



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL
NOROESTE, S. C.

Programa de Estudios de Posgrado

**CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO DE LA
REPRODUCCIÓN EN CAUTIVERIO DE LA CABRILLA
SARDINERA *Mycteroperca rosacea*.**

T E S I S

Que para obtener el grado de

Maestra en Ciencias

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

p r e s e n t a

Nilda Margarita Kiewek Martínez

La Paz, B. C. S.,(julio-2004)

RESUMEN

La cabrilla sardinera *Mycteroperca rosacea*, perteneciente al grupo de los meros (subfamilia Epinephelinae) es una de las 5 especies de este género presente en el Pacífico. Se distribuye en todo el Golfo de California hasta Jalisco, México. Habita en áreas rocosas cercanas a la línea de costa a profundidades menores de 50 m. La información disponible trata la alimentación natural y la relación edad-talla. Es una especie con importancia comercial en el Noroeste Mexicano y posee alto valor en el mercado. Desde el año 1996, *M. rosacea* fue introducida en la lista roja de especies amenazadas (IUCN). Los estudios de la reproducción artificial de los meros se vuelven esenciales para lograr una producción constante de juveniles. Varias especies de meros han madurado en cautiverio y han podido ser inducidas hormonalmente al desove. El objetivo del presente estudio fue determinar la maduración sexual en cautiverio, la época de reproducción y el tipo de ovario y lograr la reproducción mediante la inducción hormonal. Los resultados podrán ser aplicados en el cultivo y en programas de repoblamiento de la especie.

Los reproductores (n= 22) fueron capturados y mantenidos en cautiverio en 2 tanques de 16 m³ alimentados con sardina y calamar fresco. El peso de las hembras fue de 0.78 y 1.84 Kg y el de los machos entre 1.16 y 2.40 Kg. Se realizaron muestreos mensuales de las gónadas mediante biopsias ováricas. Una porción de la muestra fue analizada en fresco y la otra fue preservada para el posterior procesamiento histológico.

Diez hembras fueron inducidas hormonalmente al desove con Gonadotropina Coriónica Humana, primera inyección de 1000 UI ·Kg⁻¹ y una segunda inyección 24 horas después de 500 UI ·Kg⁻¹. El resto (n= 4) fueron inyectadas con un análogo de la Hormona Liberadora de la Hormona Luteinizante (LHRH-a) (des-Gly¹⁰, [D-Ala⁶]-LHRH) en una dosis de 5 µg ·Kg⁻¹ en la primera inyección y 10 µg ·Kg⁻¹ tres horas después. De las 10 hembras inducidas con GCh, 6 volvieron a inducirse con la misma hormona 38 días después.

En el mes de noviembre todos los ovocitos analizados en fresco eran previtelogénicos. El diámetro incrementó a partir de febrero, siendo máximo en abril para el tanque 1. En junio, se obtienen los valores mínimos de diámetro. En el tanque 2, los diámetros medios obtenidos, son semejantes a los obtenidos en el tanque 1, pero los valores son más altos en cada punto de muestreo. Existe una clara relación entre el fotoperiodo y la temperatura con los diámetros de los ovocitos. El fotoperiodo más corto en el año, próximo al solsticio de invierno, marca el inicio del periodo reproductor y el incremento del diámetro de los ovocitos, ligado con una temperatura cercana a 24 °C. Histológicamente, las hembras del tanque 1 no mostraron algún signo de vitelogénesis en el mes de noviembre. En febrero y marzo se observan diferentes estadios de desarrollo de los ovocitos. En julio, existe un 30 % de ovocitos atrésicos. En general, aumentan los estadios de vitelogénesis y núcleo migrado desde febrero hasta abril. En el tanque 2, tres hembras presentaban de 1.7 a 4.1 % de ovocitos en estadio de vitelogénesis temprana en noviembre indicando el inicio del periodo reproductor en estos individuos.

De las tres sesiones de inducción hormonal realizadas a las hembras en cautiverio, se obtuvo una fecundidad total de 2,358 x 10³ huevos. La temperatura media del agua en el momento de

inducción fue de 22 – 23.5 °C. El rango de los diámetros medios iniciales de los ovocitos de las hembras estuvo comprendido entre las 278 ± 124 y 565 ± 70 μm . El peso de las hembras fue de 0.78 a 1.72 Kg. La fertilización se llevó a cabo de 34 a 46 h después de la primera inyección. El número total de huevos viables fue de $1,600 \times 10^3$ y una tasa total de fertilización del 66 %. En este estudio, el peso de las hembras no se relaciona con la fecundidad. Los huevos de la cabrilla sardinera, *M. rosacea* obtenidos tuvieron un diámetro promedio de 844 ± 20 μm hasta 884 ± 19 μm .

En el presente estudio, se obtuvo una respuesta del 81.25 % de las hembras inducidas al desove con GCh. las hembras inducidas con LHRH-a solo tuvieron un 25 % de respuesta a la inducción.

Con el análisis de ovocitos en fresco y la histología comprobamos una época de reproducción de noviembre a junio, con un periodo de puesta entre marzo y junio. Las hembras que respondieron a la inducción tenían altos porcentajes de ovocitos en desarrollo y ovocitos mayores de 397 μm . Las hembras que no respondieron, no cumplieron, en general esas características, con una única excepción.

Palabras clave: *Mycteroperca rosacea*, reproducción artificial, cabrilla sardinera, mero.

ABSTRACT

The Leopard Grouper *Mycteroperca rosacea* (subfamily Epinephelinae), is one of the 5 species of the genus in the Pacific. It is distributed throughout the Gulf of California down to Jalisco, Mexico. It inhabits rocky areas close to the coastline at depths <50 m. The information available about the biology of the species is related to the feeding behavior and to the age and growth. It is a species with high commercial value at the Northwestern of Mexico with an elevated market price. Since 1996, *M. rosacea* was introduced to the red list of threatened species (IUCN). Studies on artificial grouper reproduction become essential to achieve a sustained juvenile production. There are several grouper species that have matured in captivity and that have been hormone induced to spawn. The objective of the present study was to determine the sexual maturation in captivity, the reproduction period, the type of ovary and to achieve the reproduction by hormone induction. Results of the present study could be applied on the culture and on re-stocking programs.

Broodstock (n= 22) were captured and maintained captive in two 16 m³ tanks and fed daily fresh sardine and squid. Female weight ranged from 0.78 to 1.84 Kg and male weight from 1.16 to 2.40 Kg. Every month a portion of the ovary was removed by a gonad biopsy. A portion of the sample was analyzed “fresh” and another was preserved for the later histological procedure.

Ten females were hormone induced to spawn with hCG, with an initial injection of 1000 UI ·Kg⁻¹ followed 24 h later by 500 UI ·Kg⁻¹. The remaining females (n= 4) were induced with LHRH-a (des-Gly¹⁰,[D-Ala⁶]-LHRH) 5 µg ·Kg⁻¹ followed by 10 µg ·Kg⁻¹ three after later. Six females were GCh re-injected 38 days after the first induction trial.

All fresh oocytes analyzed from females in tank 1 were previtelogenic in November. Oocyte diameter increased from February reaching the largest size by April. In June, the smallest oocyte diameters were obtained. For the females in tank 2, mean diameters obtained were similar than the ones in tank 1 but the values are higher for each of the sampling points. There is a clear relation between photoperiod and temperature with oocyte development. The shortest day length (next to winter solstice) indicates the beginning of the reproductive season and the increase in oocyte diameter. This is in relation with a temperature of 24 °C. The histological samples indicate that females from tank 1 didn't have signs of development in November. In February and March, different oocyte stages could be found in the ovary. By July there is a 30 % of atretic oocytes. In general, there is an increase of vitelogenic and germinal vesicle migration oocytes from February to April. In tank 2, three females presented 1.7 to 4.1 % of oocytes in early stages of vitelogenesis, which indicates the beginning of the reproductive season.

From the 3 induction trials a total fecundity was 2,358 x 10³ eggs. Mean water temperature at induction was 22 – 23.5 °C. Mean initial oocyte diameters were between 278 ± 124 y 565 ± 70 µm. Female weight ranged from 0.78 to 1.72 Kg. Fertilization took place between 34 to 46 h after the first injection. The total number of viable eggs was 1,600 x 10³ and a total fertilization

rate of 66 %. In this study female weight was not related to fecundity. *M. rosacea* eggs obtained had a mean diameter of 844 ± 20 to 884 ± 19 μm .

The percentage of females that spawned when induced with hCG was 81.25 % And for females induced with LHRH-a 25 %.

With the analysis of the oocyte samples in fresh and histology, we corroborate that the reproduction season is from November to June, with a spawning period from March to June. Females that had a positive response to the hormone treatment had high percentages of oocytes in secondary growth stages and mean oocyte diameters larger than 397 μm . The females that didn't have these characteristics showed no response to the hormone inductions.

Key words: *Mycteroperca rosacea*, artificial reproduction, Leopard Grouper, grouper.

DEDICATORIA

Este trabajo esta dedicado a mis padres Nilda Martínez Ortíz y Juan Manuel Kiewek Frías, por todo el apoyo que me han brindado a lo largo de mi vida. Por enseñarme el valor del trabajo y la dedicación.

A mi abuela Nilda, por enseñarme todas las pequeñas grandes cosas de la vida que hacen a una gran persona.

A mi esposo, por ser el hombre más importante en mi vida. Por estar siempre a mi lado y por sus sabios consejos.

A mis hermanas, Cristina, Alejandra y Marcela...

A mis sobrinos, Santiago, Renatta, Sofía y Carlota...

A mi nueva familia española...

A mis amigos...

A México...

A todos los Meros del mundo...

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Vicente Gracia López por ser un excelente director de tesis y un gran amigo. Por la transferencia de todos sus conocimientos acerca del cultivo de meros, sus consejos y su amistad.

A la M.C. Minerva Maldonado García por el apoyo incondicional durante el periodo experimental y su ánimo de trabajo.

A la Biol.Mar. María del Carmen Rodríguez Jaramillo por toda la ayuda brindada con el procesamiento de muestras histológicas y el apoyo con la descripción y el análisis de las mismas.

Al técnico Jorge Sandoval Soto por el todo lo referente al mantenimiento de los organismos, al investigador Biol.Mar. Guillermo Portillo Clark por el interés de sacar adelante el proyecto de cultivo de la cabrilla sardinera y su valioso apoyo durante las horas no laborales, y a mis compañeros del grupo de trabajo de peces marinos; a la Biol.Mar. Marcela Linares Aranda y el Biol.Mar. José Maquin Pérez Ramírez por el apoyo brindado en las salidas de campo.

Al pescador Miguel León y su familia por la ayuda brindada con la captura de los organismos en San Evaristo, B.C.S.

Al comité revisor de la tesis, en especial a la M.C. Danitzia Guerrero Tortolero por todos sus valiosos comentarios acerca del documento. Y al Dr. Humberto Villarreal Colmenares por todo su apoyo brindado desde mi ingreso al CIBNOR.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR, S.C.) por el apoyo brindado durante la realización del presente estudio. En especial a la dirección de posgrado por la administración y la ayuda brindada para la inscripción a un congreso internacional y las impresiones del presente documento. A la dirección del programa de acuacultura por apoyar el cultivo de la cabrilla sardinera y considerarlo como una especie estratégica. Y finalmente a la dirección de apoyo técnico por proporcionar el apoyo referente a las instalaciones.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo de la beca-crédito (172897) de manutención otorgada durante los dos años de maestría.

Al Dr. Roberto Civera Cerecedo por aceptar ser suplente en la defensa de tesis y por ser una gran persona y amigo.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	1
1. Biología de la especie.....	1
1.1. <i>Biología y descripción de la subfamilia Epinephelinae (meros)</i>	1
1.2. <i>Taxonomía y descripción morfológica de M. rosacea</i>	2
1.3. <i>Hábitat y distribución geográfica de M. rosacea</i>	4
1.4. <i>Antecedentes de investigación</i>	5
1.5. <i>Pesquería y estatus poblacional</i>	6
2. La importancia de la piscicultura marina	7
2.1. <i>Generalidades</i>	7
2.1.1. <i>Situación de la acuicultura en México</i>	9
2.2. <i>Importancia de los meros en la piscicultura marina</i>	10
3. La reproducción de los peces marinos (teleósteos).....	12
3.1. <i>Morfología de las gónadas</i>	12
3.1.1. Ovarios	12
3.1.1.1. <i>Ovocitos</i>	13
3.1.2. Testículos	17
3.1.2.1. <i>Espermatozoides</i>	18
3.2. <i>Fisiología de la reproducción</i>	18
3.2.1. Sistema neuroendocrino	19
3.2.2. Papel de las hormonas	20
3.3. <i>Estrategias reproductivas</i>	21
3.3.1. Hermafroditismo en los meros	24
3.4. <i>Reproducción en cautiverio</i>	24
3.4.1. Reproducción natural	25
3.4.2. Reproducción artificial	26
3.4.2.1. <i>Inducción hormonal</i>	27
3.4.2.2. <i>Inducción con fotoperiodo y temperatura</i>	30
3.4.2.3. <i>Determinación de la madurez sexual</i>	30
OBJETIVOS	32
1. Objetivo general	32
2. Objetivos específicos	32
MATERIAL Y MÉTODOS.....	33
1. Descripción del área experimental	33
2. Homogeneidad gonadal	34
3. Organismos experimentales	34
4. Muestreos	35
1.1. <i>Análisis en fresco</i>	36
1.2. <i>Análisis histológico</i>	36
5. Inducción hormonal	37
5.1. <i>Hembras en cautiverio</i>	37
5.2. <i>Hembras silvestres</i>	38
6. Fecundidad y tasa de fertilización	39

7. Análisis estadísticos	40
RESULTADOS	41
1. Análisis de las secciones gonadales	41
2. Análisis de los ovocitos en fresco.....	41
3. Histología de la gónada	46
3.1. <i>Descripción de los estadios de desarrollo de los ovocitos.</i>	46
3.2. <i>Tamaño (diámetro) de los ovocitos en cada estadio de desarrollo</i>	50
3.3. <i>Determinación de la época reproductiva. Análisis histológico de la</i> <i>frecuencia de ovocitos en cada estadio de desarrollo.</i>	51
3.3.1. Tanque 1	51
3.3.2. Tanque 2.....	54
4. Fotoperiodo y temperatura.....	57
5. Inducciones hormonales	58
5.1. <i>Resultados generales</i>	58
5.2. <i>Primera inducción</i>	61
5.3. <i>Segunda inducción</i>	61
5.4. <i>Tercera inducción</i>	62
6. Relación de la inducción con el tamaño de los ovocitos en fresco.....	63
7. Relación de la inducción con el análisis de los ovocitos en histología	63
8. Reproducción artificial mediante la inducción hormonal de organismos silvestres	65
9. Diferencias entre la inducción de organismos silvestres y los mantenidos en cautiverio	67
DISCUSIÓN	68
CONCLUSIONES	80
BIBLIOGRAFÍA	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Coloración común de la cabrilla sardinera, <i>M. rosacea</i>	3
Figura 2. Coloración amarilla de <i>M. rosacea</i>	4
Figura 3. Distribución geográfica de la cabrilla sardinera, <i>Mycteroperca rosacea</i>	5
Figura 4. Mecanismo regulador de la reproducción en peces (tomado de Rottman <i>et al.</i> , 1991c).	19
Figura 5. Diámetros promedio de los ovocitos en fresco en el tanque 1. a) individual por hembra. b) Diámetro promedio de todas las hembras.	43
Figura 6. Diámetros promedio de los ovocitos en fresco en el tanque 2. a) individual por hembra. b) Diámetro promedio de todas las hembras.	45
Figura 7 Fotografías de los diferentes estadios de desarrollo de los ovocitos (10X).....	49
Figura 8. Proporción de ovocitos en cada una de las etapas de desarrollo durante los muestreos del tanque 1 (n= 10; machos= 27).....	53
Figura 9. Proporción de ovocitos en cada una de las etapas de desarrollo durante los muestreos del tanque 2 (n= 12 machos 76, 31, 38).....	56
Figura 10. Fotoperiodo para La Paz, B.C.S. y temperatura del agua de los tanques en el 2003.	57
Figura 11. Relación peso vs fecundidad en hembras de la cabrilla sardinera <i>M. rosacea</i>	59

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Producción pesquera mundial y su utilización, según la FAO (2002).....	8
Tabla II. Valor de la producción pesquera de acuicultura en 1998 en el Noroeste de México. Fuente: SEMARNAP, 1998.....	9
Tabla III. Volumen de la producción de sistemas controlados en peso vivo según principales especies y su participación en la producción acuícola en toneladas. Fuente, SAGARPA (2003).....	10
Tabla IV. Tamaño de los ovocitos en fresco. Se presentan los diámetros (media \pm desviación estándar) durante el periodo experimental.....	46
Tabla V. Rango de tamaño y diámetro medio de los ovocitos y del núcleo de los mismos de las muestras histológicas de las gónadas de <i>M. rosacea</i>	51
Tabla VI. Resultados obtenidos de la reproducción artificial de la cabrilla sardinera, <i>Mycteroperca rosacea</i>	60
Tabla VII. Resultados de inducción de las hembras (n= 45) silvestres inducidas en el 2004. ...	66

LISTA DE ABREVIATURAS

°C. Grados centígrados.

cm. Centímetros.

etc. Etcétera.

