44.81	52.42	52.94
28.65	38.76	27.4	30.18	31.84	33.52	30.1	30.39	30.04	34.61	41.95	42.86
11.36	14.29	10.78	11.61	11.12	12.05	10.01	10.73	9.72	11.78	15.5	14.8
4.18	5.08	4.52	5.23	4.87	4.91	3.34	11.83	3.31	3.97	5.15	4.77
1.43	1.82	1.15	0.86	1.92	1.03	1.01	4.03	0.82	1.6	2	2.24
3.22	3.76	2.85	3.32	3.31	2.99	3.79	1.38	2.38	3.9	3.8	4.2
0.8	0.4	0.67	0.69	0.73	0.59	0.72	2.75	0.72	0.86	0.6	0.79
2.5	2.58	2.17	2.93	2.15	2.01	3.07	0.51	2.22	2.77	2.6	2.89
2.61	3.82	2.68	2.64	2.96	2.47	2.88	2.45	2.62	2.45	3.56	4.1
2.74	3.83	2.38	2.48	2.93	2.7	2.48	2.38	1.82	2.42	3.19	3.55
4.39	6.23	3.68	3.77	4.19	2.24	4.83	1.95	4.86	5.24	3.36	5.05
11.22	13.78	10.5	12.01	11.89	11.07	8.96	4.46	8.9	11.02	14.23	14.92
									1.96	1.57	2.18
									2.19	1.75	3.12
1.93	2.2		1.2	2.36	2.33	2.08		1.35	2.58	3.06	2.59
3.44	3.82		1.86	3.95	3.5	3.27		2.48	2.89	3.69	3.56
0.66	0.99		0.41	0.41	0.55	0.71		0.45	0.92	1.42	1.19
1.27	1.13		0.8	0.75	0.62	0.88		0.7	3.33	1.68	1.22
4.1	4.81		2.27	4.36	4.05			3.04	4.26	4.49	4.48
0.88	1.27		1.19	1.41	1.74	1.28			0.4	1.64	1.68
1.9	1.83		1.62	3.1	1.52	1.86			1.37	1.66	1.23
0.46	0.79		0.47	0.52	0.49	0.38			1.36	0.99	0.84
0.71	0.71		0.22	0.67	0.48	0.48			0.51	0.98	1.17
2.36	2.62		2.09	3.62	2.01				2.32	3.1	4.19
1.6	3.33	1.76	1.73	2.11	2.22			1.7	2.83	3.1	3.75
1.7	1.93	1.69	1.68	1.56	1.73		1.54	1.6	2.09	2.66	0.9
1.06	1.52	1.15	1.11	1.14	0.8		1.01	0.63	1.12	1.38	1.62
1.6	3.33	1.76	1.73	2.11	2.22			1.7	2.83	3.1	3.75
1.7	1.93	1.69	1.68	1.56	1.73		1.54	1.6	2.09	2.66	0.9
1.06	1.52	1.15	1.11	1.14	0.8		1.01	0.63	1.12	1.38	1.62
	1.43		0.87	0.95		0.88	1.59	1.22	1.35	1.68	1.39
	1.25		0.55	0.81		0.97	0.95	2.1	0.9	1.5	1.16
	1.11		0.5	0.94		0.71	0.7	0.61	2.03	2.7	1.93
	1.43		0.87	0.95		0.88	1.59	1.22	1.35	1.68	1.39
	1.25		0.55	0.81		0.97	0.95	2.1	0.9	1.5	1.16
	1.11		0.5	0.94		0.71	0.7	0.61	2.03	2.7	1.93
1.21	1.52		0.06	1.41	1.51	1.21			0.91	2.09	1.63
2.27	2.16		0.74	1.97	2.15	2.09			1.99	2.58	3.17
0.5	0.71		0.46	0.22	0.58	0.42			0.74	0.72	0.86
0.69	1.1		0.46	0.82	0.76	0.64			0.79	0.74	0.84
2.77	2.87		1.2		2.73	2.51			2.31	3.22	2.93
8.87	10.98		10.21		9.88	10.67		10.64	12.25	10.56	11.52
1.27	2.42		1.77		2.43	1.82		2.58	2.49	1.86	2.76
1.07	1.27		1.66		1.2			2.1	2.95	1.47	2.25
3.18	5.17		3.77		4.34			4.43	5.2	4.55	4.6
2.33	3.04		3.1		3.02	3.96		3.34	3.36	1.96	0.61
0.37	0.39		0.31		0.35	2.32			0.74	0.8	2.04
1.94	2.47		2.4		2.01	0.37			2.96	2.64	2.54
0.83								0.81			

Continuación anexo III

48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59
H2bM5	H2M1	H2M2	H2M3	H2M4	H2M5	H2M6	H3M1	H3M2	H3M3	H3M4	H3M5
M	M	M	M	H	H	H	M	M	M	H	H
60.56	100.62	103.47	109.09	102.94	109.29	93.52	119.36	124.41	126.7	105.52	117.05
42.78	73.7	78.07	77.12	76.89	81.29	70.11		94.25	93.59	81.7	90.44
17.34	29.23	30.5	28.82	27.63	29.54	27.81	32.85	36.12	36.42	29.33	33.4
7.13	10.47	11.18	11.96	9.89	12.79	10.07	12.79	14.9	15.5	11.39	13.26
3.18	5.36	4.76	5.63	4.77	4.66	4.02	4.52	4.44	4.18	3.61	4.16
5.6	8.34	8.28	9.66	8.68	8.75	6.9	10.04	11.09	10.04	9.81	9.35
1.64	2.17	3.5	2.88	2.09	2.46	2.16	3.77	3.23	3.31	2.94	3.29
3.06	4.68	5.02	5.17	5.41	4.92	5.28	7.72	8.08	8.19	6.26	7.89
4.13	8.17	8.69	8.6	8.1	8.87		8.14	8.31	8.34	7.6	7.98
2.95	6.17	7.63	6.78	5.78	6.75		6.49	7.03	7.53	6.81	7.14
6.74	17.05	15.87	17.49	17.14	18.17	13.8	21.91	21.14	21.65	21.01	21.41
15.79	28.01	26.66	30.54	27.65	28.75	26.53	31.35	33.9	34.9	29.99	34.19
2.42	3.93	2.77	3.04	2.95	4.16	2.73	4.45	4.1	4.23	3.69	3.69
4.8	3.7	3.99	3.24	3.91	3.91	3.64	4.5	5.83	5.57	3.97	4.43
3.42	5.78	7.51	7.04	6.37	6.76	6.09	8.67	8.94	8.88	6.39	7.22
3.59	6.72	7.35	6.56	6.99	7	6.05	9.39	8.9	8.9	7.05	8.93
1.9	2.24	2.63	2.66	2.19	3.57	2.46	3.81	3.94	3.76	2.39	3.68
1.82	3.01	3.57	3.67	4.33	3.95	3.83	4.56	5.67	5.07	3.96	4.04
4.92	8.23	9.02	9.24	8.39	9.69	8.35	11.21	11.48	11.54	9.94	10.64
2.89	3.92	4.47	3.12	3.36	4.19	3.39	3.87	5.28	5.5	3.56	4.36
2.38	3.24	3.87	4.29	3.89	4.43	3	4.44	4.71	5.13	4.53	5.74
1.11	2.21	2.38	2.13	2.25	3.48	2.39	3.35	3.79	3.08	1.91	3.12
1.44	2.24	1.93	1.61	2.08	2.41	2.13	2.09	3.13	2.67	1.35	2.86
3.46	5.62	5.99	5.63	6.08	6.57	5.56	7.09	7.98	7.5	6.72	8.24
4.75	9.82	11.72	10.97	10.27	10.85	9.95	11.18	12.96	14.96	11.39	12.84
3.25	3.92	3.58	4.38	4.74	4.56	4.13	6.1	6.03	5.65	5.08	5.25
2.05	4.01	7.17	3.98	3.46	3.99	5.21	4.95	5.11	5.05	3.5	5
4.75	9.82	11.72	10.97	10.27	10.85	9.95	11.26	12.73	14.73	11.39	12.84
3.25	3.92	3.58	4.38	4.74	4.56	4.13	5.2	6.03	5.69	5.08	5.25
2.05	4.01	7.17	3.98	3.46	3.99	5.21	4.81	5.39	5.38	3.5	5
2.3	3.67	4	4.03	4.47	3.53	4	5.13	6.18	6.47	5.69	5.8
1.83	2.77	2.62	2.82	2.19	2.56	2.5	5.41	5.97	6.14	3	3.47
1.12	3.26	2.6	2.57	2.49	2.42	2.13	2.72	2.14	2.29	5.09	5.29
2.3	3.67	4	4.03	4.47	3.53	4	5.13	5.95	6.32	5.69	5.8
1.83	2.77	2.62	2.82	2.19	2.56	2.5	5.41	6.05	6	3	3.47
1.12	3.26	2.6	2.57	2.49	2.42	2.13	2.72	2.03	3.17	5.09	5.29
1.69	4.3	4.16	4.08	4.22	4.02	4.57	4.49	5.48	5.13	4.82	5.25
1.79	3.72	4.36	4.57	3.92	4.11	4.38	4.46	5.19	5.23	4.92	5.31
0.9	3	1.93	3.19	3.2	2.53	2.16	2.7	3.7	3.1	2.12	2.55
0.93	2.52	2.72	2.2	2.42	2.38	1.97	2.95	2.74	2.5	2.38	2.53
3.01	5.4	6.34	6.59	6.28	6.14	6.88	7.04	8.1	7.72	6.16	7.09
17.47	23.37	25.14	24.91	26.12	27.17	23.22	29.76	30.32	30.79	24.68	29.57
4.64	7.72	9.02	8.21	9.57	8.97	8.28	11.55	9.28	9.89	9.01	11.28
1.57	4.39	4.97	2.15	3.81	4.09	3.93	5.75	5.76	5.34	4.31	5.32
6.12	9.61	10.66	10.62	11.47	11.6	11	13.63	12.97	14.23	9.51	10.42
1.54	5.8	6.97	6.74	2.22	7.93	6.12	7.86	8.16	8.52	5.99	6.1
4.07	2.48	2.2	2.48	7.18	2.77	1.63	3.31	2.18	3.24	2.13	1.97
5.28	5.71	4.86	5.09	5.94	6.05	5.21	7.76	7.77	6.71	4.88	6.38
2.43	4.49	4.59	5				4.99	5.47	5.98		

