



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

EVALUACIÓN DE LA CONDICIÓN NUTRICIONAL
Y ESTADO DE SALUD EN REPRODUCTORES DE
Mycteroperca rosácea Y SU RELACIÓN CON LA
CALIDAD DE LA PROGENIE.

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación Acuicultura)

Presenta

Milton Alejandro Spanopoulos Zarco

La Paz, Baja California Sur, Enero de 2013

Comité Tutorial

Dra. Minerva Maldonado García (Director de tesis)

Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola (Cotutor)

Dr. Dariel Tovar Ramírez (Cotutor)

Comité revisor de tesis

Dra. Minerva Maldonado García

Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola

Dr. Dariel Tovar Ramírez

Jurado de examen de grado

Dra. Minerva Maldonado García

Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola

Dr. Dariel Tovar Ramírez

Suplente

Dr. Jesús Rodríguez Romero

RESUMEN

La bioquímica sanguínea y la citometría hemática hoy en día, son herramientas validas en la determinación de la condición nutricional y el estado de salud de los peces respectivamente. Con el objetivo de determinar esta condición en reproductores silvestres de cabrilla sardinera (*Mycteroperca rosacea*) se determinaron el peso y talla de 52 reproductores capturados en la localidad de San Evaristo B.C.S. en los meses de Febrero a Septiembre del 2011 y se les tomó una muestra de sangre con tubos Vacutainer® mediante punción caudal para realizar una bioquímica sanguínea de 4 parámetros (proteínas, colesterol, triglicérido y lípidos totales) así como una citometría hemática de 7 parámetros (hemoglobina, hematocrito, eritrocitos, leucocitos, linfocitos, neutrófilos y plaquetas). Las hembras en estadio vitelogénico cuyo diámetro de huevo superará las 400 μ se indujo al desove por medio de la aplicación de Gonadotropina Coriónica Humana (GCH) en dos inyecciones, la primera de 1000 UI/Kg de peso corporal y 24 horas después la segunda de 500 UI/Kg; para el caso de los machos, se aplico una sola dosis de 500 UI/Kg. A los huevos y larvas obtenidos se les evaluó la fecundidad y porcentaje de eclosión, se midió el diámetro del huevo, de la gota lipídica, el tamaño de la larva y del saco vitelino así como un análisis bioquímico de 4 parámetros (Proteínas, triglicéridos, lípidos y colesterol) y un perfil de ácidos grasos. A los datos obtenidos se les realizaron pruebas de Pearson para encontrar la relación estadísticas entre los parámetros de reproductores y los de su progenie.

Los resultados evidencian una población de reproductores silvestres sanos, que responde favorablemente a las demandas metabólicas y citométricas propias del periodo reproductivo, los valores observados en la bioquímica sanguínea, presentan un pico a la mitad del ciclo reproductivo coincidiendo con la temporada de desove (Mayo-Junio); a la par, el sistema inmune, se ve modulado por la temporada de desove, aumentando significativamente la concentración de linfocitos (60.8×10^3 cel/mm³) y disminuyendo los neutrófilos (39.2×10^3 cel/mm³), como consecuencia de la respuesta del sistema inmune; las plaquetas y hematocrito por su parte se incrementan significativamente durante el periodo de desove. Las pruebas de Pearson, muestran que existe una correlación positiva ($r=0.904$) entre el nivel de proteínas en sangre de reproductores y las proteínas presentes en el huevo, mientras que los niveles de triglicéridos, presentan una correlación negativa ($r=0.934$). Por su parte, la concentración de lípidos en huevos guardan una correlación negativa ($r=0.887$) con la concentración de lípidos en las larvas recién eclosionadas.

Palabras clave: *Mycteroperca rosacea*, bioquímica sanguínea, citometría hemática, calidad de la progenie.

ABSTRACT

Blood chemistry and hematic cytometry nowadays are valid tools to determine the nutritional condition and health status of fish. With the objective of determining the condition of the wild broodstock of the leopard grouper (*Mycteroperca rosacea*), we captured and sized 52 leopard grouper broodstock around the San Evaristo BCS area from February to September of 2011. Sampled in Vacutainer® tubes by caudal puncture, we looked for a blood biochemistry of 4 parameters (protein, cholesterol, triglyceride, and total lipids) and 7 cytometry parameters (hemoglobin, hematocrit, erythrocytes, leukocytes, lymphocytes, neutrophils and thrombocytes). Vitellogenic females (egg diameter $>400\mu$) were induced by the application of Human Chorionic Gonadotropin (HCG) in two doses. The first was 1000 IU / kg per total body weight, and the second was 24 hours after the first, but reduced to 500 IU / kg. In the case of males, HCG was applied as a single dose of 500 IU / kg. The eggs and larvae obtained were evaluated by fertility, hatch rate, measured egg diameter, oil globule diameter, and size of the larvae and yolk sac. At the same time we also did a biochemical 4 parameter analysis and fatty acid profile. The data obtained was tested by Pearson to find statistical correlations between each parameter and their progeny.

The results show a population of healthy wild broodstock, which respond favorably to the metabolic demands and cytometric in their own reproductive period, the values observed in blood chemistry, have a peak at the middle of the reproductive cycle coinciding with the spawning season (May-June); the immune system is modulated by the spawning season, significantly increasing the concentration of lymphocytes (60.8×10^3 cells/mm³) and decreased neutrophils (39.2×10^3 cells/mm³), as a result of the response nonspecific immune system, thrombocytes and hematocrit, increase significantly during the spawning season. Pearson tests show that there is a positive correlation ($r = 0.904$) between the blood level of protein in breeding and proteins present in the egg while triglycerides, have a negative correlation ($r = 0.934$). The lipids concentration in egg negatively correlated ($r = 0.887$) with the lipid concentration in hatched larvae.

Keywords: *Mycteroperca rosacea*, blood chemistry, blood cytometry, quality of progeny.

DEDICATORIA

Cada una de mis conquistas, será siempre consecuencia del apoyo y ejemplo de mi familia, por ello, siempre figurarán a la cabeza de cada nuevo logro en donde se me permita expresarles unas cuantas líneas; Mamá, Papá, Allí, Itai, Pamela, Georgina y Cristina, saben que sin ustedes jamás estaría donde estoy, y ciertamente, el sistema lingüístico, no ha incluido al vocabulario palabras que describan debidamente lo mucho que les agradezco por marchar siempre a un lado mío, respaldándome cuando me voy de lado.

Por supuesto a mis enanos: Lua, Amir, Natalia y Monserrat; por que en verdad, ustedes siempre me recuerdan con sus locuras y sus caritas, que vale la pena ver hacia adelante; les agradezco infinitamente arrancarme la sonrisa más sincera aun en los peores momentos.

Dedico éste trabajo también a esa otra familia...esa a la que no te toca...sino que tú o ellos te eligen; porque si no estoy en la escuela, estoy pescando....a esa familia “pistolera”; que además de mis compañeros de profundidades son mis amigos más entrañables, mis cómplices de los buenos ratos y soporte imprescindible en los malos...Edgardo, Antonio, Guillermo, Rommel, Martín, Lalo, Ely, Germán, gracias por compartir el mar conmigo, por escucharme cuando lo necesito y por sonsacarme al agua cuando menos debo ir... en verdad gracias.

AGRADECIMIENTOS

Al consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de posgrado y por la beca mixta otorgada como apoyo para la realización de mis estancias en la Universidad de Murcia en Murcia, España.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) por permitirme el paso por sus aulas y laboratorios para la realización de mis estudios de posgrado.

A la Dra. Minerva Maldonado García (CIBNOR), por su esfuerzo, conocimiento y sobretodo paciencia al dirigir mi tesis.

A los miembros del comité tutorial Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola y el Dr. Dariel Tovar Ramírez por su invaluable apoyo y aportaciones a este trabajo.

Al Dr. Felipe Ascencio Valle, la Dra. Martha Reyes Becerril, la Dra. Maria Angeles Esteban de la Universidad de Murcia y a su gran equipo de trabajo (Fran, Patri, Rebeca y Pilar), porque me brindaron la posibilidad de ampliar enormemente el panorama que rige hoy en día el quehacer científico.

Un agradecimiento muy especial al hoy Dr. José Antonio Estrada Godinez y al casi M.C. Rubén Amezcua Castro, por que sin su apoyo y amistad, estoy seguro que mi paso por esta etapa hubiera sido tortuosa.

Al gran equipo de técnicos y trabajadores del CIBNOR que hacen posible que esto funcione.

A los encargados del cuidado de los peces el M. C. Marcos Fabián Quiñones Arreola, Lic. Francisco Encarnación Ramírez, al B.M. Jorge Sandoval Soto y el Biol. Gilberto Colado Duran; porque sin su apoyo, ésta investigación simplemente o podría haber avanzado. Así como a la M.C. Roxana Inohuye Rivera, del laboratorio de Diagnóstico Parasitológico del CIBNOR, por el apoyo en el monitoreo y tratamiento de los peces.

Al M.C. Rene Rebollar Prudente, del laboratorio de Cromatografía, por sus enseñanzas, tiempo y apoyo en el procesamiento e interpretación de los perfiles de ácidos grasos.

Al M.C. Roberto Hernández y la M.C. Patricia Hinojosa Baltazar, del laboratorio de Bioquímica Fisiológica del CIBNOR, por todo el apoyo brindado en el procesamiento de las bioquímicas sanguíneas.

Al Q.F.B. Victor Moyron Ibarra, del Laboratorio de Diagnóstico Microbiológico del CIBNOR, por el procesamiento de las citometrías hemáticas.

A la M.C. Carmen Rodríguez Jaramillo del laboratorio de Histología e Histoquímica del CIBNOR, por sus enseñanzas y consejos, al momento de avaluar los huevos y larvas.

A Horacio Sandoval Gómez y Manuel Melero Astorga por su apoyo técnico en el laboratorio de computo del CIBNOR.

A la Lic. Osvelia Ibarra Morales y Tania Nuñez Valdez de control escolar del CIBNOR por su apoyo, facilidades y siempre buena disposición otorgados en los asuntos académicos.

A la Lic. Leticia González Rubio Rivera y Claudia Olachea León que me ayudaron a conseguir una beca mixta para mi estancia en España.

Y en general a todos los amigos que conocí en mi paso por el CIBNOR, a todos gracias.

CONTENIDO	Pág.
RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABLAS.....	x
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	4
2.1 Generalidades de la especie.....	4
2.2. Indicadores de condición en peces.....	7
2.3. Parámetros bioquímicos.....	7
2.3.1. Proteínas.....	8
2.3.2. Colesterol.....	9
2.3.3. Triglicéridos.....	9
2.3.4. Lípidos.....	10
2.4. Citometría hemática.....	10
2.4.1. Serie roja.....	11
2.4.2. Serie blanca.....	12
2.5. Calidad de huevos y larvas.....	13
3. JUSTIFICACIÓN.....	14
4. OBJETIVOS.....	15
4.1. Objetivos generales.....	15
4.2. Objetivos específicos.....	15
5. HIPÓTESIS.....	16
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
6.1. Colecta de reproductores de cabrilla sardinera <i>Mycteroperca rosace</i>.....	17
6.2. Factor de condición K.....	18
6.3. Química sanguínea.....	18
6.3.1. Proteínas.....	18
6.3.2. Triglicéridos.....	19
6.3.3. Colesterol.....	19
6.3.4. Lípidos totales.....	20

6.4. Citometría hemática.....	20
6.4.1. Hemoglobina.....	20
6.4.2. Hematocrito.....	21
6.4.3. Eritrocitos.....	21
6.4.4. Serie blanca.....	21
6.4.5. Diferencial leucocitario.....	22
6.4.6. Plaquetas.....	22
6.5. Calidad de huevos y larvas.....	23
6.6. Perfil de ácidos grasos.....	25
6.7. Análisis estadísticos.....	26
7. RESULTADOS.....	27
7.1. Factor de condición K.....	27
7.2. Bioquímica sanguínea de los reproductores.....	27
7.3. Citometría hemática.....	30
7.3.1. Serie roja.....	30
7.3.2. Serie blanca.....	32
7.3.3. Plaquetas.....	34
7.4. Calidad de huevos y larvas.....	34
7.4.1. Valoración del desove.....	34
7.4.2. Parámetros bioquímicos en huevos.....	35
7.4.3. Parámetros bioquímicos en larvas.....	37
7.4.4. Calidad de huevos.....	39
7.4.5. Calidad de larvas recién eclosionadas.....	41
7.4.6. Perfil de ácidos grasos.....	43
7.5. Correlaciones.....	45
8. DISCUSIÓN.....	48
9. CONCLUSIONES.....	58
10. LITERATURA CONSULTADA.....	59

LISTA DE FIGURAS	Pág
Figura 1. Mapa de área de distribución de <i>Mycteroperca rosacea</i> en México, desde el alto Golfo de California, hasta el sur de las costas de Jalisco.	5
Figura 2. Reproductores de cabrilla sardinera (<i>Mycteroperca rosacea</i>) capturadas en San Evaristo BCS. Con los dos patrones de coloración existentes.	6
Figura 3. Captura, transportación, sexado y marcado de reproductores de cabrilla obtenidos durante el 2011.	17
Figura 4. Mediciones biométricas realizadas a reproductores de <i>Mycteroperca rosacea</i> .	18
Figura 5. Mediciones biométricas realizadas a huevos de <i>Mycteroperca rosacea</i> . DGL= Diámetro de la gota lipídica, DH= Diámetro del huevo.	24
Figura 6. Mediciones biométricas realizadas a larvas de <i>Mycteroperca rosacea</i> . LN=Longitud notocordal, H=Anchura del saco vitelino y L=Longitud del saco vitelino.	25
Figura 7. Factor de condición (K), de los organismos capturados (n=73), durante cada uno de los muestreos de reproductores de <i>Mycteroperca rosacea</i> a lo largo de un ciclo reproductivo, promedio \pm la desviación estándar, seguidas por una letra diferente que indican diferencias significativas (P<0.05).	27
Figura 8. Bioquímica sanguínea de reproductores de <i>Mycteroperca rosacea</i> (n=52) a lo largo de un ciclo reproductivo, promedio \pm la desviación estándar, seguidas por una letra diferente que indican diferencias significativas (P<0.05).	29
Figura 9. Citometría hemática de reproductores de <i>Mycteroperca rosacea</i> (n=52) a lo largo de un ciclo reproductivo, promedio \pm la desviación estándar, seguidas por una letra diferente que indican diferencias significativas (P<0.05).	31
Figura 10. Citometría hemática de reproductores de <i>Mycteroperca rosacea</i> (n=52) a lo largo de un ciclo reproductivo, promedio \pm la desviación estándar, seguidas por una letra diferente que indican diferencias significativas (P<0.05).	33
Figura 11. Concentración de plaquetas en sangre de reproductores de <i>Mycteroperca rosacea</i> (n=52) a lo largo de un ciclo reproductivo, promedio \pm la desviación estándar, seguidas por una letra diferente que indican diferencias significativas (P<0.05).	34
Figura 12. Valores bioquímicos de huevos de cada hembra (HH) obtenidos de desoves de reproductores silvestres de <i>Mycteroperca rosacea</i> .	36
Figura 13. Valores bioquímicos de larvas obtenidas de cada desove (LH) de reproductores silvestres de <i>Mycteroperca rosacea</i> (N=5).	38
Figura 14. Factor de condición K, de cada hembra desovada (n=5) y las distintas medidas de huevos (Diámetro del huevo y diámetro de la gota lipídica) de cinco diferentes desoves obtenidos por inducción hormonal durante el periodo reproductivo natural de la cabrilla sardinera <i>Mycteroperca rosacea</i> .	40

Figura 15. Factor de condición K, de cada hembra desovada y las distintas medidas de larvas recién eclosionadas (Longitud noto cordal y volumen del saco vitelino) de cinco diferentes desoves obtenidos por inducción hormonal durante el periodo reproductivo natural de la cabrilla sardinera *Mycteroperca rosácea* ($P < 0.05$) **42**

LISTA DE TABLAS	Pág.
Tabla I. Valores de fecundidad total, fecundidad relativa y porcentaje de eclosión, obtenidos de cada desove mediante inducción hormonal de cabrilla sardinera <i>Mycteroperca rosacea</i> (n=5).	35
Tabla II. Ácidos grasos contenidos ($\mu\text{g}/\text{mg}$) en huevos (HH) y larvas (LH) obtenidos mediante inducción hormonal de cabrilla sardinera <i>Mycteroperca rosacea</i>	40
Tabla III. Concentraciones de ácidos grasos ($\mu\text{g}/\text{mg}$) presentes en huevos de cabrilla sardinera, ordenados según su clasificación Σ SAT= Suma de ác. grasos saturados; Σ MUFA= Suma de ác. grasos monoinsaturados; Σ PUFA= Suma de ác. grasos poliinsaturados; $\Sigma n6$ = Suma de ác. grasos de la serie omega6; $\Sigma n3$ =Suma de ác. grasos de la serie omega3	44
Tabla IV. Concentraciones de ácidos grasos ($\mu\text{g}/\text{mg}$) presentes en larvas recién eclosionadas de cabrilla sardinera, ordenados según su clasificación Σ SAT= Suma de ác. grasos saturados; Σ MUFA= Suma de ác. grasos monoinsaturados; Σ PUFA= Suma de ác. grasos poliinsaturados; $\Sigma n6$ = Suma de ác. grasos de la serie omega6; $\Sigma n3$ =Suma de ác. grasos de la serie omega3	44
Tabla V. Correlaciones entre reproductores-huevos, reproductores-larvas y huevos-larvas, los números en negritas indican que existe una correlación significativa. r=coeficiente de correlación.	45
Tabla VI. Correlaciones entre el diámetro del huevo y la gota lipídica con los parámetros de los análisis bioquímicos en huevos, los números en negritas indican que existe una correlación significativa. r= coeficiente de correlación.	45
Tabla VII. Valores de correlaciones entre las medidas morfométricas de las larvas y los parámetros bioquímicos de las mismas, donde r= coeficiente de correlación.	46
Tabla VIII. Correlaciones entre el factor de condición (K) de los reproductores y los parámetros de la bioquímica sanguínea, los números en negritas indican que existe una correlación significativa. r= coeficiente de correlación.	46
Tabla IX. Correlaciones entre el factor de condición (K) de los reproductores y los parámetros de la citometría hemática, los números en negritas indican que existe una correlación significativa. r= coeficiente de correlación.	47

1. INTRODUCCIÓN

Las cabrillas y los meros, son peces pertenecientes a la familia Serranidae y son considerados como unas de las especies más valiosas, cuentan con aproximadamente 450 especies, de las cuales 20 ya están bajo la categoría de amenazadas según los criterios de la lista roja de la International Union for Conservation of Nature (IUCN); aunque si bien, el estado de conservación de la mayoría de los serránidos se desconoce, su característico ciclo de vida, en el que forman agregaciones para su reproducción los hace más vulnerables a un esfuerzo pesquero mal canalizado, que pudiera provocar estragos a sus poblaciones (Aburto-Oropeza *et al.*, 2008).

Por ello, resulta imperante lograr la viabilidad en acuicultura de éste género como una alternativa eficaz a la pesca extractiva; actualmente la acuicultura sigue siendo el sector productivo de mayor crecimiento en producción de proteína animal para consumo humano. La producción mundial de pescado, incluyendo peces, crustáceos, moluscos y otros animales acuáticos destinados al consumo humano, alcanzó 57.2 millones de toneladas en 2010 (FAO,2011). Con una tasa de crecimiento anual del 8.3%, por lo que resulta una alternativa factible para soslayar el 1.6% anual de crecimiento poblacional a nivel mundial. Aunado al crecimiento poblacional, el consumo de pescado en la dieta per capita, ha aumentado de 0.7kg en 1970 a 8.3 kg en 2010 con un incremento del 6.6% anual (FAO, 2011).