FSH. Hormona folículo estimulante.

g. Gramos.

GCh. Gonadotropina Coriónica Humana.

GnRH. Hormona liberadora de gonadotropina.

GnRHa. Análogo de la hormona liberadora de gonadotropina

GtH. Gonadotropinas

h. Horas.

IGFs. Factores de crecimiento tipo insulina

Kg. Kilogramo.

L. Litros

LH. Hormona Luteinizante.

LHRH. Hormona Liberadora de la Hormona Luteinizante.

LHRH-a. Análogo de la Hormona Liberadora de la Hormona Luteinizante.

mg · L⁻¹. Miligramos por litro.

m. Metros

mm. Milímetros.

m³. Metros cúbicos.

n. Número

UI · Kg⁻¹. Unidades Internacionales por kilogramo.

μg · Kg⁻¹. Microgramos por kilogramo.

μ. Micras.

%. Porcentaje.

‰. Partes por mil

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

1. Biología de la especie

1.1. Biología y descripción de la subfamilia *Epinephelinae* (meros)

Dentro de la familia de los Serránidos se encuentra la subfamilia *Epinephelinae* la cual posee 15 géneros y 159 especies (Heemstra y Randall, 1993). Su talla máxima se encuentra entre los 12 cm hasta 4 m (Tucker, 1999). Las especies de esta subfamilia son llamadas comúnmente meros. Los meros son grandes depredadores que se distribuyen en los trópicos y sub-trópicos de todo el mundo. Se alimentan principalmente de otros peces, crustáceos y cefalópodos (Parrish, 1987; Heemstra y Randall, 1993).

Los huevos de los meros no poseen sustancias adhesivas por lo que flotan a salinidades normales (34 – 37 ‰). Las larvas de la mayoría de las especies pasan por lo menos sus primeras semanas de vida a la deriva junto con el plancton oceánico. Cuando son juveniles, los meros se asientan en aguas más someras para buscar refugio (Tucker, 1999) y alimento.

Son peces solitarios a excepción de las agregaciones en la época reproductiva. Por lo general son residentes permanentes de un lugar en particular (arrecife, cueva, etc.) (Heemstra y Randall, 1993). Los miembros de la subfamilia *Epinephelinae* que poseen cuerpo robusto son de hábitos bentónicos y los que poseen el cuerpo más alargado son de hábitos más pelágicos. La boca posee dientes pequeños y finos en las mandíbulas, vómer y palatino. Algunas especies

poseen dientes caninos en la parte frontal de la boca sin presencia de molares. El maxilar se encuentra expuesto al encontrarse la boca cerrada.

1.2. Taxonomía y descripción morfológica de *M. rosacea*.

Familia	Serranidae
Subfamilia	Epinephelinae
Orden	Perciformes
Clase	Actinopterygii
Género	<i>Mycteroperca</i>
Especie	<i>rosacea</i>

Diagnosis:

Una aleta dorsal única que presenta de VII a XI espinas y 10 a 21 radios. La aleta anal con III espinas y 7 a 13 radios. La aleta caudal puede ser truncada o cóncava con 13 - 15 radios ramificados. Las aletas pélvicas con 1 espina y 5 radios ramificados, se encuentran insertadas 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 de las branquias separadas. Una sola línea lateral con escamas separadas y pequeñas (Heemstra y Randall, 1993; Allen y Robertson, 1998).

La cabrilla sardinera *M. rosacea*, posee el quinto o el sexto radio alargado en el margen de la aleta anal. La membrana inter-espinal no es dentada. Espinas dorsales: 11-11, radios dorsales: 16-18, espinas anales: 3-3, radios anales: 10-11. Poseen 37-43 branquiespinas y el arco branquial superior más de 21 (Peláez-Mendoza, 1997). La línea lateral tiene de 72 a 77 escamas estenoideas (Peláez-Mendoza, 1997).

Las especies de meros son frecuentemente identificadas por sus patrones de coloración (Heemstra y Randall, 1993). La cabrilla sardinera puede presentar dos patrones de coloración. El más común es entre verde oscuro, marrón y gris cubierto con manchas marrones y rojas, con líneas irregulares. La aleta caudal presenta un margen blanco (Figura 1). El patrón menos frecuente es una coloración anaranjada-amarillenta muy brillante y es frecuente la aparición de manchas negras irregulares (Heemstra y Randall, 1993) (Figura 2). La talla máxima reportada es de 86 cm y el peso máximo publicado es de 9,640 g (Fishbase, 2004).



Figura 1. Coloración común de la cabrilla sardinera, *M. rosacea*.



Figura 2. Coloración amarilla de *M. rosacea*

1.3. Hábitat y distribución geográfica de *M. rosacea*

La especie *Mycteroperca rosacea* llamada comúnmente cabrilla sardinera (Inglés: Leopard grouper) es una de las 5 especies de este género presente en aguas tropicales del Pacífico (Rosenblatt y Zahuaranec, 1967; Heemstra y Randall, 1993). Se distribuye en la costa sur oriental de Baja California (Pacífico Central del este) y en todo el golfo de California hasta Jalisco, México (Figura 3). Su hábitat incluye áreas rocosas cerca de la línea de costa y alrededor de islas y zonas de praderas submarinas (Allen y Robertson, 1998; Mendoza-Bustamante, 2002).

Se localizan a profundidades menores a 50 m donde la temperatura anual del agua fluctúa entre los 20 y 30 °C y la salinidad entre los 34 y 35 ‰, respectivamente (V. Gracia, *com. pers.*).

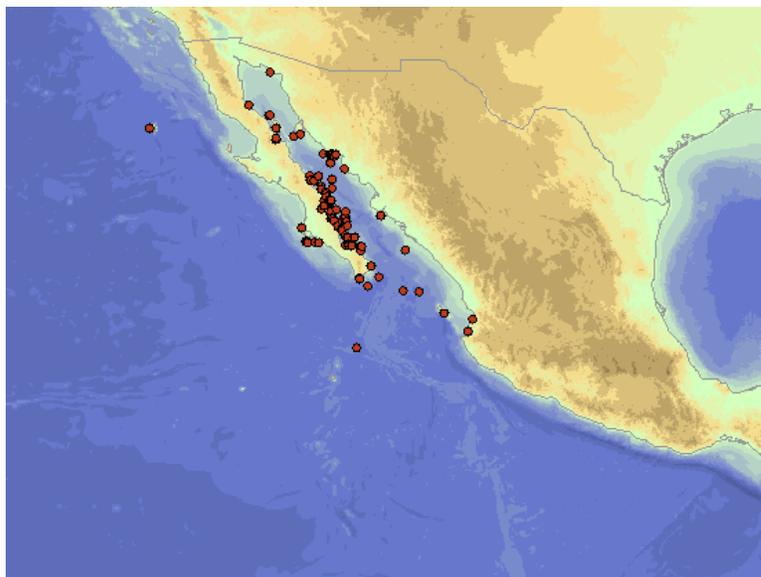


Figura 3. Distribución geográfica de la cabrilla sardinera, *Mycteroperca rosacea*.

1.4. Antecedentes de investigación

Existen pocos estudios de la biología de la cabrilla sardinera. Éstos se han basado en la alimentación natural, donde los resultados más destacables indican que los individuos adultos de cabrilla sardinera se alimentan de bancos de arenque, *Harengula thrissina*, anchovetas, *Cetengraulis mysticetus* y otros peces (Peláez-Mendoza, 1997), y que los juveniles se alimentan durante el día, de peces y crustáceos bentónicos (Hobson, 1968). Los estudios de la edad y crecimiento indican que la cabrilla sardinera es un pez con una baja tasa de crecimiento, atribuido principalmente a sus hábitos alimenticios (Díaz-Uribe *et al.*, 2001).

Se han realizado estudios de la ecología del reclutamiento, los cuales han sido basados en la relación entre la abundancia de la cabrilla sardinera y la disponibilidad de las zonas de sargazo como hábitat de asentamiento (Mendoza-Bustamante, 2002).

En cuanto a la investigación en el área de la acuicultura, podemos encontrar trabajos de inducción hormonal con Gonadotropina Coriónica humana (GCh) de organismos silvestres con una producción de mas de 40,000 huevos/pez, la descripción del desarrollo embrionario completo y la morfología de los huevos y las larvas hasta el momento de la primera alimentación (Gracia-López *et al.*, 2004a). También se ha estudiado el efecto de la temperatura y la salinidad en huevos y larvas (Gracia-López *et al.*, 2004b). Recientemente se han producido los primeros juveniles de esta especie en cautiverio (Gracia, 2003). Cabe destacar que la cabrilla sardinera es una especie de fácil adaptación al cautiverio y resistente a enfermedades y manipulación (V. Gracia, *com. pers.*).

1.5. Pesquería y estatus poblacional

La cabrilla sardinera *M. rosacea*, forma parte importante de las pesquerías artesanales del estado de Baja California Sur, particularmente en la Bahía de La Paz y sus áreas aledañas (Peláez-Mendoza, 1997; Díaz-Uribe *et al.*, 2001). Es un pez reconocido en la pesca comercial, y tiene un alto valor de mercado (9 USD/Kg) por lo que puede ser un buen candidato para la acuicultura al igual que otras especies de meros (Roberts y Schlieder, 1983; Tseng y Ho, 1988; Goodyear y Schirripa, 1991; Lim, 1993).

A partir del año 1996, *M. rosacea* fue introducida en la lista roja de especies amenazadas de la International Union of Conservation of Nature (IUCN) con la clasificación VU (A1d + 2d) considerando a la especie como vulnerable y con riesgo a la extinción en mediano plazo

(IUCN, 2003). Esta situación hace que el cultivo mediante la inducción hormonal de la cabrilla sardinera junto con planes de repoblamiento pueda ser considerado como una estrategia para la preservación de la especie.

2. La importancia de la piscicultura marina

La demanda de peces como alimento, recreación y para acuarios ornamentales, ha ido en aumento en los últimos años. Esto hace que la piscicultura se esté convirtiendo rápidamente en un importante campo de los recursos acuáticos. Esto ha dado como resultado un incremento en el esfuerzo para el desarrollo de técnicas de producción de peces en criaderos (Rottmann *et al.*, 1991a; Heemstra y Randall, 1993).

La acuicultura intensiva de peces marinos tiene como objetivo la domesticación y reproducción de especies con un alto precio en el mercado (Tait y Hichman, 2001); y aparece como una actividad adicional a las pesquerías ya que se producen peces de los cuales las poblaciones naturales han declinado durante las últimas décadas debido a la degradación ambiental y a la sobreexplotación (Billard, 1989; Rottmann *et al.*, 1991a).

2.1. Generalidades

Para la alimentación mundial, la producción de la pesca y de la acuicultura es muy importante ya que proporcionan más del 15 % del suministro total de proteínas animales; el potencial de

los avances acuícolas para mejorar la seguridad alimentaria local, mitigar la pobreza y mejorar los medios de subsistencia rurales es ampliamente reconocido (FAO, 2002).

A diferencia de la pesca de captura, la producción de la acuicultura ha seguido creciendo sensiblemente (Tabla I). Se cree que la acuicultura continúa teniendo potencial en muchas zonas y en relación con muchas especies (FAO, 2002). Durante los tres últimos decenios, la acuicultura ha crecido, se ha diversificado, se ha intensificado y ha registrado adelantos tecnológicos. (FAO, 2002).

Tabla I. Producción pesquera mundial y su utilización, según la FAO (2002).

	1996	1997	1998	1999	2000	2001*
	(millones de toneladas)					
PRODUCCIÓN						
<i>CONTINENTAL</i>						
Captura	7.4	7.5	8.0	8.5	8.8	8.8
Acuicultura	15.9	17.5	18.5	20.1	21.4	22.4
Continental total	23.3	25.0	26.5	28.6	30.2	31.2
<i>MARINA</i>						
Captura	86.1	86.4	79.3	84.7	86.0	82.5
Acuicultura	10.8	11.1	12.0	13.3	14.2	15.1
Marina total	96.9	97.5	91.3	98.0	100.2	97.6
Captura total	93.5	93.9	87.3	93.2	94.8	91.3
Acuicultura total	26.7	28.6	30.5	33.4	35.6	37.5
Total de la pesca mundial	120.2	122.5	117.8	126.6	130.4	128.8
<i>UTILIZACIÓN</i>						
Consumo humano	88.0	90.8	92.7	94.4	96.7	99.4
Usos no alimentarios	32.2	31.7	25.1	32.2	33.7	29.4
Población (miles de millones)	5.7	5.8	5.9	6.0	6.1	6.1
Suministro por persona (kg)	15.3	15.6	15.7	15.8	16.0	16.2
Con exclusión de las plantas acuáticas.						
* Estimación preliminar.						

2.1.1. Situación de la acuicultura en México.

En 1998, la producción de acuicultura en México generó 1,776 millones de pesos, es decir, el 17.7 % del valor total de la producción pesquera nacional. En los últimos años, la acuicultura de la región Noroeste del país ha presentado una dinámica acelerada; entre 1990 y 1999 alcanzó un crecimiento promedio del 8.7 %, en comparación al -1.37 % registrado a nivel nacional (Tabla II) (SEMARNAP, 1998).

Tabla II. Valor de la producción pesquera de acuicultura en 1998 en el Noroeste de México.
Fuente: SEMARNAP, 1998.