Continuación anexo III

60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71
H3M6	H3Mm	H3Mh	H4M1	H4M2	H4M3	H4M4	H4M5	H5M1	H5M2	H5M3	H5M4
H	M	H	M	M	M	H	H	M	M	M	H
132.52	110.4	108.23	196	202	204	192.21	188.5	162.5	166.45	167.98	140.98
99.42	82.58	82.52	140.1	143.35	140.48	144.63	113.53	117.84	116.39	118.8	103.49
35.06	34.59	32.44	46.36	51.79	49.03	51.63	47.1	46.07	44.56	45.53	39.61
15.53	13.9	13.77	14.08	19.09	16.55	15.62	15.72	17.03	17.77	18.48	16.23
4.76	4.03	4.15	9.87	8.69	7.4	9.07	7.01	3.35	5.45	5.38	5.59
10.65	10.96	10.76	12.65	14.67	12.62	13	12.55	15.17	14.95	13.12	13.11
3.24	3.75	6.63	4.04	3.87	3.04	3.17	3.55	4.19	2.81	4.42	3.67
7.84	8.3	7.66	10.71	8.27	9.94	8.49	8.68	8.7	9.42	7.91	8.47
8.95	7.77	7.99	9.32	9.87				9.53	10.15	9.46	8.97
8.04	7.41	7.12	9.88	10.64				9.24	8.73	9.09	8.06
22.34	18.38	16.97	22.15	22.64	22.12	22.24	19.95	23.62	25.81	24.49	23.19
37.12	30.38	30.87	47.09	50.37	46.79	50.74	46.83	43.79	38.35	42.8	37.12
4.61	4.68	4.14	7.31	7.97	6.41	6.61	6.78	7.21	6.61	7.05	5.6
4.98	4.02	3.63	7.49	7.54	6.89	7.49	7.36	6.95	6.66	7.41	5.76
7.88	7.42	8.19	14.12	12.64	15.36	15.6	14.44	13.17	12.64	13.52	10.1
7.98	6.79	7.69	13.83	13.09	13.73	13.22	12.45	11.47	10.53	11.43	9.53
4.08	3.63	2.79	6.07	5.38	5.9	4.93	5.8	4.63	4.37	4.81	4.18
2.68	4.22	4.67	5.97	7.79	7.77	6.68	7.36	7.48	6.59	5.89	5.22
9.87	9.8	10.21	18.69	16.39	17.52	16.79	16.25	15.47	14.67	16.54	13.43
5.35	3.83	3.55	7.6	8.31	8.49	7.31	9.69	5.96	6.61	5.99	5.45
5.16	4.1	4.5	6.2	7.34	7.02	7.77	7.77	7.26	7.45	6.83	5.49
3.86	3.4	3.29	6.6	6.33	6.69	4.83	4.55	3.57	4	5.3	3.9
3.32	2.01	2.54	3.9	4.12	4.01	3.39	3.66	3.03	3.38	4.11	2.46
7.5	7.21	7.95	11.55	12.48	13.99	13.45	11.6	9.54	11.71	11.73	8.73
13.46	10.28	11.57	24.76	24.84	23.7	18.58	23.98	18.82	18.56	19.64	16.24
5.03	5.76	5.46	8.31	8.32	8.21	8.37	8.15	7.78	6.57	7.5	5.95
5.82	3.97	4.4	7.28	8.67	7.81	8.8	6.52	6.91	7.01	6.26	5.1
13.46	10.28	11.57	24.76	24.84	23.7	18.58	23.98	18.82	18.56	19.64	16.24
5.03	5.76	5.46	8.31	8.32	8.21	8.37	8.15	7.78	6.57	7.5	5.95
5.82	3.97	4.4	7.28	8.67	7.81	8.8	6.52	6.91	7.01	6.26	5.1
6.72	5.2	4.2	7.86	9.65	9.51	7.39	7.24	6.74	7.34	7.79	6.77
3.54	3.15	2.79	8.91	6.58	4.94	4	4.29	4.23	4.16	5.02	3.36
3.38	2.12	2.69	5.19	5.55	4.73	4.08	5	3.48	3.22	4.79	4.01
6.72	5.2	4.2	7.86	9.65	9.51	7.39	7.24	6.74	7.34	7.79	6.77
3.54	3.15	2.79	8.91	6.58	4.94	4	4.29	4.23	4.16	5.02	3.36
3.38	2.12	2.69	5.19	5.55	4.73	4.08	5	3.48	3.22	4.79	4.01
5.09	4.4	4.35	7.72	9.04	10.82	9.03	9.67	5.84	6.87	7.21	6.79
5.39	4.7	4.54	4.61	9.29	8.81	7.17	7.86	6.43	6.42	7.02	6.97
3.31	2.46	2.28	4.55	4.8	6.13	4.49	4.66	4.04	4.32	5.03	3.55
3.21	2.48	1.7	3.52	5.35	4.55	3.55	3.28	3.65	2.81	4.28	2.77
8.17	7.03	6.5	10.3	12	14	11.23	13.33	10.53	10.58	11.16	9.91
30.4	25.84	25.86	50.1	50.86	55.06	52	48.81	41.78	41.32	42.68	37.55
11.51	7.5	8.48	15.83	18.5	20.91	14.88	16.59	13.17	14.55	14.61	11.84
4.83	4.38	5.5	9.85	6.19	5.62	3.72	4.38	8.18	6.47	7.29	5.15
14.12	10.94	11.12	20.49	24.18	24.75	19.78	18.67	17.07	15.95	19.35	16.08
5.6	8.04	8.25	13.05	12.66	9.73	11.36	13.03	11.1	10.12	13.01	9.68
3.06	2.23	2.14	4.92	4.15	5.22	4.34	4.12	4.06	3.86	3.93	3.1
5.79	5.44	6.01	9.41	6.27	10.49	9.47	9.32	10.62	9.22	11.54	7.97
	4.65		9.05	8.69	9.69			7.11	7.24	7.66	