Diversos países han incursionado en la piscicultura marina y han obtenido resultados importantes, sobretodo en la región oriental de Asia y en el mar Mediterráneo, en donde se encuentra la mayor parte de la producción de peces marinos. Entre las principales especies cultivadas están las corvinas (*Sciaenidae* spp.), espáridos (*Sparidae* spp.), carángidos (*Carangidae* spp.) y peces planos (*Soleidae* spp., *Paralichthyidae* spp., *Pleuronectidae* spp. y *Psettodidae* spp.); recientemente, también los meros (*Serranidae* spp.), bacalao (*Gadidae* spp., *Moridae* spp., *Hexagrammidae* spp. y *Anoplopomatidae* spp.) y la cobia (*Rachycentron canadum*) (FAO, 2007).

Hoy en día el valor estimado de la acuicultura oscila en los 106 mil millones de dólares; en México para el 2008, se convirtió en una empresa de 472.1 millones de dólares,

posicionándose como el cuarto productor de América Latina, solo detrás de Chile, Brasil y Ecuador (FAO, 2011) y es precisamente la región del noroeste de México una de las zonas más importantes para la producción acuícola, por las excelentes condiciones y calidad de agua para esta actividad; actualmente Sonora y Sinaloa cuentan con más de 300 granjas de cultivo de camarón blanco, mientras que los principales laboratorios de producción de postlarvas de camarón se encuentran en Baja California Sur, y es en ésta, la más septentrional de las californias cuna de especies de alto valor comercial como la cabrilla, el pargo rojo, el atún aleta amarilla, el robalo, lenguado, además de ser el principal productor de langosta, almeja mano de león, ostras perleras, abulón, callo de hacha, entre otros, lo que supone a éste Estado como un lugar con perspectivas de generar una importante industria productiva basada en la acuicultura (Aviles-Quevedo y Vazquez-Hurtado, 2006).

Es la cabrilla sardinera una especie de alta calidad nutricional y buen sabor, posee una gran aceptación, lo que eleva su valor en el mercado, por ello, existe un gran interés en cultivar esta especie a nivel comercial; sin embargo esta actividad depende de la producción de semillas obtenidas en cautiverio que aseguren un aporte constante de juveniles, además de ofrecer la posibilidad de implementar programas de mejoramiento genético. No obstante son pocas las especies de peces marinos que se mantienen en cultivo de tipo cerrado debido a que aun no se identifican las condiciones favorables que permitan la maduración gonadal en cautiverio y la producción de juveniles mediante un cultivo larvario exitoso en términos de supervivencia y crecimiento (Tucker, 1999).

Además de la falta de conocimiento sobre la biología de las especies a cultivar; la acuicultura se enfrenta a un problema grave; las condiciones de cultivo, comprometen el sistema inmune de los peces. En términos de producción, las enfermedades infecciosas son la causa mayoritaria de las pérdidas económicas debido a la mortalidad de los animales, los costes de los tratamientos y el descenso de la producción. Sin embargo, la aparición de las enfermedades infecciosas se halla normalmente asociada al deterioro de la calidad del medio acuático o a situaciones de estrés o malnutrición en los animales (Blanco *et al.*, 2004).

En los últimos años ha aumentado considerablemente el interés de la aplicación de los análisis clínicos veterinarios en el diagnóstico de patología animales como una herramienta de diagnóstico, para evaluar la situación nutricional, estado fisiológico de los peces, la respuesta al estrés, así como las fluctuaciones en los niveles de hormonas de proteínas, azúcar, colesterol y otros componentes básicos; y aunque existen pocas herramientas de diagnóstico y monitoreo, el área de química sanguínea ofrece una excelente oportunidad de obtención de información para realizar un diagnóstico preciso (Bahmani *et al.*, 2001).

Por esto, se han buscado vías alternativas que permitan evaluar el estado de salud de los organismos por métodos no letales; sin bien los análisis bioquímicos en tejidos de peces se han utilizados desde los años 50's, la mayoría de las veces, se enfocaron al análisis de exposición a sustancias tóxicas; ya para los años 80's, estos métodos tomaron popularidad para evaluar el estado general de salud de los peces, así como detectar indicios de daño de las poblaciones, sin embargo, la mayoría de las investigaciones se desarrollan solamente en regiones donde la acuicultura se realiza desde hace muchos años (Wilderman, 1992).

La falta de control reproductivo y las altas mortalidades han restringido el abasto de huevos y larvas de calidad; por ello, este trabajo pretende comprender si algún metabolito químico o índices hematológicos tienen un perfil significativo que esté relacionado con la calidad de los desoves obtenidos; que nos permita utilizar dichos parámetros como indicadores y referencia para el control de la producción huevos y larvas de calidad.

2. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades de la especie

En el mundo se cultivan alrededor de 22 especies de serránidos, siendo los países de la región Asia-Pacífico los que contribuyen con más del 90 % a la producción acuícola mundial de estas especies (SEAFDEC, Aquaculture Department, 2001). En México recientemente, se han logrado materializar una serie de investigaciones que prometen generar la tecnología para el cultivo de varias las especies con un buen potencial, en la lista, figura la cabrilla sardinera, *Mycteroperca rosacea* (Gracia-López *et al.*, 2004, Burgos-Aceves, 2011), varias especies de robalo, *Centropomus medius*, *C. undecimalis* y *C. parallelu* (Maldonado-García, 2004; Zarza- Meza *et al.*, 2006); el botete diana, *Sphoeroides annulatus* (Álvarez-Borrego y Fájér-Ávila., 2006), el lenguado de california, *Paralichthys californicus*, (Barón-Sevilla y Lazo-Corvera., 2007), la totoaba, *Totoaba macdonaldi* (Solorzano *et al.*, 2006 y Lopez *et al.* 2006), la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Aviles-Quevedo *et al.*, 1995) y varias especies de pargos como el huachinango del pacífico, *Lutjanus peru* (García-Hurtado, 2008, Dumas *et al.*, 2004, Pelcastre-Campos, 2006), el pargo amarillo *Lutjanus argentiventris* (Muhlia-Melo *et al.*, 2003; Guerrero-Tortolero *et al.*, 2010), el pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Alvarez-Lajonchere *et al.*, 2007); sin embargo, la gama de requerimientos tecnológicos, es sin duda vasta.

-Clasificación taxonómica de *Mycteroperca rosacea*

Reino: Animal

Phylum: Cordata

Subphylum: Vertebrata

Clase: Actinopterygii

Orden: Perciformes

Familia: Serranidae

Género: Mycteroperca

Especie: *Mycteroperca rosacea* (Street, 1877)

Nombre común: Cabrilla sardinera

(<http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.php?id=9398>).

La cabrilla sardinera se distribuye en todo el Golfo de California y hasta el sur de Jalisco. Los adultos se encuentran en aguas poco profundas, en arrecifes rocosos costeros de menos de 45 m de profundidad. Se considera un pez común de climas Templado Norte (norte del Golfo de California); Subtropical Norteño (Provincia de Cortez + Brecha de Sinaloa); Tropical Norteño (Provincia Mexicana) (Figura 1) (<http://www.aquamaps.org/receive.php>)



Figura 1. Mapa de área de distribución de *Mycteroperca rosacea* en México, desde el alto Golfo de California, hasta el sur de las costas de Jalisco.

Poseen una aleta dorsal única que presenta de 7 a 9 espinas y de 10 a 21 radios. La aleta anal con 3 espinas y de 7 a 13 radios. La aleta caudal puede ser truncada o cóncava con 13 a 15 radios ramificados. Las aletas pélvicas con 1 espina y 5 radios ramificados que se encuentran insertados por debajo o hacia atrás de la base de la aleta pectoral. El borde del pre-opérculo es aserrado. El opérculo posee 3 espinas planas. El borde superior del opérculo se encuentra libre y las membranas branquiales separadas. Posee el quinto ó sexto radio alargado en la aleta anal. La membrana inter-espinal no es dentada. Los

organismos de esta especie poseen de 37 a 43 branquio-espinas y el arco branquial superior más de 21 (Peláez-Mendoza, 1997).

Presenta una coloración entre verde oscuro, marrón y gris, cubierto con manchas irregulares marrones y rojas, y al final de la aleta caudal presenta un margen blanco; aunque las hay con un patrón mucho menos frecuente brillante entre el naranja y amarillo (Figura 2) (Heemstra y Randall, 1993).

Como todos los serránidos, son considerados depredadores activos, la cabrilla sardinera si bien no se encuentra en los niveles más elevados de la red trófica, si es un carnívoro voraz, los organismos juveniles y los adultos pequeños se alimentan de crustáceos móviles y peces, mientras que los individuos grandes son principalmente piscívoros (Heemstra y Randall, 1993).

Tanto machos como hembras alcanzan la madurez sexual entre los 3 y 5 años de edad, con tallas superiores a los 30 cm. Las cabrillas sardineras se agregan a partir de febrero y hasta mayo-junio, alimentándose de bancos de anchoas o sardinas en fondos rocosos a poca profundidad. En estas épocas se presentan individuos con gónadas bien desarrolladas. En el sur del Golfo de California, esta especie se reproduce principalmente en el cambio estacional primavera-verano (mayo y junio). En la porción central del golfo el desove se presenta en forma continua de Abril a Junio, sin que exista relación aparente con las fases lunares. Se han observado agregaciones de reproductores de hasta 800 individuos, en lugares situados en islas o cabos rocosos expuestos, con fondos de bloques o roca cercanos a desniveles importantes (Aburto-Oropeza *et al.*, 2008).



Figura 2. Reproductores de cabrilla sardinera (*Mycteroperca rosacea*) capturadas en San Evaristo BCS. con los dos patrones de coloración existentes.

2.2. Indicadores de condición en peces

Se define a un indicador de condición como: Una medida del potencial biológico, estado sanitario o fortaleza física del animal que aporta información acerca de su capacidad de supervivencia y crecimiento (Cara *et al.*, 2003).

El factor de condición (K), es una relación volumétrica en función del peso, para cuantificar numéricamente el estado de delgadez de los peces (Martinez-Millan, 1987).

La utilización de indicadores de condición en el diagnóstico de patología animales; donde el área de química sanguínea tiene gran importancia en esta aplicación, ofrece información adicional para realizar un diagnóstico más preciso que conducirá al tratamiento específico, por métodos no letales. Hay pocas herramientas disponibles para diagnosticar y monitorear el estado de un pez. Sin embargo, los análisis de sangre pueden revelar la situación nutricional, estado fisiológico, las situaciones de hábitat de los en respuesta al estrés, los contaminantes y la nutrición, así como las condiciones ecológicas y fisiológicas (Bahmani *et al.*, 2001).

2.3. Parámetros bioquímicos

Los estudios sobre parámetros hematológicos y química sanguínea en peces, son actualmente de mucho interés, además, que la utilidad de estos valores aumenta su importancia cuando se trata de especies con interés de cultivo comercial, ya que estos análisis son indicadores rápidos de cualquier perturbación fisiológica que pueda afectar la salud de la población piscícola (Bastardo y Diaz-Barberan, 2004).

Sin embargo, es necesario conocer los patrones de acumulación y utilización de reservas de energía en reproductores, ya que esto ayuda a evaluar la calidad y condición fisiológica de los organismos; dado que durante la fase reproductiva, se presentan una disminución de los niveles de dichas reservas, lo cual se asocia a que el animal debe movilizar sus reservas para obtener la energía necesaria para el crecimiento de la gónada (Montgomery y Galzin, 1993).

Actualmente, se reconoce, que los parámetros bioquímicos de la sangre de los peces parecen ser un medio adecuado para indicar dicha condición de salud, así como las manifestaciones biológicas, por lo que se evaluaron cuatro parámetros bioquímicos en

la sangre de reproductores de cabrilla sardinera, así como en los huevos y larvas obtenidas (Sanver, 2004).

2.3.1. Proteínas

El nivel de proteínas en plasma puede ser utilizado como un excelente indicador de diagnóstico y resulta ser una prueba muy útil para evaluar el estado fisiológico general (De Pedro *et al.*, 2004), ya que las proteínas son la fuente de aminoácidos esenciales y proporcionan nitrógeno para la síntesis de aminoácidos no esenciales, que en los peces resulta vital, pues son más dependientes de los aminoácidos como precursores de la glucosa, pues ésta, no se encuentra en su dieta natural, además de que la ingesta de proteína determina el crecimiento; por lo que determinar los niveles de proteínas en plasma, nos confiere la capacidad de evaluar la condición nutricional de los organismos (Young, 1996).

Una deficiencia de aminoácidos indispensables retarda el crecimiento, genera una pobre ganancia de peso vivo y la eficiencia alimenticia. En casos severos, provoca deficiencia en la capacidad de resistir las enfermedades y disminuye la eficacia de la respuesta inmune (Bureau y Cho, 1999).

El contenido de proteína bruta en la dieta de reproductores de peces, influye sobre el crecimiento, la fecundidad, la viabilidad y la calidad de los huevos y en las malformaciones de las larvas, evidenciándose significativamente en los porcentajes de huevos flotantes y las tasas de eclosión en varias especies como el *Pagrus pagrus* (Watanabe *et al.*, 1984), la dorada, *Sparus aurata* (Tandler *et al.*, 1995) y la lubina europea, *Dicentrarchus labra* (Cerdá *et al.*, 1994). En el *Pagrus pagrus*, se estimó que el nivel de proteína requerido en la dieta de reproductores era de 45%, ya que se observó que con la dieta con niveles más bajos se incrementaban los niveles de insulina y se reducían los niveles hormonales (Watanabe *et al.*, 1984).

Además se ha observado que durante la maduración y crecimiento gonádico, los peces aumentan el consumo de proteínas para poder mantener sus funciones vitales ganando mayor cantidad de tejido corporal y un incremento en el tamaño y peso de la gónada (Tacon y Cowey, 1985).

2.3.2. Colesterol

Los ácidos grasos liberados producto de la lisis del colesterol en particular, son la fuente de energía metabólica favorecida en los peces, especialmente los peces marinos, como lo demuestran los elevados niveles de aceite (más del 20% del peso en húmedo) que se puede lograr en algunos peces. García-Hurtado en el 2008, menciona que la variación estacional en los niveles de lípidos está relacionada fundamentalmente, con el ciclo reproductivo, ya que es un patrón en la naturaleza que los peces acumulen grandes reservas de lípidos durante la primavera y finales de verano cuando el alimento esta en plenitud; las grasas también tienen un papel muy importante en el suministro de energía para la reproducción (Sargent *et al.*, 2002). Por eso, una variación fuertemente marcada de la concentración de colesterol puede ser consecuencia de un incremento del índice gonadosomático, debido a que el colesterol ha sido incorporado a la estructura endógena de los ovocitos.

2.3.3. Triglicéridos

Al igual que el colesterol, los niveles de triglicéridos en los organismos, indican el estado nutricional de los peces, ya que existen patrones de acumulación y utilización de las reservas de energía durante la fase reproductiva, para luego presentar una disminución en los niveles, lo cual significa que el animal debe movilizar sus reservas para obtener la energía necesaria para el crecimiento de la gónada; pudiendo con esto, detectar disfunciones reproductivas debido a entre otras causas, a deficiencias nutricionales en los reproductores. Lo que trae como consecuencia la ausencia de maduración final de los gametos ó, deficiencias en la calidad de huevos y larvas (Mylonas y Zohar, 2001; Izquierdo, *et al.*, 2001; Álvarez-Lajonchere, 2006).

En los peces, los triglicéridos son la principal fuente de energía, ya que a partir de ellos obtienen más del doble de la energía que pueden obtener de los carbohidratos. Esto se debe a que los carbonos que componen a los ácidos grasos están menos reducidos que los de los azúcares, por lo que liberan más energía. Además se acumulan en forma anhidra, por lo que ocupan menos espacio por unidad de energía producida (Sargent, 1995).

2.3.4. Lípidos

Los lípidos desempeñan muchas funciones: el suministro de energía, como molécula de estructura, como precursores de muchas sustancias reactivas, entre otras. La forma más común de encontrar los lípidos en los peces es en triglicéridos y fosfolípidos. Los peces son incapaces de sintetizar ácidos grasos con insaturación en posición n-3 o n-6 sin embargo, estos tipos de ácidos grasos son esenciales para muchas funciones, por lo que estos dos tipos de lípidos son, esenciales para ellos. Una deficiencia de estos ácidos grasos provoca reducción del crecimiento y un número de los signos de deficiencia, incluyendo despigmentación, la erosión de las aletas, miopatía cardíaca, infiltración de grasa en el hígado y el "síndrome del shock" (pérdida de la conciencia durante unos segundos después de un estrés agudo) (Bureau y Cho, 1999).

Se sabe que el nivel de ácidos grasos esenciales es muy importante, pero no necesariamente en todo el año, sino que puede presentar diferencias estacionales muy importantes en sus requerimientos; Cerdá *et al.* (1995) demostraron la influencia de los lípidos de la dieta sobre el comportamiento reproductivo, con una gran reducción en la fecundidad y viabilidad de los huevos de reproductores alimentados con dietas comerciales deficientes en ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3, comparados con aquellos alimentados con una dieta completa. Carrillo *et al.* (2000) por su parte, demostró en la lubina europea, que presentó mayor número de huevos viables y mayores porcentajes de eclosión, cuando recibieron una dieta enriquecida con ácidos grasos, especialmente DHA y EPA, durante el periodo de vitelogénesis, que parece ser el periodo de mayor importancia para la incorporación de ácidos grasos.

2.4. Citometría hemática

Los componentes formes de la sangre de los peces suelen variar siguiendo patrones filogenéticos y ecológicos, en particular sus hábitos tróficos y modos de vida. Ya en la práctica, la acuicultura intensiva requiere del control de situaciones de estrés y/o enfermedad, a fin de asegurar la salud de los peces (Tavares-Dias y Maqueiro, 2004).

Sabemos que la sangre participa directa o indirectamente en casi todos los procesos bioquímicos del cuerpo; el intercambio gaseoso, el transporte de hormonas, la defensa contra la invasión bacteriana y los mecanismos de inmunidad son algunas funciones importantes de los componentes sanguíneos. La facilidad con la que la sangre puede ser obtenida hace de su examen un elemento de diagnóstico viable (Voigt, 2000).

Y es precisamente la citometría hemática, una herramienta empleada con éxito como instrumento de diagnóstico en la ciencia veterinaria; pero en acuicultura es aún muy poco usada, debido al escaso conocimiento sobre los parámetros fisiológicos normales de las especies de peces de importancia comercial (Kinkelin *et al.*, 1985). Aunado a esto, los factores fisiológicos como ciclo reproductivo, edad, género y nutrición han demostrado ser generadores de cambios en los parámetros sanguíneos de los peces (Valenzuela *et al.*, 2007).

La sangre de los peces puede ser caracterizada a través de variables, en particular hematocrito, concentración de hemoglobina, recuento de eritrocitos y leucocitos e índices hematimétricos. Estos componentes celulares son los encargados de diferentes funciones como el transporte de oxígeno, actividad coagulante y la respuesta inmune. Su morfología, presencia y/o ausencia dependerá de la especie. (Centeno *et al.*, 2007; Tavares-Dias *et al.*, 2007).

2.4.1. Serie roja

Los eritrocitos son las células más abundantes en la sangre de los peces; su principal función es el transporte de oxígeno a las branquias y tejidos, con ayuda de la hemoglobina y en menor grado el transporte de CO₂ (Satchell, 1991).

El porcentaje de hematocrito, hemoglobina y la tasa de recuento de eritrocitos son buenos indicadores de la capacidad de transporte de oxígeno de los peces, por lo que es posible establecer relaciones con la concentración de oxígeno disponible en el hábitat y el estado de salud de estos peces (Luskova, 1998).

La eritropoiesis en peces, salvo en la trucha arcoíris del Ártico (*Salvelinus alpinus*), es activada cuando la demanda de oxígeno es superior al oxígeno disponible. Lo que se relaciona pues, tanto con factores ambientales como con factores como la reproducción (Lecklin y Ikinmaa, 1998).

