

Validación histológica de los estadios de madurez gonádica de las hembras de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) en el Golfo de California, México

Histological validation of the gonadal maturation stages of female jumbo squid (*Dosidicus gigas*) in the Gulf of California, Mexico

JG Díaz-Urbe^{1*}, A Hernández-Herrera², E Morales-Bojórquez¹,
S Martínez-Aguilar¹, MC Suárez-Higuera¹, A Hernández-López²

¹ Instituto Nacional de la Pesca, Centro Regional de Investigación Pesquera-La Paz, Carretera a Pichilingue s/n km 1, CP 23020 La Paz, Baja California Sur, México. * E-mail: diazjuan@prodigy.net.mx

² Departamento de Pesquerías y Biología Marina, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional, Apartado postal 592, CP 23000 La Paz, Baja California Sur, México.

Resumen

Se analizó la estructura de ovocitos en las gónadas de hembras de calamar gigante (*Dosidicus gigas*), para validar los estadios morfocromáticos de madurez sexual, basados en una escala de seis etapas. Las muestras fueron obtenidas quincenalmente en el área de Santa Rosalía, Baja California Sur, entre junio del 2001 y noviembre del 2002. De cada gónada se obtuvieron cortes histológicos para contar el número de ovocitos en cada nivel de desarrollo. Con la frecuencia de ovocitos en cada nivel de desarrollo, se estimó el índice de madurez (IM) para evaluar la correspondencia de cada estadio de madurez morfocromática con la estructura de ovocitos en el tejido de la gónada. El análisis histológico indica que los primeros tres estadios de madurez morfocromática (I–III) predominan ovocitos en un nivel de desarrollo 2 o inferior, en los cuales no inicia todavía el crecimiento secundario y por lo tanto corresponden a organismos juveniles sexualmente inmaduros. En los otros tres estadios (IV–VI) predominan ovocitos en niveles de desarrollo más avanzados que corresponden a adultos maduros o en proceso de maduración. De acuerdo con el análisis de varianza, esta escala de madurez permite distinguir de manera confiable y expedita a los organismos sexualmente inmaduros de los maduros. Un análisis más detallado de los intervalos de confianza del IM, indica que cada estadio de madurez morfocromática presenta una estructura de ovocitos distinta excepto entre los estadios II y III en los cuales las diferencias se observan más bien a nivel morfológico.

Palabras clave: *Dosidicus gigas*, calamar gigante, maduración gonádica, índice de madurez, Golfo de California.

Abstract

The oocyte structure of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) female gonads was analyzed to validate morphochromatic sexual maturation stages based on a six-phase scale. Samples were obtained fortnightly from the Santa Rosalía area, Baja California Sur, from June 2001 to November 2002. Histological preparations were obtained from each gonad to count the number of oocytes at each level of development. The frequency of oocytes at each level was then used to estimate a maturity index (MI) to assess the correspondence between morphochromatic maturation stages and the oocyte structure in the gonad tissue. The histological analysis showed that morphochromatic stages I, II and III were ruled by oocytes in developmental level 2 or less (i.e., secondary growth has not yet begun), and thus correspond to sexually immature juveniles. Stages IV, V and VI were ruled by oocytes in more advanced developmental levels and correspond to mature or maturing adults. According to the analysis of variance, the morphochromatic maturity scale allowed sexually immature individuals to be readily and reliably distinguished from mature ones. A detailed analysis of MI confidence intervals showed that each morphochromatic maturity stage had a specific oocyte structure, except for stages II and III, which presented morphological differences.

Key words: *Dosidicus gigas*, jumbo squid, gonad maturation, maturity index, Gulf of California.

Introducción

A pesar de que la pesquería del calamar gigante (*Dosidicus gigas*, D'Orbigny 1835) en México data desde 1974, la abundancia de este recurso es tan variable que no fue hasta 1995 cuando la pesquería se estableció de forma permanente en la región central del Golfo de California (Klett 1996). Desde entonces esta pesquería se ha convertido en una importante fuente de empleos e ingresos económicos, por lo que la

Introduction

Although the jumbo squid (*Dosidicus gigas*, D'Orbigny 1835) fishery in Mexico started in 1974, this resource was so variable that a permanent fishery in the central Gulf of California was not established until 1995 (Klett 1996). Since then, this fishery has become a main source of employment and income, and it is therefore important to determine the abundance of jumbo squid in the region (Nevárez-Martínez et

estimación de la abundancia del recurso en esta región ha cobrado especial relevancia (Nevárez-Martínez *et al.* 2000; Morales-Bojórquez *et al.* 2001a, 2001b). Debido a su corto ciclo de vida, el método más usado para evaluar la abundancia en calamares ha sido el método de reducción de stock de Delury, que supone la existencia de una sola cohorte en la población (Rosenberg *et al.* 1990, Morales-Bojórquez *et al.* 2001b). A pesar de que las estimaciones de abundancia con este método han probado ser útiles para el manejo de la pesquería en el Golfo de California (INP 2001), el número de cohortes en la población sigue siendo una incógnita y es todavía un tema de discusión (Ehrhardt *et al.* 1983, 1986; Markaida y Sosa-Nishisaki 2001).