	Acuicultura (Miles de pesos)	Participación Nacional (%)	Participación Noroeste (%)
Nacional	1,776,100	100	
Baja California	24,195	1.36	2.05
Baja California Sur	4,077	0.23	0.35
Sonora	397,905	22.40	33.70
Sinaloa	630,046	35.47	53.36
Nayarit	124,463	7.01	10.54

La producción acuícola en la región Noroeste del país se encuentra concentrada en unos cuantos productos, siendo el camarón, por mucho, el principal producto, ya que aporta el 70 % del volumen de producción de acuicultura y el 93.4 % del valor generado, es decir 22,600 toneladas y 1,103 millones de pesos (SEMARNAP, 1998).

Económicamente, la producción de mojarra es la segunda en importancia, con casi el 18 % del volumen total y el 3.2 % del valor total y el ostión es el tercer producto de mayor peso en la

región aportando el 5.4 % del volumen total y el 1.24 % del valor (Tabla III) (SEMARNAP, 1998).

Tabla III. Volumen de la producción de sistemas controlados en peso vivo según principales especies y su participación en la producción acuícola en toneladas. Fuente, SAGARPA (2003).

Especies	PRODUCCIÓN								
	Total	Acuícola				Pesquera			
		Sistemas Controlados		Pesquerías Acuiculturales		Total			
P/	2003	2002	2003	2002	2003	2002	2003	2002	2002
Abulón	21	16	21	16	0	0	596	496	
Almeja	8	2	8	2	0	0	11,367	13,874	
Atún	958	330	958	330	0	0	145,419	123,052	
Bagre	1,281	1,894	237	700	1,043	1,194	3,036	2,882	
Camarón	47,556	38,425	47,556	38,425	0	0	94,173	78,118	
Carpa	16,789	19,625	320	337	16,470	19,288	23,525	24,294	
Charal	618	692	0	0	618	692	2,972	2,033	
Langosta **	10	4	10	4	0	0	2,152	2,001	
Langostino	38	26	16	6	21	20	2,632	2,463	
Lobina	473	440	1	1	471	439	934	581	
Mojarra	49,722	51,806	897	657	48,824	51,148	54,817	55,193	
Ostión	39,940	39,234	1,299	1,416	38,641	37,818	41,159	41,413	
Trucha **	2,928	2,908	2,709	2,728	219	180	5,899	5,777	
Otras	887	512	155	4	732	508	940,037	949,606	
Total	161,228	155,914	54,188	44,626	107,040	111,287	1,328,717	1,301,784	

P/ Cifras preliminares. *No aplica el cálculo por que la cifra del año base es cero ó la variación resultante es nula o superior al 110 %. **En la producción pesquera total se incluyen especies tanto de ambientes marinos como de agua dulce, mientras que en la producción acuícola sólo especies de agua dulce.

2.2. Importancia de los meros en la piscicultura marina

Los meros están conformados por un grupo de especies que pertenecen a la subfamilia *Epinephelinae*. En ellos destacan los géneros *Epinephelus*, *Mycteroperca*, *Plectropomus* y *Cromileptes*.

Los peces del género *Epinephelus* son considerados por su alto valor alimenticio y comercial en varios países, por lo tanto su potencial de comercialización es elevado (Akatsu *et al.*, 1983; Heemstra y Randall, 1993; James *et al.*, 1998; Tucker, 1999).

La forma de reproducción de los meros (hermafroditas protogíneos) representa un problema para el manejo de las pesquerías debido a que los machos por lo general son más grandes, más viejos y menos numerosos que las hembras (Marino *et al.*, 2003). Como es sabido, la pesca es selectiva por lo que las poblaciones naturales de los machos están decreciendo rápidamente. Los meros contribuyeron sustancialmente a las pesquerías comerciales mundiales con más de 97,000 toneladas en 1990 (Heemstra y Randall, 1993).

Los meros han sido cultivados en el sureste Asiático por más de 15 años, siendo *E. tawina* la primera especie que se cultivó en granjas de Kuwait, Singapur y Tailandia (Spedicato *et al.*, 1995). Alrededor de 20 especies de meros han sido cultivadas a escala comercial. Dentro de estas se encuentran: *E. coioides*, *E. malabaricus*, *E. akaara*, *E. striatus*, *E. septemfasciatus*, *Cromileptes altivelis* y *M. microlepis* (Heemstra y Randall, 1993). El principal problema es que la mayor parte de los cultivos ha dependido de la captura de juveniles silvestres (Kuo *et al.*, 1988; Tucker, 1999; Tucker, 2003). Esto hace que la producción de meros sea fluctuante debido a la variación en la disponibilidad de semilla, ya sea del medio natural (que fluctúa y es escasa) o de la producción de larvas en criaderos (Lim 1993; James *et al.*, 1998; Tookwinas, 1990). Las larvas son sumamente frágiles por lo que la supervivencia es baja; además el reducido tamaño de la boca afecta a la primera alimentación (Spedicato *et al.*, 1995; Gracia-López *et al.*, 2004a). Una

vez que se alcanza el estadio de juvenil, la supervivencia debe ser cercana a 100 % (Tucker, 1999).

Las operaciones eficientes dentro de la industria acuícola requieren una producción sostenida de huevos. Algunas especies de peces marinos presentan épocas de puesta muy reducidas durante un año siendo una limitante en la duración de los trabajos experimentales. La productividad se podría potenciar si los periodos de puestas se pudieran aumentar (Caddell *et al.*, 1990); Por lo que es necesario implementar técnicas confiables para la reproducción y mantenimiento de los peces con bajos costos de producción (Billard, 1989). Los estudios de la reproducción artificial de las cabrillas se vuelven esenciales para lograr una producción estable de juveniles.

3. La reproducción de los peces marinos (teleósteos)

3.1. Morfología de las gónadas

3.1.1. Ovarios

La información existente del desarrollo de los ovarios de los peces teleósteos, ha provenido de un pequeño número de especies que tienen importancia comercial (Tyler y Sumpter, 1996). En general, el tamaño de los ovarios en los peces aumenta con el estadio de desarrollo y con el tamaño y/o edad del pez (West, 1990).

Estructuralmente, el ovario de los teleósteos es un saco cerrado que comunica con la cloaca mediante el oviducto o un conjunto de folículos que se abren a la cavidad corporal mediante ductos en forma de pequeños embudos. El ovario de los teleósteos puede variar desde un simple saco a un órgano complejo con funciones tales como producción de ovocitos, almacenaje de esperma y lugar de fertilización y de alimentación para el desarrollo del embrión. (Zanuy y Carrillo, 1987; Heemstra y Randall, 1993).

La determinación macroscópica del desarrollo del ovario se encuentra basada en los cambios de apariencia y tamaño del ovario. Esta es una de las técnicas más empleadas en los estudios de reproducción de peces. Sin embargo, la precisión ha sido cuestionada. En la mayoría de los estudios, los ovarios se clasifican según el ovocito más avanzado sin importar el número. De todos los métodos que existen para determinar el estado reproductivo de una hembra, la histología es la técnica más adecuada y dependiendo del tipo de estudio puede ser el único método satisfactorio (West, 1990).

3.1.1.1. Ovocitos

Como en la mayoría de los vertebrados inferiores, el crecimiento del ovocito es largo y el aumento de tamaño considerable. En general, cada año se forman nuevos ovocitos como consecuencia de las divisiones ovogoniales, de manera que los ovocitos de nueva formación no madurarán hasta el próximo año (Zanuy y Carrillo, 1987).

El crecimiento del ovario durante la maduración de los teleósteos marinos es debido al desarrollo de los ovocitos, la acumulación de proteína de vitelo y la incorporación de agua. Este crecimiento es estimulado en parte por las hormonas esteroides (Liu *et al.*, 1991). En teleósteos adultos las ovogonias en división permanecen dentro del ovario. Por lo tanto, puede ser que no haya un límite en el número de ovocitos que un ovario de un teleósteo pueda producir (Tyler y Sumpter, 1996).

En todos los teleósteos, los ovocitos se someten a un patrón básico de crecimiento. El conjunto de acontecimientos que tienen lugar en el ovario de un pez adulto ovíparo y de puesta anual se puede resumir en:

Ovogénesis. Transformación de las ovogonias en ovocitos primarios (Wallace y Selman, 1981).

Crecimiento primario. Podemos observar las ovogonias primarias y secundarias, las cuales pueden ser identificadas por su crecimiento mitótico. La transformación de ovogonias a ovocitos se encuentra caracterizada por el inicio de la primera profase meiótica (Bromage y Cumarantunga, 1988). Los ovocitos primarios, no contienen vitelo (Murua y Saborido-Rey, 2003). El núcleo se encuentra en el centro del ovocito el cual contiene un solo nucleolo grande. Al continuar el desarrollo del ovocito, aparecen múltiples nucleolos cercanos a la periferia del núcleo “estadio peri-nucleolar” (Wallace y Selman, 1981; Bromage y Cumarantunga, 1988).

Estadio de alveolo cortical. Aparecen las proteínas de vitelo en gránulos u organelos, lo que indica que el ovocito continuará su desarrollo normal a través de las siguientes etapas. Esta etapa es dependiente de la gonadotropina. Las vesículas de alvéolos corticales aumentan en número y tamaño alrededor de la periferia del ovocito donde finalmente liberarán su contenido hacia el espacio perivitelino por dentro de la membrana del huevo durante el proceso de fertilización (Wallace y Selman, 1981; Murua y Saborido-Rey, 2003). Además, es en este estadio donde las gotas de aceite se comienzan a acumular en el citoplasma solo en las especies que contienen gota lipídica dentro del huevo (Murua y Saborido-Rey, 2003).

Vitelogénesis. Es el evento responsable del gran crecimiento de los ovocitos de los teleósteos, puede ser responsable de hasta un 95 % del tamaño final. La gonadotropina es responsable de promover la transferencia de vitelogenina desde la sangre hacia los ovarios vitelogénicos u ovocitos, estimulando la actividad micropinocítica en la superficie del ovocito (Wallace y Selman, 1981). Es el periodo del desarrollo ovárico en el cual las proteínas extra-ováricas son secuestradas, procesadas y empaquetadas dentro de los ovocitos. La duración de la vitelogénesis depende en gran medida en el patrón de desarrollo del ovario (Wallace y Selman, 1981; Tyler y Sumpter, 1996; Murua y Saborido-Rey, 2003).

Maduración. La vitelogénesis termina cuando los ovocitos alcanzan su tamaño final de desarrollo y eventualmente se someten al proceso de maduración y de ovulación después del correcto estímulo hormonal (Wallace y Selman, 1981; Murua y Saborido-Rey, 2003). El comienzo de la fase de maduración se da con la migración del núcleo hacia el polo animal, el ovocito se encuentra en las fases últimas de la primera división meiótica (telofase I) (Bromage y

Cumarantunga, 1988). La fase de hidratación comienza al final de la maduración justo antes de la ovulación. Esta fase consiste en la rápida incorporación de fluido del ovocito a través del folículo y la fusión de las vesículas de vitelo o de gota lipídica. Este proceso es especialmente pronunciado en especies con huevos pelágicos (Wallace y Selman, 1981; Tyler *et al.*, 1997; Murua y Saborido-Rey, 2003). En algunos teleósteos, la hidratación durante la fase final del desarrollo puede ser una gran proporción del tamaño final del huevo (hasta un 88 %), mientras que en otros la hidratación es despreciable.

Ovulación. El ovocito se convierte en huevo y es ovulado hacia el lumen ovárico. (Wallace y Selman, 1981; Murua y Saborido-Rey, 2003). El huevo se encuentra rodeado de la zona radiata la cual se convierte en el corion que es una capa extracelular que es producida por la capa granulosa y el ovocito. En el podemos encontrar canales o poros embebidos en ella; mientras continúa el desarrollo, esta capa se vuelve mas gruesa (Bromage y Cumarantunga, 1988). Después de la ovulación aparece el micrópilo que es un canal a través del corion el cual permite el paso a un solo espermatozoide dentro del huevo en la fertilización (Wallace y Selman, 1981).

Atresia. Es la degeneración del ovocito, esta puede suceder en cualquier estadio de desarrollo y juega un papel importante en la determinación del número de ovocitos que son reclutados hacia los estadios siguientes de desarrollo (Wallace y Selman, 1981; Tyler y Sumpter, 1996). También el número de ovocitos atrésicos incrementa cuando los peces son sometidos a condiciones sub-óptimas como la reducción del alimento (Wallace y Selman, 1981; Tyler y Sumpter, 1996) y estrés. La atresia es un proceso sumamente rápido, siendo el tiempo a partir

del comienzo de la degeneración del ovocito y la reabsorción completa del vitelo muy corto (Murua *et al.*, 2003).

El estadio de desarrollo de los ovocitos puede ser determinado con un simple examen microscópico del ovocito completo. El uso de medidas de ovocitos ha sido un buen método para determinar el desarrollo ovárico (West, 1990). En estudios rutinarios, como los de los ciclos estacionales de reproducción o del tamaño en la madurez no es necesario realizar histología de todas las muestras. La apariencia de los ovocitos maduros depende de el tipo de secuencia de maduración de una especie en particular (West, 1990).

3.1.2. Testículos

En la mayoría de los teleósteos, los testículos son dos órganos pareados, alargados y unidos por la pared dorsal de la cavidad corporal. El espermiducto, el canal que conecta la gónada con el exterior, desemboca en la papila urogenital. La mayor parte de los teleósteos poseen testículos lobulares, los cuales se caracterizan por poseer una serie de lóbulos separados por tejido fibroso conectivo (Zanuy y Carrillo, 1987).

Muchos Serránidos son hermafroditas protogíneos, madurando primero como hembras y más tarde como machos. El cambio de sexo ocurre con la edad, pero en ocasiones el cambio puede ocurrir si no hay machos presentes en la población (Shapiro, 1987; Heemstra y Randall, 1993; Tucker, 1999).

Como resultado de la transición sexual, los ovocitos se degeneran y las espermatogonias proliferan. De esta manera, el ovario se transforma en un testículo funcional. Sin embargo, algunas especies protogíneas pueden presentar hembras de gran tamaño que no cambian de sexo y machos maduros de tamaños pequeños (Heemstra y Randall, 1993).

3.1.2.1. *Espermatozoides*

Los gametos masculinos son difíciles de clasificar en estadios debido a que la maduración del tejido espermático no sucede en varias etapas sino como un cambio gradual en la proporción relativa de espermatoцитos, espermátidas y espermatozoides. También puede haber una variación considerable en la apariencia del tejido espermático para cada categoría (Mackie y Lewis, 2001).

El espermatozoides de los meros es bastante activo; se cree que con el espermatozoides de un solo macho bastaría para la fertilización completa de huevos de 2 hembras maduras (Tseng y Ho, 1988). La viabilidad espermática, puede ser determinada observando la motilidad bajo un microscopio

3.2. Fisiología de la reproducción

El mecanismo interno que regula el proceso de la reproducción en peces, es la cadena cerebro-hipotálamo-pituitaria-gónada (Rottman *et al.*, 1991c). (Figura 4).