Aunque la cantidad de eritrocitos varía con cada especie, algunos investigadores coinciden que en general los teleósteos presentan concentraciones promedio de 1 a 3×10^6 células/mm³. Evaluar la concentración de eritrocitos, indican la capacidad de transporte de O₂ en la sangre y la habilidad de un organismo para encontrar los requerimientos de O₂ metabólico (Jaramillo-Sachadebrodt, 2005).

La citometría hemática en peces ha mostrado también su utilidad en otras disciplinas como contaminación (Marshall *et al.*, 1985; Falk *et al.*, 1990), ecología (Kock, 1992, Wilhelm *et al.*, 1992), diferenciación de stocks y genética (De Cristini y Graziosi, 1976). No obstante, la mayoría de los estudios so siempre enfocados a especies dulceacuícolas, existiendo realmente poca información hematológica de especies marinas.

2.4.2. Serie Blanca

Las células de la serie blanca (leucocitos) son las involucradas en el sistema inmune innato; su clasificación, al igual que la de los leucocitos de todos los vertebrados, se ha realizado por criterios morfológicos según los cuales se distinguen varios tipos: linfocitos, granulocitos y macrófagos (Ellis, 1977); además de su función como presentadores primarios de antígenos en la respuesta inmune adquirida, son los principales fagocitos de los peces, secretan citoquinas proinflamatorias (Blazer, 1991; Dalmo *et al.*, 1997), aparecen en los eventos tempranos de inflamación en diferentes enfermedades (Zlotkin *et al.*, 2003; Pulido *et al.*, 2004; Ewart *et al.*, 2008).

Por otra parte, también existen leucocitos granulares en peces, denominados al igual que en mamíferos: neutrófilos (heterófilos), eosinófilos (acidófilos) y basófilos según sus características tintoriales a pesar de que no aparecen siempre en las distintas especies y sus funciones biológicas no son idénticas. Los neutrófilos, al igual que sus análogos de mamíferos, tienen funciones fagocíticas, quimiotácticas y bactericidas, actividad de mieloperoxidasa, explosión respiratoria y poseen la capacidad de degranulación de gránulos primarios (Hine, 1992; Fernández *et al.*, 2002a; Fernández *et al.*, 2002b; Palic *et al.*, 2007).

2.5. Calidad en huevos y larvas

Los huevos y larvas de los teleósteos, son los estados más sensibles en el ciclo de vida, las más mínimas variaciones en factores ambientales o en la calidad del huevo, afectan fuertemente los procesos de desarrollo, que acarrea efectos sustanciales en el crecimiento futuro y la supervivencia (Swanson, 1996).

Ya sea un desove obtenido de forma natural o de forma inducida, es esencial que los huevos y las larvas sean de la más alta calidad; ésta calidad puede ser modificada por las reservas bioquímicas de los huevos, y las principales reservas son las gotas lipídicas (constituidas por triglicéridos) y la vitelina (fosfolípidos y proteínas). Dichas reservas dependen de la correcta transferencia de reservas de parte del reproductor al huevo, por lo que un estado nutricional y de salud adecuado del reproductor influye directamente sobre el desarrollo lecitotrófico (Ronnestad *et al.*, 1998).

Dado que durante el desarrollo lecitotrófico no hay alimentación externa, la supervivencia larvaria dependen completamente de las reservas bioquímicas, por lo que en el proceso de alimentación de los reproductores, se debe tener particular cuidado en el contenido de lípidos. Para los peces en general, los lípidos y en particular los acilgliceridos, son la principal fuente de energía, son estos los principales constituyentes de la gota lipídica, aunque también son abundantes en el vitelo. Sin embargo, los peces marinos no pueden sintetizar ácidos grasos altamente insaturados (HUFA por sus siglas en ingles), dado que no presentan actividad de algunas enzimas de elongación y desaturación, como consecuencia, los HUFA se consideran esenciales para peces marinos y deben ser suministrados en la dieta (Sargent *et al.*, 1995).

Los HUFA son selectivamente transferidos a la gónada y dependiendo de la especie, alcanzan valores de entre 25 y 50 % de los ácidos grasos totales en los huevos (Palacios *et al.*, 2007). La adecuada proporción de HUFA de la serie n-3 y n-6 en los huevos es esencial dado que afecta la fertilización y eclosión (Wanatabe y Carrol, 2001).

Una vez entendido esto, tenemos que uno de los principales obstáculos para el cultivo larvario radica en la posibilidad de poder evaluar dicha calidad usando análisis fáciles que permitan identificar la calidad temprana de huevos y larvas para evaluar si es conveniente continuar con el proceso de cría de un lote de huevos o larvas que puedan tener baja probabilidad de supervivencia (Carrillo *et al.*, 2000; Bromage *et al.*, 2001).

3. JUSTIFICACIÓN

Uno de los aspectos más limitantes de la acuicultura de peces marinos, es la insuficiencia de larvas de calidad, que conviertan a esta en una actividad viable. Hoy en día los índices de condición en acuicultura pueden ser aprovechados con dos propósitos; el primero es un fin económico, en el que el índice es un referente de la calidad comercial del producto., y el segundo es un fin ecofisiológico, en el que el índice se emplea para caracterizar el aparente grado de salud del cultivo, al englobar la actividad fisiológica de los animales bajo determinadas condiciones de cultivo. Sin embargo, dichos índices requieren de parámetros basales, de referencia, los cuales hasta la fecha son escasos para especies con potencial de cultivo.

Así mismo, el conocimiento de la relación que guarda la condición nutricional y de salud de los reproductores con respecto a la composición bioquímica de los desoves resulta imperante; entendiendo que dicha relación reproductor-progenie, confiere a las larvas una elevada probabilidad de un óptimo desarrollo embrionario y una mayor capacidad al cultivo. En este marco, si se pretende evaluar e incrementar la calidad de los desoves producidos en cautiverio, debe hacerse a través de análisis de parámetros que permitan establecer el potencial de desarrollo del huevo recién fertilizado.

Por lo que el presente trabajo tiene por objetivo evaluar las implicaciones de los parámetros bioquímicos y fisiológicos como posibles determinantes de la calidad de los desoves de reproductores de *Myceroperca rosacea* y así aportar mayor conocimiento a la biología de ésta especie, que permita incentivar la piscicultura de esta especie en México.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Evaluar la condición nutricional y el estado de salud de reproductores de *Mycteroperca rosacea* y relacionarlo con la calidad de la progenie.

4.2. Objetivo específicos

- Evaluar la condición nutricional de los reproductores, a través de químicas sanguíneas.
- Evaluar el estado de salud de los reproductores de cabrilla sardinera mediante citometrías hemáticas.
- Evaluar la condición bioquímica de huevos y larvas obtenidos a partir de reproductores de origen silvestre, tomando en cuenta parámetros como la fecundidad, la viabilidad y los porcentajes de eclosión.
- Establecer la relación entre la condición nutricional, el estado de salud y la calidad en los huevos.

5. HIPÓTESIS

Si la condición nutricional y el estado de salud de los reproductores de cabrilla sardinera se encuentran relacionados con la calidad de la progenie; entonces, se podrá monitorear y controlar la calidad de huevos y larvas a través de análisis sanguíneos de los progenitores.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Colecta de reproductores de cabrilla sardinera *Mycteroperca rosacea*

Se realizaron 5 salidas de campo de dos días cada una a la localidad de San Evaristo, para la colecta de reproductores de cabrilla sardinera (n= 52) en los meses de Febrero a Septiembre del 2011; capturadas con línea de mano y sardina viva como carnada; se transportaron al patio de cultivo del CIBNOR, donde los peces fueron anestesiados con eugenol para realizar la biometría, sexado, marcado, y toma de muestras de sangre con tubos Vacutainer mediante punción caudal; para inmediatamente después, una de las muestras centrifugarlas a 4000 r.p.m. por 5 minutos a -4°C para la obtención de plasma, y la otra utilizarla para la citometría hemática.



Figura 3. Captura, transportación, sexado y marcado de reproductores de cabrilla obtenidos durante el 2011.

6.2. Factor de condición K

Se registró la longitud total (mm) con un ictiómetro, el peso corporal (g) de cada organismo capturado para estimar el factor de condición (K).

$$(K) = (W_t/L_t^3) \times 100$$

Donde: W_t es el peso total del pez (g), L_t es la longitud total (mm).



Figura 4. Mediciones biométricas realizadas a reproductores de *Mycteroperca rosacea*.

6.3. Química sanguínea

6.3.1. Proteínas

Para la determinación de proteínas en plasma, se utilizó una solución reactiva comercial de Sigma (solución de ácido bicinónico B9643 y solución de sulfato de cobre II C2284). Se tomó una alícuota de 20 μ L de la muestra por triplicado y se colocó en el fondo de una microplaca (placa Elisa); se le agrega el reactivo preparado de BCA. Se incubó a 60°C durante 15 minutos y se lee su absorbancia en un espectrofotómetro de placas (Termo Multiskan spectrum) a 562 nm.

A la par, se utilizó una solución estándar con una concentración de 2mg/ml de albúmina bovina, la cual se diluye en proporción 1:2 en solución salina hasta tener concentraciones, de 2, 1 0.5, 0.25, 0.125, .0625 y 0.03125 mg/ml de proteína y solución salina como blanco.

La concentración de proteínas se calcula:

$$\text{Conc. de Proteínas (mg/ml)} = (\text{Abs.Sol.Prob.} \times \text{FD}) / (m \times \text{cantidad de muestra})$$

Donde: FD es el factor de dilución y m es la pendiente en la curva tipo.

6.3.2. Triglicéridos

Para la determinación de triglicéridos se utilizó una solución reactiva comercial GPO-Trinder (Randox), se tomó una alícuota de 20 μ L por triplicado, que se colocaron en el fondo de una microplaca elisa, se le agregan 200 μ L de solución reactiva, se incuban 20 minutos y se leen en un espectrofotómetro de microplacas (Termo Multiskan spectrum) a una absorbancia de 540 nm.

De igual manera, se utilizó una curva tipo, la cual contiene 200mg/dL, de ésta se prepararon diluciones en proporción 1:2, en 1mL de solución diluyente, quedando concentraciones de 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 y 3.125 mg/dL de triglicéridos.

La cantidad de triglicéridos se calcula con la siguiente relación:

$$\text{Conc. de triglicéridos (mg/mL)} = (\text{Abs.sol.prob.x FD}) / (m * 100)$$

Donde: m es la pendiente en la curva tipo y FD es el factor de dilución

6.3.3. Colesterol

Para colesterol, se utilizó una prueba enzimática colorimétrica, Metodo CHOD-PAP (kit de RANDOX, No. catalogo CH200), se toma una alícuota de 20 μ L por triplicado y se pone en el fondo de una microplaca, se le agregan 200 μ L de solución reactiva, se incuban 15 minutos y se leen en un espectrofotómetro de microplacas (Termo Multiskan spectrum) a una absorbancia de 540 nm.

La curva de colesterol contiene 200mg/dL, de ésta se prepararon diluciones en proporción 1:2, en 1mL de solución diluyente, quedando concentraciones de 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 y 3.125 mg/dL de colesterol.

La cantidad de colesterol se calcula con la siguiente relación:

$$\text{Conc. de colesterol (mg/mL)} = (\text{Abs.sol.prob.x FD}) / (m * 100)$$

Donde: m es la pendiente en la curva tipo y FD es el factor de dilución

6.3.4. Lípidos totales

Para la determinación de lípidos totales, se utilizó el método de la sulfafosfovainillina según Barnes y Balckstock (1973). Donde una alícuota de 20 μ L de cada muestra por triplicado, se colocan en tubos de vidrio, se les agrega 250 μ L de ácido sulfúrico concentrado y se incuban a baño maría a 90°C, por 10 minutos. Posteriormente se tomaron 20 μ L de cada tubo y se colocaron en el fondo del pozo de una microplaca, se le agregó solución reactiva para lípidos (fosfovainillina al 0.2% en ácido sulfúrico al 80%) se dejó incubar la placa por 40 minutos a temperatura ambiente y se tomó la lectura en el espectrofotómetro de microplacas (Termo Multiskan spectrum) a una absorbancia de 540 nm.

La curva tipo de la solución estándar de lípidos (Lin-Trol Sigma L2648) contiene 25mg/ml, de ésta se preparan diluciones en proporción 1:2, en 1mL de solución salina, quedando concentraciones de 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.78125, 0.390625 y 0.1953125 mg/ml de lípidos. Se utiliza solución salina como blanco.

La cantidad de lípidos se calcula con la siguiente relación:

$$\text{Conc. de lípidos (mg/gr)} = (\text{Abs.sol.prob.x FD}) / (m)$$

Donde: m es la pendiente en la curva tipo y FD es el factor de dilución

6.4. Citometría hemática

6.4.1. Hemoglobina

Se homogenizó la sangre mediante agitación suave con un sistema automático, se pipetea 5mL del reactivo de Drabkin y se agregaron 0.02mL de sangre; se agitó el tubo mediante inversión (4-5 veces) para homogenizar la mezcla sangre-reactivo, y se esperan 5 minutos a que se realice la hemólisis total; la sangre se hemolisa por agregado

de un agente densoactivo, con el ferrocianuro de potasio se oxidan el átomo de fierro de ferroso a férrico para producir metahemoglobina. El cianuro de potasio estabiliza la metahemoglobina pasando de cianometahemoglobina. La cloración producida es directamente proporcional a la concentración de hemoglobina presente. Se mide espectrofotometría a 546

6.4.2. Hematocrito

Se basa en la separación de los eritrocitos y el plasma cuando se centrifuga la sangre; La porción celular se compara con la cantidad total de la sangre y se expresa en porcentaje.

6.4.3. Eritrocitos

Consiste en un método óptico de recuento celular, para ello, se tomó una muestra de sangre con una pipeta de Thoma para glóbulos rojos; se realizó una dilución 1:200 con el diluyente de Hayem y se colocó en una cámara de Neubauer; se dejó reposar 3 minutos para que sedimenten los eritrocitos y se realiza un conteo manual; si se considera que el retículo central tiene 400 cuadritos se realizará el siguiente cálculo.

$$N \times 200 \times 10 \times 400 = N \times 10,000 / 80$$

Donde:

N= Número de eritrocitos contados

200=Titulo de la dilución

10= Corrección de la profundidad de la cámara de Neubauer

400=Total de cuadros pequeños del cuadro central de la cámara

80=Total de cuadros pequeños contados

6.4.4. Serie blanca

Se tomó una muestra de sangre con una pipeta de Thoma para glóbulos blancos, se realizó una dilución 1:20 utilizando ácido acético que destruye a los eritrocitos. El azul de metileno permite reconocer fácilmente el líquido y observar mejor los glóbulos blancos, a los que tiñe ligeramente; se colocó en una cámara de Neubauer; se dejó reposar 3 minutos para que sedimenten los leucocitos y se realizó un conteo manual.

Se aplico la siguiente fórmula:

$$N \times 20 \times 10 = N \times 50 / 4$$

Donde:

N= Número de leucocitos contados

20= Título de la dilución.

10= Corrección de la profundidad de la cámara

4= Total de cuadros contados.

6.4.5. Diferencial leucocitario

El recuento diferencial de células de la serie blanca, se realizó en 200 células sobre extendidos teñidos con Wright que consiste en una tinción de Romanowsky con azul de metileno y sus productos de oxidación, así como eosina Y o eosina B, se promedió el resultado para cada una de la células.

6.4.6. Plaquetas

Las plaquetas son los elementos más pequeños de la sangre por lo que es importante que el liquido de la dilución sea filtrado recientemente; se utilizo oxalato de amonio al 1% a una concentración de 1:100 para destruir los eritrocitos; se utilizó una caja de petri como “caja húmeda” donde se colocó una gasa húmeda y se dejo reposar durante 20 minutos la cámara de Neubauer con la muestra para que sedimenten las plaquetas; se contó al microscopio en la misma superficie utilizada para el conteo de glóbulos rojos y se aplico la siguiente fórmula:

$$N \times 100 \times 10 \times 400 = N \times 5000 / 80$$

Donde:

N=Número de plaquetas contadas;

100= Título de la dilución.

10= Corrección de la profundidad de la cámara para ajustar el volumen a 1uL

400= Total de cuadros pequeños del cuadrante central de la cámara.

80= Total de cuadros contados.

6.5. Calidad de huevos y larvas

Una vez etiquetado y sexado, cada hembra se indujo al desove por medio de la aplicación de Gonadotropina Coriónica Humana (GCH) en dos inyecciones, la primera de 1000 UI/Kg de peso corporal y 24 horas después la segunda de 500 UI/Kg; para el caso de los machos, se aplicó una sola dosis de 500 UI/Kg (Gracia-López *et al.*, 2004). El momento de la puesta se determinó con base en la inflamación del abdomen, el grosor de la papila urogenital de las hembras y la observación al microscopio de una muestra de huevos tomada por canulación. Los huevos y el esperma se obtuvieron por medio de masaje abdominal y la fecundación se realizó por el método seco en recipientes de 5 L.

Se obtuvieron 5 desoves de 5 diferentes hembras; cada uno fue puesto en una cubeta de plástico con 15 litros de agua y se agitó levemente para que los huevos se dispersen en dicho volumen, se tomaron 5 muestras de 15 ml cada una para contar el número de huevos y por extrapolación, calcular el número total de huevos por hembra (fecundidad total). Posteriormente, los huevos que quedan en el recipiente se dejaron reposar por 5 minutos para separar los que flotan de los que se hunden. Los huevos flotantes (viables) fueron transferidos a otro recipiente de 15 L y se contaron nuevamente tomando 5 muestras de 15 ml.

Se tomaron muestras de los 5 desoves para la determinación del diámetro y de la gota lipídica siguiendo la metodología descrita por Gracia-López *et al.* (2004). A la par, se sembraron placas de Eliza de 96 pozos con un huevo en cada pozo para evaluar el porcentaje de eclosión y el resto de los huevos, se sembraron en tanques de 80 litros a 35 ppm de salinidad y 25°C de temperatura con aireación suave.

Una vez eclosionados, se tomó una muestra de las larvas, obtenidas de cada desove para su medición al microscopio y para ser liofilizadas igualmente se tomó una muestra de

huevos a las cuales se les realizó un análisis bioquímico para determinar proteínas totales, lípidos totales, triglicéridos y colesterol, siguiendo la misma metodología descrita en la bioquímica sanguínea de los reproductores.

Las mediciones de huevos y larvas se realizaron por medio de fotografías tomadas con una cámara digital (Cool SNAP-Pro Colour MediaCybernetics) montada sobre un microscopio óptico (OLYMPUS BX4, MediaCybernetics). Las imágenes fueron analizadas con el programa Image-ProPlus version 5.0 y se obtuvo el diámetro de huevos (DH) y de la gota lipídica (DGL)

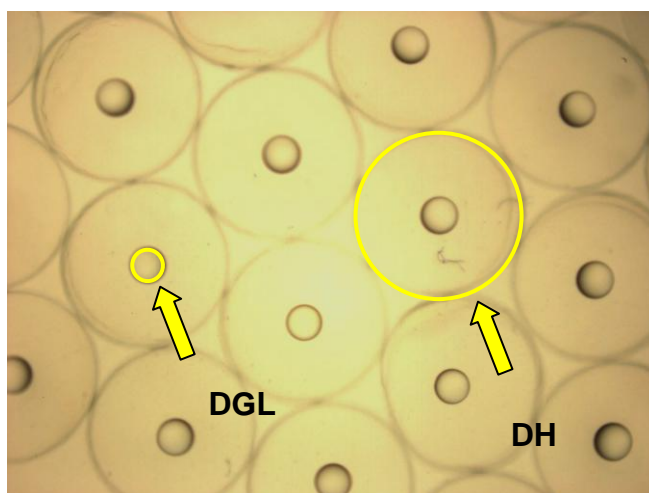


Figura 5. Mediciones biométricas realizadas a huevos de *Mycteroperca rosacea*. DGL= Diámetro de la gota lipídica, DH= Diámetro del huevo.

