

## Uso del microondas convencional para el horneado de otolitos del robalo prieto (*Centropomus nigrescens*)

Erika Cabrera-Neri\*

Determinar la edad y el crecimiento de los organismos es una de las tareas básicas y más importantes en todos los trabajos de investigación dirigidos hacia la explotación racional de los recursos pesqueros (Gómez-Márquez, 1994). Uno de los métodos directos más utilizados y confiables en la actualidad para determinar la edad de los peces, es la interpretación y el conteo de zonas de crecimiento en otolitos, vértebras y escamas.

La adecuada preparación de un otolito es el primer paso para extraer información sobre la edad de un pez, y la técnica utilizada está asociada directamente con las dificultades en el escrutinio y con la duración de la investigación (Campana y Jones, 1992).

La diversidad de otolitos y su alta variedad de patrones de crecimiento, morfología y tallas, hacen casi imposible describir un procedimiento general que pueda ser aplicado a todos los estudios de edad a partir de su análisis. Las técnicas que aparentemente son exitosas, han demostrado ser con frecuencia incorrectas o inadecuadas, para ser aplicadas de manera general a las estructuras que serán utilizadas en los estudios de validación y crecimiento (Beamish y McFarlane, 1983).

La forma de preparación de las estructuras, frecuentemente hace una diferencia considerable para contrastar las marcas de crecimiento. En la actualidad, se han utilizado diferentes técnicas dependiendo de la disponibilidad de las herramientas necesarias para su aplicación. Algunos autores (Panella, 1971; Masuda *et al.* 2000), han optado por el cortado de otolitos, en la parte central, del *focus* al *postrostrum* con un micro cortador para posteriormente ser revestidos de algún medio refractor (*e.g.* xilól, resinas). El pulido de otolitos hasta llegar al *focus*, usando un triturador y posteriormente montándolos en un portaobjetos, es otra técnica utilizada en el proceso para evidenciar marcas de crecimiento (Casas, 1994).

Autores como Geffen (1982) y Wilson *et al.* (1987), han marcado los otolitos con tetraciclina u otros componentes fluorescentes, para contrastar las marcas de crecimiento.

Con el propósito de utilizar la técnica adecuada para la preparación de otolitos, autores como Díaz-Urbe y Ruíz-Cordova (1989), utilizaron la técnica de horneado para evidenciar las marcas de crecimiento en los otolitos, obteniendo resultados favorables, pero confirmando el supuesto de que las técnicas de aclarado pueden llegar a ser particulares para cada especie.

En el presente trabajo, se comparan dos técnicas utilizadas para el cremado de otolitos del robalo prieto (*Centropomus nigrescens*), para un estudio de edad y crecimiento en el sistema lagunar Chacahua-Pastoría, Oaxaca.

Durante el procesamiento de las muestras, los otolitos se expusieron a diferentes combinaciones de tiempo y temperatura empleando la técnica descrita por Díaz-Urbe y Ruíz-Cordova (1989), para los otolitos de *Caulolatilus affinis*.

Los otolitos fueron colocados en una caja petri (Pyrex) para su posterior horneado y cremado, en cantidades máximas de nueve otolitos por combinación de tiempo y temperatura.

\*Biología Marina, Universidad del Mar

Tabla I. Combinaciones de tiempo y temperatura utilizadas en los experimentos de horneado en mufla de los otolitos de *C. nigrescens* (un otolito por experimento).

Temperatura (°C)	Tiempo de exposición (min)				
	15	25	30	35	45
250°					
270°				□	
290°		□			
300°	□	□			
310°	□				
330°	□				
350°					

otolito inalterado; □ mejor contraste; ◻ calcinado

En un principio, cuando los otolitos del robalo se expusieron a combinaciones de tiempo (5 - 60 minutos) y temperatura (200 - 350° C) dentro de una mufla, se presentaron dificultades debido al grosor de los otolitos. Posteriormente durante su enfriado, los otolitos fueron clasificados, antes de ser sumergidos en glicerina, de acuerdo a tres niveles de horneado: 1) crudos; 2) bien contrastados, y 3) calcinados.

Cuando la región superficial alcanzó un nivel de quemado aceptable, el interior permaneció inalterado y cuando se aumentó el tiempo o la temperatura para quemar el interior, la superficie se sobreexpuso empeorando el nivel de contraste. Para solucionar este problema se diseñaron otros dos tipos de experimentos adicionales: uno de ellos consistió en hornear los otolitos, cubiertos de arena seca para tratar de homogeneizar el calor, aumentando la temperatura 5° ó 10° C a intervalos desde los 15 hasta los 45 minutos, partiendo de los 250° hasta los 350° C (Tabla I).

Los mejores resultados se obtuvieron en combinaciones de 300° C durante 25 minutos y 330° C durante 15 minutos. La razón por la que no se adoptó esta técnica fue debido a que para lograr homogeneizar el calor, se llegó a quemar

un solo otolito en cada combinación de tiempo óptimo, lo que hacía el proceso muy lento, llegando a quemar un total de 15 otolitos bajo este procedimiento.