El análisis del proceso de maduración sexual en varias especies de cefalópodos ha sido fundamental para entender su ciclo de vida, identificar poblaciones y cohortes, e incluso para definir estrategias de manejo (Sauer y Lipinski 1990). En el caso de *D. gigas*, existen varios estudios en los que se analiza el ciclo reproductivo a partir de los cambios morfocromáticos de las gónadas (Nesis 1970, Michel *et al.* 1986, Tafur y Rabí 1997, Markaida y Sosa-Nishisaki 2001, Tafur *et al.* 2001); sin embargo, todos ellos han empleado escalas de madurez diferentes, por lo cual también se han hecho distintas interpretaciones del proceso de maduración en esta especie. Aunque Michel *et al.* (1986) describieron por primera vez el desarrollo de los gametos de *D. gigas* del Golfo de California y de forma paralela describieron también los cambios morfológicos de las gónadas, no existe un análisis formal de la composición de gametos conforme se desarrolla la gónada. En este contexto, consideramos que las estimaciones de abundancia y las estrategias de manejo del calamar gigante podrían mejorarse en la medida que se comprenda mejor el proceso de su maduración sexual y que se puedan identificar el número de cohortes en la población. Por ello, el objetivo de este trabajo es validar histológicamente los estadios de madurez basados en las propiedades morfocromáticas de las gónadas del calamar gigante que se distribuye en el área de Santa Rosalía, Baja California Sur, que es una de las principales zonas de pesca de este recurso.

Materiales y métodos

Se obtuvieron muestras quincenales de 20 organismos a partir de las capturas comerciales en Santa Rosalía, de junio a noviembre de 2001 y de mayo a noviembre de 2002 (fig. 1). De cada organismo se registró la longitud del manto, el peso total y el peso del manto, y se extrajeron las gónadas. El sexo y la madurez gonádica se identificaron a partir de las propiedades morfocromáticas de las gónadas en fresco, según la descripción de Lipinski y Underhill (1995) (tabla 1). Las gónadas se fijaron en solución de Davidson (Bell y Lighter 1988).

De cada gónada se obtuvo una muestra de tejido de 1 cm³ aproximadamente, se deshidrató en alcohol etílico, se transparentó con Hemo-De y finalmente se incluyó en parafina de punto de fusión alto. Posteriormente, se realizaron cortes

al. 2000; Morales-Bojórquez *et al.* 2001a, 2001b). Because of the short life span of squids, the method most commonly used to evaluate their abundance is the Delury stock reduction method that assumes one single cohort (Rosenberg *et al.* 1990, Morales-Bojórquez *et al.* 2001b). Even though abundance estimation by this method has been useful for the fishery's management in the Gulf of California (INP 2001), the number of cohorts in the population is still not clear and continues to be a matter of discussion (Ehrhardt *et al.* 1983, 1986; Markaida and Sosa-Nishisaki 2001).

Analyses of sexual maturation in many cephalopod species have been fundamental for the understanding of their life history, for stock and cohort identification, and even for defining management strategies (Sauer and Lipinski 1990). In the case of *D. gigas*, studies have been conducted on the reproductive cycle based on morphochromatic gonadal changes (Nesis 1970, Michel *et al.* 1986, Tafur and Rabí 1997, Markaida and Sosa-Nishisaki 2001, Tafur *et al.* 2001); however, all of them used different maturity scales, which led to different interpretations of the maturity process in this species. Although Michel *et al.* (1986) first described gamete development and morphological changes in gonads of *D. gigas* from the Gulf of California, the study lacks a gamete structure analysis as the gonad develops. We believe that abundance assessment and management strategies for the jumbo squid fishery can be improved through a better understanding of the sexual maturation process and the identification of the number of cohorts in the population. We therefore aim to histologically validate the maturity stages based on morphochromatic properties of jumbo squid gonads from Santa Rosalía, Baja California Sur, one of the main fishing areas of this resource in Mexico.

Material and methods

Samples were collected fortnightly from the commercial catch at Santa Rosalía (fig. 1), from June to November 2001 and from May to November 2002. For each specimen, mantle length, total weight and mantle weight were recorded, and the gonad was extracted. Sex and gonadal maturity were identified from morphochromatic properties of fresh gonads, following the description of Lipinski and Underhill (1995) (table 1). Gonads were preserved with Davidson solution (Bell and Lighter 1988).

A 1-cm³ tissue sample was obtained from each gonad, and dehydrated in ethanol, cleared with Hemo-De and embedded in paraffin (m.p. 56°C); 7-µm-thick tissue sections were made with a rotary microtome and stained with hematoxylin and eosin (H&E).

Identification of the level of oocyte development was based on cellular morphology and surrounding follicular epithelium, using the microscopic scale described by Michel *et al.* (1986) (table 2). Oocyte composition in the gonad was measured by randomly selecting three 0.25-cm² sections from each slide and counting oocytes at each level of development. The individual maturity index (MI) was calculated based on Sauer and

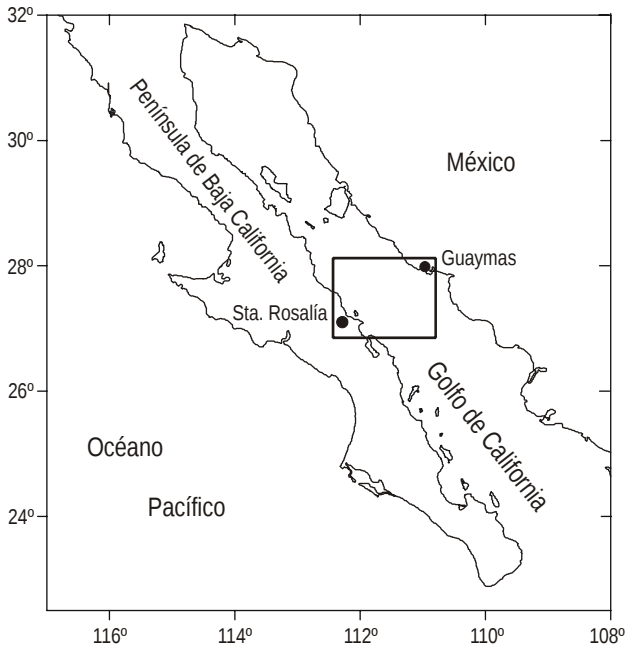


Figura 1. Región central del Golfo de California. Área principal donde se distribuye el calamar gigante y donde se obtiene la mayor parte de las capturas comerciales. Las muestras se obtuvieron en la zona de Santa Rosalía, Baja California Sur.