Así mismo, se calculó la longitud notocordal de larvas recién eclosionadas y el volumen del saco vitelino (VSV) siguiendo la fórmula propuesta por Blaxter y Hempal (1966).

$$\text{VSV (mm}^3\text{)} = \pi/6 \text{LH}^2$$

Donde:

L= La longitud del saco vitelino

H= Anchura del saco vitelino.

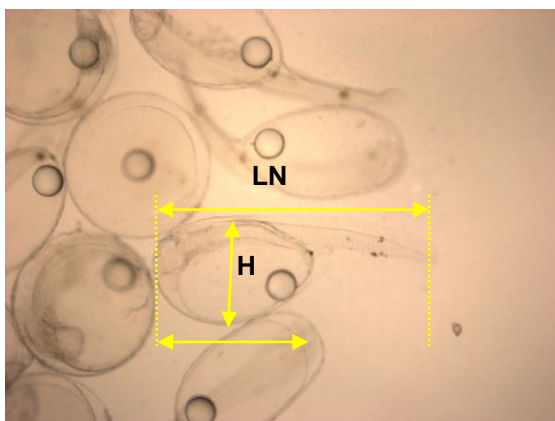


Figura 6. Mediciones biométricas realizadas a larvas de *Mycteroperca rosacea*. LN=Longitud notocordal, H=Anchura del saco vitelino y L=Longitud del saco vitelino.

6.6. Perfil de ácidos grasos

Los ácidos grasos fueron determinados en huevos y larvas. Las muestras fueron liofilizadas y una vez pesadas (15 µg), se resuspendieron en solución Folch más el BHT; fueron sonicadas por 15 minutos (3 ciclos), en un sonicador Branson Ultrasonic Clear 1210 e incubados por 24 hrs/4°C, luego fueron secadas utilizando para ello nitrógeno gaseoso (N₂). Los ácidos grasos fueron esterificados añadiendo a cada muestra 2.5 ml de ácido metanólico 3N (HCl:CH₃OH 5% v/v) (Sato y Murata, 1988), luego los metil ésteres de ácidos grasos fueron extraídos agregando 1 ml de hexano dos veces y se lavaron tres veces con 2 ml de agua destilada, se secaron una vez más con nitrógeno gaseoso. Finalmente la determinación de los ácidos grasos se llevó a cabo utilizando un cromatógrafo de gases GC/MS (VARIAN CP-3800 1200 QUADRUPOLE MS), acoplado a detector de espectro de masas con un rango de masas de 45-450 m/z (masa/carga), empleando una columna capilar de sílice fundida empacada con 2-polietilenglicol como fase estacionaria de 30 m de longitud, 0.25 mm diámetro interno y 0.25 µm espesor de film (Supelco Omegamax™ 250). Las concentraciones encontradas fueron expresadas como µg/mg de tejido.

6.7. Análisis estadísticos

Se realizaron análisis de varianza de una sola vía (ANOVA) para la comparación de medias de los valores obtenidos tanto en las bioquímicas sanguíneas como en las citometrías hemáticas, así como de las mediciones de los huevos (diámetro del huevo y diámetro de la gota lipídica) y larvas (volumen del saco vitelino y longitud notocordal) y pruebas de Duncan para determinar las diferencias significativas entre éstos ($P < 0.05$).

Se realizaron pruebas de correlación de Pearson para establecer algún tipo de relación entre los parámetros obtenidos de los reproductores con los de la progenie.

Los análisis se realizaron utilizando el software XLSTAT versión 7.5.2 para Windows (1995-2004 Addinsoft ®) y las gráficas se elaboraron con el software Sigma Plot versión 11.0 para Windows (2008 Systat Software Inc. ®).

7. RESULTADOS

7.1. Factor de condición K

Los resultados de la determinación de el factor de condición K, (Fig. 7), no presentan variaciones significativas a lo largo de todo el ciclo reproductivo natural de la cabrilla sardinera ($P < 0.05$); siendo en el muestreo de 26 de Junio donde se encuentran los valores más elevados de condición ($K=1.5$), mientras que el valor más bajo de condición, se observa en el muestreo del día 23 de Septiembre ($K=0.96$).

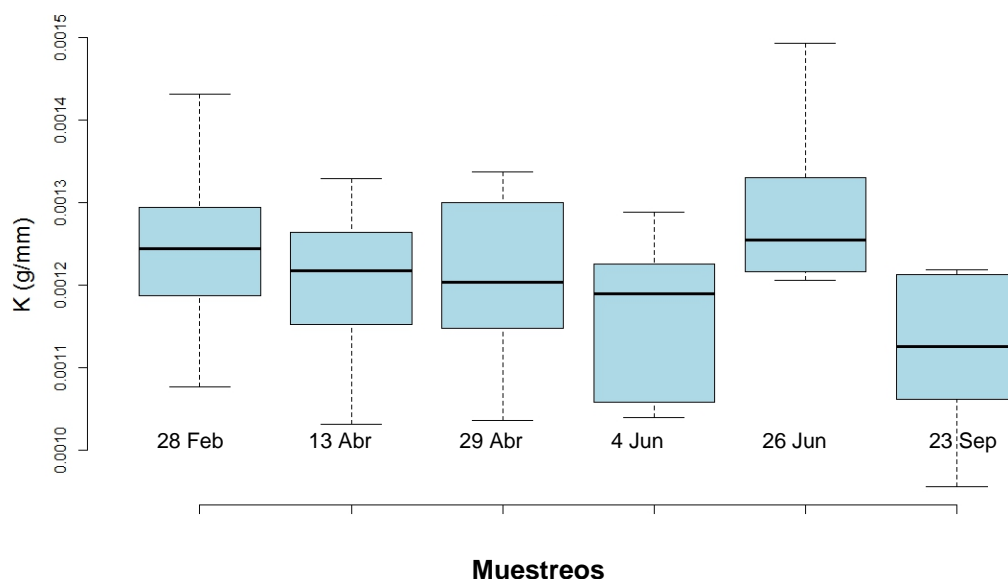


Figura 7. Comparación del factor de condición (K), de los organismos capturados ($n=52$), durante cada uno de los muestreos de reproductores de *Mycteroperca rosacea* a lo largo de un ciclo reproductivo, promedio \pm la desviación estándar ($P < 0.05$).

7.2. Bioquímicas sanguíneas de los reproductores

El contenido de proteínas (Fig. 8) fue mayor durante el periodo de desove ($42.29 \pm D.S$) Al igual que en las proteínas, la mayor concentración de Lípidos totales, presenta su nivel más alto durante la etapa de desove ($10.98 \text{ mg/mL} \pm D.S$) cayendo

significativamente ($P < 0.05$) durante la etapa de reposo ($5.67 \pm D.S$) (Fig. 8). Por su parte, la concentración de colesterol no muestra diferencias significativas a lo largo del año, teniendo el nivel más elevado en la etapa de maduración ($0.760 \text{ mg/mL} \pm D.S$) y el nivel mínimo durante el desove ($0.682 \text{ mg/ml} \pm D.S$) ($P < 0.05$).

Por el contrario el nivel más elevado triglicéridos (Figura 8) se presentó en la época de reposo ($1.78 \text{ mg/mL} \pm D.S$) y la concentración más baja durante la época de maduración ($1.14 \text{ mg/ mL} \pm D.S$).

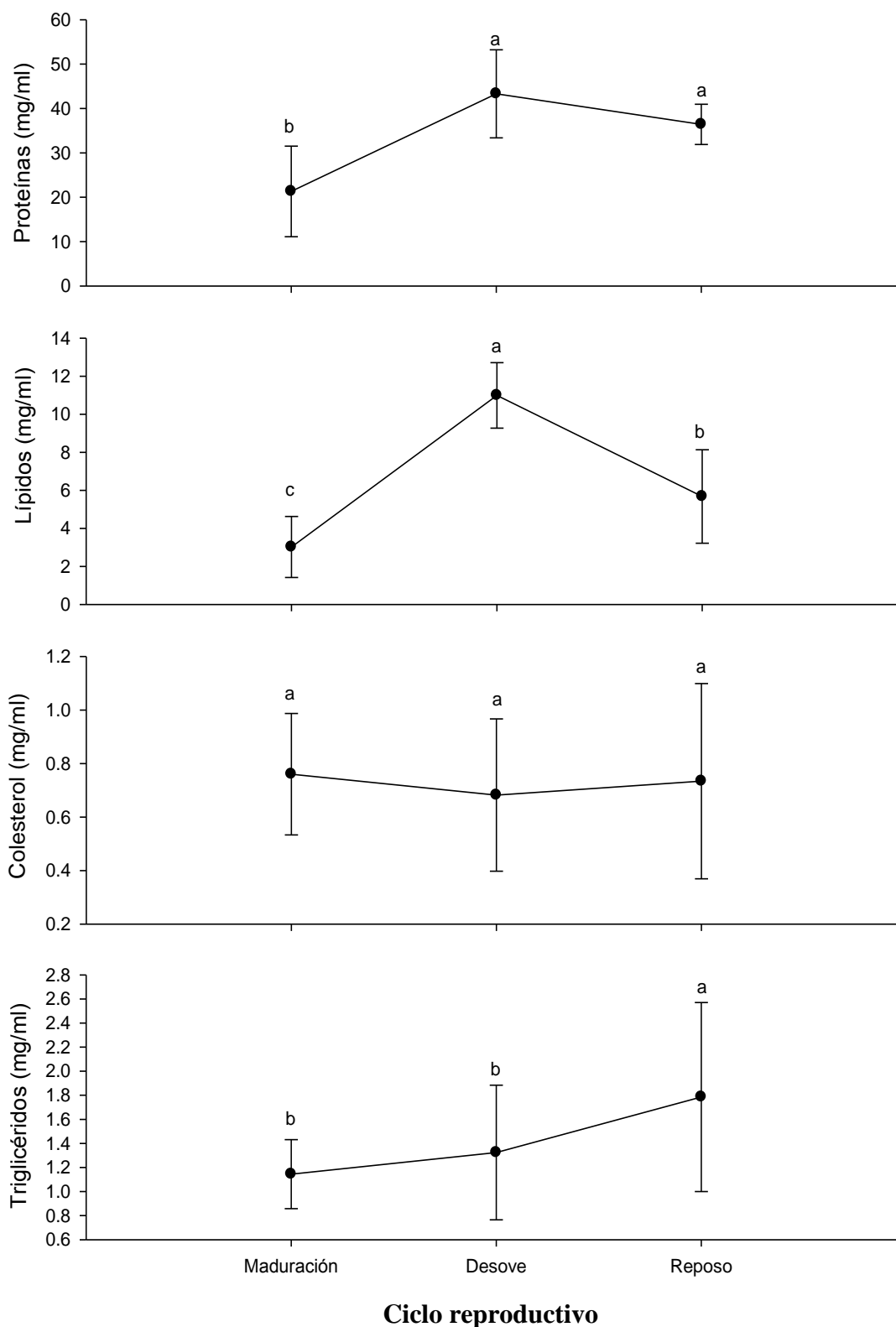


Figura 8. Bioquímica sanguínea de reproductores de *Mycteroperca rosacea* (n=52) a lo largo de un ciclo reproductivo, promedio \pm la desviación estándar, seguidas por una letra diferente que indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

7.3. Citometría hemática

7.3.1. Serie roja

En todas las células de la serie roja el nivel más elevado se presenta en el periodo de desove, de 4.12 M/ μ L, 10.53 g/dL y 41% para eritrocitos, hemoglobina y hematocrito respectivamente; en el caso de los eritrocitos y el hematocrito, el nivel más bajo de concentración se da durante el periodo de reposo (2.68 M/ μ L y 33.2% respectivamente) mientras que para la hemoglobina, el nivel es significativamente bajo ($P < 0.05$) durante el periodo de maduración (7.62 g/dL) (Figura 9).

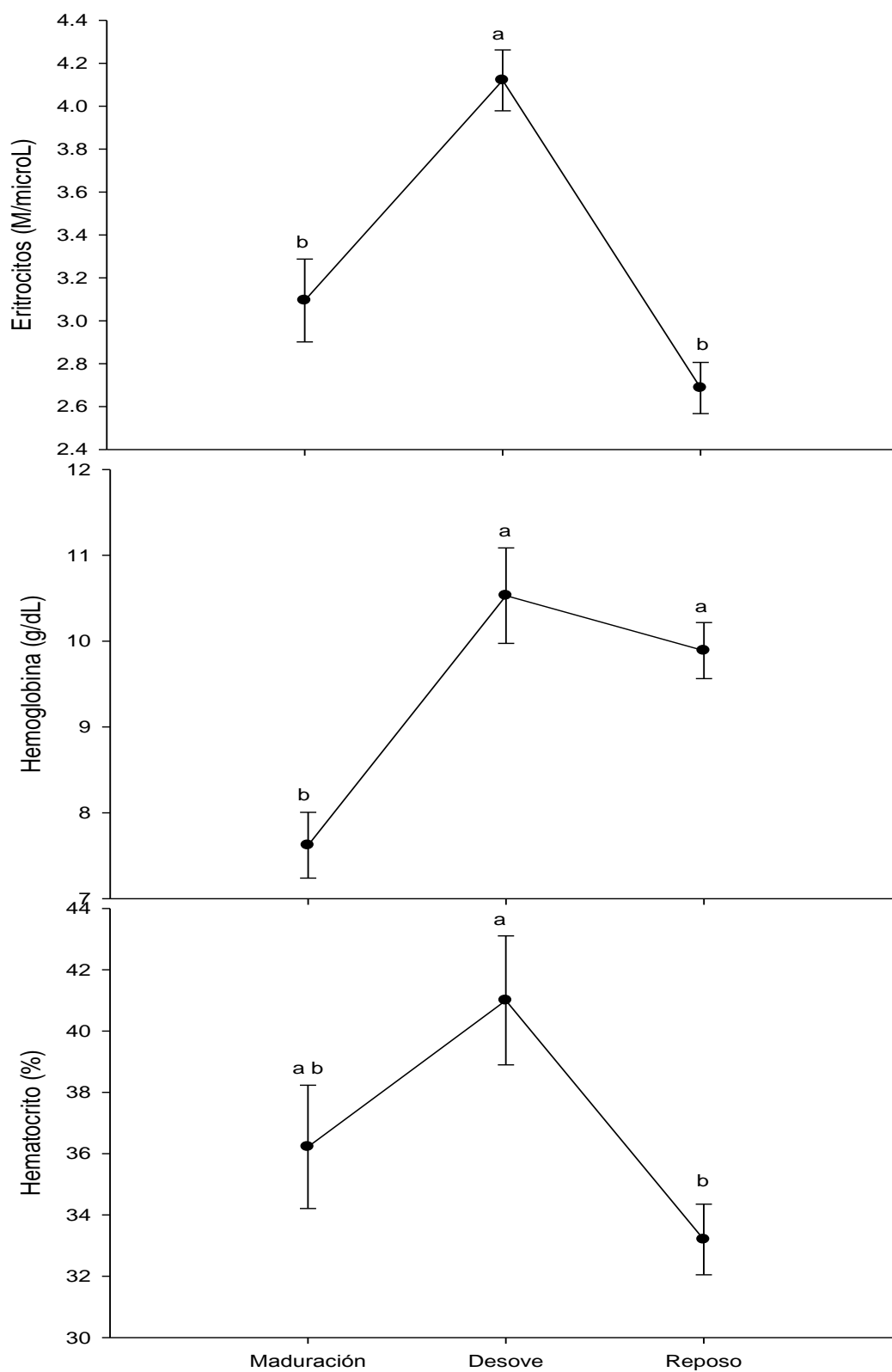


Figura 9. Citometría hemática de reproductores de *Mycteroperca rosacea* (n=52) a lo largo de un ciclo reproductivo, promedio \pm la desviación estándar, seguidas por una letra diferente que indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

7.3.2. Serie blanca.

Los niveles de concentración de leucocitos son significativamente mayores durante el periodo de desove (9.82×10^3 cel/mm³), en comparación con el periodo de maduración que es donde se encontraron los niveles más bajos (6.91×10^3 cel/mm³) (Figura 10).

Por el contrario, en los niveles de concentración de linfocitos existe diferencia estadística ($P < 0.05$) en la época de reposo, donde la concentración es marcadamente superior (60.8×10^3 cel/mm³) a la época de maduración, donde se presentó el nivel más bajo (37.44×10^3 cel/mm³) (Figura 10).

De forma inversa, lo neutrófilos presentan la concentración más elevada en el periodo de maduración (62.44×10^3 cel/mm³) reduciéndose en las etapas de desove y reposo, que es donde se presentó el nivel más bajo (39.2×10^3 cel/mm³) (Figura 10).

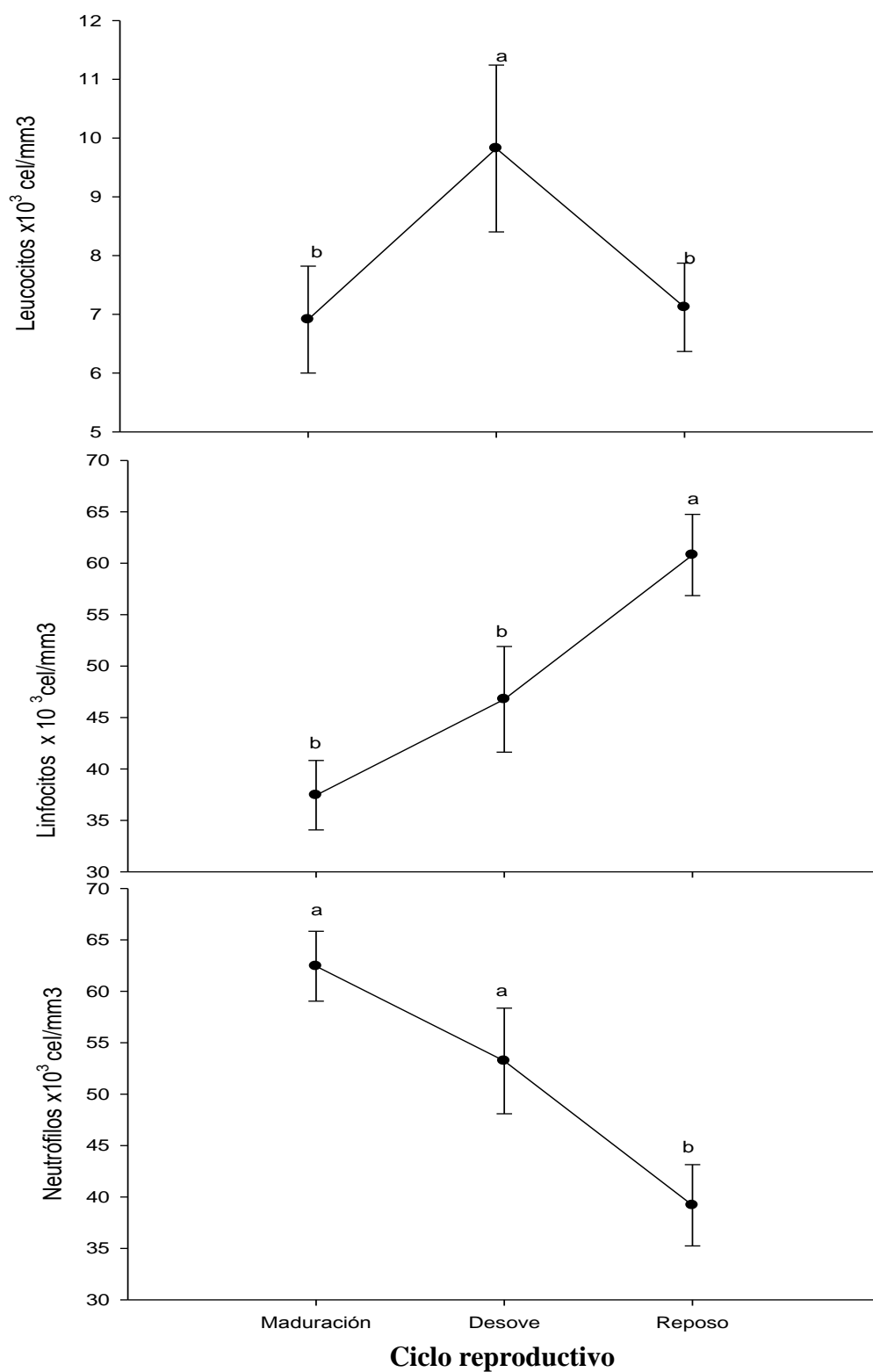


Figura 10. Citometría hemática de reproductores de *Mycteroperca rosacea* (n=52) a lo largo de un ciclo reproductivo, promedio \pm la desviación estándar, seguidas por una letra diferente que indican diferencias significativas (P<0.05)

7.3.3. Plaquetas

Las concentraciones de plaquetas a lo largo del año fluctúan ligeramente, presentando diferencias significativas ($P < 0.05$) durante el periodo de desove ($139.0 \times 10^9/L$) con respecto a la maduración y el reposo (Figura 11).