En un segundo experimento se utilizó el horneado con microondas a temperatura fija y diferentes combinaciones de tiempo (Tabla II). En primer lugar, se sometieron dos otolitos (de diferente tamaño) por cada combinación que se probó para determinar el tiempo óptimo de quemado. Una vez determinado el tiempo de quemado óptimo para cada tamaño de otolito, se procesaron de manera masiva en lotes de 20. La evaluación del quemado fue también a partir de la apariencia que mostraban al término del horneado y fueron clasificados bajo los mismos criterios antes mencionados.

El quemado de otolitos en el horno de microondas durante 45 minutos, combinado con la inmersión en glicerina, tuvo varias ventajas que fueron decisivas para emplear este tratamiento. En primera instancia, se debe mencionar que con esta técnica los otolitos adquirieron la mejor coloración diferencial entre sus anillos de crecimiento, lo que hizo más fácil la identificación y el conteo de las marcas de crecimiento. La naturaleza orgánica de los anillos

Tabla II. Combinaciones de tiempo de horneado de otolitos en microondas

Tamaño de los otolitos	Tiempo de exposición (minutos)			
	25	30	35	40
Otolitos chicos (0.30 - 0.89 cm)	-	✓		
Otolitos grandes (0.90 - 2.0 cm)	-	-	-	✓✓

- Sin cambios satisfactorios
- ✓ Mejor aclarado de otolitos pequeños
- ✓✓ Mejor aclarado de otolitos grandes

opacos, en contraste con los anillos hialinos que se componen principalmente de sales inorgánicas (Díaz-Uribe y Ruiz-Cordova, 1989), podría ser la causa de que se conserve tal efecto óptico al someter las estructuras a este tratamiento.

Por otro lado, el contraste de los otolitos con microondas puede hacerse en grupos bastante grandes, dependiendo de la capacidad del horno, lo cual permite trabajar con un número mayor de estructuras. Esto adquiere mayor importancia al considerar que los estudios de edad y crecimiento involucran un gran número de muestras, y con ello un número grande de estructuras a procesar. La gran variación en tamaños que presentan los otolitos del robalo no permitió la aplicación de una sola combinación de tiempo para todos (Tabla II).

En concordancia con Rocha-Olivares (1991), los resultados de los experimentos de aclarado confirman que las técnicas utilizadas para este fin pueden ser consideradas particulares para cada especie. El horneado de otolitos que resultó exitoso para *Caulolatilus affinis* (Díaz-Uribe y Ruiz-Cordova, 1989) no lo fue para *C. Nigrescens*

Finalmente, si bien no existen antecedentes sobre el uso del horno de microondas para el cremado de otolitos, los experimentos realizados en este estudio permitieron obtener un aclarado adecuado en los

otolitos de dos tallas, mejorando los resultados en el contraste de las marcas de crecimiento y optimizando el procesamiento de las muestras en comparación de los resultados obtenidos con el cremado en mufla. Aunque los resultados no son contundentes indican que, para la diferenciación de anillos de crecimiento de otolitos del robalo prieto, el empleo de un horno de microondas convencional es una alternativa sencilla, confiable y económica.

### Bibliografía

- Beamish R. J. y G. A. Mc Farlane, 1983. The Forgotten Requirement for Age Validation in Fisheries Biology. Transactions of the American Fisheries Society. 112(6): 735-746.
- Campana, S.E. y C. M. Jones, 1992. Analysis of Otolith Microstructure Data. In D. K. Stevenson y S. E. Campana (ed.) Otolith microstructure examination and analysis. Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci. 117 pp.
- Casas J. M., 1994. Age Structure of Roughhead Grenadier (*Macrourus berglax*) on Flemish Cap, 1994. NAFO SCR Doc. 94/80. Serial no. N2459
- Díaz-Uribe J. y S.S. Ruíz-Cordova, 1989. Edad y Crecimiento del "conejo", *Caulolatilus affinis* Gill 1865, (pisces: Branchiostegidae) en la Bahía de La Paz y sus alrededores, Baja California Sur, México. Tesis de Licenciatura. Departamento de Biología Marina de la Universidad Autónoma de Baja California Sur.

Geffen A. J., 1982. Otolith ring deposition in relation to growth rate in heaving (*Clupea harengus*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae. Mar. Biol. 71: 317-326

Gómez-Márquez J. L., 1994. Métodos para determinar la edad en los organismos acuáticos. FES Zaragoza, UNAM. 89 pp.

Masuda Y., T. Ozawa., O. Onoue y T. Hamada, 2000. Age and growth of the flathead, *Platycephalus indicus*, from the coastal waters of west Kyushu, Japan. Fisheries Research 46:113-121

Panella G., 1971. Otolith growth patterns: an aid in age determination in temperate and tropical fishes. Science N.Y., 173:1124.

Rocha-Olivares A., 1991. Edad y crecimiento del guachinango del Pacífico *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922) (Perciformes: Lutjanidae) en la bahía de La Paz y zonas adyacentes, B. C. S., México. Tesis de Licenciatura. Departamento de Biología Marina, Universidad Autónoma de Baja California Sur.

Wilson C.A., R. J. Beamish, E. B. Brothers, K. D. Carlander, J. M. Casselman, J. M. Dean, A. Jerald, E. D. Prince y A. Wild, 1987. Glossary, In: Summerfelt R. C., y G. E. Hall (ed)., Age and growth of fish. Iowa State University Press, Ames: 527-530

*Recibido: 26 de Septiembre del 2002*

*Aceptado: 5 de diciembre de 2002*