Continuación anexo III

72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83
H5M5	H5M6	H5Mm	H6M1	H6M2	H6M3	H6M4	H6M6	H7M1	H7M2	H7M3	H7M4
H	H	M	M	M	H	H	H	H	H	M	M
169.69	172.64	16.8	190.54	205.32	189.54	219.14	216.3	203	188	280	211
123.1	125.28	118.84	134.7	148.8	140.52	155.5	157	153	139	153	15.5
47.02	48.97	43.41	54.56	55.36	55.14	60.57	60.9	58.67	52.28	57.99	57.18
19.11	19.9	18.06	21.51	21.27	23.07	23.45	26.44	23.57	22.23	24.29	24.83
6.39	7.56	5.36	8.96	8.68	7.95	8.72	10.22	8.17	8.42	7.79	7.89
14.93	15.29	14.65	14.7	14.46	14.11	16.26	15.33	17.45	14.78	15.95	16.22
4.2	4.48	3.52	4.09	4.6	4.39	4.91	4.52	5.42	4.23	5.25	5.23
9.38	9.63	8.84	9.91	10.22	10.21	10.31	11.08	11.43	10.52	10.48	10.86
9.59	9.62	9.54	10.3	11.11	10.58	11.01	11.65	11.03	9.22	9.98	10.1
8.68	8.56	9.1	8.58	9.18	8.45	9.77	9.8	9.63	8.55	9.44	9.15
26.5	26.32	23.87	27.26	28.16	23.84	25.23	23.24	27.19	24.84	26.31	24.76
41.75	44.78	42.13	49.99	49.35	51.12	58.34	57.3	54.29	46.75	53.25	50.38
7.11	8.08	6.23	7.92	8.47	7.25	7.93	9.32	7.13	6.39	6.94	7.52
7.51	7.51	6.21	8.1	8.74	7.63	8.56	8.35	7.81	6.52	7.86	8.34
14.4	13.04	12.23	15.26	17.43	15	16	17.15	16.36	15.52	15.1	16.05
13.01	12.36	11.93	14.12	13.93	12.17	15.81	14.74	13.98	12.95	14.57	13.26
4.84	4.93	5.2	5.78	8.06	6.73	6.16	7.75	6.23	5.82	5.41	7.01
7.19	7.65	5.95	7.11	7.75	7.88	7.95	9.71	9.17	6.75	7.61	8.41
17.12	16.68	15.63	18.94	21.01	17.39	20.38	21.25	21.25	16.78	19.81	19.56
7.51	6.73	5.51	9.29	8.03	8.77	10.13	8.01	9.35	6.62	8.33	9.79
6.78	7.32	6.57	7.6	7.76	7.67	9	8.29	7.41	7.92	7.04	7.73
3.49	4.57	3.79	5.23	8.27	5.95	7.26	6.05	7.16	5.67	5.59	6.64
3.32	12.15	2.79	3.41	3.45	4.6	4.54	4.08	4.29	3.88	4.34	5.66
11.39	12.52	10.66	14.12	15.17	13	16.03	14.69	13.1	12.87	13.5	12.92
21.95	20.98	18.97	25.83	29.28	25.06	28.16	30.34	26.89	23.01	27.54	27.18
8.08	7.96	6.98	8.27	9.88	6.63	9.19	8.43	8.36	9.13	8.97	8.65
6.85	7.59	6.43	9.16	8.94	8.65	9.07	10.07	8.08	7.9	8.08	9.33
21.95	20.98	18.97	25.83	29.28	25.06	28.16	30.34	26.89	23.01	27.54	27.18
8.08	7.96	6.98	8.27	9.88	6.63	9.19	8.43	8.36	9.13	8.97	8.65
6.85	7.59	6.43	9.16	8.94	8.65	9.07	10.07	8.08	7.9	8.08	9.33
9.04	8.98	7.54	8.73	9.94	9.14	11.31	11.77	11.28	9.45	11.7	10.04
4.61	5.24	4.3	5.43	5.39	4.94	5.27	5.84	5.79	5.33	6.23	6.09
4.94	3.87	4.01	5.77	5.32	6.19	6.25	6.73	5.81	4.15	5.26	5.02
9.04	8.98	7.54	8.73	9.94	9.14	11.31	11.77	11.28	9.45	11.7	10.04
4.61	5.24	4.3	5.43	5.39	4.94	5.27	5.84	5.79	5.33	6.23	6.09
4.94	3.87	4.01	5.77	5.32	6.19	6.25	6.73	5.81	4.15	5.26	5.02
8.09	7.92	7.26	9.73	11.18	5.46	11.2	11.1	10.71	9.59	8.47	9.52
7.17	7.09	6.47	8.44	9.11	8.2	9.99	9.32	8.98	7.22	7.29	8.21
4.47	4.06	5.28	5.72	7.38	7.05	6.81	6.53	5.71	5.91	5.63	6.67
4.03	4.57	3.56	5.22	6.64	4.57	5.72	4.89	5.14	3.58	4.6	4.3
11.23	11.52	10.26	13.85	15.72	14.4	15.72	16	13.78	13.68	13.08	13.78
44.46	44.05	41.29	47.51	56.27	50.9	5.21	54.66	50.68	45.92	52.92	52.74
15.98	17.2	14.97	19.82	22.42	18.14	21.89	20.56	19.72	17.88	19.67	21.42
6.4	7.54	7.92	8.33	9.64	7.68	7.87	6.96	9.43	6.64	8.21	8.4
18.04	17.73	19.24	19.69	23.71	20.35	21.87	20.63	21.88	18.86	22.52	22.22
11.74	12.53	16.07	15.2	17.9	15.73	16.42	17.59	15.38	14.97	17.9	14.82
4.23	3.81	4.08	3.43	4.84	5.6	5.38	4.46	4.65	4.58	4.95	4.42
11.66	11.18	9.34	12.1	14.36	11.9	12.49	12.81	12.68	10.59	11.58	12.98
			8.47	9.39						8.9	9.78