Figure 1. Central region of the Gulf of California, the main area of distribution and fishing zone of jumbo squid in Mexico. The samples were obtained from the Santa Rosalía area, Baja California Sur.

transversales de 7 μm de espesor con un microtomo de rotación manual y el tejido resultante se tiñó con hematoxilina-eosina (H&E). Se identificaron los distintos niveles de desarrollo de los ovocitos en función de su morfología y del epitelio folicular que los rodea. La escala microscópica se basó en la descripción de Michel *et al.* (1986) (tabla 2). Para medir la composición de ovocitos en la gónada, de cada laminilla se seleccionaron aleatoriamente tres campos visuales de 0.25 cm^2 y se contó el número de ovocitos en cada nivel de desarrollo. Posteriormente se calculó el índice de madurez (IM) del organismo con base en la ecuación de Sauer y Lipinski (1990):

$$\text{MI} = \frac{\sum_{s=0}^5 (n_s \times s)}{\sum_{s=0}^5 n_s}$$

donde s es un número discreto entre 1 y 5 asignado a cada etapa de desarrollo del ovocito (tabla 2) y n_s es el número de ovocitos contados en el estadio s .

Este índice se utilizó para evaluar las diferencias entre los estadios de madurez que fueron asignados a partir de las propiedades morfocromáticas de las gónadas (llamada de aquí en adelante madurez morfocromática). Las comparaciones se hicieron bajo la hipótesis de que los estadios de madurez morfocromática son un buen indicador del nivel de desarrollo de

Lipinski's (1990) equation:

$$\text{MI} = \frac{\sum_{s=0}^5 (n_s \times s)}{\sum_{s=0}^5 n_s}$$

where s is a discrete number between 1 and 5 assigned to each developmental level (table 2) and n_s is the number of oocytes in level s .

The MI was used to assess differences among the maturity stages assigned from the gonadal morphochromatic properties (hereafter referred to as morphochromatic maturity). Comparisons were made based on the hypothesis that morphochromatic maturity stages are a good indicator of the level of oocyte development in the gonad. This hypothesis was tested by determining the tissue characteristics at each morphochromatic maturity stage and evaluating the MI through a one-way analysis of variance and a Tukey test for multiple-factor comparisons (Neter *et al.* 1996).

Results

A total of 271 gonads were collected, of which 75% were female and 25% male. Since a good representation of male gonadal development was not obtained, only the results of the analysis of maturation in female squid are given. The female mantle length (ML) ranged from 33 to 91 cm, with a modal group between 67.5 and 77.5 cm (fig. 2a). Although one mature female measured 37 cm ML, most specimens were larger than 50 cm ML, mainly between 75 and 80 cm ML. The cumulative frequency analysis showed that less than 5% of the mature females were smaller than 60 cm ML and that 50% measured 74 cm ML or less (fig. 2b).

In addition to the four levels of oocyte development described by Michel *et al.* (1986), we included one more at the beginning of the process (level 1), characterized by the scarce presence or absence of follicular cells around the cellular membrane (fig. 3a). Thus, levels 1 and 2 comprised oocytes in early development without vitellogenesis (fig. 3a, b), and levels 3, 4 and 5 comprised oocytes with early or advanced vitellogenesis (fig. 3c-e).

The microscopic observations revealed that the composition of oocytes in the tissue changed according to the external features of the gonad during the maturation process (table 3). In maturity stage I gonads, practically all of the oocytes were at level 1. In maturity stages II and III gonads, the percentage of level-1 oocytes dominated (70–80%), but levels 2 and 3 began to appear (10–20%). In maturity stage IV gonads, almost 90% of the oocytes were at levels 3 and 4, with a 1:2 ratio; the smallest proportion of level-1 oocytes was observed during this maturity stage. In maturity stage V gonads, oocytes at levels 3 and 4 still dominated (65%), but level-1 oocytes started to increase and level-5 oocytes had their highest percentage

Tabla 1. Descripción morfológica de las etapas de maduración gonádica usada en hembras de calamar gigante (Sauer y Lipinski 1990, Lipinski y Underhill 1995).**Table 1.** Morphological description of the maturation stages used to classify female gonads of jumbo squid (Sauer and Lipinski 1990, Lipinski and Underhill 1995).

Estadio de maduración	Características morfológicas
I. Juvenil	Glándulas nidamentales pequeñas como bandas transparentes. El resto de las estructuras no son visibles a simple vista. No es fácil distinguir entre machos y hembras.
II. Inmaduro	Aunque las glándulas nidamentales están más grandes no alcanzan a tapar las vísceras subyacentes. El conducto ovárico es visible, estrecho, translúcido y sin huevos en su interior. El ovario es homogéneo, plano y semitransparente. En esta etapa las glándulas nidamentales accesorias y la glándula oviductal también son visibles.
III. Preparatorio	Las glándulas nidamentales continúan creciendo llegando a tapar parcialmente las vísceras subyacentes. Conducto ovárico más grande y serpenteante. La línea media de la parte ventral de la glándula oviductal es totalmente visible. El ovario es compacto, semiopaco y con huevos inmaduros visibles, lo que le da una consistencia granular uniforme.
IV. Madurando	El tamaño de las glándulas nidamentales es tal que llegan a tapar las vísceras subyacentes. Se observan algunos huevos maduros (amarillos) en el oviducto. El ovario está agrandado, extendido hacia el frente y los pocos ovocitos maduros tienden a ubicarse en forma proximal. Los ovocitos inmaduros son distales y junto con otros pocos ovocitos parecen formar un mosaico.
V. Maduro	Huevos maduros densamente empaquetados en el oviducto. Hay secreción en las glándulas nidamentales.
VI. Desovado	El ovario es pequeño con un mosaico de ovocitos predominantemente maduros. Ya no se observa la estructura dividida en sus porciones distal y proximal. El oviducto puede contener algunos huevos sueltos pero no empaquetados. Las glándulas nidamentales son pequeñas. El manto puede tener un menor grosor que el usual.