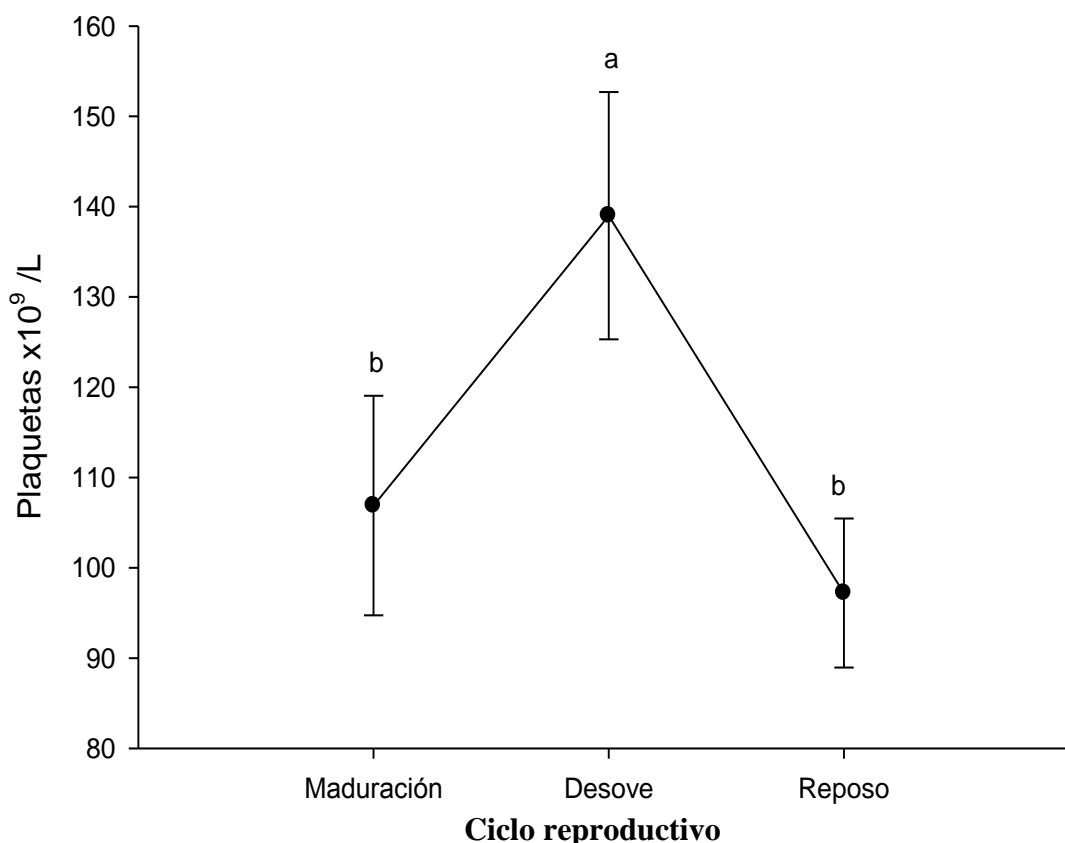


Figura 11. Concentración de plaquetas en sangre de reproductores de *Mycteroperca rosacea* ($n=52$) a lo largo de un ciclo reproductivo, promedio \pm la desviación estándar, seguidas por una letra diferente que indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

7.4. Calidad de huevos y larvas

7.4.1. Valoración del desove

La tabla I, muestra los valores de fecundidad total, fecundidad relativa y porcentaje de eclosión, obtenidos de las 5 hembras inducidas al desove, donde se observa que de la hembra mas grande, se obtuvo el mayor numero de huevos (208 000) y la menor cantidad de huevos (81 000) provienen de una de las hembras de menor peso corporal, sin embargo, el porcentaje de eclosión fluctúa en 37% para todos los casos.

Tabla I. Valores de fecundidad total, fecundidad relativa y porcentaje de eclosión, obtenidos de cada desove mediante inducción hormonal de cabrilla sardinera *Mycteroperca rosácea* (n=5).

Hembra	Peso (g)	Fecundidad total (No. Huevos)	Fecundidad relativa (No. Huevos)	% de eclosión (Huevos eclosionados)
1	1150	170 800	148 520	39.58
2	1390	183 000	131 650	35.40
3	2726	208 000	77 030	37.50
4	1194	81 400	68 400	36.45
5	1356	147 200	109 030	36.45

7.4.2. Parámetros bioquímicos en huevos

La figura 12 indica los niveles (mg/g) de proteínas, lípidos totales, triglicéridos y colesterol presentes en los huevos de cabrilla obtenidos por inducción hormonal, encontrando diferencias poco marcadas entre desoves para la mayoría de los parámetros, sin embargo, para el caso de proteínas totales, los desoves 1 y 4 (HH1 y HH4) presentan una concentración casi del doble en comparación con el resto de los desoves obtenidos.

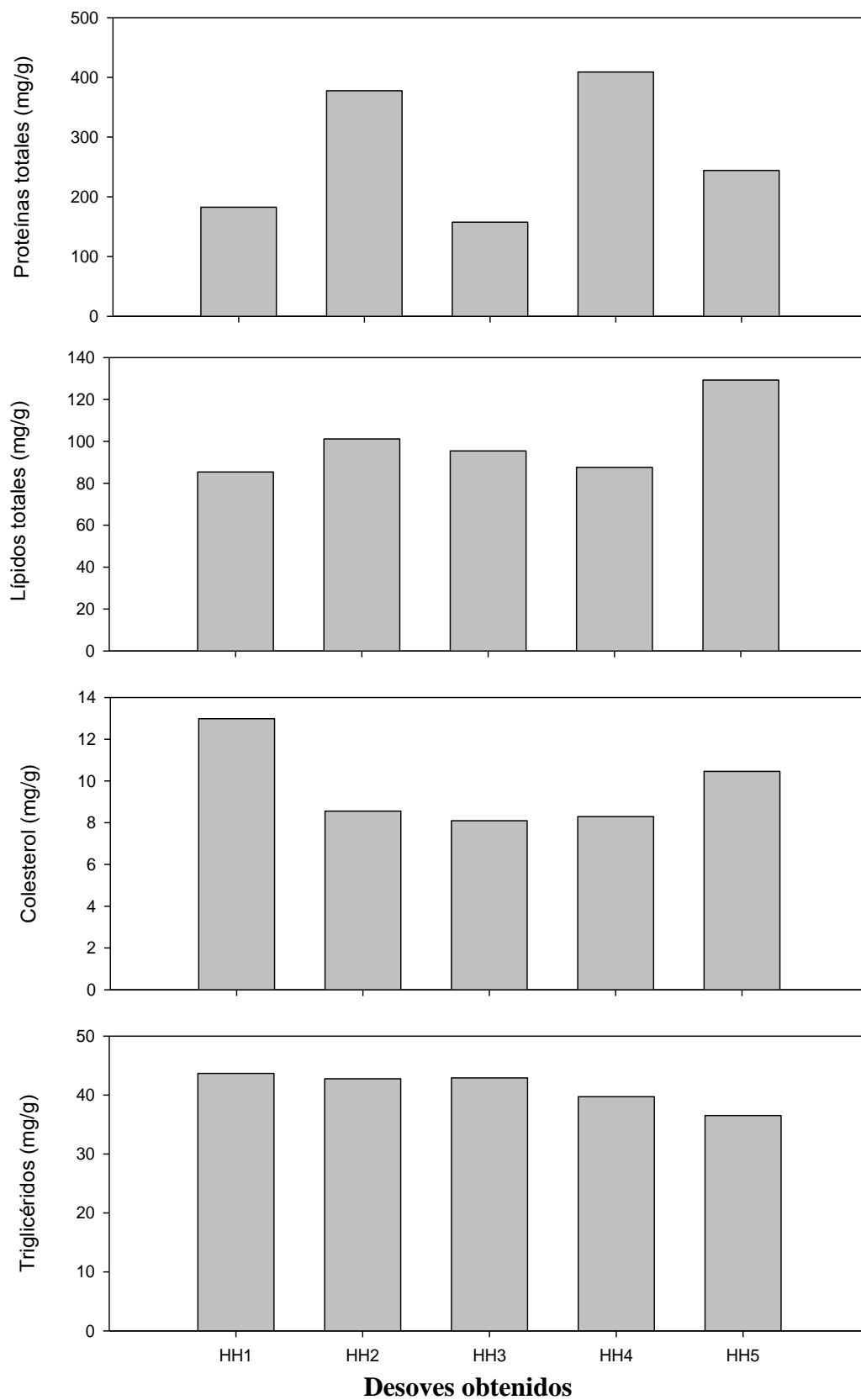


Figura12. Valores bioquímicos de huevos de cada hembra (HH) obtenidos de desoves de reproductores silvestres de *Myxeroperca rosacea*.

7.4.3. Parámetros bioquímicos en larvas

Los parámetros bioquímicos en larvas (Fig 13), a diferencia de los resultados en los bioquímicos en huevos, presentan diferencias más marcadas en la concentración de proteínas y lípidos, mientras que para colesterol y triglicéridos, las diferencias son más sutiles, presentando concentraciones similares a la reportada en huevos.

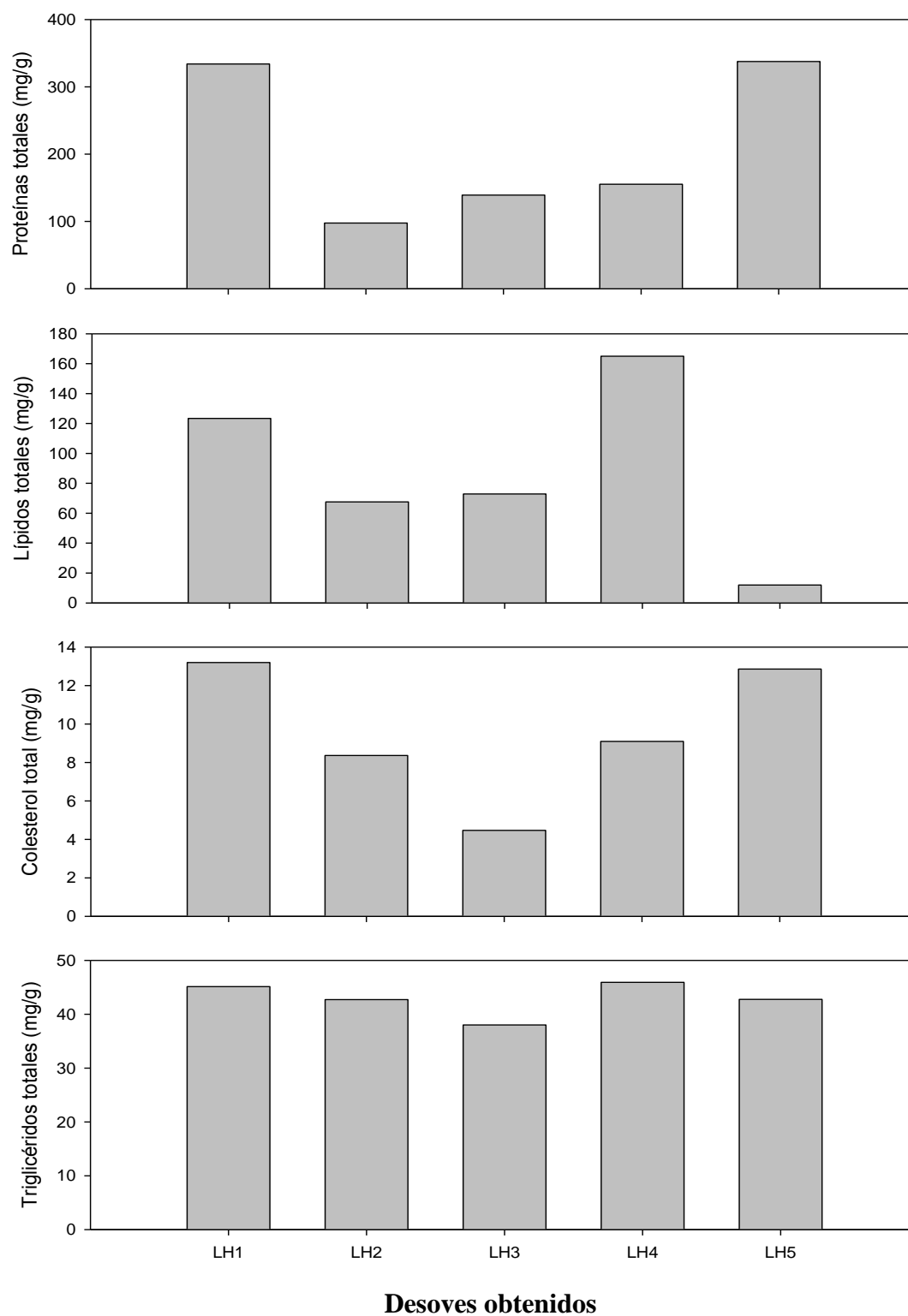


Figura 13. Valores bioquímicos de larvas obtenidas de cada desove (LH) de reproductores silvestres de *Myxoterperca rosácea* (n=5).

7.4.4. Calidad de huevos

El diámetro de los huevos obtenidos, presenta marcadas diferencias entre cada desove, siendo el desove de la hembra 4 (DH4) el que presenta el mayor diámetro de huevos ($846.6 \pm 46.4 \mu\text{m}$) y 1 hembra 3 (DH3) el que presento los menores diámetros de huevo ($795.4 \pm 17.8 \mu\text{m}$), mientras que el mayor diámetro de la gota lipídica, lo presentó la hembra 1 (DH1) ($192.3 \pm 6.8 \mu\text{m}$).

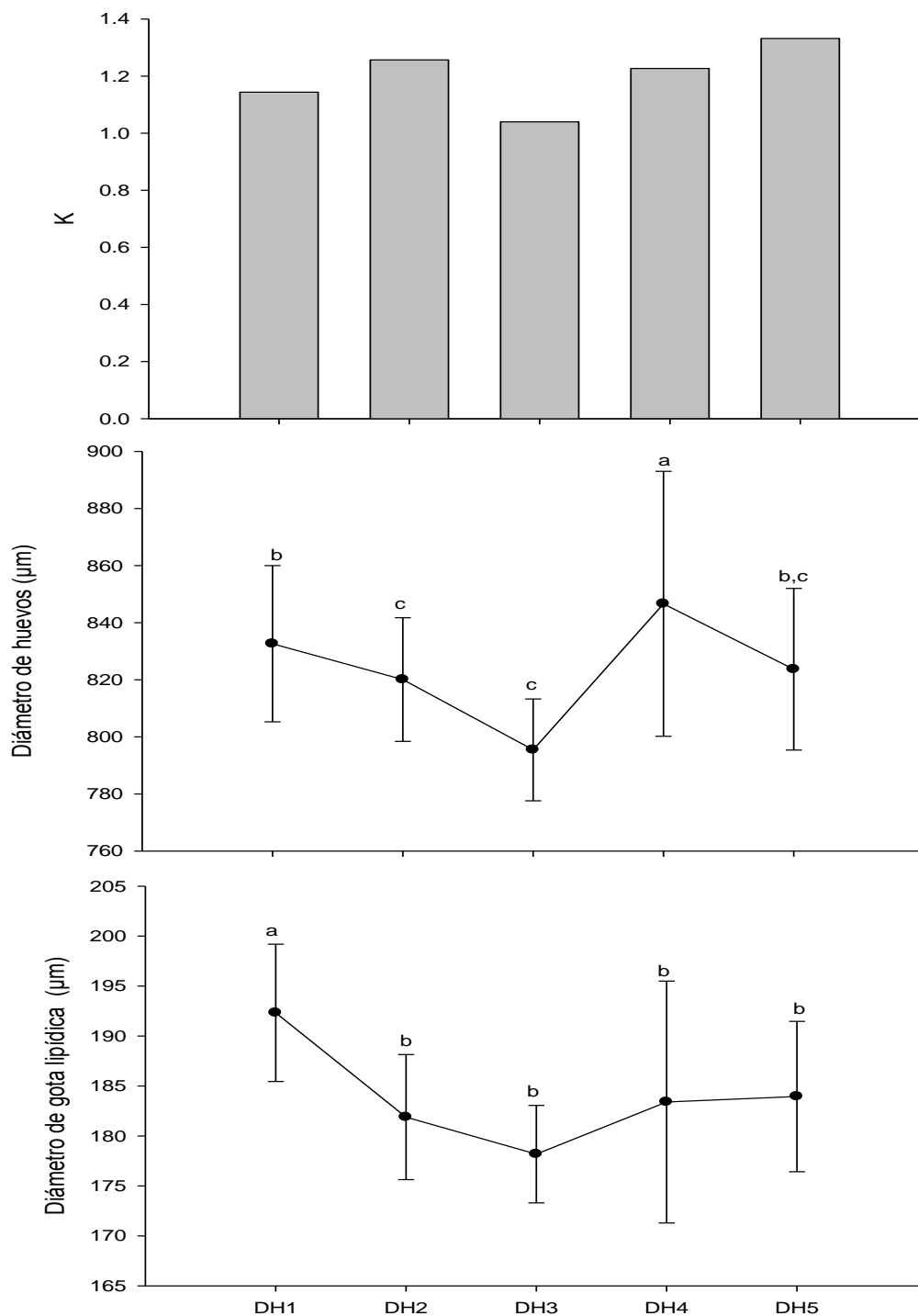


Figura 14. Factor de condición K, de cada hembra desovada (n=5) y las distintas medidas de huevos (Diámetro del huevo y diámetro de la gota lipídica) de cinco diferentes desoves obtenidos por inducción hormonal durante el periodo reproductivo natural de la cabrilla sardinera *Myxerperca rosacea*.