Continuación anexo III

84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
H7M5	H8M1	H8M2	H8M3	H8M4	H8M5	H8M6	H9M1	H9M2	H9M3	H9M4	H9M5
M	H	H	H	M	M	M	H	H	H	M	M
222	246	265	269	241	279	273	222	208.8	202.9	212.5	222.7
16.9	185	198	195	183	20.4	199	159	149	148	160	162.8
60.62	68.28	67.53	69.41	63.98	69.69	68.31	50.65	51.86	5.8	52.8	51.78
25.68	28.18	28.13	28.12	26.79	30.02	28.74	18.56	20.83	21.52	19.82	19.57
9.42	9.84	9.18	7.7	10.76	9.52	9.91	8.66	10.08	8.53	8.75	9.36
17.14	18.95	18.71	17.87	18.01	18.31	19.26	13.19	13.03	14.05	11.36	12.74
5.29	5.49	6.14	5.58	5.32	5.66	5.23	3.95	2.8	2.92	3.63	4.32
11.15	12.96	12.53	12.04	11.81	13.85	12.62	9.17	9.13	13.14	9	10.62
10.11	10.68	9.16	10.21	10.33	11.3	9.72	10.54	*	*	*	20.22
10.31	9.61	8.57	8.68	8.25	9.01	9.24	7.6	*	*	*	*
28.18	33.22	29.88	31.24	28.23	31.21	30.65	22.08	23.61	20.41	19.7	*
57.27	60.53	66.55	64.51	54.67	61.5	66	47.25	47.94	46.93	47.87	47.72
7.45	9.76	8.99	11.16	8.89	10.06	9.69	7.57	6.68	7.54	6.84	6.97
7.59	9.33	10.41	5.47	9.44	9.85	10.22	7.18	6.86	7.94	7.18	7.21
17.95	19.41	21.13	20	19.1	22.55	21.5	14.68	15.9	16	11.32	8.45
13.19	17.38	16	17.21	16.72	18.56	17.08	13.07	11.04	13.38	11.43	12.91
7.14	7.85	7.51	7.55	6.59	9.18	8.63	6.71	6.84	6.52	6.49	6.91
9.5	10.95	12.36	9.98	9.04	11.12	12.53	7.76	7.17	8.94	5.82	8.7
19.96	23.3	25.86	24.61	22.58	26.19	25.47	19.05	19.48	19.88	18.08	20.49
8.37	9.16	11.08	6.31	8.07	10.64	10.19	9.11	6.63	6.77	6.13	8.78
8.6	9.36	10.81	11.24	8.51	9.66	11.01	7.62	7.92	7.91	7.17	7.8
8.3	6.95	7.51	7.68	7.92	9.33	9.03	4.26	7.4	5.36	7.58	5.65
5.13	5.32	4.67	5.28	5.48	6.4	6.08	5.32	5.79	4.1	4.13	4.39
14.93	14.97	17.43	16.87	15.61	17.02	18.38	11.56	12.63	10.3	13.58	15.65
28.97	35.12	38.32	35.82	30.45	36.99	34.54	25.9	26.63	24.68	*	28.75
9.24	11.61	10.89	10.1	9.48	11.41	10.28	8.4	7.76	7.27	*	8.42
9.99	10.75	11.03	11.5	9.68	12.54	12	9.27	7.21	8.24	*	8.19
28.97	35.12	38.32	35.82	30.45	36.99	34.54	25.9	26.63	24.68	*	28.75
9.24	11.61	10.89	10.1	9.48	11.41	10.28	8.4	7.76	7.27	*	8.42
9.99	10.75	11.03	11.5	9.68	12.54	12	9.27	7.21	8.24	*	8.19
12.57	13.65	13.56	14.29	12.19	14.3	13.17	10.37	9.77	11.2	8.3	10.23
5.88	6.6	6.72	6.61	6.3	8.95	7.88	4.56	4.25	3.66	6.15	4.72
5.34	7.5	6.15	5.56	6.35	11.65	6.69	5	4.19	5.89	3.07	3.9
12.57	13.65	13.56	14.29	12.19	14.3	13.17	10.37	9.77	11.2	8.3	10.23
5.88	6.6	6.72	6.61	6.3	8.95	7.88	4.56	4.25	3.66	6.15	4.72
5.34	7.5	6.15	5.56	6.35	11.65	6.69	5	4.19	5.89	3.07	3.9
10.64	10.7	13.05	13.45	11.06	16.56	12.04	6.67	7.14	8.88	6.42	8.68
8.02	9.38	10.86	11.17	8.86	12.8	9.65	7.2	7.79	6.89	8.52	6.3
6.8	6.73	7.47	8.3	7.57	7.82	8.14	3.35	5.73	5.19	4.32	5.44
5.55	5.44	6.85	6.36	5.66	6.01	6.69	4.95	3.88	3.88	4.12	5
13.93	17.02	17.89	17.87	16.92	19.62	18.72	9.56	14.9	12.26	10.71	14.74
53.94	61.65	63.69	71.77	61.29	67.36	69.87	50.41	5.16	50.55	54.24	49.9
22.71	22.1	26.94	26.63	22.81	28.56	29.33	22.15	21.83	22.09	21.63	22.47
8.31	9.3	10.92	12.25	9.42	9.81	11.07	7.42	6.68	6.92	5.14	5.96
21.59	26.77	28.17	28.74	27.39	39.39	27.59	25.47	20.83	20.6	25.8	23.25
18.5	19.23	18.28	22.84	20.55	19.24	19.92	13.21	15.79	15.29	15.1	17.34
5.01	6.48	4.96	7.34	6.39	6.36	6.2	7.69	6.08	4.75	4.59	5
12.25	14.03	14.77	18.23	14.58	15.82	17.13	10.22	10.93	8.68	8.91	12.57
9.6				10.91	11.87	9.79				11.5	9.83

Continuación anexo III

96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107
H9M6	H9M7	H10M1	H10M2	H10M3	H10M4	H10M5	H10M6	H11M1	H11M2	H12M1	H12M2
M	H	H	H	H	M	M	M	H	M	M	M
232.8	154.5	203	195	203	196	208	205	235	222	258	280
172.5	130	151	136.69	142.91	138.14	155	151.1	167	157	18.8	20.2
53.79	35.36	54.5	52.79	51.4	54.23	56.07	53.51	56.15	54.88	66.47	71.88
18.78	15.26	22.57	20.38	21.64	19.53	24.39	21.5	21.67	20.96	28.3	29.79
8.29	6.3	6.8	6.99	6.04	7.7	8.87	8	8.59	8.38	17.76	8.81
13.22	12.8	17.78	14.75	15.45	15.66	15.72	16.37	13.48	14.06	10.02	18.25
3.27	3.74	4.68	4.64	4.93	4.66	5.71	4.32	3.91	4.75	6.19	5.9
8.67	8	10.86	10.92	10.49	9.74	12.06	10.62	10.08	8.52	10.96	12.5
22.07	*	11.23	9.59	10.46	9.42	9.56	10.57	10.09	10.42	10.73	10.11
*	*	9.74	9.98	9.08	9.35	9.28	9.41	8.71	9.94	8.51	9.19
*	16.99	27.52	25	25.8	24.45	27.83	25.02			29.77	31.36
48.38	32.48	51.45	45.2	49.82	51.18	52.21	47.72	52.73	48.39	61.64	68.29
7.32	4.85	7.6	6.83	6.35	6.16	6.78	6.24	8.46	7.52	9.55	10.53
7.9	7.3	7.25	6.66	6.92	5.94	7.57	7.49	8.48	7.77	9.97	11.31
18.2	10.24	15.44	14.01	13.35	12.57	17	16.95	17.31	19.02	21.7	22.58
15.55	10.71	12.77	12.46	12.98	11.77	13.54	14.68	12.77	15.72	17.9	19.03
6.4	4.53	5.78	4.94	5.49	4.41	5.5	7.24	7.35	7.24	8.85	10.13
8.93	5.2	8.33	6.98	7.5	7.62	7.19	7.45	7.23	7.43	10.26	10.1
21.78	14.5	18.29	16.73	18.22	17.92	19.5	17.73	20.24	21.85	26.75	26.6
6.55	3.65	8.03	7.48	7.75	6.68	6.81	8.91	6.67	6.74	9.98	10.72
7.26	5.32	7.04	6.8	7.34	7.47	7.71	8.46	7.38	7.57	10.13	10.79
8.9	3.18	5.26	4.54	6.14	5.07	6.02	6.72	7.15	7.1	8.23	9.83
3.07	2.96	4.76	3.42	4.29	3.1	2.7	4.88	3.99	4.4	6.64	5.87
12.5	9.37	12.82	11.58	12.74	14	13.34	14.59	13.8	13.86	18.36	18.77
26.62	16.29	25.12	23.61	24.82	23.89	27.49	26.36	28.73	28.76	34.9	36.97
8.04	6.14	8.2	7.88	8.32	7.8	7.93	8.44	9.35	8.88	10.2	11.61
9.21	5.53	8.43	8.55	7.38	8.11	8.41	8.64	8.92	9.3	11	12.54
26.62	16.29	25.12	23.61	24.82	23.89	27.49	10.4	28.73	28.76	34.87	37.42
8.04	6.14	8.2	7.88	8.32	7.8	7.93	5.69	9.35	8.88	9.94	11.13
9.21	5.53	8.43	8.55	7.38	8.11	8.41	5.41	8.92	9.3	10.32	11.68
11.53	5.03	10.64	9.56	9.99	8.52	11.52	10.4	11.33	11.04	13.25	14.48
6.15	3.88	4.62	4.48	4.92	5.36	6.01	5.69	5.82	4.8	10	12.44
3.54	2.35	4.15	4.2	5.61	4.66	4.61	5.41	5.42	6.56	6.95	7.08
11.53	5.03	10.64	9.56	9.99	8.52	11.52	10.4	11.33	11.04	13.17	14.79
6.15	3.88	4.62	4.48	4.92	5.36	6.01	5.69	5.82	4.8	12.23	12.16
3.54	2.35	4.15	4.2	5.61	4.66	4.61	5.41	5.42	6.56	7.18	7.77
8.36	4.91	6.48	6.96	7.55	9.06	10.06	8.26	10.24	10.83	11.64	12.72
8.96	5.46	7.13	7.22	8.65	8.36	7.17	8.8	10.24	7.2	8.45	10.86
7.96	4.2	4.8	5.43	5.68	5.23	5.86	6.08	5.05	6.04	7.72	8.35
5.51	3.96	4.62	4.75	4.95	4.21	4.47	4.95	4.56	4.85	5.55	5.97
15.52	8.99	11.46	12.21	13.4	12.44	13.54	13.82	12.53	13.27	16.17	18.97
52.69	3.38	48.22	45.71	49.96	48.36	51.91	51.72	59.18	5.53	70.15	75.8
20	15.24	18.1	15.79	16.41	17.7	19.23	20.23	19.22	24.34	27.1	27.33
6.74	4.18	7.63	6.94	8.54	9.17	8.65	7.85	6.24	6.59	8.28	10.18
24.83	12.85	20.93	20.8	22.38	21.69	22.5	21.99	26.85	24.13	30.31	32.23
14.97	8.54	13.5	13.34	15.33	15.97	13.91	13.07	14.2	15.38	22.53	27.85
5.47	4.04	5.46	3.7	4.15	4.3	4.01	4.39	5.81	5.95	8.4	6.89
10.9	6.7	11.48	9.1	9.14	11.16	12.25	10.74	14.43	12.29	13.93	20.76
8.82					8.69	9.58	8.63		10.67	11.24	12.27