Tabla 2. Descripción de los niveles de desarrollo de los ovocitos de *Dosidicus gigas*.**Table 2.** Description of the levels of oocyte development of *Dosidicus gigas*.

Nivel de desarrollo (s)	Características celulares
1	Ovocito en crecimiento primario con núcleo esférico y escasos nucleolos, rodeados por un citoplasma eosinófilo. Células foliculares alrededor del ovocito, escasas o ausentes (fig. 3a)
2	Ovocito con nucleolos aparentes. Se observa una capa delgada de células foliculares alrededor del ovocito (fig. 3b).
3	Ovocitos en crecimiento secundario de mayor tamaño. Proliferan las células foliculares que se adhieren al ovocito y comienzan a invadirlo formando interdigitaciones. Se inicia la formación de glóbulos de vitelo (fig. 3c).
4	El núcleo migra hacia uno de los polos del ovocito. Las interdigitaciones se retiran hacia la periferia (fig. 3d).
5	El núcleo y los nucleolos disminuyen de talla hasta desaparecer. Las células foliculares se retraen y forman una estructura laminar alrededor del óvulo. Se incrementa el citoplasma basófilo (fig. 3e).

Tabla 3. Composición de ovocitos e índice de madurez (IM) promedio en cada fase de madurez gonádica. Se presenta el tamaño de muestra (*n*) en cada fase de madurez.**Table 3.** Percentage of oocytes and mean maturity index (IM) for each gonadal maturation stage. The sample size (*n*) for each maturation stage is given.

Madurez gonadal	Nivel de desarrollo de los ovocitos					IM	<i>n</i>
	1	2	3	4	5		
I	95.2	4.8	–	–	–	1.048	42
II	82.8	1.5	10.6	4.8	0.3	1.384	66
III	73.4	–	20.8	5.5	0.2	1.591	24
IV	2.3	–	30.7	61.4	5.6	3.680	14
V	21.6	–	34.5	31.3	12.6	3.134	32
VI	16.7	50.0	24.0	6.3	3.0	2.290	6

los ovocitos en las gónadas. Esta hipótesis se probó evaluando las características del tejido en cada nivel de madurez morfo-cromática y mediante la valoración del IM a través de un análisis de varianza de una vía y pruebas de Tukey para comparación múltiple de factores (Neter *et al.* 1996).

Resultados

Se recolectaron un total de 271 gónadas, el 75% de hembras y el 25% de machos. Dado que no se obtuvo una buena representación del desarrollo gonádico de los machos, los resultados correspondieron exclusivamente al análisis de maduración de las hembras de calamar. Las tallas de las hembras en los muestreos oscilaron entre 33 y 91 cm de longitud del manto (LM); las más frecuentes estuvieron entre 67.5 y 77.5 cm LM (fig. 2a). Aunque se encontró una hembra madura de 37 cm LM, la mayor parte de las hembras adultas fueron mayores de 50 cm LM, principalmente entre 75 y 80 cm LM. El análisis de frecuencia acumulada indicó que menos del 5% de las hembras maduras fueron menores de 60 cm LM y 50% de ellas tuvieron 74 cm LM o menos (fig. 2b).

Además de los cuatro niveles de desarrollo descritos por Michel *et al.* (1986), en este estudio se pudo identificar un nivel más al inicio del desarrollo del ovocito (nivel 1) que se caracterizó por la escasa o nula presencia de células foliculares alrededor de la membrana celular (fig. 3a). De esta forma, los dos primeros niveles de desarrollo describen ovocitos en crecimiento primario, en virtud de que no se encontraron indicios de formación de vitelo (fig. 3a, b). En los tres niveles restantes se describen ovocitos en crecimiento secundario con evidencias de formación de vitelo (fig. 3c–e).

De acuerdo con los conteos hechos al microscopio, se observó que la composición de ovocitos en el tejido cambia de acuerdo con la morfología externa de la gónada en el proceso de maduración sexual (tabla 3). En las gónadas en estadio de madurez I, prácticamente todos los ovocitos están en el nivel 1 de desarrollo. En las gónadas en estadio II y III siguen predominando los ovocitos en desarrollo 1 (70–80%); sin embargo, los ovocitos en desarrollo 3 empiezan a ser más abundantes (10–20%). En las gónadas en estadio IV, cerca del 90% de los ovocitos están en desarrollo 3 y 4 en una proporción 1:2. En este estadio se observa la proporción más baja de ovocitos en desarrollo 1. En las gónadas de estadio V, continúan predominando los ovocitos en desarrollo 3 y 4, aunque en una proporción menor (65%) ya que los ovocitos en desarrollo 1 vuelven a incrementar su abundancia. En este estadio se alcanza la mayor proporción de ovocitos en desarrollo 5 (~10%). Sólo en las gónadas en estadio VI se observaron todos los niveles de desarrollo aunque más del 90% de los ovocitos estaban entre el nivel 1 y 3, con predominancia del 2.