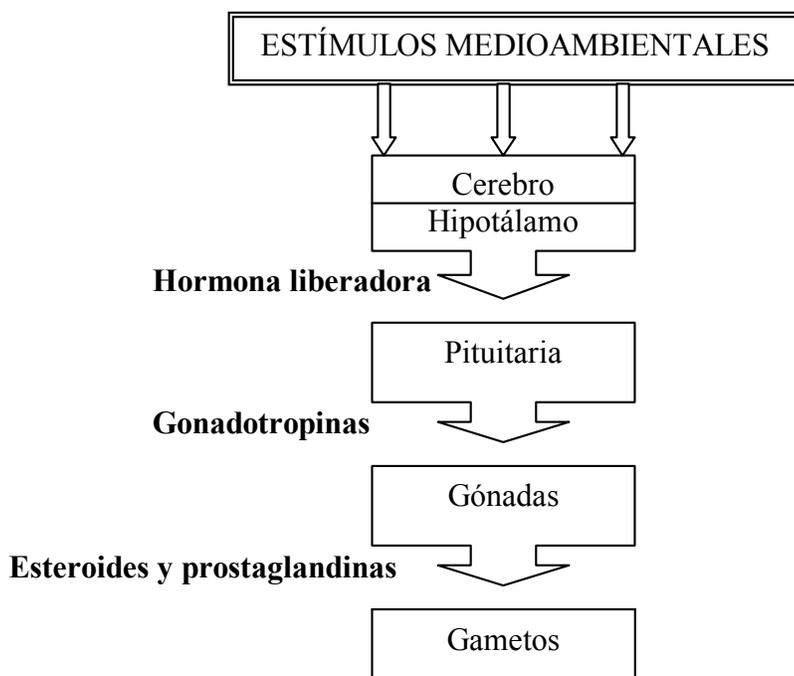


Figura 4. Mecanismo regulador de la reproducción en peces (tomado de Rottman *et al.*, 1991c).

3.2.1. Sistema neuroendocrino

Para los vertebrados el sistema neuroendocrino es fundamental en el control de la reproducción. La percepción de estímulos ambientales como el fotoperiodo y la temperatura (entre otros) está regida por el sistema nervioso e incluye el paso del estímulo desde los receptores sensoriales al cerebro. En el hipotálamo se producen las hormonas hipotalámicas que son transportadas a través de los axones neuronales a la pituitaria, donde inhibirán o estimularán la liberación de gonadotropinas al torrente circulatorio. Las gonadotropinas que son esteroides gonadales son los artífices finales del proceso de crecimiento gonadal, maduración y puesta (Zanuy y Carrillo, 1987).

La pituitaria, tanto por su origen como por su función, es la más compleja e importante del sistema endocrino. Es un lugar de síntesis, almacenaje y liberación de varias hormonas peptídicas. Puede ser considerada como un transductor que, a través de sus secreciones, posibilita que el sistema nervioso central controle un rango muy amplio de funciones endocrinas, como la reproducción, la osmorregulación, el crecimiento y alguna forma de control del metabolismo (Zanuy y Carrillo, 1987).

Los niveles de esteroides gonadales en el plasma nos proporcionan información acerca de la situación en la que se encuentra el eje pituitaria-gónada y por lo tanto del estatus reproductivo del pez (Merson *et al.*, 2000).

3.2.2. Papel de las hormonas

En los mamíferos existen dos gonadotropinas (GtH), la hormona Folículo Estimulante (FSH) y la Hormona Luteinizante (LH). Ambas juegan un papel en la maduración de la gónada y de los ovocitos (Tyler y Sumpter, 1996). En los peces, también existen dos gonadotropinas, la GtH I y la GtH II las cuales se cree que son similares a la FSH y a la LH, respectivamente. El papel de la GtH II es el de realizar la ovulación de los ovocitos maduros, el de la GtH I aún no es muy claro (Tyler y Sumpter, 1996).

En los teleósteos, como en todos los vertebrados sin excepción, las funciones gonadales son mantenidas gracias a las gonadotropinas. Las células productoras de gonadotropina tienen por

tanto, una posición importante en la cadena de estructuras que sirven para asegurar la reproducción y la supervivencia de las especies (Zanuy y Carrillo, 1987).

La regulación de la secreción de gonadotropina en mamíferos está controlada por un complejo sistema de mecanismos de retroalimentación positiva y negativa entre el hipotálamo, pituitaria y el ovario y la regulación involucra a los esteroides sexuales como el estradiol-17 β , la testosterona y otros factores no esteroideos. Sin embargo, se conoce muy poco de cómo se encuentra regulado el ciclo ovárico y de la regulación de la síntesis de GtH en peces (Tyler *et al.*, 1997).

3.3. Estrategias reproductivas

Los peces presentan una gran diversidad de estrategias reproductivas que son asociadas con características como el sistema de apareamiento, el número de parejas, el papel del sexo, hábitos de puesta y fecundidad, entre otros (Murua y Saborido-Rey, 2003).

La mayoría de los peces marinos de importancia comercial son iteróparos, reproduciéndose más de una vez durante sus vidas aunque existen excepciones como los salmones del pacífico (*Oncorhynchus* sp.), anguilas (*Anguilla* sp.) y el capelín (*Mallotus villosus*) que son semelparos, reproduciéndose una sola vez y mueren (Tyler y Sumpter, 1996). El número total de huevos producido durante la vida del pez depende no solo de la producción estacional de huevos sino también de la longevidad reproductiva. No todas las especies iteróparas se reproducen todos

los años; algunos peces presentan puestas no anuales con una periodicidad irregular o regular (Tyler y Sumpter, 1996; Murua y Saborido-Rey 2003). La mayoría de los peces son gonocóricos, presentando sexos separados. No poseen dimorfismo sexual y presentan fertilización externa sin cuidado parental (Murua y Saborido-Rey 2003).

En la mayoría de los teleósteos, el desarrollo de los ovarios ha sido clasificado como sincrónico o como asincrónico, de acuerdo al patrón de crecimiento, a la distribución de los tamaños y frecuencia de los ovocitos dentro del ovario (Wallace y Selman 1981; Tyler y Sumpter, 1996).

Ovarios sincrónicos. Todos los ovocitos se desarrollan y son ovulados al unísono. Se encuentran en peces que ponen una sola vez y después mueren. La distribución del tamaño es de un solo tipo (Wallace y Selman, 1981).

Ovarios sincrónicos en grupo. Son generalmente dos poblaciones o cohortes de ovocitos en desarrollo dentro del ovario. Al menos dos grupos de ovocitos de tamaños diferentes se encuentran presentes en un mismo tiempo. El grupo mayor, por lo general, es más homogéneo que el pequeño (Wallace y Selman, 1981).

Ovarios asincrónicos. Los huevos son reclutados de una población heterogénea de ovocitos en desarrollo y son ovulados en varios paquetes durante cada época de puesta. En los peces que son asincrónicos, el tamaño de los huevos ovulados en los paquetes del final de la época reproductora, generalmente es menor. Esto se ha asociado con el decremento de los recursos de la hembra (Tyler y Sumpter, 1996). La frecuencia de tamaño en la distribución es continua a

excepción de los ovarios maduros donde puede haber una clara separación entre los ovocitos maduros y los vitelogénicos. Los peces que presentan desarrollo asincrónico tienen varias puestas en la época de reproducción (West, 1990).

Los peces que ponen huevos pelágicos generalmente producen huevos más pequeños que los peces que ponen huevos en sustratos. Por el contrario, los peces que producen huevos grandes son por lo general menos fecundos que los que producen huevos pequeños. Los teleósteos marinos tienden a ser muy fecundos. El tamaño de los huevos puede variar dentro de la misma especie debido a la variación genética. También el tamaño se ve afectado por el estatus nutricional de la hembra durante la recrudescencia ovárica (Tyler y Sumpter, 1996).

Para describir la fecundidad en los peces, generalmente se utilizan dos términos: fecundidad absoluta, la cual es el número total de huevos ovulados por pez y la fecundidad relativa, que es el número de huevos ovulados por unidad (Kg) de peso. El número de huevos producido es típico de la especie, aunque como ocurre en el tamaño de los huevos, la variación genética intraespecífica, edad, tamaño corporal, factores ambientales y la nutrición pueden incrementar la variación de este número (Tyler y Sumpter, 1996).

El potencial reproductivo es la medida de la capacidad de una población para producir huevos viables y larvas y puede ser considerado como el principal acontecimiento de una estrategia reproductiva (Tyler y Sumpter, 1996; Murua y Saborido-Rey, 2003).

3.3.1. Hermafroditismo en los meros

La mayoría de los meros que han sido estudiados son hermafroditas protogínicos, es decir, el pez madura primero como hembra y luego se transforma a macho después de la reversión sexual (Bouain y Siau, 1983; Spedicato *et al.*, 1995). Las poblaciones por lo general poseen más hembras que machos (Shapiro, 1987); Por lo que en algunas especies ha sido complicado mantener reproductores con proporciones sexuales equilibradas dentro de los estanques (Marino *et al.*, 2003). El tamaño y la edad en la madurez sexual y la reversión sexual en hermafroditas protogíneos varía con la especie (Kuo *et al.*, 1988). Durante la transición sexual el desarrollo de los conductos seminíferos y de la espermatogénesis es muy activa mientras que los ovocitos se degeneran rápidamente (Tseng y Ho, 1988). La reversión sexual ocurre durante el periodo no reproductivo (Bruslé y Bruslé 1975; Tseng y Ho 1988).

3.4. Reproducción en cautiverio

La mayoría de los meros estudiados se han adaptado rápidamente al cautiverio (Tucker, 1999). Las puestas voluntarias de meros en cautiverio son frecuentes en peces que se encuentran bien alimentados, en bajas densidades, y en condiciones naturales de temperatura y fotoperiodo (Tucker, 1999). Sin embargo, existe un gran número de especies de peces que poseen un gran valor económico para la acuicultura y que no se reproducen espontáneamente en cautividad. En ocasiones es complicado reproducir las condiciones óptimas para alcanzar desoves

naturales aunque las hembras presenten ovocitos en estado de madurez final (Spedicato *et al.*, 1995; Marino *et al.*, 2003).

Las hembras reproductoras que se encuentran listas para el desove, se encuentran en una condición muy delicada. Por este motivo para lograr la reproducción en cautiverio, es necesario que los peces sean manipulados cuidadosamente y la calidad de agua sea mantenida en condiciones óptimas para lograr reducir el estrés de los organismos. La importancia del buen manejo y la calidad del agua no pueden ser subestimadas. Cuando las hembras son estresadas o lastimadas, pueden sufrir rápidamente cambios fisiológicos que pueden dar como resultado la reabsorción de los huevos en el ovario (Rottmann *et al.*, 1991b).

3.4.1. Reproducción natural

La reproducción en los peces es regulada por factores externos medioambientales (cambios cíclicos de luz, temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto, presión barométrica, lluvias, presencia de alimento, etc.), los cuales disparan los mecanismos internos. Su supervivencia, reproducción y crecimiento depende en gran medida de la percepción de estos estímulos o factores ambientales, de su traducción a impulsos bioeléctricos y hormonales y finalmente de la adaptación fisiológica de las especies, que suele ser cíclica y en sincronía con el medio ambiente externo (Zanuy y Carrillo, 1987; Tucker, 1999).

Los mecanismos internos que regulan el desove, son similares para la mayoría de los peces. Sin embargo, los factores ambientales externos que controlan la reproducción, varían ampliamente entre las especies (Rottmann *et al.*, 1991c).

La genética de un individuo y su estatus nutricional pueden ser consideradas como determinantes absolutas de la fecundidad del pez. El número de huevos producido es resultado de un balance entre el reclutamiento de ovocitos hacia el pool de maduración y los ovocitos atrésicos (Tyler y Sumpter, 1996).

3.4.2. Reproducción artificial

La ovulación puede ser inducida ofreciendo al pez las condiciones medio ambientales adecuadas como sustrato de puesta, presencia de machos, temperatura cálida, fotoperiodo, etc. (Billard, 1989; Caddell *et al.*, 1990). Cuando la presencia de estos factores no es suficiente para obtener una respuesta ovulatoria o cuando el ambiente es difícilmente reproducible en un estanque, se recurre a la reproducción inducida con hormonas (Billard, 1989; Caddell *et al.*, 1990; Tucker, 1999; Rottmann *et al.*, 1991a). Dichas hormonas deben ser seleccionadas en base a la especie que se quiera inducir y a la disponibilidad de éstas (Caddell *et al.*, 1990; Rottmann *et al.*, 1991a). Además, el estrés generado por la falta de adaptación de un pez al cautiverio puede causar la falta de puestas anuales de algunos individuos (Liu *et al.*, 1991).

3.4.2.1. *Inducción hormonal*

Las hormonas han sido usadas en la acuicultura para la reproducción, especialmente en la inducción o la sincronización de la ovulación y la estimulación a la espermiación (Billard, 1989).

Las técnicas de inducción artificial con hormonas influyen el mecanismo secuencial de la cadena cerebro-hipotálamo-pituitaria-gónada en varios niveles, ya sea mediante la promoción o la inhibición del proceso. Por lo menos 31 especies de Serránidos han sido inducidas a la ovulación (Tucker, 1999).

Las primeras experiencias en estudios de teleósteos demostraron que los extractos hipotalámicos de peces estimulaban la liberación de GtH en mamíferos y, a su vez, que los extractos hipotalámicos de mamíferos estimulaban la liberación de gonadotropinas por parte de la pituitaria de los peces. Se demostró además que la Hormona Liberadora de la Hormona Luteinizante (LHRH) era biológicamente activa en los peces (Zanuy y Carrillo, 1987). Hay varios estudios que revelan la presencia y actividad de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) en el hipotálamo de los teleósteos. Lo que establece que la LHRH sintética puede estimular la liberación de GtH de la pituitaria de los teleósteos (Peter, 1983).

Solamente una hormona de origen mamífero, la Gonadotropina Coriónica Humana (GCh) ha sido utilizada a escala comercial para la inducción de la ovulación pero su eficacia es dependiente de la especie ya que en algunos casos puede generar anticuerpos en el pez

receptor. La inyección de GCh favorece el reclutamiento de los ovocitos hacia la vitelogénesis sin importar el estadio en el cual se encuentren (Wallace y Selman, 1981). También el uso de la LHRH-a se ha expandido rápidamente, aunque la potencia varía de acuerdo a la estructura de los análogos y según la especie receptora (Billard, 1989).

En varias especies se ha realizado la inducción a la puesta con la hormona GCh sola o en combinación con extracto de la glándula pituitaria del salmón o de la misma especie. La LHRH-a es un péptido que controla la síntesis y liberación de gonadotropinas por la pituitaria. Estimula la producción de gonadotropinas en los peces inyectados (Caddell *et al.*, 1990). También se ha logrado la inducción con LHRH sola o en combinación con extractos de glándula pituitaria de carpas (Spedicato *et al.*, 1995).

Se han empleado muchas otras hormonas o medicamentos (esteroides, prostaglandinas, antiestrógenos) bajo condiciones de laboratorio para la inducción de la ovulación, en algunos casos con éxito pero ninguno ha tenido un lugar importante en el cultivo de peces (Billard, 1989).

Kungvankij *et al.*, (1986), inducen con hormonas (GCh + extracto de pituitaria (PG) ó con LHRH-a) la puesta del mero *Epinephelus salmoides*. Concluyen que las hembras inyectadas con la mezcla de GCh + PG tuvieron puestas naturales dentro de los estanques, mientras que las inducidas con LHRH-a tuvieron que ser fertilizadas artificialmente.