Continuación anexo III

108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119
H12M3	H12M4	H12M5	H12M6	H13M1	H13M2	H13M3	H13M4	H13M5	H13M6	H13M7	H14M1
H	M	H	H	H	M	M	H	H	H	H	H
25.8	288	288	273	29.73	295.5	291.9	299	303	301	315	319.2
19.3	205	207	192	209	213.5	244.8	207	207	202	21.65	233
66.37	71.56	71.93	66.97	77.15	77.7	71.8	72.86	76.06	76.63	74.23	82.73
26.37	28.27	30.9	25.44	31.04	28.23	30.03	29.59	30.5	28.35	29.47	31.29
8.4	10.43	17.78	8.24	10.04	10.43	10.22	11.1	12.39	11.09	12.31	16.02
19.23	18.8	19.57	20.11	19.85	18.5	19.35	17.63	21.27	18.49	18.28	17.39
5.51	5.51	6.49	5.53	5.26	4.61	6.19	6.58	6.17	4.74	5.88	6.02
12.84	11.49	12.65	11.68	12.48	11.83	12.29	12.95	14.28	12.11	11.6	14.55
10.43	10.07	11.12	10.21	13.58	13.13	12.16	12.11	12.26	13.65	13.98	11.75
8.57	9.29	9.52	8.85	11.68	10.93	10.58	11.1	11.53	10.75	11.63	11.18
30.64	29.47	31.82	27.58	30.92	29.78	10.66	29.64	32.2	28.17	28.26	30.99
62.25	33.41	64.44	60.42	73.22	69.64	65.6	68	68.93	70.85	68.81	76.2
10.15	10.15	11.39	10.29	10.02	9.68	9.51	10.12	9.81	11.79	11.2	10.68
10.23	11.77	10.56	9.76	9.42	10.89	11.54	11.02	11.93	11.85	11.07	11.7
21.96	10.23	23.12	24.48	27.46	25.45	23.85	26.47	24.85	24.14	24.09	28.15
17.03	18.02	17.46	17.51	19.82	20.4	18.69	22.77	17.35	19.15	19.42	21.11
9.8	8.51	10.73	10.36	9.44	10.92	7.81	10.08	8.95	11.39	10.66	9.89
10.97	9.23	9.28	9.55	12.05	12.36	13.9	12.49	13.06	14.18	14.56	13.37
25.72	27.66	26.87	26.94	30.53	30.33	26.38	28.35	26.74	31.53	29.88	28.85
9.4	12.44	12.12	9.4	14.43	13.24	10.06	11.88	13.03	13.37	13.07	12.97
9.69	9.86	10.01	9.77	13.61	11.56	11.76	11.97	12.3	12.42	11.32	11.6
8.22	7.67	7.87	8.55	9.4	10.35	9.24	10.47	8.39	12.03	11.7	10.04
6.14	5.45	6.41	5.03	7.03	20.08	6.47	5.79	4.86	7.19	16.54	10.34
17.91	18.63	19.62	18.64	21.52	6.7	19.27	23.52	22.16	23.02	20.82	19.21
35.42	37.19	38.67	35.72	46.52	43.64	42.25	40.13	41.64	42.19	41.22	42.97
9.84	10.24	12.82	10.77	13.95	12.73	12.8	10.68	12.52	12.12	12.84	12.31
13.05	12.05	11.79	12.18	14.77	13.06	12.1	13.84	14.86	14.72	14.26	13.64
34.19	37.19	38.67	35.72	46.52	43.64	42.25	40.13	41.64	42.19	41.22	42.97
10.78	10.24	12.82	10.77	13.95	12.73	12.8	10.68	12.52	12.12	12.84	12.31
11.31	12.05	11.79	12.18	14.77	13.06	12.1	13.84	14.86	14.72	14.26	13.64
14.44	15.82	13.67	12.65	16.47	16.15	18.08	14.47	15.62	17.63	13.63	14.16
5.98	7.38	7.27	7.1	9.15	8.62	7.64	6.41	7.46	8.14	4.78	7.47
12.79	7.18	7.35	6.24	7.01	9.62	9.17	8.3	8.55	7.95	7.43	5.95
13.05	15.82	13.67	12.65	16.47	16.15	18.08	14.47	15.62	17.63	13.63	14.16
6.77	7.38	7.27	7.1	9.15	8.62	7.64	6.41	7.46	8.14	4.78	7.47
12.76	7.18	7.35	6.24	7.01	9.62	9.17	8.3	8.55	7.95	7.43	5.95
12.11	13.51	12.75	13.37	18.28	18.24	14.68	15.47	14.63	7.14	14.85	14.18
11.06	9.31	11.3	11.14	13.19	12.75	10.79	10.93	10.36	11.83	11.61	10.32
7.74	9.56	8.06	8.51	8.93	7.19	9.62	8.97	8.52	10.18	8.4	7.5
6.57	7.18	7.81	6.62	7.71	7.6	6.79	6.01	6.91	7.72	7.12	7.15
18.78	18.02	17.18	19.6	20.96	22.1	22.12	21.99	19.3	22.43	20.44	18.85
69.17	76.18	72.97	70.89	81.61	77.49	70.37	73.92	79.23	78.12	76.16	71.52
28.72	29.78	27.62	27.99	32.46	31.88	31.33	34.92	30.33	28.9	33.06	27.39
8.97	11.94	12.02	11.71	11.04	11.72	9.41	13.19	12.08	14.38	10.1	14.03
30.29	35.45	32.97	32.19	40.73	33.79	40.45	33.06	33.11	38.76	35.82	29.49
23.71	29.93	24.23	23.22	29.81	33.25	31.54	31.67	27.42	25	32.16	29.1
6.61	8.5	7	6.75	9.88	8.19	6.63	7.07	9.09	8.7	7.45	8.09
16.99	21.22	16.34	17.57	18.2	19.86	20.45	18.58	18.81	18.32	15.61	15.92
	12.19				11.92	13.43					