Estos cambios también se reflejaron en el IM, cuyo promedio se incrementó conforme las gónadas avanzaban en el estadio de madurez hasta el nivel IV (fig. 4). En los estadios de madurez V y VI, la reaparición de ovocitos en etapas de desarrollo inicial, principalmente en nivel 1, propició que el

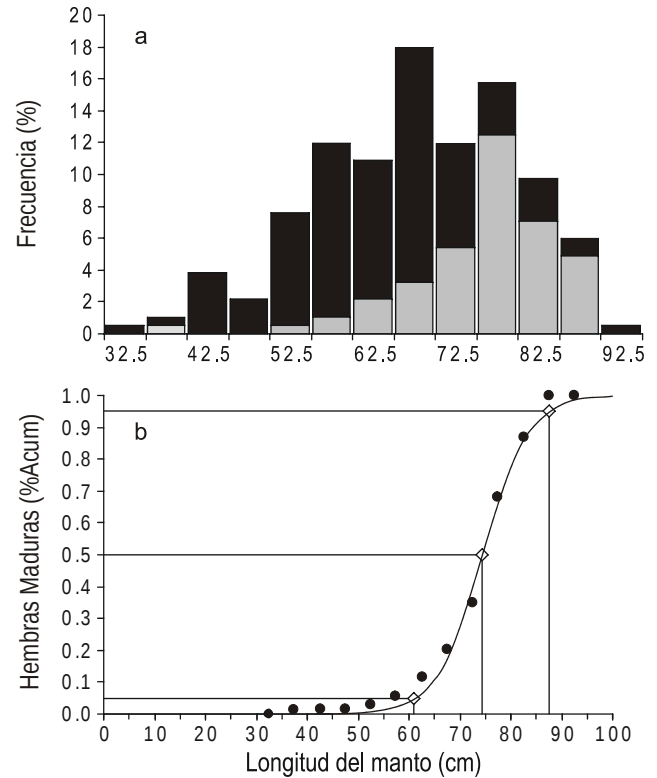


Figura 2. (a) Proporción de organismos maduros por intervalo de talla. Las barras negras representan el total de organismos por intervalo de talla, y las grises el número de organismos maduros. (b) Frecuencia acumulada de organismos maduros por intervalo de talla, mostrando la talla de primera madurez.

Figure 2. (a) Proportion of mature organisms by size class. Black bars represent the total organisms by size class and gray bars represent the number of mature organisms. (b) Cumulative frequency of mature organisms by size class, showing the size at first maturity.

(~10%). Maturity stage VI was the only stage in which all oocyte developmental levels occurred, although more than 90% were between levels 1 and 3, with some dominance of level 2.

These changes were also reflected in the MI, the mean value increasing as the maturation scale advanced from I to IV (fig. 4). In maturity stages V and VI, the mean MI value decreased with the reappearance of a high percentage of class-1 oocytes in the gonad. The analysis of variance confirmed these differences among maturity stages ($F = 45.02$, $P < 0.05$). The Tukey test for multiple comparisons showed that maturity stages IV and V were statistically different from maturity stages I to III (table 4). Maturity stage VI was not statistically different from any maturity stage but stage IV.

Discussion

Assuming that the secondary growth observed in level-3 oocytes is the beginning of oocyte maturation (Arnold and Williams-Arnold 1977, Selman and Arnold 1977) and that MI represents the average condition of the oocytes in the gonad,

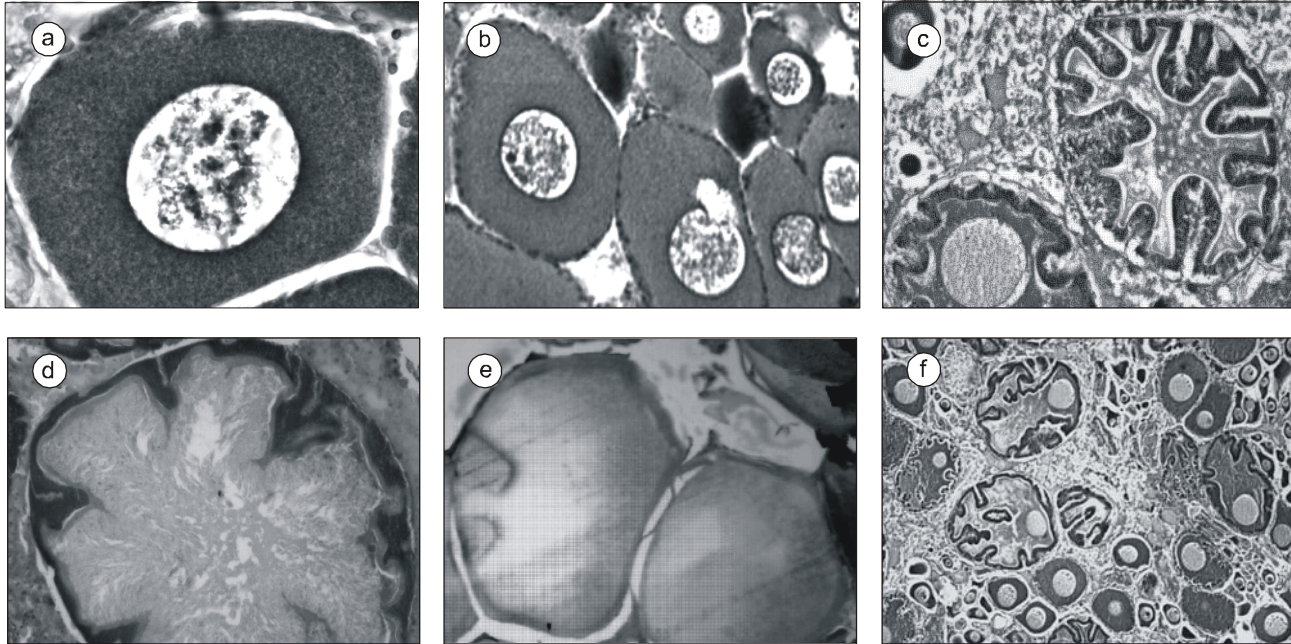


Figura 3. Niveles de desarrollo del ovocito. (a) Ovocito nivel 1: núcleo redondo con escasos nucleolos. (b) Ovocito nivel 2: se observa capa delgada de células foliculares. (c) Ovocito nivel 3: epitelio folicular invade al ovocito y se empiezan a observar glóbulos de vitelo. (d) Ovocito nivel 4: epitelio folicular se retrae y los glóbulos de vitelo incrementan su tamaño. (e) Ovocito nivel 5: ovocito de mayor tamaño con epitelio folicular de tipo laminar. (f) Vista parcial del tejido gonádico donde se observan ovocitos en diferentes niveles de desarrollo.