Kitajima *et al.*, (1991), obtienen huevos y esperma a partir de inducción hormonal con homogenizados de pituitaria de salmón y gonadotropina de adultos de *Epinephelus septemfasciatus* mantenidos en jaulas flotantes.

Watanabe *et al.*, (1995), realizan un estudio completo acerca de los efectos del uso de diferentes hormonas para la inducción a la puesta.

Hassin *et al.*, (1997), en trabajos de reproducción en cautiverio del mero *Epinephelus aeneus* reportan que las hembras maduran hasta las etapas finales de la vitelogénesis. Sin embargo, no se alcanza la maduración final de los ovocitos así como la ovulación y el desove. En ese estudio utilizan los implantes de liberación controlada de [D-Ala⁶.Pro⁹NEt]-GnRH para inducir la ovulación pero no consiguen la puesta natural siendo necesaria la fertilización artificial de los huevos. También reportan la reversión sexual de hembras implantadas con la hormona 17 β -metiltestosterona.

El sexo de los peces puede ser controlado induciendo la reversión sexual, así como la esterilidad con la ayuda de esteroides (Billard, 1989). Marino *et al.*, (2000), realizan la reversión sexual de hembras de *E. marginatus* mediante el suministro oral de 17 β -metiltestosterona. Reportan que las hembras mantenidas en cautiverio alcanzan las etapas finales de maduración, pero que no se observan desoves voluntarios. Sin embargo, las hembras inducidas con GnRH en microesferas producen huevos con unas tasas de fertilización y eclosión elevadas.

Gracia-López *et al.* (2004a), realizan trabajos de inducción hormonal de *M. rosacea* con Gonadotropina Coriónica Humana (GCh) de organismos silvestres alcanzando una producción de más de 40,000 huevos/pez.

3.4.2.2. *Inducción con fotoperiodo y temperatura*

Las técnicas de inducción hormonal muchas veces producen una gran proporción de huevos no viables debido a una maduración inadecuada, sobre-maduración de los huevos o deterioro de las hembras debido al estrés ocasionado por el manejo. Por lo tanto, puede ser recomendable que la inducción al desove sea manipulada mediante factores medio ambientales y hormonas, en el caso de que la ovulación no se presente (Caddell *et al.*, 1990).

3.4.2.3. *Determinación de la madurez sexual*

La apariencia externa de los peces ha sido utilizada para saber el estado de desarrollo sexual. En algunas especies, los machos se transforman visiblemente durante la época reproductiva, estos cambios hacen que sea relativamente fácil su identificación. El esperma puede ser extraído de los machos de casi todas las especies cuando están listos para la puesta, aplicando una leve presión al abdomen entre las aletas pélvicas y el vientre. (West, 1990; Rottmann *et al.*, 1991a).

Sin embargo, los caracteres sexuales secundarios de las hembras, como la inflamación del abdomen y el color e inflamación de la papila urogenital, son extremadamente subjetivos. Para determinar el estado de desarrollo de los ovocitos dentro del ovario se observa el diámetro y apariencia de estos y la posición del núcleo dentro del huevo. El ovario puede ser muestreado, mediante una canulación con un catéter rígido o flexible (Rottmann *et al.*, 1991a).

La determinación macroscópica de la madurez sexual es importante en estudios de campo. Sin embargo, ésta no nos da información acerca de los patrones y los procesos del desarrollo del ovocito y no nos permite distinguir entre un pez maduro o en proceso de maduración en los estadios tempranos de desarrollo. En estos casos, este método se vuelve subjetivo y poco preciso (Merson *et al.*, 2000). La determinación del estadio de desarrollo microscópicamente basada en los cambios en la apariencia y el tamaño del ovario, es una de las técnicas mas ampliamente utilizada en los estudios de reproducción de peces (West, 1990).

En la mayoría de los estudios, los ovarios son clasificados basándose en el tipo de ovocito más desarrollado presente sin importar el número. Los resultados obtenidos a partir de técnicas histológicas se presentan por lo general en porcentajes o proporciones de peces en los distintos estadios de maduración (West, 1990).

Los estudios histológicos demuestran que ocurren modificaciones importantes dentro del ovario (Bouain y Siau, 1983).

OBJETIVOS

1. Objetivo general

- Control de la madurez sexual en cautiverio y la reproducción con inducción hormonal de la cabrilla sardinera, *Mycteroperca rosacea*.

2. Objetivos específicos

- Estudio del desarrollo gonadal, determinación de la época reproductiva y del tipo de ovario de organismos mantenidos en cautiverio en función del desarrollo celular y el tamaño de los ovocitos.
- Determinación del momento de la inducción hormonal en base al estadio celular y el tamaño de los ovocitos.
- Realizar la reproducción artificial de organismos mantenidos en cautiverio mediante inducción hormonal.
- Realizar la reproducción artificial de organismos silvestres mediante inducción hormonal.
- Obtención de huevos de la cabrilla sardinera, *Mycteroperca rosacea*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se llevó a cabo en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR, S.C.) en La Paz, B.C.S., México.

1. Descripción del área experimental

Se empleó un sistema de recirculación el cual consistía en dos tanques circulares con una capacidad de 16 m³ cada uno. El sistema estaba provisto de una entrada de agua en la superficie cuyo sentido de entrada era tangencial al perímetro del tanque, provocando una circulación del agua alrededor del tanque y un limpiado óptimo del fondo. La salida del agua se encontraba en el centro del tanque. Al salir, el agua pasaba por un filtro de arena, filtro biológico, ultrafiltro, ultravioleta y enfriador, para posteriormente regresar al tanque. Regularmente, se añadía agua al sistema para recambiar una parte y mantener la salinidad. Cada tanque se encontraba provisto de una entrada de aire proveniente de un soplante (blower) que abastecía de aire mediante piedras difusoras. El fotoperiodo fue natural y la temperatura media diaria estuvo comprendida entre 19 - 33 °C.

2. Homogeneidad gonadal

Para comprobar si el ovario presentaba maduración homogénea de los ovocitos en las diferentes partes del ovario y si la distribución de los tamaños (diámetros) de éstos era semejante, se sacrificó a cinco hembras silvestres a las cuales se les realizó la disección de las gónadas. De éstas, se tomó una porción de aproximadamente 1 cm³ de tejido de la parte anterior, media y posterior. Se preservaron en solución Karnovsky para ser procesados histológicamente. Para determinar si existían diferencias de madurez y tamaño de los ovocitos a lo largo del ovario, se midieron los diámetros de todos los ovocitos de las secciones ováricas que se fotografiaron del mismo modo que se señala en el apartado de histología, asignando a cada ovocito su estadio de madurez y se compararon las diferentes partes con el análisis estadístico que se describe más adelante.

3. Organismos experimentales

Los reproductores (n= 22) fueron capturados durante el año 2000 y 2001 siguiendo la metodología descrita por Gracia-López *et al.*, (2004a) y se mantuvieron en cautiverio en los 2 tanques. El peso de las hembras estuvo comprendido entre 0.78 y 1.84 Kg y el de los machos entre 1.16 y 2.40 Kg. Los peces se alimentaron diariamente a saciedad con sardina y calamar fresco.

4. Muestreos

Para poder realizar la descripción del desarrollo gonadal de la cabrilla sardinera en cautiverio, fue necesario realizar muestreos mensuales. Para ello, los peces fueron marcados con marcas (Spaghetti Floy Tags), insertadas con la ayuda de una pistola de marcaje en la musculatura dorsal, por debajo y a un costado del inicio de la aleta dorsal. De acuerdo con esta marca, fue posible obtener el seguimiento de cada individuo. En cada muestreo se registró el peso, el sexo (si existía evidencia segura de ello) y se analizó el estado de madurez en el que se encontraba el pez. La manipulación de los peces fue siempre procurando un mínimo estrés por lo que toda manipulación fue precedida de anestesia con 100 mgL^{-1} de tricaina metanosulfonato (MS-222).

El sexo de los machos se puede determinar cuando al aplicar una ligera presión sobre el abdomen se obtiene esperma.

Para las hembras, las muestras de ovocitos fueron obtenidas mediante biopsias, introduciendo una cánula de polietileno (diámetro interno = 1 mm; externo = 1.6 mm) hasta el ovario, a través del oviducto. Una porción de la muestra fue analizada en fresco y la otra fue preservada para el posterior procesamiento histológico.

1.1. Análisis en fresco

Las muestras en fresco fueron analizadas en un microscopio óptico (Olympus Bx -41), tomándose fotografías digitales (Coolsnap-Pro) con la ayuda del programa Image Pro-Plus®. Se midió el diámetro de cada uno de los ovocitos fotografiados con el programa Sigma Scan 5.0®. Los ovocitos son esféricos, no se encuentran unidos por algún tipo de tejido conjuntivo y se observan opacos de un color amarillo a marrón oscuro.

1.2. Análisis histológico

Para caracterizar las diferentes etapas de desarrollo de los ovocitos, se realizó un estudio histológico de las muestras obtenidas durante los muestreos mensuales. Las muestras fueron conservadas en solución Karnovsky [glutaraldehído 20 %, sacarosa 40 %, y agua de mar filtrada por 1 μm e irradiada por UV 40 %] por 48 h para el procesamiento histológico (Karnovsky, 1965).

Al término del proceso de fijación, las muestras fueron transferidas a una solución de alcohol etílico al 70 %, siguiendo la técnica descrita por Thomas *et al.* (1988), donde pasaron por un proceso de deshidratación gradual en una serie de alcoholes de menor a mayor concentración (70, 80, 90, y 100 %). Posteriormente se realizó la infiltración en parafina. De estas inclusiones se obtuvieron cortes de 3 μm de grosor con un micrótopo de rotación (Leica RM 2125). Y éstos fueron teñidos con técnica de tinción Hematoxilina-eosina (H-E).

De cada una de las laminillas, se obtuvieron fotografías con un aumento de 10X siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente. Se analizaron 10 imágenes de un área de 1.24 mm² para un total de 12.4 mm² por hembra.

Los ovocitos se clasificaron en seis categorías de desarrollo basadas y modificadas en la descripción de los ovocitos hecha por Wallace y Selman (1981) y Carrillo *et al.*, (1989) para peces teleósteos ligeramente modificadas. Las categorías propuestas son: primarios, vitelogénesis temprana, vitelogénesis tardía, núcleo migrado, hidratado y atresia.

La frecuencia de estas categorías de desarrollo fue obtenida, para cada hembra y cada punto de muestreo, contando el número de ovocitos presentes en cada categoría. El área total del ovocito y del núcleo fue determinada mediante el uso del analizador de imágenes Image Pro-Plus para obtener posteriormente el diámetro teórico (C. Rodríguez, *com. pers.*). Únicamente los ovocitos que presentaban el núcleo seccionado por la región ecuatorial fueron considerados para el análisis.

5. Inducción hormonal

5.1. Hembras en cautiverio

Desde marzo hasta mayo del 2003, los reproductores fueron seleccionados para el tratamiento hormonal. Se consideró inducir todas las hembras con presencia de ovocitos con diámetros mayores a 278 μm (Gracia *et al.*, 2004a y 2004b). Cuatro hembras murieron en el periodo de

experimentación y por lo tanto no fueron inducidas. Los machos fueron considerados maduros cuando al aplicar una ligera presión abdominal presentaban esperma fluido.

Diez hembras fueron inyectadas con la hormona Gonadotropina Coriónica Humana (GCh), con una primera inyección de $1000 \text{ UI} \cdot \text{Kg}^{-1}$ y una segunda inyección 24 horas después de $500 \text{ UI} \cdot \text{Kg}^{-1}$. Y el resto de las hembras ($n= 4$) fueron inyectadas con un análogo de la Hormona Liberadora de la Hormona Luteinizante (LHRH-a) (des-Gly¹⁰, [D-Ala⁶]-LHRH) en una dosis de $5 \mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$ en la primera inyección y $10 \mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$ tres horas después.

Seis hembras inducidas con GCh, fueron inyectadas de nuevo 38 días después de la primera inyección.

5.2. Hembras silvestres

Estas hembras ($n= 46$) fueron capturadas desde el 17 de febrero hasta el 28 de mayo del 2004. Se les aplicó la misma metodología descrita anteriormente (anestesia, marcaje y biopsias ováricas) para determinar el diámetro inicial de los ovocitos. Las hembras se obtuvieron en salidas de campo de dos días de duración e inducidas el 2º día, al llegar a las instalaciones. La inducción hormonal se realizó con GCh a 21 de estas hembras.

6. Fecundidad y tasa de fertilización

Basado en la inflamación del abdomen y del tamaño de la papila urogenital de las hembras, se determinó el momento de puesta. Cuando los reproductores estaban listos para el desove, los huevos y el esperma fueron obtenidos por presión abdominal para ser fertilizados por el método seco. Este método consiste en obtener los huevos en un recipiente y adicionar el esperma extraído. Se mezcla con una pluma de ave y se deja reposar durante 3 minutos. Después se agrega agua de mar esterilizada entre 25 y 27 °C (Gracia-López et al., 2004b) para la activación espermática. Se dejan transcurrir 15 minutos y entonces los huevos ya fertilizados son enjuagados para la eliminación del excedente de esperma. Los huevos fueron transferidos a tanques de 500 L, previamente desinfectados con cloro y llenados con agua de ultra mar filtrada ($< 1 \mu\text{m}$) y esterilizada UV. Se estimó el número total de huevos en el desove “Fecundidad”, homogenizando la columna de agua y tomando 10 alícuotas (25 mL). Se contó el número medio de huevos por alícuota y se calculó el número total de huevos en el tanque extrapolando los resultados obtenidos al volumen del tanque.

El desarrollo embrionario se llevó a cabo en los tanques a una temperatura entre 25 y 27 °C con mucha aireación. La eclosión tuvo lugar entre 24 y 36 horas después de la fertilización y en ese momento la aireación fue disminuida para evitar grandes turbulencias. A partir de ese momento, las larvas se mantuvieron con baja pero suficiente aireación para mantener niveles óptimos de oxígeno.

La tasa de fertilización fue calculada como el número de huevos viables respecto al total. Los huevos viables se consiguieron analizando el desarrollo embrionario de 150 huevos y contando los que presentan divisiones celulares regulares y desarrollo del embrión en etapas posteriores.

7. Análisis estadísticos

Para comprobar la homogeneidad del desarrollo ovárico en todo el ovario y validar el método de biopsias ováricas, se midieron 150 ovocitos de cada una de las secciones la gónada. Se realizó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) para determinar si existían diferencias entre las diferentes secciones. Previo al análisis, se realizó el test de Bartlett de homogeneidad de varianzas para cada sección (Statistica 6.0).

Las regresiones lineales entre peso-fecundidad, diámetro inicial-fecundidad y porcentaje de ovocitos en diferentes etapas de desarrollo-fecundidad, fueron aplicadas utilizando el software SigmaPlot.

RESULTADOS

Madurez gonadal y determinación de la época reproductiva de organismos mantenidos en cautiverio en función del estadio celular y tamaño de los ovocitos.

1. Análisis de las secciones gonadales

El diámetro medio de los ovocitos, de las partes anterior, medio y posterior de la gónada no presentaron diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$). En consecuencia, concluimos que el tamaño y, por lo tanto el desarrollo de los ovocitos de las diferentes secciones de la gónada son similares para los peces estudiados y de esta manera se valida la técnica de biopsias ováricas.