Continuación anexo III

120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131
H14M2	H16M1	H16M2	H16M3	H16M4	H16M5	H16M6	H17M1	H17M2	H17M3	H17M4	H17M5
M	H	H	M	H	H	M	H	H	H	M	M
389.4	313.9	331	327.8	345	326	367	308.5	345.5	328.3	309	327.8
209.8	225.4	232	225.5	246	231	259	225	251.5	23.4	223	239
61.86	78.51	81.09	80.85	82.27	78.93	82.73	77.5	86.82	81.58	76.69	86.5
29.67	33.08	32.64	35.02	33.67	33.06	35.71	25.98	36.27	35.89	33.39	36.64
18.47	12.99	11.49	13	12.97	12.63	13.65	13.25	14.46	14.43	14.17	15.25
18.42	19.02	22.36	21.6	23.68	19.55	20.26	18.41	22.93	22.71	20.08	21.72
4.84	6.52	6.51	6.74	7.16	5.83	7.23	6.13	6.94	6.56	5.87	7.66
14.53	14.51	13.99	15.24	16.81	13.74	16.41	13.4	14.8	13.81	13.61	14.38
12.6	11.5	12.03	11.6	14.15	13.96	13.18	11	11.42	12.23	11.25	12.21
11.57	10.94	10.8	11.24	13.33	13.25	13	9.92	11.67	10.31	9.95	11.13
27.47	31.7	32.22	35.73	36.01	29.34	35.57	29.98	34.28	33.71	32.28	33.68
58.29	71.89	74	74.12	75.54	74.89	75.57	67.61	77.58	74.28	73.5	79.38
10.96	11.51	12.17	12.2	13.16	10.47	14.83	11.34	12.01	11.39	9.22	12.07
10.25	11.93	13.63	12.01	12.59	10.83	14.53	10.55	11.99	11.57	9.8	11.8
21.68	26.8	27.12	26.27	27.58	27.08	43.38	24.86	31.61	29.45	27.06	29.82
16.69	21.72	22.74	19.88	21.78	23.7	27.07	19.05	22.31	21.97	20.41	21.7
8.43	11	9.3	9.98	9.4	9.37	11.71	8.73	11.7	9.36	7.81	11.41
12.44	13.58	14.95	15.98	16.28	13.43	15.7	10.85	14.8	14.41	12.77	14.8
26.51	31.2	31.22	31.06	32.46	29.92	37.38	29.99	35.32	31.27	29.72	32.98
11.41	11.69	12.85	14.28	15.44	14.56	14.86	10.5	13.32	15.6	11.89	13.41
9.99	11.98	11.34	14.54	13.19	14.07	10.83	10.99	11.44	12.4	12.97	12.08
8.8	10.99	10.92	9.16	10.31	9.51	12.78	8.2	12.36	12.53	8.52	10.95
6.11	6.15	6.87	6.77	6.54	5.43	5.68	6.87	6.36	7.27	7.05	9.02
17.59	20.59	21.53	22.37	23.55	23.08	23.41	19.42	24.81	23.83	21.42	22.24
38.03	45.34	46.81	47.71	48.55	43.49	49.62	43.43	49.17	45.66	39.34	46.1
11.3	12.3	13.85	14.09	15.2	13.86	15.24	13.38	13.85	13.97	11.32	15.22
12.5	13.64	13.03	13.34	15.71	12.75	12.65	13.53	15.29	14.01	13.15	14.22
38.03	45.34	46.81	47.71	48.55	43.49	49.62	43.43	49.17	45.66	39.34	46.1
11.3	12.3	13.85	14.09	15.2	13.86	15.24	13.38	13.85	13.97	11.32	15.22
12.5	13.64	13.03	13.34	15.71	12.75	12.65	13.53	15.29	14.01	13.15	14.22
15.73	17.23	16.9	18.66	19.06	16.04	20.17	15.91	18.78	18.75	16.26	18.42
6.81	7.8	7.91	8.94	8.38	9.51	10.3	8.09	7.48	7.05	8.43	9.05
5.8	8.32	7.44	7.15	6.9	7.36	9.71	7.42	8.53	8.36	8.12	8.11
15.73	17.23	16.9	18.66	19.06	16.04	20.17	15.91	18.78	18.75	16.26	18.42
6.81	7.8	7.91	8.94	8.38	9.51	10.3	8.09	7.48	7.05	8.43	9.05
5.8	8.32	7.44	7.15	6.9	7.36	9.71	7.42	8.53	8.36	8.12	8.11
12.41	15.28	20.69	16.27	18.28	13.63	19.89	16.8	18.49	16.85	15.31	16.79
9.81	13.31	15.62	14.7	16.04	13.67	16.3	12.55	13.12	11.98	11.01	11.3
6.29	10.41	9.89	8.27	8.5	9.69	11.25	9.98	10.56	10.13	8.9	10.39
7.06	7.64	8.92	8.71	7.46	6.98	9.3	7.69	8.71	6.91	7.86	7.38
17.52	23.71	24.98	23.19	24.29	24.56	23.93	20.31	23.4	21.84	21.6	21.63
72.88	80.59	83.19	84.61	88	80.73	95.57	80.91	87.69	83.17	72.64	79.38
28.92	34.8	34.46	34.13	36.55	32.13	39.06	34.85	37.72	34.6	31.25	34.95
10.06	12.11	13.39	11.7	17.56	9.77	12.71	14.19	14.69	12.31	12.31	13.88
33.66	35.57	40.68	40.16	40.29	36.73	39.68	31.01	44.86	38.28	32.66	33.34
21.13	31	29.62	28.72	33.03	27.13	32.98	29.52	31.67	34.08	35.37	27.91
7.57	8.67	8.1	8.87	9.6	7.79	10.93	7.69	8.92	8.71	7.09	8.19
14.13	20.81	19.56	19.15	20.47	16.96	24.57	18.49	20.15	20.89	19.49	18.77
11.67			13.36			16.16				11.74	12.37

Continuación anexo III

132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143
H17M6	H18M1	H18M2	H19M1	H19M2	H19M3	H19M4	H19M5	H19M6	H20M1	H20M2	H20M3
M	H	H	M	M	M	H	H	H	M	M	H
312.9	365	405	382.4	379	361	386.2	346	369	358.4	382.8	393.6
225.2	27.1	29.3	278	272	261	272	247	271.4	362	285	282.8
79.64	92.05	96.68	90.71	90.79	79.78	89.17	80.32	85.35	79.69	85.88	89.04
30.27	88.5	37.99	36.3	33.39	28.97	30.69	29.53	32.42	33.92	34.33	35.01
15.96	15.86	17.65	13.34	14.16	12.98	15.03	14.94	15.08	13.21	16.86	14.92
17.99	22.59	23.23	22.37	23.28	25.75	24.9	19.18	21.92	19.96	22.56	22.83
5.75	7.03	7.69	7.37	5.99	6.17	5.79	6.17	6.76	5.79	8.03	6.35
12.95	16.17	17.23	13.8	16.89	14.62	15.13	14.81	14.58	14.51	14.1	14.14
10.02	12.8	13	12.85	13.65	12.83	11.88	11.9	11.44	14.07	12.73	13.56
10.15	11.6	12.61	11.35	12.86	12.56	11.59	11.96	10.65	12.91	9.7	12.51
27.95	34.71	38.45	32.75	36.07	37.21	37.77	29.88	34.32	29.8	30.34	33.13
71.86	86.23	91.04	86.89	83.39	74.06	82.82	73	80.84	74.29	81.06	84.75
10.14	13.03	14.61	12.54	12.7	11.27	14.09	11.15	12.09	12.16	11.97	12.93
11.34	12.77	14.18	14.08	14.4	13.06	15	12.65	13.65	12.74	14.6	14.47
27.16	30.59	32.73	32.23	37.01	28.4	29.19	31.43	28.86	27.62	30.14	30.32
21.46	25.01	25.82	25.82	28.05	22.29	22.65	25.05	21.74	20.64	25.85	24.26
9.66	9.83	13.82	11.99	11.93	12.55	10.14	9.99	13.51	9.66	12.76	11.73
14.27	15.9	17.51	15.69	14.15	14.51	14.87	15	12.71	13.27	16.38	14.99
30.9	37.87	41.54	37.54	39.19	30.4	31.34	33.35	31.73	32.38	34.5	33.88
11.76	14	16.72	17.25	16.77	14.07	15.24	13.35	11.75	13.54	15.58	14.94
9.64	13.75	14.85	14.77	15.8	12.41	15.49	14.55	11.78	12.45	14.22	12.8
10.41	12.7	12.59	11.58	12.56	10.33	10.59	10.87	10.54	11.05	10.37	11.18
5.93	8.1	7.79	7.41	7.31	6.85	6.81	5.84	6.98	5.71	6.51	6.33
21.36	25.1	26.85	26.25	27.49	24	24.25	25.72	23.51	20.94	25.24	23.27
43.17	51.94	56.82	53.18	52.05	47.75	56.26	46.65	55.86	46.61	54.75	50.96
13.61	15.94	17.26	15.58	16.69	14.8	16.21	13.51	17.3	14.92	14.81	18.42
12.9	17.62	17.09	15.94	15.23	15.57	13.93	15.19	15.52	14.17	17.81	15.59
43.17	51.94	56.82	53.18	52.05	47.75	56.26	46.65	55.86	46.61	54.75	50.96
13.61	15.94	17.26	15.58	16.69	14.8	16.21	13.51	17.3	14.92	14.81	18.42
12.9	17.62	17.09	15.94	15.23	15.57	13.93	15.19	15.52	14.17	17.81	15.59
14.54	21.26	22.91	20	17.26	17.58	19.04	16.74	18.09	19.2	17.26	18.89
6.96	9.23	10.51	10.6	9	8.52	9.11	7.04	9	8.22	8.92	7.9
5.08	8.76	9.3	10.64	9.98	7.76	8.1	9.15	10.05	8.23	10.88	9.03
14.54	21.26	22.91	20	17.26	17.58	19.04	16.74	18.09	19.2	17.26	18.89
6.96	9.23	10.51	10.6	9	8.52	9.11	7.04	9	8.22	8.92	7.9
5.08	8.76	9.3	10.64	9.98	7.76	8.1	9.15	10.05	8.23	10.88	9.03
16.15	19.77	21.03	12.98	19.41	19.54	19.64	16.24	18.57	17.56	22.8	18.83
12.69	14.69	15.06	15.69	14.67	14.66	17.09	13.77	14.44	11.98	17.09	14.03
8.09	10.58	11.02	10.34	11.76	10.9	10.16	10.62	10.51	9.26	9.27	9.81
7.32	9.4	9.54	7.2	9.54	7.67	7.55	8.66	9.31	8.35	7.71	9.32
22.06	24.14	26.56	23.27	12.48	23.76	29.61	20.97	24.38	19.2	25.24	24.12
81.03	95.25	106.14	99.66	91.85	96.32	101.85	94.17	94.76	99.35	95.92	100.12
30.53	39.78	42.72	41.11	35.71	37.32	40.05	37.6	35.36	36.19	36.94	41.45
14.36	15.84	17.88	14.74	18.26	16.06	14.93	12.63	12.33	13.02	13.04	12.49
37.31	41.25	43.27	42.72	42.56	43.29	44.77	44.28	42.12	43.97	42	42.59
35.19	31.31	39.91	31.51	33.7	33.69	34.14	27.63	27	11.62	31.25	37.73
8.17	9.67	12.14	9.46	11.14	7.38	8.73	10.51	8.54	10.2	9.58	9.96
20.3	23.4	26.74	21.1	22.31	21.15	23.77	22.48	18.08	16.96	19.36	22.37
12.13			19.75	15.04	12.8				14.63	15.66	