Figure 3. Levels of oocyte development. (a) Level-1 oocyte: spherical nucleus with scarce nucleolus. (b) Level-2 oocyte: a thin layer of follicular cells is observed. (c) Level-3 oocyte: follicular epithelium invades the oocyte and yolk drops can be observed. (d) Level-4 oocyte: follicular epithelium is retracting and yolk drops increase in size. (e) Level-5 oocyte: oocyte with a larger diameter showing laminar follicular epithelium. (f) Gonad tissue with oocytes in different stages of development.

IM, en promedio, disminuyera. El análisis de varianza confirmó que existen diferencias entre los estadios de madurez gonádica ($F = 45.02$, $P < 0.05$). La prueba de comparaciones múltiples de Tukey indica que los estadios IV y V son significativamente distintos a los estadios I a III (tabla 4). El estadio VI no se diferenció estadísticamente de ningún estadio, a excepción del IV.

Discusión

Considerando que el crecimiento secundario observado en los ovocitos en desarrollo 3 marca el inicio de la maduración del ovocito (Arnold y Williams-Arnold 1977, Selman y Arnold 1977) y que el IM representa el nivel de desarrollo medio de los ovocitos, entonces $IM > 2$ puede utilizarse como criterio para definir a un organismo en actividad reproductiva, ya que ello significa que la mayoría de los ovocitos han alcanzado por lo menos el nivel 3 de desarrollo. Por lo tanto, aquellos organismos que se clasificaron en estadio de madurez entre I y III pueden considerarse reproductivamente inactivos ya que $IM = 2$. De manera complementaria, los organismos en estadio de madurez entre IV y VI, pueden considerarse reproductivamente activos ya que $IM > 2$. Dado que en el estadio de madurez VI se presentan ovocitos en todos los niveles de desarrollo, éste es el estadio con mayor variabilidad en el IM; sin embargo, su promedio es mayor a 3, lo cual refleja actividad

females with a $MI > 2$ can be defined as organisms in reproductive activity. This is because a high proportion of oocytes in the gonad were at least in level 3. Consequently, those females in maturity stages I to III can be considered reproductively inactive because they had $MI < 2$, while females with maturity

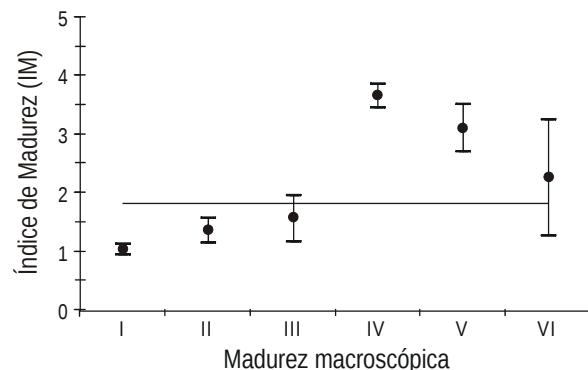


Figura 4. Índice de Madurez estimado en cada nivel de madurez gonádica. El símbolo representa la media $\pm$ intervalo de confianza ($P < 0.95$). La línea horizontal representa el promedio estimado para el total de los organismos analizados.

Figure 4. Maturity index estimated for each stage of gonadal maturity. The symbol represents the mean value $\pm$ confidence interval ($P < 0.95$). The horizontal line represents the estimated mean for the total of organisms analyzed.

reproductiva. En este sentido, la escala de madurez morfocromática es lo suficientemente confiable para evaluar de manera expedita los periodos de actividad reproductiva de la población en función de la frecuencia de organismos en cada estadio de madurez.

La escala de madurez morfocromática, sin embargo, tiene una relación mucho más estrecha con la estructura de ovocitos de lo que el análisis de varianza sugiere. Las gónadas clasificadas en estadio de madurez I, presentan una estructura de ovocitos tan homogénea que el IM presenta un intervalo de confianza muy pequeño, quedando fuera de los intervalos calculados para los otros estadios de madurez (fig. 4). Las gónadas maduras en estadio IV, muestran un comportamiento similar. El IM es poco variable y se separa claramente de los intervalos calculados en los otros estadios. Esto significa que los estadios morfocromáticos I y IV de las gónadas presentan estructuras histológicas particulares y suficientemente distintas al resto de los estadios. El traslape del IM entre los estadios II y III indica que el proceso de maduración se da más a nivel morfológico (p. ej. a nivel de glándulas oviductales) que histológico, lo cual también ha sido reportado para otras especies como *Loligo vulgaris reynaudii* (Sauer y Lipinski 1990). En el estadio VI, la presencia de ovocitos en todos los niveles de desarrollo implica una fase de transición en la que la gónada está potencialmente lista para entrar a un nuevo proceso de maduración.

Dado que las escalas de madurez descomponen en etapas discretas un proceso continuo como la reproducción, los criterios que se utilizan para definir esas etapas son generalmente arbitrarios (Juanico 1983) y en *Dosidicus gigas* esto es evidente ya que se han utilizado diversas escalas de madurez que consideran de 4 a 6 estadios diferentes (Ehrhardt *et al.* 1986, Michel *et al.* 1986, Tafur y Rabí 1997, Hernández-Herrera *et al.* 1998, Markaida y Sosa-Nishisaki 2001). En los últimos años la escala más utilizada para el calamar gigante del Golfo de California es la propuesta por Sauer y Lipinski (1990) y redefinida por Lipinski y Underhill (1995). De acuerdo con nuestros resultados, esta escala de madurez es válida ya que describe razonablemente los cambios que se observaron en el tejido de la gónada.