2. Análisis de los ovocitos en fresco

En el tanque 1, para el mes de noviembre, todos los ovocitos extraídos, sin excepción, eran previtelogénicos, y dado que en ese estadio, los ovocitos se encuentran agrupados por tejido conjuntivo, fue difícil medir todos en fresco. Se observa un incremento del diámetro medio de los ovocitos a partir del mes de febrero (Tabla IV). El mayor tamaño medio de ovocitos en fresco es observado en abril (Figura 5b). A partir de abril, encontramos una disminución del diámetro de los ovocitos para encontrar dos meses después, en junio, los valores mínimos del diámetro de éstos.

Se observa la particularidad que en el tanque 1, aunque el patrón de aumento y decremento del diámetro medio es similar, en el muestreo del 18 de marzo hubo una hembra (69) que presentaba ovocitos de aproximadamente 500 μm , y una de 200 μm (50) mientras las demás hembras tenían un promedio de 100 μm , aproximadamente (Figura 5a). En el tanque 2, las hembras (30 y 95) tenían ovocitos con diámetros mayores a 400 μm (Figura 6a).

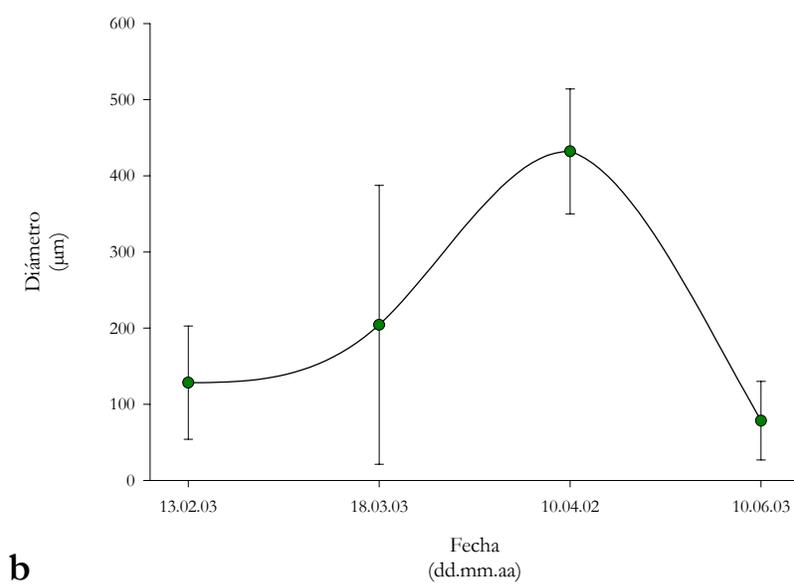
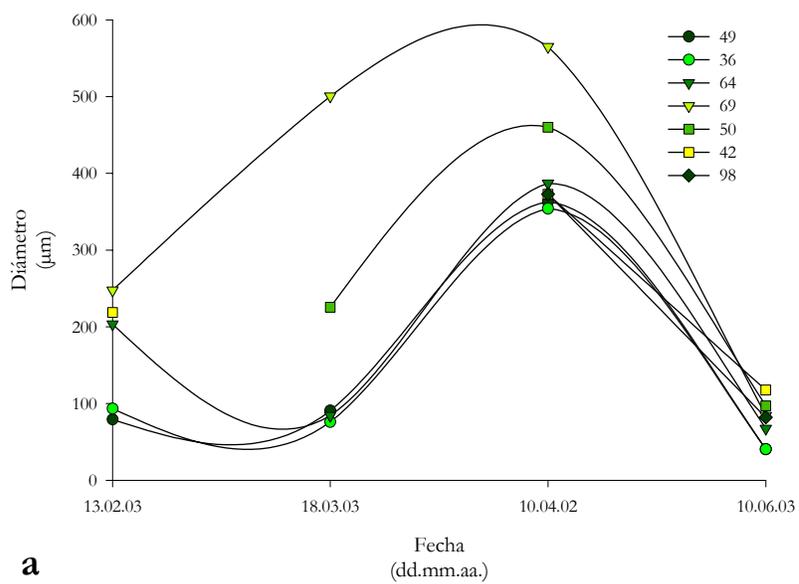


Figura 5. Diámetros promedio de los ovocitos en fresco en el tanque 1. a) Por hembra. b) Diámetro promedio de todas las hembras.

En el tanque 2, los diámetros medios obtenidos en cada muestreo, en general, son semejantes a los obtenidos en el tanque 1, (Tabla IV y Figura 6a y 6b) pero los valores para este tanque son más elevados para cada unos de esos puntos de muestreo.

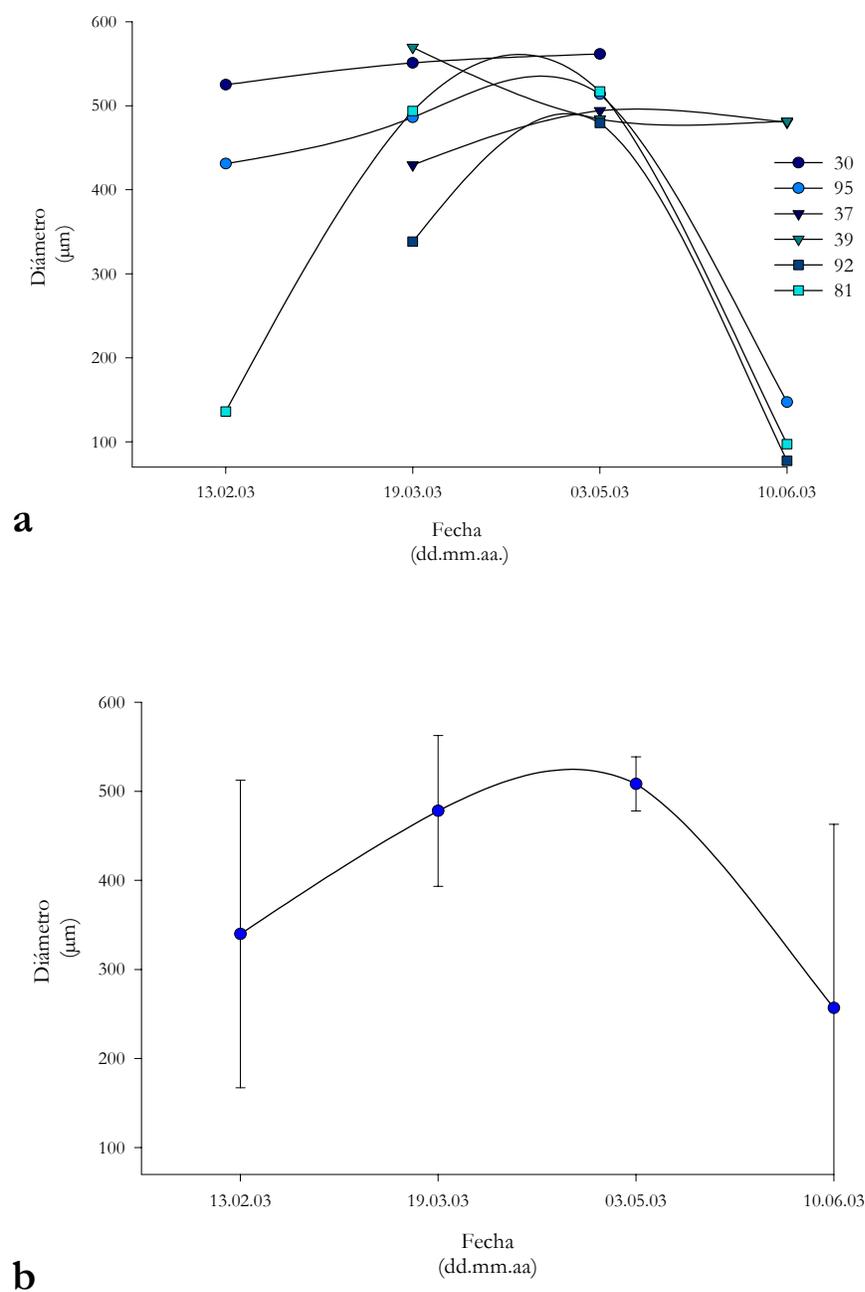


Figura 6. Diámetros promedio de los ovocitos en fresco en el tanque 2. a) individual por hembra. b) Diámetro promedio de todas las hembras.

En la tabla IV se resume, el desarrollo gonadal basado en los promedios de los diámetros medios de los ovocitos en los 4 puntos de muestreo. También se resume el diámetro máximo y mínimo encontrado.

Tabla IV. Tamaño de los ovocitos en fresco. Se presentan los diámetros (media \pm desviación estándar) durante el periodo experimental.

	Fecha (dd.mm.aa.)	Diámetro (media \pm d.e.) (μm)	Máximo (μm)	Mínimo (μm)
Tanque 1	13.02.03	168.5 \pm 76.8	247.6	79.3
	18.03.03	195.4 \pm 181.3	500.5	76.1
	10.04.02	410.7 \pm 76.6	565.0	354.1
	10.06.03	75.6 \pm 28.5	117.6	40.4
Tanque 2	13.02.03	339.8 \pm 172.6	524.9	136.0
	19.03.03	478.0 \pm 84.7	569.4	338.2
	03.05.03	508.3 \pm 30.2	561.7	479.5
	10.06.03	256.7 \pm 206.2	481.5	77.3

3. Histología de la gónada

3.1. Descripción de los estadios de desarrollo de los ovocitos.

En base a las técnicas histológicas empleadas, se describieron seis estadios de desarrollo de los ovocitos de la cabrilla sardinera (Figura 8).

Ovocitos previtelogénicos. Los ovocitos previtelogénicos, se encuentran en la fase de crecimiento primario. Éstos poseen un núcleo central de gran tamaño cubierto por una delgada capa de citoplasma. Se encuentran rodeados por células foliculares y no contienen vitelo. Al continuar la ovogénesis, hay un desarrollo en el citoplasma y cambios en el núcleo. Los ovocitos desarrollan múltiples nucleolos basofílicos (generalmente se conoce como estadio perinucleolar) que se encuentran en la periferia interior del núcleo. Se pueden observar las membranas foliculares que son una capa sencilla de 3 - 4 células planas rodeando a cada uno de los ovocitos (Figura 8A). Al continuar el desarrollo celular, se puede observar por primera vez la aparición de una membrana delgada en la periferia del ovocito llamada corion y se hace más evidente el epitelio folicular. En este estadio es cuando se presentan los alvéolos corticales en la periferia del núcleo los cuales no pueden ser distinguidos con el proceso de tinción empleado (Figura 8A).

Vitelogénesis temprana. Comienza la transferencia de vitelogenina de la sangre hacia los ovocitos. El material es incorporado al ovocito en pequeños gránulos de vitelo en la periferia del ovoplasma. Se pueden observar pequeñas inclusiones lipídicas alrededor del núcleo (Figura 8B).

Vitelogénesis tardía. Las inclusiones lipídicas son aparentes a lo largo de todo el ovoplasma. Al continuar el desarrollo, comienzan a fusionarse las inclusiones lipídicas y aparecen más grandes. Los gránulos de vitelo se hacen más evidentes en todo el citoplasma. Es posible observar la zona radiata que se encuentra hacia el interior de la membrana vitelina (Figura 8C).

Núcleo migrado. Es el primer evento visible asociado a la maduración final del ovocito. La vesícula germinal migra hacia el polo animal. Después de la completa migración del núcleo, su membrana se rompe y su contenido se mezcla con el del citoplasma circundante en el polo animal, los cromosomas se alinean en el plano ecuatorial a través de sus centrómeros, con el huso de la primera metafase y completan la primera división meiótica liberando el primer cuerpo polar. Comienza la segunda división meiótica y se queda “arrestada” para completarse después de la fertilización. Es en este punto donde los ovocitos se transforman a huevo y pueden ser fertilizados (Tucker, 1998). Es posible observar los alvéolos corticales en la periferia del ovoplasma. Éstos aumentan en número y tamaño alrededor de la periferia donde liberarán su contenido hacia el espacio perivitelino dentro de las membranas del huevo durante la fertilización (Figura 8D).

Hidratación. La fase de hidratación comienza al final de la maduración justo antes de la ovulación. En esta fase, los lípidos acaban fusionados formando una sola gota lipídica. Los gránulos de vitelo se encuentran completamente fusionados para formar una masa continua de fluido. Este proceso le concede la transparencia al ovocito y un incremento notable en el tamaño debido a la gran incorporación de agua (Figura 8E).

Atresia. Comienza con la fagocitosis de las células granulosas una vez que la zona radiata se rompe. Finalmente, las células foliculares se degeneran siendo reemplazadas por una masa de tejido conjuntivo. Este estadio es mas evidente en la época posterior al desove, aunque se puede observar en todas las etapas de desarrollo gonadal (Figura 8F).

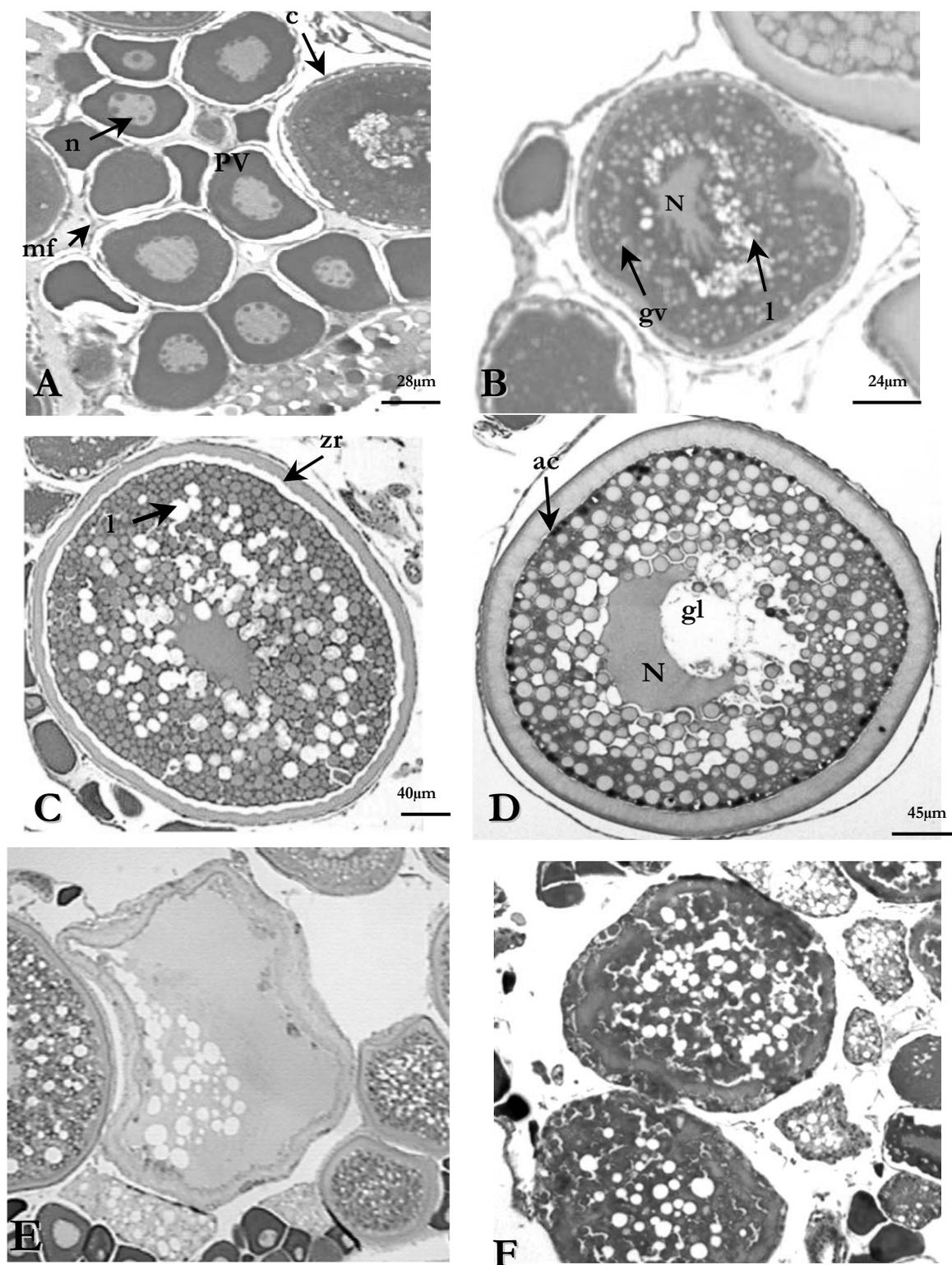


Figura 7 Fotografías de los diferentes estadios de desarrollo de los ovocitos (10X).