Continuación anexo III

144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154
H20M4	H20M5	H21M1	H21M2	H21M3	H22M1	H22M2	H22M3	H22M4	H22M5	H22M6
H	H	M	M	H	M	M	M	H	H	H
387.8	348.8	44.5	436.3	421	393.6	382	407	339.7	403.7	409.8
27.9	248.8	31.6	31.4	307	291	281	393	285	291.5	295.3
79.64	78.49	108.3	104.73	106.9	94.43	93.73	99.18	91.34	99.14	95.17
33.05	28.07	45.23	45.11	44.49	39.46	38.59	42.21	37.9	40.91	38.87
17.74	13.91	20.82	18.12	18.32	15.2	14.54	13.3	13.78	14.89	14.77
23.21	21.81	31.11	26.67	27.81	22.15	21.51	25.06	20.46	24.21	24.21
6.64	5.54	8.43	7.89	9.72	8.7	8.01	7.78	6.05	7.38	7.6
14.74	12.79	21.11	18.23	18.05	17.43	17.53	16.43	17.47	17.36	18.78
13.01	13.55	13.47	12.9	13.19	11.92	12.48	12.9	12.93	12.7	12.86
12.5	11.97	10.51	11.49	11.68	11.44	12.34	10.9	11.77	10.73	15.51
30.84	34.53	40.05	41.27	42.94	37.27	37.87	34.41	38.24	34.93	38.91
75.67	74.16	100.29	103.07	100.08	89.77	87.93	90.21	84.26	94.6	91.14
13.38	11.9	17.32	16.53	18.61	14.32	13.13	15.04	14.24	14.71	14.11
14.19	12.3	18.25	18.22	19.63	13.41	13.71	14.43	14.66	14.98	14.59
27	26.8	41.93	35.11	36.81	31.99	29.1	31.34	33.26	31.92	30.5
21.7	23.66	31.39	30.5	30.62	25.64	24.71	26.02	25.62	27.22	22.89
12.98	10.71	13.96	14.56	15.57	10.61	10.53	12.42	10.91	11.18	15.01
14.94	13.11	15.62	19.31	16.84	15.2	15.32	18.79	15.57	15.55	18.24
31.65	30.34	43.94	39.87	42.43	34.28	31.14	35.01	36.2	35.29	35.34
14.64	12.59	19.84	19.55	19.18	16.06	15.17	18.97	15.07	16.55	17.57
12.63	12.49	16.77	16.5	16.91	14.25	14.16	15.42	12.87	13.74	14.67
12.75	10.04	14.56	13.52	14.19	10.65	9.31	10.3	9.31	12.79	12.06
4.74	6.44	8.16	8.39	10.66	7.76	8.77	8.38	6.23	8.13	10.39
20.8	19.76	30.94	30.75	29.11	25.24	23.69	25.16	22.83	25.53	26.83
50.09	42.63	68.42	61.3	58.95	56.28	55.5	56.44	55.95	54.72	58.2
14.84	15.2	18.55	17.25	14.62	16.74	15.19	19.93	16.47	17.54	15.59
17.15	15.15	21.29	19.94	18.39	15.31	14.35	15.29	15.4	15.55	17.47
50.09	42.63	68.42	61.3	58.95	56.28	55.5	56.44	55.95	54.72	58.2
14.84	15.2	18.55	17.25	14.62	16.74	15.19	19.93	16.47	17.54	15.59
17.15	15.15	21.29	19.94	18.39	15.31	14.35	15.29	15.4	15.55	17.47
18.74	18.28	23.01	22.23	22.18	20	20.38	21.47	20.27	24	20.87
9.84	7.21	12.92	9.18	10.51	8.54	9.26	14.84	8.75	8.66	9.56
8.82	8.6	9.75	12.23	8.84	7.02	6.83	7.59	9.8	9.09	7.97
18.74	18.28	23.01	22.23	22.18	20	20.38	21.47	20.27	24	20.87
9.84	7.21	12.92	9.18	10.51	8.54	9.26	14.84	8.75	8.66	9.56
8.82	8.6	9.75	12.23	8.84	7.02	6.83	7.59	9.8	9.09	7.97
18.97	17.53	21.77	20.45	20.49	18.83	18.14	18.55	19.47	9.22	19.22
12.08	12.12	16.65	16.15	17.82	14.86	12.69	16.28	17.1	14.25	16.11
8.34	9.88	13.72	13.06	11.24	10.16	9.28	9.47	10.59	9.13	10.77
10.63	9.04	2.95	9.75	10.58	9.28	10.24	11.22	9.44	10.55	8.35
21.36	19.98	29.27	30.01	27.71	23.46	23.15	24.53	24.45	25.16	25.91
102.07	87.34	113.88	11.5	111.36	95.24	97.48	97.72	94.56	102.53	100.39
44.16	38.16	50.95	46.64	44.58	38.84	38.14	35.56	37.53	38.49	37.05
13.55	11.96	13.31	16.2	17	15.74	14.8	9.7	17.27	14.12	15.37
47.82	43.38	53.58	51.4	47.71	41.25	43.31	49.01	49.95	44.72	44.36
29.91	30.76	34.94	33.26	37.11	33.24	31.56	34.52	32.47	32.26	34.75
13.13	9.27	11.34	9.75	12.54	11.43	9.35	11.81	10.09	10.66	8.69
19.9	18.6	24.34	26.35	27.09	23.35	20.57	21.24	19.5	20.07	20.96
		23.59	18.74		16.61	15.77	14.71			

ANEXO IV

Tabla IV. Tiempos utilizados en la deshidratación de las muestras.

Alcohol 50°	-----	1 hora	Alcohol Absoluto I	-----	1 hora
Alcohol 60°	-----	1 hora	Alcohol Absoluto II	-----	1 hora
Alcohol 70°	-----	1 hora	Alcohol Absoluto III	-----	1 hora
Alcohol 80°	-----	1 hora	Alcohol Cloroformo	-----	20 min.
Alcohol 96° I	-----	1 hora	Cloroformo	-----	15 min.
Alcohol 96° II	-----	1 hora	Parafina I	-----	1 hora
Alcohol 96° III	-----	1 hora	Parafina II	-----	2 horas

Descripción de técnicas de tinción realizadas.