La creciente variabilidad del IM conforme avanza el estadio de madurez de la gónada indica que la maduración de ovocitos en la gónada es asincrónica (fig. 3f). Estos resultados parecen estar más de acuerdo con la hipótesis de múltiples cohortes en la población. Ehrhardt *et al.* (1983, 1986) encontraron hembras maduras durante todo el año, con tres picos de reproducción, lo cual es comparable con los dos picos reproductivos que se reportan para esta misma especie en las costas de Perú (Tafur y Rabí 1997, Tafur *et al.* 2001). Morales-Bojórquez *et al.* (2001c) evidenciaron que en la zona de Guaymas, Sonora, existe una mezcla de tres cohortes, mientras que Markaida *et al.* (2004) evidenciaron, a partir de la distribución de fechas de nacimiento, una estructura poblacional compleja, con múltiples cohortes intra anuales en la región central del Golfo de California. Aunque la información de este

estadios IV to VI ($MI > 2$) can be considered reproductively active. Since all the oocyte developmental levels were found in maturity stage VI, it had the highest variability in the MI; however, its average MI value was >3 , corresponding to a reproductively active female. Hence, the morphochromatic maturation scale is sufficiently reliable to expeditiously evaluate the reproductive activity of a population based on the frequency of females in different maturity stages.

The morphochromatic maturation scale, however, is more closely related to the oocyte structure in the gonad than that suggested by the analysis of variance. Female gonads in maturity stage I showed a homogeneous oocyte structure (table 3), consequently the confidence interval of the MI value was the narrowest observed (fig. 4). Gonads in maturity stage IV showed a similar pattern: MI with a narrow confidence interval and clearly separated from the rest of the maturity stages. This means that maturity stages I and IV have a particular oocyte composition, different from the rest of the maturity stages. The overlapping MI intervals in maturity stages II and III indicates that the maturation process occurs at a morphological level (e.g., in oviducal glands), as has also been reported for another squid *Loligo vulgaris reynaudii* (Sauer and Lipinski 1990). The presence of all the classes of oocytes in maturity stage VI means that the gonad is in transition and preparing for a new maturation process.

Since the maturation scale divides the continuous process of reproduction into discrete stages, the approaches that are used to define those stages are generally arbitrary (Juanico 1983). In the case of *D. gigas*, maturation scales considering from four to six stages have been used in diverse studies (Ehrhardt *et al.* 1986, Michel *et al.* 1986, Tafur and Rabí 1997, Hernández-Herrera *et al.* 1998, Markaida and Sosa-Nishisaki 2001). Recently, the maturation scale defined by Sauer and Lipinski (1990) and redefined by Lipinski and Underhill (1995) has been the most used for jumbo squid from the Gulf of California. According to our results, it offers a good representation of the changes observed in the gonad.

The large variability observed in the MI values is indicative of the asynchronous maturation of the oocytes in the gonad (fig. 3f). This supports the hypothesis of multiple cohorts in the squid population. Ehrhardt *et al.* (1983, 1986) found mature females throughout the year with three important reproduction peaks, while two reproduction peaks have been reported for squid off the coast of Peru (Tafur and Rabí 1997, Tafur *et al.* 2001). Morales-Bojórquez *et al.* (2001c) reported the coexistence of three different cohorts off the coast of Guaymas, Sonora. Markaida *et al.* (2004), based on calculated dates of birth, described a complex population structure with intra-annual multiple cohorts for the central region of the Gulf of California. Though we were unable to define the number of cohorts in the *D. gigas* population in this study, the data supports the hypothesis of multiple cohorts. Thus, the contribution of each cohort to the abundance and production of the squid fishery should be considered.

trabajo no permite definir todavía con precisión el número de cohortes que existen en la población, la hipótesis de cohortes múltiples parece ser más evidente y, en consecuencia, debe considerarse la contribución de cada una de ellas a la abundancia y producción del stock sujeto a explotación.

La frecuencia de tallas registrada en este estudio demostró que la pesquería de calamar en el Golfo de California se sostiene por un intervalo amplio de tallas. Sin embargo, la talla de primera madurez estimada en 74 cm LM, implica que 60% de las hembras capturadas comercialmente son juveniles. Durante 1996, Markaida y Sosa-Nishisaki (2001) encontraron que la mayor parte de las hembras capturadas en Santa Rosalía maduraban a los 74 cm LM. La constancia de la talla de primera madurez en un periodo de 5 años puede suponer estabilidad en la población; sin embargo, sería recomendable evaluar de manera más precisa el impacto que la captura de juveniles puede tener en la dinámica del stock.

Agradecimientos

Agradecemos a la Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca (CONAPESCA) de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) el apoyo económico para la realización del presente estudio. AHH es becario de COFFA. Agradecemos a las plantas Pesquera México SA, Brumar SA y Hang Yin SA las facilidades otorgadas para la obtención de muestras biológicas en el área de Santa Rosalía, y a los permissionarios y pescadores que nos proporcionaron material para las muestras biológicas. Finalmente, agradecemos a Ellis Glazier la edición del texto en inglés.