7.4.5. Calidad de larvas recién eclosionadas

En las mediciones morfológicas de las larvas recién eclosionadas, la hembra 2 (LH2) muestra una marcada diferencia en el volumen del saco vitelo con respecto al resto de las hembras ($0.83 \pm 0.06 \text{mm}^3$) siendo la hembra 1 (LH1) la de menores volúmenes ($0.16 \pm 0.02 \text{mm}^3$) ($P < 0.05$); sin embargo la longitud notocordal entre cada desove no presenta diferencias significativas siendo la hembra 4 (LH4) la que presentó el mayor tamaño de larvas ($1676.8 \pm 87.5 \mu\text{m}$) y la hembra 1 (LH1) la de menor tamaño ($1642.4 \pm 106.4 \mu\text{m}$)

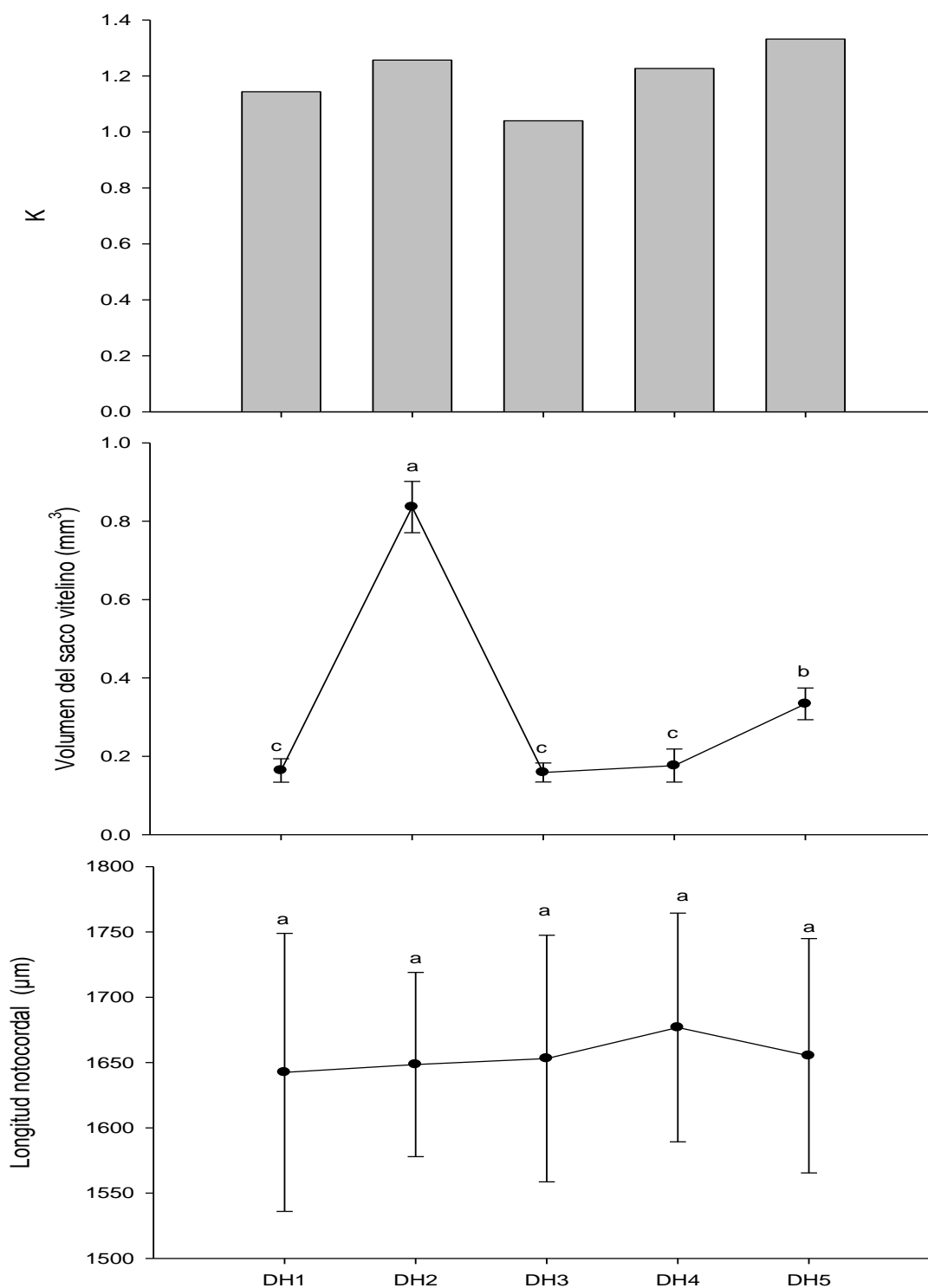


Figura 15. Factor de condición K, de cada hembra desovada y las medidas de larvas recién eclosionadas (Longitud notocordal y volumen del saco vitelino) de cinco diferentes desoves obtenidos por inducción hormonal durante el periodo reproductivo natural de la cabrilla sardinera *Mycteroperca rosacea* ($P < 0.05$).

7.4.6. Perfil de ácidos grasos

En la tabla II se muestran las concentraciones de casa ácidos grasos encontrados en huevos (HH) y larvas (LH), obtenidos por inducción hormonal (n=5); donde se puede observar que el ácido Palmítico (16:00), es el más abundante tanto para huevos como para larvas, seguido del ácido Lignocérico (24:00).

Tabla II. Ácidos grasos contenidos ($\mu\text{g}/\text{mg}$) en huevos (HH) y larvas (LH) obtenidos mediante inducción hormonal de cabrilla sardinera *Mycteroperca rosácea* (n=5)

	HH1	HH2	HH3	HH4	HH5	LH1	LH2	LH4	LH5
14:00	0.84	0.97	0.12	0.32	0.42	0.49	0.3	0.35	0.36
14:01	0	0.04	0	0	0	0.03	0	0	0
15:00	0.21	0.19	0.05	0.11	0.09	0.12	0.06	0.1	0.09
15:01	0	0	0	0	0.09	0.23	0	0	0.03
16:00	10.89	10.84	1.64	4.54	5.27	7.42	4.12	3.74	5.48
16:01	1.74	2.13	0.23	0.72	1.03	1.06	0.67	0.84	0.82
17:00	0.17	0.21	0	0.17	0.14	0.13	0.08	0.08	0.11
17:01	0.14	0.14	0	0.1	0.31	0.39	0.07	0.13	0.28
18:00	4.14	4.55	0.77	2.13	2.28	2.82	1.82	2.01	2.68
18:1 n9 c	3.12	2.99	0.33	1.2	1.52	2.15	1.03	1.08	1.42
18:01	0.8	0.7	0.08	0.37	0.45	0.57	0.27	0.27	0.39
18:2 n6	0.44	0.49	0.07	0.2	0.39	0.31	0.16	0.21	0.28
18:3 n6	0	0	0	0.08	0	0.15	0	0	0
18:3 n6	0.15	0.16	0	0.11	0.17	0.2	0.07	0.09	0.1
20:00	0.1	0.07	0	0.09	0	0.11	0.1	0.06	0.11
20:1 11	0.19	0.24	0	0.1	0.08	0.08	0.07	0	0
20:02	0.06	0.07	0	0	0	0	0	0	0
21:00	0.06	0.13	0	0	0.48	0.56	0	0	0
20:04	0.98	0.77	0.12	0.54	0.05	0.08	0.27	0.24	0.6
20:3 n3	0	0	0	0	0.08	0.1	0	0	0
20:5 n3 c	0.58	0.44	0.05	0.25	0.33	0.41	0.12	0.12	0.31
22:00	1.16	0.87	0.11	0.5	0.66	0.83	0.23	0.25	0.62
24:01:00	0.31	0.24	0.05	0.16	0.16	0.23	0.09	0.12	0.17
22:6 n3	1.06	0.19	0.16	0.06	0.19	0.15	0.15	0.12	0.11
24:00:00	6.64	6.17	0.85	3.69	3.73	4.81	1.58	1.53	3.49
Total	33.78	32.6	4.63	15.44	17.92	23.43	11.26	11.34	17.45

La tabla III y IV, muestran las sumatorias de los distintos ácidos grasos, presentes en huevos y larvas recién eclosionadas de cabrilla sardinera, ordenados por su clasificación estructural; donde se puede observar que la mayor concentración de ác. grasos, son ácidos grasos saturados, seguidos de los ácidos grasos monoinsaturados.

Tabla III. Concentraciones de ácidos grasos ($\mu\text{g}/\text{mg}$) presentes en huevos de cabrilla sardinera, ordenados según su clasificación Σ SAT= Suma de ác. grasos saturados; Σ MUFA= Suma de ác. grasos monoinsaturados; Σ PUFA= Suma de ác. grasos poliinsaturados; $\Sigma n6$ = Suma de ác. grasos de la serie omega6; $\Sigma n3$ =Suma de ác. grasos de la serie omega3.

	HH1	HH2	HH3	HH4	HH5
ΣSAT	17.87	18.25	2.76	8.02	9.53
ΣMUFA	3.17	3.48	0.36	1.45	2.12
ΣPUFA	3.22	2.04	0.40	1.25	1.21
$\Sigma n6$	0.59	0.65	0.07	0.40	0.56
$\Sigma n3$	1.65	0.62	0.21	0.31	0.60

Tabla IV. Concentraciones de ácidos grasos ($\mu\text{g}/\text{mg}$) presentes en larvas recién eclosionadas de cabrilla sardinera, ordenados según su clasificación Σ SAT= Suma de ác. grasos saturados; Σ MUFA= Suma de ác. grasos monoinsaturados; Σ PUFA= Suma de ác. grasos poliinsaturados; $\Sigma n6$ = Suma de ác. grasos de la serie omega6; $\Sigma n3$ =Suma de ác. grasos de la serie omega3.

	LH1	LH2	LH4	LH5
ΣSAT	12.88	6.93	6.86	9.60
ΣMUFA	2.60	1.17	1.36	1.68
ΣPUFA	1.41	0.76	0.78	1.39
$\Sigma n6$	0.66	0.23	0.30	0.37
$\Sigma n3$	0.67	0.26	0.24	0.42

7.5. Correlaciones

La tabla V muestra marcadas en negrita, las correlaciones significativas; encontrando correlaciones entre reproductores-huevos para el caso de proteínas; sin embargo en triglicéridos, aunque existe una correlación, ésta es inversa; lo mismo ocurre en el caso de huevos-larvas, donde los lípidos muestran una correlación inversa significativa; para el resto de los parámetros, no existe una correlación significativa entre las distintas muestras.

Tabla V. Correlaciones entre reproductores-huevos, reproductores-larvas y huevos-larvas, los números en negritas significa que existe una correlación significativa. r= coeficiente de correlación.

	Reproductores-Huevos		Reproductores-Larvas		Huevos-larvas	
	r	P	r	P	r	P
Proteínas	0.904	0.035	-0.762	0.134	-0.498	0.393
Lípidos	0.528	0.361	-0.214	0.73	-0.887	0.045
Triglicéridos	-0.934	0.02	-0.005	0.993	-0.19	0.76
Colesterol	0.542	0.345	0.211	0.733	0.827	0.084

La tabla VI muestra marcada en negrita, las correlaciones significativas; encontrando una correlación estadísticamente significativa entre el diámetro de la gota lipídica y la concentración de colesterol en los huevos. Sin embargo el resto de los parámetros, no presentan correlación con las medidas morfométricas de los huevos.

Tabla VI. Correlaciones entre el diámetro del huevo y la gota lipídica con los parámetros de los análisis bioquímicos en huevos, los números en negrita indican que existe una correlación significativa. r= coeficiente de correlación.

	Diámetro del huevo		Diámetro de la gota lipídica	
	r	P	r	P
Proteínas	0.607	0.278	-0.162	0.795
Lípidos	-0.219	0.724	-0.250	0.685
Triglicéridos	-0.294	0.631	0.136	0.827
Colesterol	0.298	0.626	*0.925	0.024

La tabla VII, presenta los valores del coeficiente de correlación obtenidos en la comparación entre las medidas morfométricas de las larvas recién eclosionadas y los valores obtenidos de la bioquímica de los mismos, sin encontrar ninguna correlación significativa entre estos.

Tabla VII. Valores de correlaciones entre las medidas morfométricas de las larvas y los parámetros bioquímicos de las mismas, donde r= coeficiente de correlación.

	Volumen del saco vitelino		Longitud notocordal	
	r	P	r	P
Proteínas	-0.426	0.475	-0.312	0.610
Lípidos	-0.381	0.527	0.455	0.441
Triglicéridos	-0.025	0.968	0.301	0.623
Colesterol	-0.061	0.922	-0.200	0.747

La tabla VIII, muestra marcada en negro y con asterisco la correlación negativa que existe entre el factor de condición K de los reproductores y la concentración de proteínas en sangre.

Tabla VIII. Correlaciones entre el factor de condición (K) de los reproductores y los parámetros de la bioquímica sanguínea., los números en negritas indican que existe una correlación significativa. r=coeficiente de correlación.

	Factor de condición (K)	
	r	P
Proteínas	*-0.704	0.184
Lípidos	-0.866	0.058
Triglicéridos	-0.792	0.111
Colesterol	-0.420	0.482

La tabla IX, muestra marcado en negritas y con asterisco, la correlación que existe entre el factor de condición K de los reproductores y el porcentaje de hematocrito observado en las citometrías hemáticas de los reproductores, sin encontrar ninguna correlación estadísticamente significativa para el resto de los parámetros analizados.

Tabla IX. Correlaciones entre el factor de condición (K) de los reproductores y los parámetros de la citometría hemática, los números en negritas indican que existe una correlación significativa. r= coeficiente de correlación.

	Factor de condición (K)	
	r	P
Eritrocitos	-0.354	0.559
Hemoglobina	-0.455	0.441
Hematocrito	*-0.960	0.010
Leucocitos	0.780	0.120
Linfocitos	0.311	0.611
Neutrofilos	-0.311	0.611
Plaquetas	0.467	0.428

8. DISCUSIÓN

La biopsia realizada a la llegada de los reproductores (n=52), confirmo la presencia de ovocitos en diferentes estadios de maduración, evidenciando el desarrollo gonadal asincrónico por grupo de esta especie determinado por Kiewek-Martínez (2004) y Erisman *et al.* (2007), por lo que fueron inducidas 5 hembras que presentaron un estado de maduración vitelogénica avanzada ya que de lo contrario no se logra la maduración final del ovocito tras el tratamiento hormonal (Myonas y Zohar, 2001)

Igualmente importante es conocer el factor de condición K, que en este estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas a lo largo del ciclo reproductivo natural de la cabrilla sardinera; sin embargo, en el último muestreo del día 23 de Septiembre, se observa una ligera tendencia a disminuirse el valor de K; estos datos, son consistentes con las fechas reproductivas descritas por Aburto-Oropeza *et al.* (2008), quien establece Julio y Septiembre como el fin del periodo reproductivo (dependiendo la localidad) y dado que durante la fase reproductiva se presenta una movilización de reservas para obtener la energía necesaria para el crecimiento de la gónada, es de esperar que conforme avance el ciclo reproductivo, se observe una tendencia a disminuir tanto músculo como tejido adiposo, lo que confiere a los peces un estado de delgadez superior al que presentan al inicio de la temporada de reproducción.

Esta tendencia a disminuir K, ha sido descrita por Bromage *et al.* (1992), quienes establecieron que los peces sufren modificaciones importantes debido al crecimiento y diferenciación de las gónadas. Sin embargo, Chandrasekhara y Krishnan (2011), encontraron que algunos serranidos como *Epinephelus diacanthus*, mantienen los valores de K conforme avanza el periodo reproductivo; esto, asociado a los hábitos conductuales durante la fase reproductiva ya que, a diferencia de otros peces (Barnham y Baxter, 1998) la cabrilla no deja de alimentarse durante el periodo de reproducción, por lo que Aburto-Oropeza *et al.* (2008), menciona que es precisamente durante la fase reproductiva cuando las cabrillas sardineras forman agregaciones para la reproducción, cuando son más susceptibles a un esfuerzo pesquero mal canalizado que pudiera acarrear daños en los stock naturales; este mismo hecho, fue el que nos permitió la captura de organismos durante todo el ciclo reproductivo y a su vez, explica porque no hubo diferencias significativas en el valor de K, a lo largo de todo el ciclo.

Con los valores de K observados en los reproductores capturados para este trabajo, podemos inferir que todos los ejemplares contaban con un estado de salud adecuado; sin embargo, si bien el valor de K es útil para comparar cambios estacionales del estado nutricional de los individuos de una población, McPherson *et al.* (2011), sugieren que es necesario complementarlo con otras herramientas de observación directa. Por tal motivo, para alcanzar un mejor entendimiento de la dinámica de la condición nutricional y de salud de los peces, se realizaron las bioquímicas sanguíneas.

Las bioquímicas sanguíneas, arrojaron diferencias significativas en la concentración de proteínas, lípidos y triglicéridos siendo para proteínas y lípidos los niveles más altos justo durante el periodo de desove; lo que coincide con lo encontrado en otras especies como *Tinca tinca* y *Scophthalmus romus*, donde el contenido de proteínas y lípidos en plasma también se incrementa durante el pico reproductivo y disminuyen significativamente después de éste (Svoboda *et al.*, 2001; Hachero-Cruzado *et al.*, 2007).

Dado que las demandas energéticas de los peces, son muy diferentes a la de animales homeotermos, porque en primer lugar, no gastan energía en calentar el cuerpo; en segundo lugar, la locomoción y el mantener la posición del cuerpo en la masa de agua requiere menos energía que en aire y tercero que la proteína actúa a la vez como nutriente, para la misma proteína del cuerpo del pez, y como sustrato energético, Castelló (1993) advierte que éste efecto de ahorro y retención de proteína pueden propiciar el aumento de las concentraciones de lípidos en los peces.

Así pues, se ha concluido que los altos contenidos de lípidos, en el plasma de los peces, se deben principalmente a la movilización a partir del hígado y otros tejidos destinados al crecimiento gonádico, mientras que los niveles de proteína aumentan tras la síntesis en el hígado de vitelogenina y su transporte continuo hacia la gónada durante el desove (Johnson *et al.*, 1991).

Por su parte, los niveles de triglicéridos en plasma, también presentan diferencias significativas, sin embargo, el comportamiento durante el ciclo difiere, ya que se observa una tendencia al aumento conforme avanza el ciclo reproductivo; el colesterol por su parte, no presentó diferencias significativas durante todo el ciclo, y puesto que tanto triglicéridos como colesterol son parte importante en el proceso de regulación reproductiva; se han encontrado niveles altos en sangre durante la síntesis de

vitelogenina dentro del periodo de predesove (Svoboda *et al.*; 2001). El colesterol por su parte, juega un papel fundamental en la esteroidogénesis ya que es la molécula base para la producción de esteroides sexuales, y al igual que lo reportado por Kocaman *et al.* (2005) en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) el colesterol no presenta cambios en su concentración durante todo el periodo reproductivo.

Al igual que otros autores (Gerkema 2002; Guijarro *et al.*, 2003; De Pedro *et al.*, 2004; Congleton y Wagner, 2006; Kavadias *et al.*, 2003) se logró observar que los ritmos biológicos, desempeñan un papel importante en la organización temporal de la vida de los organismos, que les permite el ajuste de los procesos vitales; durante el monitoreo de los parámetros bioquímicos en cabrilla sardinera, se observaron una serie de fluctuaciones en los valores bioquímicos analizados, como consecuencia del proceso de reproducción; y es que la demanda de ciertas moléculas, propias de la fase reproductiva, provocan una intensa movilización hacia los órganos destino a través de la sangre; por lo que los análisis sanguíneos, nos permiten entrever la demanda de cada metabolito durante las distintas etapas del ciclo reproductivo.

Por otro lado, en medicina humana, la citometría hemática es una de las herramientas más seguras en las manos de un médico para el diagnóstico de enfermedades; por lo que no hay razón aparente para que la citometría en peces no sea igual de efectiva. Sin embargo, sin el conocimiento definitivo de los parámetros normales, es difícil diferenciar entre un estado de salud normal y un estado patológico del pez. Si bien, la citometría hemática es una herramienta incipiente en el cultivo de peces marinos; se han comenzado a realizar trabajos evaluando los parámetros hematológicos en diferentes condiciones como reproducción, nutrición, medioambiente y densidad. Aunque existe disponible una cantidad considerable de literatura que cubre el campo de la hematología de teleósteos, predominan informes dispersos sobre el tema de hematología de salmónidos y otros peces dulceacuícolas.

Tavares-Dias y Moreas en el 2004, concluyen tras un estudio realizado a varias especies de peces de Brasil, que el número de eritrocitos en los peces es relativamente bajo ($<4 \times 10^6$) cuando se lo compara con los mamíferos ($>5 \times 10^6$), así como una relación inversa entre la cantidad de eritrocitos y la habilidad natatoria de los teleósteos marinos, con incidencia en la concentración de hemoglobina; además que las especies que habitan ambientes sedentarios y bentónicos como es el caso de la cabrilla

sardinera, poseen menor cantidad de eritrocitos y menor concentración de hemoglobina; las especies más activas, por ejemplo la lisa, *Mugil platanus*, poseen mayor número de eritrocitos y mayor concentración de hemoglobina (Ranzani-Paiva, 1995), lo cual asegura mayor eficiencia en el transporte de oxígeno.