Técnica Hematoxilina- Eosina

La tinción de Hematoxilina- Eosina es una coloración ácido básica, por lo que los componentes ácidos tiñen una afinidad con la eosina y se tiñen de rosa a rojo; los componentes básicos se tiñen de azul a morado. Obteniendo núcleos en color azul oscuro, citoplasma en rosa y fibras colágenas en rojo (Humanson, 1979).

1. Desparafinar y llevar los cortes hasta agua destilada.
2. Pasar los cortes en agua destilada por 5 minutos.
3. Teñir con Hematoxilina de Harris durante 15 minutos.
4. Lavar con agua corriente (hasta desprender el exceso de colorante).
5. Diferenciar el alcohol ácido por dos minutos.
6. Lavar en agua corriente dos veces.
7. Virar en agua amoniacal (hasta que los cortes tengan un color azul intenso).
8. Lavar en agua corriente.
9. Lavar en agua destilada.
10. Teñir en eosina al 1% en solución acuosa durante 7 minutos.
11. Lavar en alcohol 96° dos veces
12. Deshidratar en alcohol absoluto, dos cambios de 1 min. cada uno.
13. Transparentar en acetona 1 minuto.
14. Transparentar con acetona-americlear, 2 minutos.
15. Americlear, tres cambios de 2 minutos cada uno.
16. Montar con cytooseal.

Técnica tricrómica de Mallory

También llamadas tinciones policrómicas, con empleo de mordentes, se utilizan para evidenciar diferentes estructuras celulares. Obteniendo núcleos en rojo violáceo, haces colágenos en verde, fibras musculares en verde amarillento, queratina y eritrocitos en amarillo (Humanson, 1979).

1. Desparafinar y llevar los cortes hasta agua destilada.
2. Teñir con fucsina acida al 0.5% en agua destilada, durante 30 segundos.
3. Lavar en agua destilada dos veces.
4. Introducir los cortes en ácido fosfomolibdico al 1%, 1½ minuto.
5. Lavar en agua destilada dos veces.
6. Teñir con la Mezcla de Mallory 12 minutos.
7. Lavar en agua destilada.
8. Lavar en alcohol 96°.
9. Deshidratar en alcohol absoluto 2 minutos.
10. Transparentar en acetona 2 minutos.
11. Transparentar en acetona-americlear, 2 minutos.
12. Americlear, tres cambios de 2 minutos cada uno.
13. Montar con cytoseal.

Técnica azul alciano

Técnica para la identificación de mucopolisacáridos. Los resultados son que los mucopolisacáridos ácidos se colorean de azul (Martoja y Martoja, 1970).

1. Desparafinar y llevar los cortes a agua destilada.
2. Teñir con solución acuosa reciente de azul alciano al 1% durante 3½ minutos.
3. Lavar en agua destilada.
4. Teñir con rojo neutro al 1% durante 1½ minuto.
5. Lavar en agua corriente.
6. Lavar en alcohol de 70° un cambio de 30 segundos.
7. Deshidratar en alcohol absoluto durante 30 segundos.
8. Deshidratar en alcohol absoluto-acetona.
9. Transparentar en acetona durante 1 minuto.
10. Transparentar en acetona-americlear durante 2 minutos
11. Americlear tres cambios de 2 minutos cada uno.
12. Colocar en xileno hasta el montaje.

Técnica de Von Kossa (Método de identificación de calcio en los tejidos)

Para identificar la posible depositación de calcio en los tejidos, la coloración de Von Kossa es un método fundado en la sustitución de metales. Los resultados con esta técnica son los depósitos calcáreos teñidos de negro sobre un fondo ligeramente teñido (Nezelof, *et al.*, 1975; Humanson, 1979).

1. Desparafinar los cortes. Y lavar abundantemente con agua destilada.
2. Introducir los cortes en nitrato de plata al 2.5 20 minutos, expuestos al sol.
3. Lavar en agua destilada 3 cambios de 1 minuto cada uno.
4. Fijar en solución de tiosulfato de sodio al 5% durante 1 min.
5. Lavar abundantemente con agua destilada, 3 cambios de 3 minutos cada uno.
6. Contrastar con rojo neutro durante 2 min.
7. Deshidratar con alcohol 96°, 2 cambios durante 1 minuto cada uno.
8. Deshidratar en alcohol absoluto durante 2 minutos.
9. Transparentar en acetona 2 minutos.
10. Transparentar en acetona-americlear 2 min.
11. Americlear 3 cambios de 2 minutos cada uno.
12. Colocar en xileno un montaje hasta el montaje.
13. Montar con cytoseal.

Técnica azul de toludina (Lillie, 1929)

Técnica histoquímica monocromática. Con esta técnica las mucinas tiñen de color violeta rojizo, núcleos de azul profundo, el citoplasma y tejido fibroso en colores verde azul. Mientras que el hueso tiñe de verde, el músculo en azul claro y el vitelo en tiñe en un color amarillo verdoso (Humanson, 1979).

1. Desparafinar e hidratar los cortes con agua destilada.
2. Teñir con solución acuosa de azul de toludina al 0.2% durante 2 minutos.
3. Lavar con agua destilada tres veces.
4. Dejar secar perfectamente en la estufa a 60°C.
5. Deshidratar por alcohol absoluto durante 1 minuto.
6. Transparentar en acetona, dos cambios de 2 minutos de cada uno.
7. Transparentar en acetona-xileno, durante 1 minuto.
8. Pasar por xileno dos cambios, mínimo 5 minutos.
9. Montar con cytoseal.

Técnica de Feulgen

Una de las técnicas para la determinación de ácidos nucleicos. Los resultados con esta técnica de tinción es el ADN de núcleos se tiñe de color magenta; el citoplasma y otras sustancias en color verde (Martoja y Martoja, 1970).

1. Desparafrinar.
2. Lavar los cortes en agua destilada por 2 minutos.
3. Pasar por ácido clorhídrico 1N, por 1 minuto a temperatura ambiente.
4. Introducir en ácido clorhídrico 1N a 60° C (en incubadora a temperatura constante).
5. Pasar por ácido clorhídrico 1N, por 1 minuto a temperatura ambiente.
6. Lavar con agua destilada por 5 minutos.
7. Colocar en reactivo de Schiff de 20 minutos. Conservándose en la oscuridad.
8. Pasar por agua sulfurosa 10 minutos.
9. Lavar con agua destilada 3 minutos.
10. Contrastar con verde luz por 3 minutos.
11. Eliminar rápidamente los excesos de colorante con agua destilada.
12. Lavar y deshidratar con alcohol al 96°
13. Deshidratar en alcohol absoluto y alcohol-americlear, por 2 minutos cada uno.
14. Transparentar en americlear, tres cambios de 2 minutos cada uno.
15. Colocar en xileno (mínimo 2 minutos) hasta el montaje.
16. Montar en cytooseal.

Técnica General de Río - Horteiga con Carbonato de Plata Amoniacal, Piridinado

Técnica de impregnación argéntica, para fibras de colágenas y tejido nervioso. Los resultados son fibras reticulares tenidas de color negro, fibras colágenas y nerviosas en tono violeta (Martoja y Martoja, 1970; Humanson, 1979).

1. Desparafrinar y llevar los cortes hasta agua destilada.
2. Impregnación en carbonato de plata amoniacal con una gota de piridina para 10 ml de agua destilada, a temperatura constante de 40° C, hasta que los cortes tomen un color café oscuro (no importa que se enturbie la solución).
3. Lava los cortes en agua destilada.
4. Reducir en nitrato de plata al 1N durante 20 minutos.
5. Lavar con agua destilada.

-
6. Virar en cloruro de oro al 0.1% a temperatura ordinaria, hasta que los cortes tomen un tinte gris uniforme.
 7. Colocar en cloruro de oro al 0.1% a 40° C, hasta que el color de los cortes tome un tono violeta intenso.
 8. Pasar por hiposulfito de sodio al 5% por 30 segundos.
 9. Lavar en agua destilada.
 10. Lavar en alcohol 96°.
 11. Deshidratar en alcohol absoluto 2 minutos.
 12. Transparentar en Alcohol-acetona 2 minutos.
 13. Transparentar en acetona-americlear 2 minutos.
 14. Americlear 2 minutos.
 15. Colocar en xileno 3 minutos.
 16. Montar en cytoseal.