Figura 8. **(A)** Previtelogénicos (PV): el citoplasma se tiñe oscuro y el núcleo (N) que contiene varios nucleolos grandes (n) se tiñe más claro. Se aprecia la membrana folicular (mf). **(B)** Vitelogénesis temprana: las inclusiones lipídicas (l) son las primeras en formarse y aparecen en todas las fotografías como áreas claras en el citoplasma. Primeros gránulos de vitelo (gv). **(C)** Vitelogénesis tardía: comienza la fusión de las gotas lipídicas (l). Se observa la zona radiata (zr) por debajo de la membrana vitelina **(D)** Núcleo migrado: aparece una gota lipídica grande (gl) en el centro. Se observan los alvéolos corticales (ac) en la periferia del ovocito por debajo de la zona radiata **(E)** Hidratado: se rompen los gránulos de vitelo, se fusionan y forman vitelo fluido. Sin núcleo. (Imagen cortesía de D. Guerrero-Tortolero) **(F)** Atresia: se rompe la membrana vitelina y se comienza a reabsorber todo el contenido celular.

3.2. Tamaño (diámetro) de los ovocitos en cada estadio de desarrollo

Para realizar el análisis de madurez del ovario, a cada ovocito se le midió el diámetro y se le asignó uno de los 6 estadios de madurez descritos previamente. Los ovocitos primarios miden de 29 a 113 μm (media = 64 μm). Es en esta fase cuando el núcleo se aprecia más grande en relación con el citoplasma, es decir la relación núcleo: citoplasma es mayor. A partir de esta fase, la relación disminuye para ser mínima en los ovocitos maduros. En la etapa de vitelogénesis primaria, los ovocitos miden de 79 a 219 μm con un promedio de 126 μm . Los ovocitos vitelogénicos secundarios aumentan de tamaño considerablemente midiendo de 180 a 473 μm y con un promedio de 307 μm . En el momento en que migra el núcleo, los ovocitos miden de 239 a 488 μm , con un diámetro medio de 369 μm . A partir de ahí, los ovocitos aumentan considerablemente de tamaño. Las medidas de los ovocitos en el estadio de hidratación son complicadas, por lo tanto estas mediciones no fueron consideradas en los resultados del presente estudio (Wallace y Selman, 1981). Los ovocitos atrésicos miden desde 69 a 376 μm con un promedio de 176 μm (Tabla V).

Los diámetros de los ovocitos de las muestras histológicas se traslapan en los diferentes estadios de desarrollo (Tabla V).

Tabla V. Rango de tamaño y diámetro medio de los ovocitos y del núcleo de los mismos de las muestras histológicas de las gónadas de *M. rosacea*.

Ovocito	Diámetro (media \pm ds) (μm)	Rango (min-max) (μm)	Núcleo (media \pm ds) (μm)	Rango (min-max) (μm)
Primario	64.64 \pm 13.26	29.81 - 113.79	27.42 \pm 6.20	10.79 - 51.94
Vitelogénico temprano	126.63 \pm 27.97	79.05 - 219.53	46.57 \pm 13.61	18.81 - 97.26
Vitelogénico tardío	307.14 \pm 58.21	180.23 - 473.00	78.78 \pm 12.53	44.07 - 97.42
Núcleo migrado	369.04 \pm 48.43	239.32 - 488.12	89.02 \pm 12.29	51.41 - 116.48
Hidratado*	x	x	x	x
Atrésico	176.41 \pm 59.38	69.23 - 376.93	x	x

*No fue posible determinar el tamaño de los ovocitos hidratados.

3.3. Determinación de la época reproductiva. Análisis histológico de la frecuencia de ovocitos en cada estadio de desarrollo.

3.3.1. Tanque 1

Las hembras pertenecientes a este tanque no mostraron algún signo de vitelogénesis en el primer muestreo efectuado a finales de noviembre. En febrero se pueden observar diferentes estadios de desarrollo de los ovocitos. De las seis hembras muestreadas en esa fecha, 2 presentaron en un 13 % de ovocitos en vitelogénesis temprana y de un 3 a 7 % de vitelogénesis tardía, aproximadamente (Figura 9).

Todas las hembras muestreadas en marzo muestran algún porcentaje de ovocitos en desarrollo. Cabe destacar el bajo porcentaje de ovocitos vitelogénicos en marzo para las hembras 64, 65 y 67 respecto a las más desarrolladas (42, 68 y 50), que presentan ovocitos en las diversas etapas de desarrollo ovárico. La hembra muestreada en julio, como era de esperar por los peces observados del medio natural en esas fechas de años anteriores, tuvo cerca del 30 % de ovocitos atrésicos (Figura 9).

Es notorio, al observar los porcentajes totales, como aumentan los estadios de vitelogénesis y núcleo migrado desde febrero hasta abril. Las hembras (64, 65 y 67) que se encontraban retrasadas en el desarrollo respecto a las más desarrolladas (42, 68 y 50), presentan ovocitos en etapas de maduración para el mes de abril. Las hembras en las que se observan estadios de crecimiento secundario en febrero y marzo (42, 68 y 50), son las tienen mayores porcentajes de ovocitos en las últimas etapas de desarrollo en abril. En éstas, encontramos aproximadamente un 7 % de ovocitos en estadio de vitelogénesis temprana, 28 % en estadio de vitelogénesis tardía y 30 % en estadio de núcleo migrado, para un total de 65 % de ovocitos en alguna etapa de desarrollo secundario. Si tomamos en cuenta a todas las hembras muestreadas en el mes de abril, los valores son un poco inferiores ya que 2 hembras (98 y 64) tenían proporciones inferiores. En este caso, el valor total es 10 % de ovocitos en estadio de vitelogénesis temprana, 12 % en estadio de vitelogénesis tardía y 10 % en estadio de núcleo migrado, para un total de 32 % de ovocitos en desarrollo secundario (Figura 9).

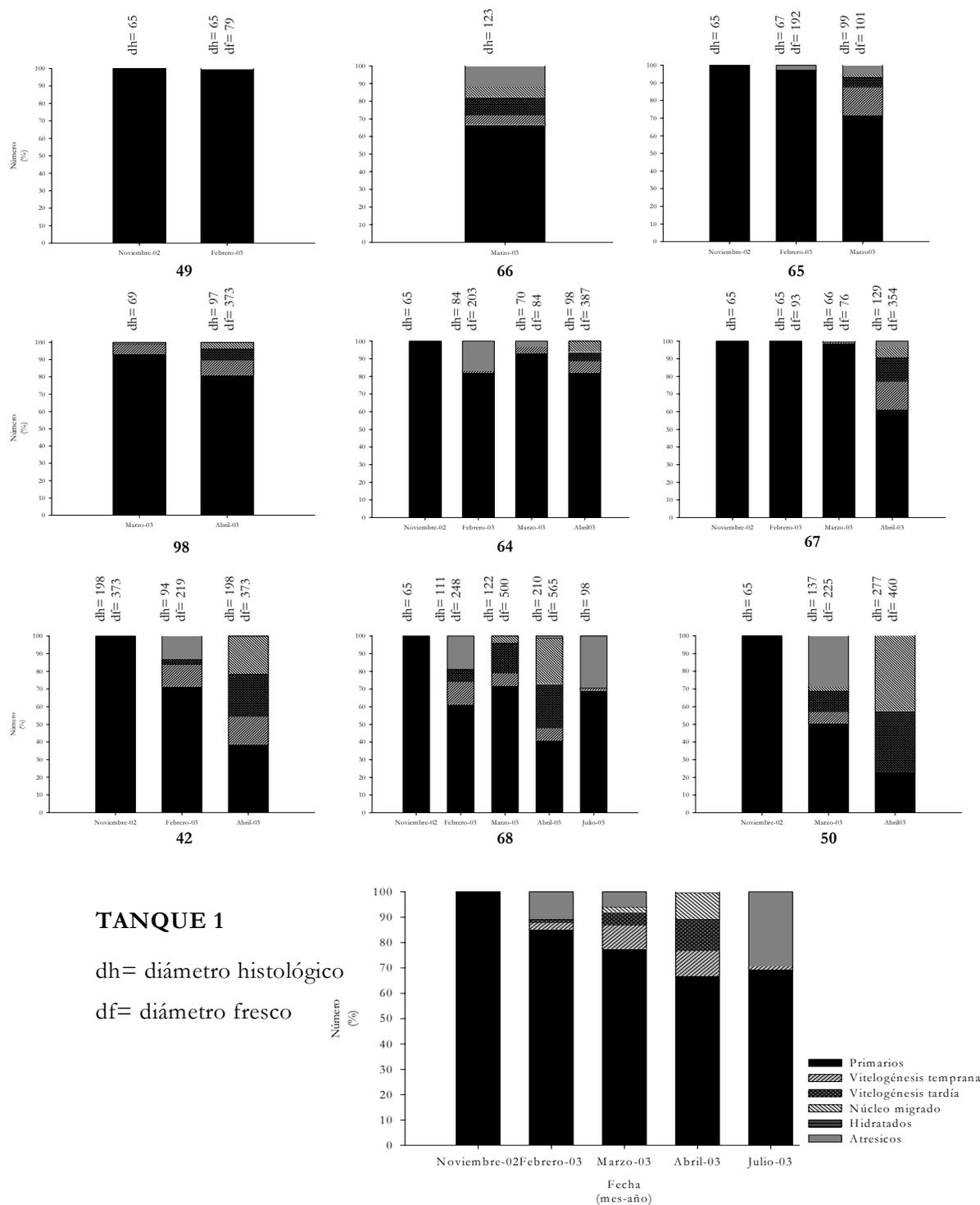


Figura 8. Proporción de ovocitos en cada una de las etapas de desarrollo durante los muestreos del tanque 1 (n= 10; machos= 27).

3.3.2. Tanque 2

Tres de las 4 hembras (30, 37 y 95), a las que se les pudieron extraer los ovocitos a finales del mes de noviembre presentaban un pequeño porcentaje de ovocitos (1.7 a 4.1 %) en estadio de vitelogénesis temprana. En el mes de febrero a estas 3 hembras, se les puede apreciar un aumento de ovocitos en estadios de madurez más desarrollados (11 % de ovocitos en estadio de vitelogénesis temprana, 22 % en estadio de vitelogénesis tardía y 16 % en estadio de núcleo migrado). Cuatro de las 5 hembras restantes, presentaron ovarios con porcentajes muy bajos de vitelogénesis en febrero (Figura 10).

Todas éstas, que no presentaron vitelogénesis en noviembre y sí la presentaron en febrero, tuvieron porcentajes más bajos de ovocitos vitelogénicos que las hembras que ya presentaban un pequeño porcentaje de estos en noviembre (30, 37 y 95). La mayoría de las hembras analizadas en marzo presentaron ovocitos con núcleo migrado y es en este mes cuando aparecen los primeros porcentajes de ovocitos en estadio atrésico (Figura 10).

En general, para las hembras de este tanque apreciamos que existe un porcentaje menor al 3 % de ovocitos vitelogénicos a finales de noviembre. Que aumenta progresivamente el porcentaje de ovocitos vitelogénicos tempranos, tardíos y de núcleo migrado, desde febrero hasta abril. Hay un reclutamiento de ovocitos primarios hacia estadios más avanzados en estos meses, siendo en marzo un 10 % mayor que en febrero, el número de ovocitos en estadios de crecimiento secundario. En este mes, hay más de un 20 % de ovocitos en estadios de desarrollo avanzados. Pero es en abril cuando encontramos un cambio brusco en los

porcentajes, encontrando aproximadamente un 12 % de ovocitos en estadio de vitelogénesis temprana, 44 % en estadio de vitelogénesis tardía y 6 % en estadio de núcleo migrado, para un total de 66 % de ovocitos en crecimiento secundario.

Al encontrar un mayor progreso de maduración en las hembras de este tanque y al comprobar como una hembra desovó en el tanque sin que hubiera signos de cortejo, de aportación de gametos masculinos ni de fertilización, fueron las primeras en inducir las al desove con hormonas.