Sin embargo, en un estudio realizado por Filho *et al.* (1992), a tres especies de mero en Brasil, (*Epinephelus guaza*, *Epinephelus niveatus* y *Mycteroperca tigris*) se encontraron, niveles en toda la serie roja (eritrocitos, hemoglobina y hematocrito) muy inferiores ($<2 \times 10^6$) a los hallados en la cabrilla sardinera ($>3 \times 10^6$). La variación en los niveles de eritrocitos y hemoglobina, se asocia principalmente estrategias adaptativas de los peces que les permita responder con ajustes homeostáticos en los parámetros hematológicos relacionados con la captación y distribución del oxígeno y también excreción del CO_2 (Powers, 1980). Como parte de esta respuesta ocurre un aumento del recuento de eritrocitos en conjunto con una disminución de los fosfatos orgánicos, lo que produce una modificación alostérica de la hemoglobina permitiendo un aumento de su afinidad por el oxígeno (Val, 2000).

Los niveles de hematocrito encontrados en este estudio coinciden con lo reportado por Burgos-Aceves (2011) para esta misma especie (32%) y con lo reportado por Filho (1992), para tres especies de serránidos: (*Epinephelus guaza* (33%) *Epinephelus niveatus* (33.9%) y *Mycteroperca tigris* (33%)), sin embargo, en el periodo de desove, el nivel de hematocrito aumenta significativamente (41%), lo que se puede atribuir a que es justo durante el periodo de desove cuando los peces tienen acumulada la mayor concentración de reservas; confirmando lo que menciona Jerez *et al.* (2009), en un estudio sobre el efecto de la estrategia alimenticia de medregales (*Seriola dumerili*) sobre la hematología sanguínea; en ese trabajo se observó que este parámetro sanguíneo, se ve disminuido tanto por estrés como por las estrategias de alimentación; lo que reitera que la cabrilla sardinera, no sufre periodos de anorexia durante el ciclo reproductivo, lo que le permite aumentar el porcentaje del paquete celular en la sangre.

El otro elemento de importancia en la sangre, lo componen las células que conforman la serie blanca, que son las células involucradas en el sistema inmune de todos los organismos; Mac Arthur *et al.* (1985), identificaron en teleósteos diferentes células con capacidad fagocítica. Su clasificación, al igual que la de los leucocitos de todos los

vertebrados, se ha realizado por criterios morfológicos según los cuales se distinguen varios tipos: linfocitos, granulocitos y monocitos o macrófagos (Ellis, 1977).

La cantidad de leucocitos totales circulantes en sangre es muy variable dependiendo de las especies o de las condiciones fisiológicas. Por ejemplo, las cifras encontradas para trucha común se sitúan entre 2 000 y 63 000 leucocitos/mm³ según Blaxhall y Daisley (1973), mientras que en salmón, Harbell *et al.* (1979) encontraron una media de 44 500 leucocitos/mm³. La cabrilla sardinera, no presentó diferencias significativas a lo largo del ciclo reproductivo, sin embargo el nivel promedio oscila en las 8×10^3 cel/mm³; encontrando los valores más altos justo en el periodo de desove (9.82×10^3 cel/mm³), concordando con Burgos-Aceves (2011), que observa para esta misma especie, un incremento de leucocitos de los peces en estadio de maduración, en comparación con los peces inmaduros. El aumento de leucocitos durante el pico reproductivo da pauta para discernir cuantitativamente sobre la respuesta inmune de los peces ante el proceso inmunosupresor propio del periodo reproductivo.

Durante el diferencial leucocitario; del total de leucocitos encontrados, solo se lograron observar linfocitos y neutrófilos. Los linfocitos, son células altamente diferenciadas y son las principales células presentadoras de antígenos en la respuesta inmune adquirida; estos circulan por todo el cuerpo a través de la sangre, y se congregan en los órganos linfoides (Roberts, 1989). También aparecen en otros tejidos del pez, como la epidermis (Peleteiro y Richards, 1985) y tejidos afectados por procesos inflamatorios (Hibiya, 1994). Los datos sobre la cantidad de linfocitos en sangre encontrados en la literatura son muy variables y dependen de muchos factores, como la especie, las condiciones de extracción de la sangre, condiciones fisiológicas del pez, o incluso de las variaciones individuales que habitualmente se presentan. En salmónidos, los linfocitos son los leucocitos mayoritarios en sangre, suponiendo el 70-90% de los mismos (Ellis, 1977; Hibiya, 1994), al igual que lo encontrado para la cabrilla sardinera, los linfocitos son las células blancas más abundantes en la sangre y su concentración aumenta progresivamente conforme avanza el ciclo reproductivo; estudios en otras especies, han demostrado que los linfocitos juegan un papel importante en la regulación de la respuesta inmune a infecciones, vía producción de quimioquinas, las cuales se liberan al torrente sanguíneo como respuesta inespecífica del sistema inmune, estimulando la activación y reclutamiento de linfocitos a los sitios afectados o dañados (Whyte, 2007),

por lo que el aumento de este tipo de células podría ser resultado de la vigilancia inmune durante la maduración (Erisman *et al.*, 2007).

Para el caso de los neutrófilos, el comportamiento en sus concentraciones difiere al de linfocitos, ya que estos presentan la concentración más elevada al inicio del ciclo reproductivo y disminuye paulatinamente conforme avanza el ciclo reproductivo; la principal función de los neutrófilos es la fagocitosis (O'Neill, 1985; Thuvander *et al.*, 1987; Hine, 1992), y la actividad microbicida mediada por el proceso denominado *explosión respiratoria*, que consiste en la capacidad de convertir el oxígeno molecular en una serie de compuestos o metabolitos de oxígeno, entre ellos el anión superóxido (O_2^-) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que son potentes microbicidas capaces de dañar moléculas orgánicas (Plyzycz *et al.*, 1989). Existen estudios sobre *Lithognathus mormyrus* (Besseau y Faliex, 1994), en donde las células macrófagas, se concentran cerca a los espermatozoides residuales y en aéreas degeneradas de ovocitos durante el post-desove, por lo que la disminución en la sangre, es el preámbulo de la migración celular hacia el proceso inflamatorio que sufre la gónada durante la etapa reproductiva.

Las plaquetas en los peces teleósteos son células multifuncionales, involucrados en la liberación de eicosanoides (Hill *et al.*, 1999), en procesos de coagulación de la sangre (Tavares-Dias y Mataqueiro, 2004; Witeska, 2005) así como en la defensa inmune (Tavares-Dias y Moraes, 2004). Por lo tanto, presentan un movimiento constante en la circulación sistémica, lo que provoca una variación en sus concentraciones, asociados a el proceso reproductivo (Tavares-Dias y Mataqueiro, 2004; Witeska, 2005). Una revisión reciente demostró que en teleósteos de agua dulce el número de trombocitos varía entre 870,000 a 122×10^9 cel/L (Tavares-Dias y Moraes, 2004). En *M. rosacea*, el rango va de 97.2×10^9 cel/L a 139.0×10^9 cel/L. Este incremento en el número de plaquetas durante el periodo de desove, coincide con el reportado por Burgos-Aceves (2011) para ésta misma especie; como consecuencia de las lesiones internas cuando los machos golpean el abdomen de las hembras durante el cortejo (Erisman *et al.*, 2007) y al tratarse de una especie que desarrolla grupos asincrónicos de ovocitos (Kiewek-Martínez, 2004) los folículos post-ovulatorios se degradan y regeneran, aumentando la demanda de plaquetas para éste proceso.

Hasta el momento de escribir este trabajo, no existen reportes de estudios previos que evalúen la condición bioquímica de huevos y larvas para esta especie; sin embargo, el

cuello de botella que produce la etapa larvaria en la acuicultura, ha encaminado a la ciencia, a desarrollar mucho trabajos que evalúen, la eficiencia de los desoves; los indicadores de viabilidad de los huevos de los peces, normalmente son el porcentaje de fertilización y el éxito de eclosión, sin embargo, estos dos parámetros no especifican que componentes fueron responsables para tal viabilidad del huevo (Brooks *et al.*, 1997). Por esto, hoy en día la mayoría de los estudios se han centrado en la composición bioquímica del huevo.

En este trabajo, la fecundidad y el porcentaje de eclosión de los huevos resulto ser muy similar en cada desove, lo que sugiere que los resultados de las bioquímicas de huevos y larvas, serán los componentes específicos que determinen la calidad de la progenie; Bye (1990), propuso que uno de los efectos que más influyen en la fecundidad y el tamaño del huevo son las tarifas diarias de alimentación de los reproductores. Si sabemos que la disponibilidad de alimento es uno de los principales factores que afectan el proceso reproductivo en las poblaciones de los peces, podemos concluir que en la zona de San Evaristo B.C.S, las cabrillas sardineras encuentran las condiciones adecuadas de alimentación, lo que nos permitió la captura de reproductores en estado vitelogénico avanzado y machos fluyentes.

La vitelogenesis es el principal responsable del crecimiento de los ovocitos en muchos teleósteos, y dicho proceso, se da a cabo solo si se cuentan con las reservas energéticas adecuadas, por ello, podemos inferir que los valores bioquímicos encontrados en los reproductores de este estudio, son los adecuados, para un desarrollo optimo de los huevos. Sin embargo, es importante entender con mayor profundidad el rol que tiene cada metabolito en este proceso. Specker y Sullivan (1994), concluyeron que las proteínas en los ovocitos de teleósteos, derivan de la vitelogenina, ésta, en conjunto con los lípidos son los que se depositan como principal fuente de nutrientes para el embrión. Watanabe *et al.* (1984), en trabajos realizados con el besugo rojo (*Pagellus bogaraveo*), encontró evidencia de que la composición de las dietas tienen un impacto importante en la calidad de sus huevos y larvas encontrando que con dos dietas con diferentes proteínas y carbohidratos, se traduce en mayor viabilidad, y menor porcentaje de deformidades; para el caso de la cabrilla sardinera, las proteínas es el metabolito presente en mayor concentración tanto para huevos como para larvas, seguido de los lípidos.

Con los análisis de correlación, aplicados, se logro determinar una correlación estadísticamente significativa entre la concentración de proteínas y triglicéridos de los reproductores y la concentración presente en los huevos obtenidos; En un estudio realizado por Bourque y Phelps (2007), en pargo rojo (*Lutjanus campechanus*) y por Chambers *et al.* (1989), en el capelan (*Mallotus villosus*) no se encontró relación en los porcentajes de fertilización con la concentración de lípidos de los huevos sin embargo, encontraron que la cantidad de aceite contenido de la gota lipídica, se relacionaba positivamente con la supervivencia larval al momento de primera alimentación; al encontrar relación entre la concentración de los reproductores de cabrilla y las reservas energéticas transferidas a las larvas, podemos inferir que en los desoves obtenidos en este estudio, pudieron tener posibilidades de supervivencia larval aumentadas.

Nuestro conocimiento sobre los procesos que afectan la calidad de los huevos, tanto en la naturaleza como en peces en cautiverio, es extremadamente limitado. En los pocos estudios que se han realizado con especies en sus hábitats naturales, se han encontrado que la calidad de los huevos presenta una considerable variabilidad a lo largo del año, ya que la calidad de los mismos, especialmente en especies marinas, es uno de los principales temas a resolver en el cultivo (Kjorsvik *et al.*, 1990). Por ejemplo en la lubina (*Dicentrarchus labrax*) y la dorada española (*Sparus aurata*), las tasas de eclosión es frecuentemente entre el 10-15% del total de los huevos desovados (Carrillo *et al.*, 1989). En el halibut del atlántico (*H. hipopoglossus*), la tasa de eclosión es normalmente menor al 1% (Norberg *et al.*, 1991).

No obstante, la tasa de eclosión observados durante este estudio (37% aprox) se pueden deber mas a un problema con la técnica de fertilización que a la mala calidad de los huevos obtenidos; y es que Watanabe *et al.* (2001), encontró que el método de strip y fecundación en seco, en lenguados, produce una disminución en los porcentajes de eclosión, con respecto a desoves obtenidos de manera natural, los valores encontrados en la cabrilla coinciden con el 30% de eclosión reportado para el pargo rojo (Bourque y Phelps, 2007) siguiendo esta misma metodología.

Por otra parte, Neidig *et al.* (2000), no encuentra correlación entre el diámetro del huevo y el porcentaje de supervivencia; en este estudio, las variaciones en el diámetro del huevo, presentan diferencias significativas, sin embargo, al factor de condición (K) de cada hembra desovada, resulta similar, por lo que no podríamos inferir que las

variaciones entre los diámetros de los huevos, representen una mayor o menor calidad del huevo.

Actualmente, para evaluar la calidad de los huevos en peces, se ha marcado una atención especial a la función de ácidos grasos altamente saturados (HUFA). Es bien sabido que los peces marinos tienen altos requerimientos dietéticos para HUFA de la serie n-3, principalmente, DHA y EPA en relación con el proceso reproductivo (Sargent, 1995). Esto, puesto que los peces presentan una deficiencia de la $\Delta 5$ -desaturasa, una enzima que es necesaria para la formación de DHA y EPA a partir de los precursores C18 (ácido linoleico, 18:2 n-6 y el ácido linolénico, 18:3 n-3). Fernández-Palacios *et al.* (1995), reportaron que la calidad de los desoves de la dorada se vio afectada directamente por un aumento de n-3 HUFA de las dietas de reproductores, pero sólo hasta un cierto límite (1,6%), más allá, la dieta n-3 HUFA reduce la fecundidad y la supervivencia de las larvas.

Por otro lado, los estudios realizados en el arenque del Atlántico (Tocher *et al.* 1985) y en el fletán (Parrish *et al.* 1994; Evans *et al.* 1996) han demostrado también, la importancia de ácidos grasos saturados en el momento de la fertilización y el inicio de la embriogénesis. En este estudio, se observó una mayor concentración de ácidos grasos saturados (SAT), tanto en huevos como larvas recién eclosionadas. Actualmente los estudios sobre la composición de ácidos grasos en peces no solo se enfocan a los niveles generales de estos, sino que también se toma en cuenta las proporciones en las que se encuentran, lo cual se ha demostrado que se correlacionan de forma positiva con la calidad de los huevos y las larvas (Breuce *et al.*, 1999; Sargent *et al.*, 2002). Estrada-Godínez (2011), encontró en hembras de cabrilla sardinera proporciones de n-3/n-6 entre 3:1 y 4:1, lo que resulta bajo, si se compara con las reportadas para otras especies, como el *Pampus argenteus*, el cual presenta proporciones de 25:1 y 27:1 durante la temporada reproductiva (Hossain *et al.*, 2011). Sin embargo, en este trabajo, las proporciones n-3/n-6 encontradas en huevos y larvas coinciden más con lo descrito por Estrada-Godínez (2011), por ello, es necesario, profundizar en el estudio de la composición de ácidos grasos en huevos de cabrilla sardinera que nos ayuden a mejorar la calidad de huevos y larvas en las variedades cultivadas.

En general se acepta que los peces presentan ritmos endógenos incluyendo el crecimiento y la reproducción, lo cual a su vez, es regulado por señales ambientales.

Además, estos ritmos son cíclicos y algunas funciones (es decir, una mayor ingesta de alimentos, de engorde, crecimiento, maduración, desove, entre otros) sólo pueden realizarse en períodos específicos del año. Como consecuencia, es probable que los requisitos nutricionales específicos también sean cruciales en determinados períodos del ciclo reproductivo, por lo que es necesario, continuar con la investigación de cómo influyen los parámetros extrínsecos e intrínsecos en la acumulación y transferencia de energía en la cabrilla sardinera.

9. CONCLUSIONES

- La cabrilla sardinera, no presenta un periodo de ayuno antes del desove, por lo que los niveles de reservas energéticas y por tanto K , se mantienen constantes a lo largo de todo el ciclo reproductivo.

- El aumento de células blancas, sugiere que durante la reproducción de la cabrilla sardinera, ocurre una respuesta inmune, tanto para vigilancia inmunológica durante la maduración, asegurando el proceso reproductivo y la supervivencia de los organismos, así como para la reabsorción de ovocitos atrésicos.

-A pesar de la diferenciación entre distintos tipos de respuesta inmune, se debe tener en cuenta que esta es una clasificación artificial y que siempre que un agente patógeno afecta al organismo, éste se defiende mediante la interacción de la mayoría de los elementos que conforman su sistema inmunológico, por lo que se debe continuar con el estudio de las citometrías hemáticas de la cabrilla sardinera, sometida a diferentes agentes inmunomoduladores; para conocer los rangos normales de variación a lo largo del año.

- En la relación que guarda la condición nutricional y estado de salud de los reproductores de cabrilla sardinera, con la calidad de la progenie, intervienen muchos factores que regulan los procesos reproductivos de la cabrilla, por lo que no se encontraron correlaciones significativas en todos los parámetros analizados, sin embargo, es necesario continuar con la investigación, para elucidar el rol que juega cada metabolito y la interacción que guarda con los procesos fisiológicos propios de la especie.

10. LITERATURA CITADA

- Aburto-Oropeza, O., B. Erisman, C. Valdez-Ornelas y G. Danemann. 2008. Serránidos de Importancia Comercial del Golfo de California: Ecología, Pesquerías y Conservación. *Ciencia y Conservación* 2008(1):1-23.
- Álvarez-Borrogo, J. y E. J. Fájér Ávila. 2006. Identification of Platyhelminth parasites of the Wild Bullseye Pufferfish (*Sphoeroides annulatus*) using an invariant digital color correlation". *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. Vol 41, No.1, 129-139.
- Alvarez-Lajonchere, L.S. 2006. Nutrición de reproductores de peces marinos. En: Editores: L. Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Martha G. Nieto López, David A. Villareal Cavazos, Ana C. Puello Cruz y Armando Garcia Ortega. *Avances en Nutrición Acuicola VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. 1-9.
- Alvarez-Lajonchere, L.S., M.A. Reina-Cañez, M.A. Camacho-Hernandez y S. Kraul. 2007. Design of a pilot-scale tropical marine finfish hatchery for a research enter at Mazatlan, México. *Acuacultural Engineering* 36:81-96.
- Aras, M., A. B. Ayir, A. N. Sirkecioglu, H. Polat y M. Bayit. 2008. Seasonal variation in serum lipids, lipoproteins and some hematological parameters of chub (*Leuciscus cephalus*). *Ital. J. Anim. Sci.* 7:439-448.
- Aviles-Quevedo, S. y M. Vazquez-Hurtado. 2006. Fortalezas y debilidades de la acuicultura en México. *Pesca acuicultura e investigación en México*. Comision de pesca. México. 400pp.
- Avilés-Quevedo, M. A., U. Mcgregor-Pardo, R. Rodriguez-Ramos, O. Hiraes-Cosío, M. A. Huerta-Bell y M. Lazawa. 1995. *Biología y Cultivo de la cabrilla arenera *Paralabrax malulatofasciatus* (Steindachner 1868)*. Subsecretaria de Pesca, Centro Regional de Investigacion Pesquera La Paz, Agencia de Cooperación Internacional de Japón. 85pp.
- Bahmani, M., R. Kazemi y P. Donskaya. 2001. A comparative study of some hematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 24: 135-140.

- Baron-Sevilla, B. y J.P. Lazo-Corvera. 2006. The effect of dietary docosahexaenoic acid (DHA) on growth, survival and pigmentation of California halibut *Paralichthys californicus* larvae (Ayres, 1810) *Aquaculture*, 302 (2010), pp. 28-234
- Besseau, L. y E. Faliex. 1994. Resorption of unemitted gametes in *Lithognathus mormyrus* (sparidae, teleostei): a possible synergic action of somatic and immune cells. *Cell Tissue Res.* 276:123-132.
- Blanco, M., P. Liébana, A. Gibello, C. Alcalá, J.F. Fernández-Garayzábal y L. Domínguez. 2004. Principales patologías bacterianas en la piscicultura española. Dpto. de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense. 28040 Madrid – España.
- Blazer, V. S. 1991. Piscine macrophage function and nutritional influences. A Review. *J. Aquatic Anim Health.* 3:77-86.
- Blaxhall, P.C. y K.W. Daisley. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *J. Fish Biol.*, 5: 771-781.
- Brooks, S., C. R. Tyler y J. P. Sumpter. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg? *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7: 387–416.
- Bourque, B. D. y R. P. Phelps. 2007. Induced spawning and egg quality evaluation of red snapper, *Lutjanus campechanus*. *Journal of the world aquaculture society.* Vol 38 2:208-217.
- Bureau, D.P. y C.Y. Cho. 1999. Nutrition and feeding of fish. OMNR Fish Culture Course, University of Guelph, Guelph, Ontario, 21-25 June. *World Aquaculture 2010.* Roma 120pp.
- Cara, B., F. J. Moyano, M. Diaz y M. Yúfera. 2003. Evaluación de las actividades tripsina y quimiotripsina como indicadores de condición nutricional en larvas de peces marinos. II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura: 721-726.
- Carrillo, M. S., F. Zanuy, J. Prat, J. Cerda, E. Ramos, N. Mañanos y N. Bromage. 2000. Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) En: Bromage N. R., R. E. J. Roberts. *Broodstock management and egg and larval quality.* Blackwell, Oxford, 138-168.
- Castelló, F. 1993. *Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnológicos de la producción.* Universidad de Barcelona. 740pp.