Referencias

- Arnold JM, Williams-Arnold LD. (1977). Cephalopoda: Decapoda. In: Giese AG, Pearse JS (eds.), *Reproduction of Marine Invertebrates*. Vol 4. Academic Press, New York, pp. 243–290.
- Bell TA, Lighter DV. (1988). *A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology*. Allen Press, Kansas, 114 pp.
- Ehrhardt NM, Jaquemin PS, García BF, González DG, López BJM, Ortiz CJ, Solís NA. (1983). On the fishery and biology of the giant squid *Dosidicus gigas* in the Gulf of California, Mexico. In: Caddy JF (ed.), *Advances in Assessment of World Cephalopod Resources*. FAO Fish. Tech. Pap. 231: 306–340.
- Ehrhardt NM, Solís NA, Jaquemin PS, Ortiz CJ, Ulloa RP, González DG, García BF. (1986). Análisis de la biología y condiciones del stock del calamar gigante *Dosidicus gigas* en el Golfo de California, México, durante 1980. *Cienc. Pesq.* 5: 63–76.
- Hernández-Herrera A, Morales-Bojórquez E, Cisneros-Mata MA, Nevárez-Martínez MO, Rivera-Parra GI. (1998). Management strategy for the giant squid (*Dosidicus gigas*) fishery in the Gulf of California, Mexico. *CalCOFI Rep.* 39: 212–218.
- INP, Instituto Nacional de la Pesca (2001). *Sustentabilidad y pesca responsable en México: Evaluación y Manejo*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, México, 1111 pp.
- Juanicó M. (1983). Squid maturity scales for population analysis. In: Caddy JF (ed.), *Advances in Assessment of World Cephalopod Resources*. FAO Fish. Tech. Pap. 231: 341–378.
- The frequency of sizes observed in the Gulf of California showed that the squid fishery is supported by organisms with a wide range of mantle length; however, the estimated size at first maturity (74 cm ML) implies that 60% of the females captured by the fishery were not mature. In 1996, Markaida and Sosa-Nishisaki (2001) found a similar size at first maturity. This could be evidence of equilibrium in the squid population over a five-year period, but it is important to evaluate the impact of the fishery on the squid population based on the assumption that a large amount of immature females are caught.

Acknowledgements

This study received financial support from the Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca (CONAPESCA) of the Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). The second author received a grant from COFAA. We thank the companies Pesquera México S.A., Brumar S.A. and Hang Yin S.A., and the local fishermen for their support in obtaining the biological samples in Santa Rosalía. We also thank Ellis Glazier for editing the English-language text.

- Klett TA. (1996). Pesquería del calamar gigante *Dosidicus gigas*. In: Casas-Valdez M, Ponce-Díaz G (eds.), *Estudio del Potencial Pesquero y Acuicola de Baja California Sur*. Vol. I. CIB-CICIMAR-UABCS, pp. 127–149.
- Lipinski MR, Underhill LG. (1995). Sexual maturation in squid: Quantum or continuum? *S. Afr. J. Mar. Sci.* 15: 207–223.
- Markaida U, Sosa-Nishisaki O. (2001). Reproductive biology of jumbo squid *Dosidicus gigas* in the Gulf of California, 1995–1997. *Fish. Res.* 54: 63–82.
- Markaida U, Quiñónez-Velázquez C, Sosa-Nishisaki O. (2004). Age, growth and maturation of jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) from the Gulf of California, Mexico. *Fish. Res.* 66: 31–47.
- Michel E, Klett A, Ochoa RI. 1986. Estudio preliminar para la determinación de madurez gonádica del calamar gigante *Dosidicus gigas* (D'Orbigny 1835). *Cienc. Pesq.* 5: 77–89.
- Morales-Bojórquez E, Cisneros-Mata MA, Nevárez-Martínez MO, Hernández-Herrera A. (2001a). Review of stock assessment and fishery biology of *Dosidicus gigas* in the Gulf of California, Mexico. *Fish. Res.* 54: 83–94.
- Morales-Bojórquez E, Hernández-Herrera A, Nevárez-Martínez MO, Cisneros-Mata MA, Guerrero-Escobedo FJ. 2001b. Population size and exploitation of giant squid (*Dosidicus gigas* D'Orbigny, 1835) in the Gulf of California, Mexico. *Scientia Mar.* 65: 75–80.
- Morales-Bojórquez E, Martínez-Aguilar S, Arreguín-Sánchez F, Nevárez-Martínez MO. (2001c). Estimations of catchability-at-length for the jumbo squid (*Dosidicus gigas*) in the Gulf of California, Mexico. *CalCOFI Rep.* 42: 167–171.
- Nesis KN. 1970. Biology of the Peru-Chilean giant squid, *Dosidicus gigas*. *Oceanology* 10: 140–152.
- Neter J, Kutner MH, Nachtsheim CJ, Wasserman W. 1996. *Applied linear statistical models*. McGraw Hill, Boston, 1408 pp.
- Nevárez-Martínez MO, Hernández-Herrera A, Morales-Bojórquez E, Balmori-Ramírez A, Cisneros-Mata MA, Morales-Azpeitia R. 2000. Biomass and distribution of the jumbo squid (*Dosidicus*

- gigas*; d'Orbigny, 1835) in the Gulf of California, Mexico. Fish. Res. 49: 129–140.
- Rosenberg AA, Kirkwood GP, Crombie JA, Beddington JR. 1990. The assessment of stocks of annual squid species. Fish. Res. 8: 335–350.
- Sauer WH, Lipinski MR. 1990. Histological validation of morphological stages of sexual maturity in chokker squid *Loligo vulgaris reynaudii* D'Orb (Cephalopoda: Loliginidae). S. Afr. J. Mar. Sci. 9: 189–200.
- Selman K, Arnold JM (1977). An ultrastructural and cytochemical analysis of oogenesis in the squid, *Loligo pealei*. J. Morphol. 152: 381–400.
- Tafur R, Rabí M. (1997). Reproduction of the jumbo squid *Dosidicus gigas* (Orbigny, 1835) (Cephalopoda: Ommastrephidae) off Peruvian coasts. Scientia Mar. 61: 33–37.
- Tafur R, Villegas P, Rabí M, Yamashiro C. (2001). Dynamics of maturation, seasonality of reproduction and spawning grounds of the jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) in Peruvian waters. Fish. Res. 54: 33–50.
- Recibido en enero de 2004;
recibido en su forma actual en junio de 2005;
aceptado en noviembre de 2005.*