- Cerdá, J., M. Carrillo, S. Zanuy, J. Ramos y M. de la Higuera. 1995. Influence of nutritional composition of diet on sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., reproductive performance and egg larval quality. *Aquaculture*, 128:345-361.
- Centeno, L, R. Silva-Acuña, R. Barrios, R. Salazar Lugo, C. Matute y J. L. Pérez. 2007. Características hematológicas de la cachama (*Colossoma macropomum*) en tres etapas de crecimiento cultivadas en el estado Delta Amacuro, Venezuela. *Zootecnia Trop.*; 25(4): 237-243.
- Chambers, R. C., W. C. Leggett, y J. A. Brown. 1989. Egg size, female effects, and the correlations between early life history traits of capelin, *Mallotus villosus*: an appraisal at the individual level. *Fishery Bulletin* 87(3):515–523.
- Chandrasekhar, R. A. y L. Krishnan. 2011. Biochemical composition and changes in biological indices associated with maturation of the ovary in the spiny cheek grouper *Ephinephelus diacanthus* (Valenciennes, 1828). *Indian J. Fish* 58 (2):45-52.
- Congleton, J. L. y T. Wagner. 2006. Blood-chemistry indicator of nutritional status in juvenile salmonids. *Journal of Fish Biology* 69:473-490.
- Dalmo, R., K. Ingebrigtsen y J. Bogwald. 1997. Non-specific defense mechanisms fish, with particular reference to reticuloendothelial system (RES). *J. Fish Dis.* 20:241-273.
- De Pedro, N., A. I. Guijarro, M. A. Lopez-Patiño, R. Martinez-Alvarez y M. J. Delgado. 2004. Daily and seasonal variations in haematological and blood biochemical parameters in the tench, *Tinca tinca* Linnaeus, 1758. *Aquaculture Research*, 36, 1185-1196
- De Cristini, F. y G. Graziosi. 1976. Electrophoretic analyses and denaturation test of hemoglobins of *Trachurus trachurus*. *Journal of Fish Biology* 9: 401-403.
- Dumas, S., M.O Rosales-Velázquez, M. Contreras-Olguin, D. Hernández-Ceballos y N. Silverberg. 2004. Gonadal maturation in captivity and hormone-induced spawning of the Pacific red snapper *Lutjanus peru*. *Aquaculture*. 234:615-623.
- Ellis, A.E. 1977. The leucocytes of fish: A review. *J. Fish Biol.*, 11: 453-491.
- Evans, D.L., J. H. Leary III y L. Jaso-Friedmann. 2001. Nonspecific cytotoxic cells and innate immunity: regulation by programmed cell death. *Dev. Comp. Immunol.* 25, 791–805

- Ewart, K. V., J. William, R. C. Richards, J. W. Gallant, K. Melville y S. E. Douglas. 2008. The early response of Atlantic salmon (*Salmo salar*) macrophages exposed *in vitro* to early to *Aeromonas salmonicidas* cultured in broth and in fish. *Dev. Comp. Immunol.* 32:380-390.
- Falk, H. F., R.D. Negel y R. Goerlich. 1990. Phagocytosis activity as an *in vitro* test for the effects of chronic exposure of rainbow trout to Linuron, a herbicide. *Journal of Applied Ichthyology* 6:231-236.
- FAO. 2007. FISHSTAT Plus: Universal software for fishery statistical time series. Version 2.32
- FAO. 2011. Revisión Regional sobre la Situación y Tendencias en el Desarrollo de la Acuicultura en América Latina y el Caribe – 2010. Roma 2011. 231pp.
- Fernández, A.B., I. Ruiz, e I. DE Blas. 2002a. El sistema inmune de los teleósteos (I):Células y órganos. *Revista AquaTIC* . 16: 41
- Fernández, A.B., I. Ruiz, e I. DE Blas. 2002b. El sistema inmune de los teleósteos (II):Respuesta inmune inespecífica. *Revista AquaTIC*, 17-34.
- García-Hurtado, P.A. 2008. Determinación bioquímica en plasma de la condición nutricional en reproductores de *Lutjanus peru* (nichols y murphy, 1922) bajo condiciones de cautiverio. CIBNOR. 70pp.
- Guerrero-Tortolero, D.A., R. Campos-Ramos, M.A. Burgos-Aceves, J.C. Pérez-Urbiola y G. Colado-Duran. 2010. Effects of compressed seasonally changing day-length cycles on spawning performance, production of viable eggs and levels of vitellogenin in plasma in female yellowtail snapper *Lutjanus argentiventris* *Journal of Fish Biology*.
- Guijarro, A. I., M. A. López-Patiño, M. L. Pinillos, E. Isorna, N. De-Pedro, A. L. Alonso-Gomez, M. Alonso-Badete y M. J. Delgado. 2003. Seasonal changes in hematology and metabolic resources in the tench. *Journal of Fish Biology* 62:803-815.
- Gracia-López, V. 2004. Cultivo potencial de la cabrilla sardinera (leopard grouper) *Mycteroperca rosacea*. *Panorama Acuícola Magazine* Vol. 10, No.1, 76p.
- Groff, J. M. y J. G. Zinkl. 1999. Hematology and clinical chemistry of Cyprinid fish. Common carp and goldfish. *Vet. Clin. N. Am. Exot. Anim. Pract.*, 2(3):741–746.

- Hachero-Cruzado, I., A. García-Lopez, M. Herrera, L. Vargas-Chacoff, G. Martínez-Rodríguez, J. M. Mancera y J. I. Navas. 2007. Reproductive performance and seasonal plasma sex steroid and metabolite levels in a captive wild broodstock of brill *Scophthalmus rhombus* L. *Aquac. Res.* 38:1161-1174.
- Harbell, S.C., H.O., Hodgins, y M.H. Schiewe,. 1979. Studies on the pathogenesis of vibriosis in coho salmon *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum). *J. Fish Dis.*, 2: 391-404.
- Heemstra, P. C. y J. E. Randall. 1993. Groupers of the world (Family Serranidae, Subfamily Epinephelinae). An annotated and illustrated catalogue of the grouper, rockcod, hind coral grouper and lyretail species known to date. FAO Fisheries Synopsis. No. 125, Vol. 16. Rome, Italy. 382 pp.
- Hine, P.M. 1992. The granulocytes of fish. *Fish Shellfish Immunol.* 2:79-88.
- Hibiya, T. 1994. An Atlas of Fish Histology. Normal and Pathological Features. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart. 5-125.
- Hossain, M. A., N. Sultana, Hossain y M. G. Hussain, 2005. Optimum dietary protein requirement of Gulsha *Mystus cavasius* (Hamilton) fingerlings. *J. Aquacult. Trop.*, 20(3): 237-233.
- Izquierdo, M.S., H. Fernández-Palacios y A.G.J. Tacon. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197 25-42
- Jerez, S., I. Hernandez, J. R. Ceja, E. Almasa, M. Samper, J. E Villamandos y B. C. Felipe. 2009. Efecto de la estrategia de alimentación en la hematología y bioquímica sanguínea del medregal (*Seriola dumerli*) en condiciones de cultivo. *Actas XII Congreso Nacional de Acuicultura, Madrid, 24-26Nov.* 162-163.
- Johnson, L. L., E. Casillas, M. S. Myers, L. D. Rhodes, O. P. Olson. 1991. Patterns of oocyte development and related changes in 17-B estradiol, vitellogenin, and plasma chemistry in English sole *Parophrys vetulus* Girard. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 152: 161-185.
- Jaramillo-Schadebrodt, N. 2005. Estudio hematológico básico del puye (*Galaxias maculatus*) (Jenyns, 1842) en estado poslarval y adulto. Tesis Lic. Univ. Cat. Temuco. Chile. 86 pp.
- Kadavias, S., J. Castritsi-Catharios y A. Dessypris. 2003. Annual cycles of growth rate, feeding rate, food conversion, plasma glucose and plasma lipids in a population

- of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) farmed in floating marine cages. *J. Appl. Ichthyol.* 19:29-34.
- Kiewek-Martínez, N. M. 2004. Contribución al conocimiento de la reproducción en cautiverio de la cabrilla sardinera *Mycteroperca rosacea*. Maestría. CIBNOR. México. 93pp.
- Kinkelin, P., C. Michel y P. Ghittino. 1985. Tratado de las enfermedades de los peces. Acribia, Zaragoza. 353p
- Kjorsvik, E., A. Mangorjensen e I. Holmefjord. 1990. Egg quality in fish. *Advances in marine biology* 26:71-113.
- Kocaman, E. M., T. Yanik, O. Erdogan y A. K. Ciltas. 2005. Alterations in cholesterol, glucose and triglyceride levels in reproduction of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Anim. Vet. Adv.* 4:801-804.
- Kock, K. H. 1992. Antarctic fish and fisheries. Cambridge University Press. 344 pp.
- Lecklin, J. y M. Nikinmaa. 1998. Erythropoiesis in arctic char is not stimulated by anemia. *J. Fish Biol.* 53:1169-1177.
- López, L.M., E. Durazo, A. Rodríguez-Gómez, C. D. True y M. T. Viana. 2006. Proximate composition and fatty acid profile of wild and cultured juvenile *Totoaba macdonaldi*. *Ciencias Marinas* 32(2): 25-29.
- Lucas, A. y P. Beninger. 1985. The use of physiological condition indices in marine bivalvia aquaculture. *Aquaculture* 44: 187-200.
- Luskova, V. 1998. Factors affecting haematological indices in free-living fish populations. *Acta Vet. Brno*; 67: 249-255.
- Maldonado-García, M. 2004. Estudio de la biología reproductiva del robalo paleta *Centropomus medius* (Günther 1864) para su aplicación en acuicultura. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
- Marshall, A. S., C. A. Burtis y J. J. Beauchamp. 1985. Integrated and individual biochemical responses of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to varying duration of acidification stress. *Comparative Biochemistry and Physiology* 82: 301-310.
- Mac Arthur, J.I., A.W. Thompson y T.C. Fletcher. 1985. Aspects of leucocyte migration in the plaice *Pleuronectes platessa* L. *J. Fish Biol.* 27:667-676
- McPherson, L.R., Slotte, A., Kvamme, C., Meier, S. & Marshall, C.T. 2011. Inconsistencies in measurement of fish condition: a comparison of four indices

- of fat reserves for Atlantic herring (*Clupea harengus*). iCES Journal of Marine Science 68: 52-60.
- Montgomery, W. L. y R. Galzi. 1993. Seasonality in gonads fat deposits and condition of tropical surgeon fishes (Teleostei: Acanthuridae). Mar. Biol. 115:529-536.
- Mylonas, C. C. y Y. Zohar. 2001. Use of GnRHa-delivery system for the control of reproduction in fish. Reviews in Fish Biology and Fisheries. 10:463-491.
- Muhlia-Melo, A., D.A. Guerrero-Tortolero, J.C. Perez-Urbiola, R. Campos-Ramos. 2003. Results of spontaneous spawning of yellow snapper (*Lutjanus argentiventris* peters, 1869) reared in inland ponds in La Paz, Baja California Sur, Mexico. Fish Physiology and Biochemistry, 28 (2003), pp. 511-512
- Norberg, B., V. Valkner, J. Huse, I. Karlsen y G. L. Grung. 1991. Ovulatory rhythms and egg viability in the Atlantic halibut (*Hippoglossus*). Acuaculture 97:365-371.
- O'Neill, J.G. 1985. An in vitro study of polymorphonuclear phagocytosis and the effect of temperature. En: Fish Immunology. M.J. Manning y M.F. Tatner. Academic Press. Londres. 47-56.
- Palacios, E., I. S. Racotta, B. Aparicio, O. Arjona y C. A. Martinez-palacios. 2007. Lipid classes and fatty acids Turing embriogénesis of captive and wild silverside from Patzcuaro Lake *Chisrostoma estor estor*. Fish Physiol. Biochem. 33:81-91.
- Palic, D., J. Ostoji, C. Andreasen y J. Roth. 2007. Fish cast NETs: Neutrophil extra-cellular traps are released from fish neutrophils. Dev Comp Immunol. 31:805-816.
- Parrish, R.H., C. S. Nelson y A. Bakun. 1994. Transport mechanisms and reproductive success of fishes in the California current. Biological Oceanography 1, 175-203.
- Peláez-Mendoza, A.K. 1997. Habitos alimenticios de la cabrilla *sardinera* *Mycteroperca rosacea* Streets, 1877 (pisces: Serranidae) en la bahía de La Paz, B.C.S. y zonas adyacentes. Tesis de licenciatura, UABCS, La Paz; B.C.S.
- Pelcastre-Campos, V. T. 2006. Inducción a la ovulación y espermiogénesis en el huachinango del pacífico *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922) y almacenamiento de su semen. CICIMAR-IPN. 96pp.
- Peleteiro, M.C. y R.H. Richards. 1985. Identification of lymphocytes in the epidermis of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Dis., 8: 161-172.

- Plyzycz, B., C.M. Flory, I. Galvan, y C.J. Bayne. 1989. Leucocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) pronephros: cell types producing superoxide anion. *Dev. Comp. Immunol.*, 13: 217-224.
- Powers, D. A. 1980. Molecular ecology of teleost fish hemoglobins: Strategies for adapting to changing environments. *Amer. Zool.* 20:139-162.
- Pulido, E., C. Iregui, J. Figeroa y P. Klesius. 2004. Estreptococosis en tilapias (*Oreochromis spp.*) cultivadas en Colombia. *Revista AquaTIC.* 20:97-106.
- Ranzani-Paiva, M. J. T. 1995. Características hematológicas de *Tainha Mugil platanus* Güther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) da região estuarino-lagunar de Cananéia-SP. *B. Inst. Pesca;* 22(1): 1-22.
- Roberts, R. J. 1989. The immunology of Teleost. En: *Fish Pathology.* Baillière Tindall. London. 135-150.
- Rønnestad, I., W. M. Koven, A. Tandler, M. Harel y H. J. Fyhn. 1998. Utilisation of yolk fuel in developing eggs and larvae of European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Acuculture* 162:157-170.
- Sato, N. y N. Murata. 1988. Membrane lipids. *Methods of Enzimology*, 167. 251.
- Sargent, J. R. 1995. Origins and function of egg lipids: nutritional implications. In *Broodstock management and egg and larval quality.* NR, Bromae and R. J. Robert, G. B. Blackwell Science, Cambridge, p353-372.
- Sargent, J. R., D. R. Tocher. y J. G. Bell 2002. The Lipids. En: J. E. Halver and R. W. Hardy. *Fish Nutrition, Third Edition.* San Diego, California: 181-257 pp.
- Sanver, C. E. 2004. Blood Chemistry (Electrolytes, Lipoproteins and Enzymes) Values of Black Scorpion Fish (*Scorpaena porcus* Linneaus, 1758) in the Dardanelles, Turkey. *Journal of Biological Sciences* 4 (6):716-719.
- Satchell, G. 1991. *Physiologi and form of fish circulation.* Ed. Cambridge Univ. Press. Australia. 235pp.
- Solórzano, Y., L. M. López, E. Durazo, C. D. True y G. Sandoval. 2006. Efecto de niveles de alimentación sobre el crecimiento y composición química de juveniles de *Totoaba macdonaldi*. IV Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura, Comunicación Científica CIVA 2006 (<http://www.civa2006.org>), 1181-1192.

- Svoboda, M., J. Kouril, J. Hamacková, P. Kaláb, L. Savina, Z. Svobodova y B. Vykusová. 2001. Biochemical profile of blood plasma of tench (*Tinca tinca* L.) during pre and post-spawning period. *Acta Vet. Brno.* 70:259-268.
- Swanson, C. 1996. Early development of milkfish: effects of salinity on embryonic and larval metabolism, yolk absorption and growth. *Journal of Fish Biology*, (48):405-421.
- Tacon, A.G.J. y C.B. Cowey, 1985. Protein and aminoacid requirements. In: *Fish Energetics, New Perspectives*. Tytler, P. and Calow, P. (eds) pp. 349. Croom Helm, London and Sydney.
- Tandler, A., M. Harel, W. M. Koven y S. Kolkovsky. 1995. Broodstock and larval nutrition in gilthead sea bream *Sparus aurata* new findings on its involvement in improving growth, survival and swim bladder inflation. *Isr. J. Aquacult. Bamidgeh*, 47:95-111.
- Tavares-Dias, M. y M. I. Mataqueiro. 2004. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. *ActaSciBiolSci.*; 26 (2): 157-162.
- Tavares-Dias, M. y F. R. Moraes. 2004. Hematología de Peixes Teleósteos. Ed Eletrônica e Arte Final. San Paulo (Brasil); p 144.
- Tavares-Dias, M. y F. R. Moraes. 2007. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. *J. Fish Biol.*; 71: 383 –388.
- Thuvander, A., L. Norrgren, y C. Fossum. 1987. Phagocytic cells in blood from rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson), characterized by flow cytometry and electron microscopy. *J. Fish Biol.*, 31: 197-208.
- Tucker, J. W. Jr. 1999. Species profile, Grouper aquaculture. SRAC Publications 721pp.
- Val, A. L. 2000. Organic phosphates in the red blood cells of fish. *Comp. Biochem. Physiol. Part A*, 125: 417-435.
- Verdegem, M. C. J., A. D. Hilbrands y J. H. Boon. 1997. Influence of salinity and dietary composition on blood parameter values of hybrid red tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) *O. mossambicus* (Peters). *Aquac. Res.*, 28,:453-459.
- Voigt, G. L. 2000. Hematology techniques and Concepts for veterinary technicians. Iowa State University Press. USA. 139pp.

- Watanabe, W., T. Arakawa, C. Katajima y S. Fujita. 1984. Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 50:549-501.
- Watanabe, W. y Carroll P. 2001. Progress in controlled breeding of summer flounder *Paralichthys dentatus*, and Southern flounder *P. lethostigma*, *J. Appl. Aquacultur.* 11:89-111.
- Wilhelm, D. F., G. J. Eble, G. Kassner, F. X. Caprario, A. L. Dafré y M. Ohira. 1992. Comparativ hematology in marine fish. *Comparative Biochemistry and Physiology* 102: 311-321.
- Whyte S. K. 2007. The innate immune response of finfish-A review of knowledge. *Fish Shellfish Immunol.* 23:1127-1151.
- Young, Cho C. 1996. Nutrition and fish health.. University of Guelph. 204pp.
- Zarza-Meza, E. A., J. M. Berruecos-Villalobos, C. Vasquez-Peláez y P. Álvarez-Torres. 2006. Cultivo experimental de robalo *Centropomus undecimalis* y Chucumite *Centropomus parallelus* (Perciformes:centropomidae) en estanques rusticos de tierra. *Ciencias Marinas* 32:219-227.
- Zlotkin, A., E. Chilmonczyk, M. Eyngor, A. Hurvitz, C. Ghittino y A. Eldar.2003. Trojan Horse effect: Phagocyte-Mediated *Streptococcus iniae* infection of fish. *Infect Immun.* 71(5):2318-2325.