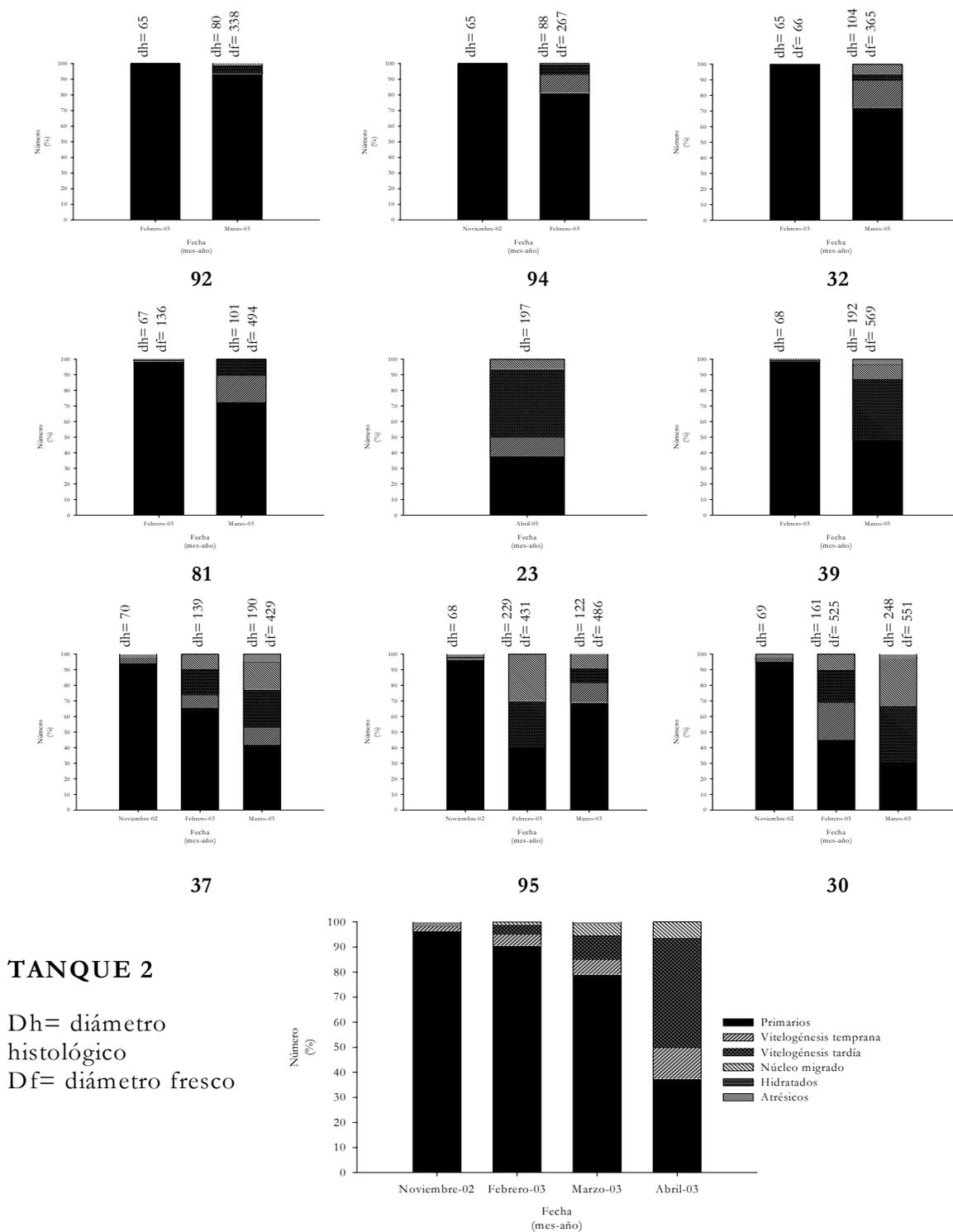


Figura 9. Proporción de ovocitos en cada una de las etapas de desarrollo durante los muestreos del tanque 2 (n= 12 machos 76, 31, 38)

4. Fotoperiodo y temperatura

Existe una clara relación entre dos de los factores ambientales que influyen en la maduración gonadal, el fotoperiodo y la temperatura, y los diámetros de los ovocitos. Al parecer la época de fotoperiodo más corto en el año, solsticio de invierno, marca el inicio del incremento del diámetro de los ovocitos. A partir de marzo es cuando encontramos una relación directa entre el rápido incremento del diámetro de los ovocitos y un acelerado ritmo de cambio de la temperatura. Sería una temperatura cercana a los 24 °C, la que estaría dando el inicio y el fin del periodo reproductor. En la figura 7 se observan los valores medios mensuales de temperatura y fotoperiodo.

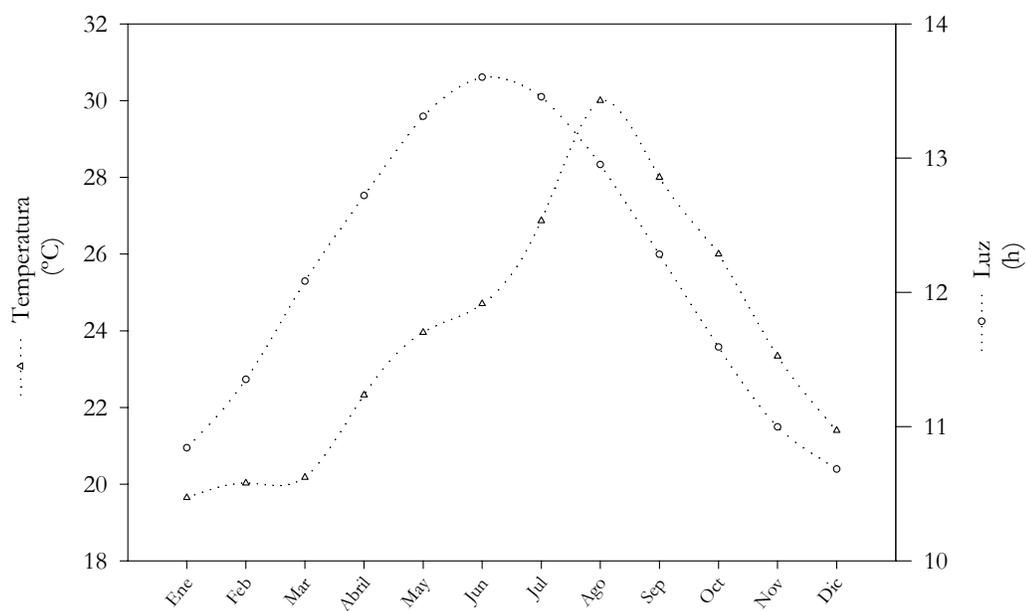


Figura 10. Fotoperiodo para La Paz, B.C.S. y temperatura del agua de los tanques en el 2003.

Reproducción artificial en cautiverio mediante la inducción hormonal y obtención de huevos y larvas.

5. Inducciones hormonales

5.1. Resultados generales

De las tres sesiones de inducción hormonal realizadas a las hembras en cautiverio durante el periodo experimental, se obtuvo una fecundidad total de $2,358 \times 10^3$ huevos. La temperatura media del agua en el momento de inducción fue de $22 - 23.5$ °C. El rango de los diámetros medios iniciales de los ovocitos de las hembras estuvo comprendido entre las 278 ± 124 y 565 ± 70 μm . El peso de las hembras fue de 0.78 a 1.72 Kg. La fertilización se llevó a cabo de 34 a 46 h después de la primera inyección. El número total de huevos viables fue de $1,600 \times 10^3$ y una tasa total de fertilización del 66 % (Tabla VI). En la figura 11, podemos observar como el peso de las hembras no se relaciona con la fecundidad, obteniendo una $R^2 = 0.05$. Los huevos de la cabrilla sardinera, *M. rosacea* tuvieron un diámetro promedio de 844 ± 20 μm hasta 884 ± 19 μm .

En el presente estudio, se obtuvo una respuesta del 81.25 % de las hembras inducidas al desove con GCh ya que 13 de las 16 hembras inyectadas tuvieron puesta. En el caso de las hembras inducidas con LHRH-a solo se tuvo un 25 % de respuesta a la inducción ya que solo una de las 4 hembras inducidas tuvo puesta.

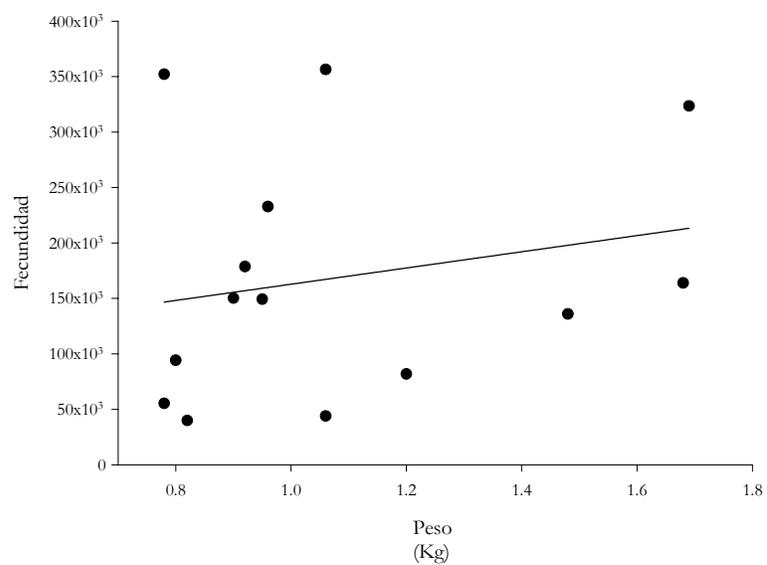


Figura 11. Relación peso vs fecundidad en hembras de la cabrilla sardinera *M. rosacea*.

Tabla VI. Resultados obtenidos de la reproducción artificial de la cabrilla sardinera, *Mycteroperca rosacea*.

Inducción Fecha Tanque	Hembra (#)	Macho* (#/peso) (Kg)	Hormona	Peso (Kg)	Diámetro Inicial Ovocitos (μ m)	Diámetro Huevo (μ m)	T (°C)	Hora de Fertilización (h.d.p.i)	Fecundidad (huevos/ puesta)	Fecundidad Relativa (F/Kg)	No. de Huevos Viables	Tasa de Fertilización (%)
Primera inducción 25.03.03 Tanque 2	30	38/1.16	GCh	1.06	498 \pm 73	871 \pm 23	22	36h33	356,441	336,265	295,845	83
	23	27/1.54	GCh	1.48	x	x	22	37h48	135,930	91,845	135,930	100
	95	38/1.16	GCh	0.78	480 \pm 84	878 \pm 28	22	36h47	352,106	451,418	292,247	83
	81	76/1.64**	GCh	0.96	397 \pm 118	874 \pm 28	22	37	232,758	242,456	178,059	76.5
	37	38/1.16	GCh	0.90	529 \pm 68	884 \pm 19	22	37h27	150,192	166,880	123,683	82.35
	39	31/2.40	GCh	0.80	534 \pm 85	873 \pm 28	22	37h22	94,223	117,779	41,684	44.24
	92		GCh	1.72	278 \pm 124	x	22	x	x	X	x	x
Segunda inducción 10.04.03 Tanque 1	42	27/1.54**	GCh	1.68	373 \pm 79	x	22.5	44h36	163,954	975,92	0	0
	50	27/1.54	GCh	0.78	460 \pm 55	844 \pm 20	22.5	37h30	55,336	70,944	53,985	97.56
	98		GCh	0.94	373 \pm 50	x	22.5	x	x	x	x	x
	68	27/1.54	LHRH	1.20	565 \pm 70	x	22.5	46h42	81,889	68,241	81,070	99
	49		LHRH	1.64	363 \pm 44	x	22.5	x	x	x	x	x
	64		LHRH	1.00	387 \pm 43	x	22.5	x	x	x	x	x
	67		LHRH	1.60	354 \pm 25	x	22.5	x	x	x	x	x
Tercera inducción 02.05.03 Tanque 2	92	76/1.64	GCh	1.69	480 \pm 57 ⁺⁺	x	23.5	42h27	323,522.2	191,433	139,114	43
	37	31/2.40	GCh	0.92	494 \pm 73 ⁺⁺	x	23.5	34h37	178,660	194,196	119,702.2	67
	81	76/1.64	GCh	0.95	517 \pm 91 ⁺⁺	x	23.5	36h30	149,333.3	157,193	107,519.1	72
	30	76/1.64	GCh	1.06	562 \pm 173 ⁺⁺	x	23.5	37h06	44,000	41,509	1,320	3
	39	76/1.64	GCh	0.82	484 \pm 55 ⁺⁺	x	23.5	36h10	40,000	48,780	29,840	74.6
	95		GCh	0.83	514 \pm 87 ⁺⁺	x	23.5	x	x	x	x	x
									2,358,345	m=162,609	1,599,998	66 ⁺

*Número de macho empleado para la fertilización; **Macho inyectado con LHRH-a; T, temperatura; h.d.p.i, horas después de la primera inyección. ++ Huevos preservados en formol. +Fue calculado a partir del promedio de las tasas de c/u de las hembras, m=promedio.

5.2. Primera inducción

En la primera inducción del 25 de marzo de 2003, siete hembras fueron inducidas con GCh. La temperatura media del agua en ese momento era de 22 °C. El rango de los diámetros iniciales medios de los ovocitos en este grupo de hembras estuvo entre las 278 ± 124 y 534 ± 85 μm . En una hembra no se obtuvo ese valor. El peso de las hembras fue de 0.78 a 1.72 Kg. La fecundidad obtenida fue de 94×10^3 hasta 356×10^3 huevos. De las siete hembras inducidas, 6 tuvieron desoves con un número total de huevos viables de $1,067 \times 10^3$. La puesta se obtuvo mediante masaje abdominal entre 36 y 37 horas después de la primera inyección. La tasa de fertilización obtenida varió desde 44.24 hasta 100 % (Tabla VI). La hembra que no respondió a la inducción fue la que presentó el menor diámetro de ovocitos (278 ± 124 μm).

5.3. Segunda inducción

La segunda inducción se efectuó el día 10 de abril de 2003. Siete hembras fueron inducidas hormonalmente al desove. En este caso, 3 hembras fueron inducidas con GCh y cuatro con LHRH-a. La temperatura media del agua en ese momento fue de 22.5 °C. El rango de los diámetros iniciales medios de los ovocitos en este grupo de hembras estuvo entre las 354 ± 25 y 565 ± 70 μm . El peso de las hembras fue de 0.78 a 1.68 Kg.

La fecundidad obtenida para las hembras inducidas con GCh fue de 55×10^3 hasta 164×10^3 huevos. Y el número total de huevos viables de 54×10^3 . La puesta se obtuvo mediante masaje

abdominal entre 37 y 44 horas después de la primera inyección. La tasa de fertilización obtenida varió desde 0 hasta 97.56 %. En esta ocasión, una de las hembras (42) tuvo un desove de 164×10^3 huevos pero no fueron viables. En esta inducción todas las hembras fueron fertilizadas con el mismo macho (Tabla VI).

De las cuatro hembras inducidas con LHRH-a, solo una tuvo desove. El desove se obtuvo mediante masaje abdominal 46 horas después de la primera inyección. La fecundidad fue de 82×10^3 huevos. El número de huevos viables de 81×10^3 y una tasa de fertilización del 99 % (Tabla VI).

5.4. Tercera inducción

La tercera inducción se realizó el 2 de mayo del 2003. En esta ocasión, se seleccionaron seis hembras pertenecientes al lote de reproductores del tanque 2, los cuales ya habían sido previamente inyectados en marzo. Las hembras, fueron inducidas con GCh. El rango de los diámetros medios iniciales de los ovocitos estuvo comprendido entre las 480 y 562 μm . El peso fue de 0.82 a 1.69 Kg. La fecundidad obtenida fue de 40×10^3 hasta 324×10^3 huevos. De las seis hembras inducidas, 5 tuvieron desoves con un número total de huevos viables de 397×10^3 . La puesta se obtuvo 34 a 42 horas después de la primera inyección. La tasa de fertilización obtenida varió desde 3 hasta 74.6 %. La hembra que no respondió a la inducción fue la que presento un diámetro inicial de ovocitos de 514 μm (Tabla VI).

6. Relación de la inducción con el tamaño de los ovocitos en fresco

Las hembras que tuvieron la mayor fecundidad fueron las inducidas cuando el diámetro de los ovocitos medidos en fresco se encontraba entre 480 ± 84 y 498 ± 73 μm . Las hembras que tuvieron respuesta a la inducción hormonal tuvieron un diámetro inicial entre 373 y 565 μm a excepción de la hembra 95 que no respondió a la inducción y que tenía el diámetro inicial de 514 ± 87 μm y la 64 (387 μm).

7. Relación de la inducción con el análisis de los ovocitos en histología

Tanque 1

Debido a que las hembras de este tanque presentaron un desarrollo ovárico posterior a las hembras del tanque 2, se procedió a su inducción en abril. Las hembras inducidas con GCh (42 y 50) respondieron a la inducción mientras que la 98 no. Si observamos los resultados histológicos de las dos hembras con respuesta a la inducción, comprobamos los altos porcentajes de ovocitos en desarrollo (60 al 70 %), de los cuales de un 21 a 42 % se encontraban en el estadio de núcleo migrado. A diferencia de la hembra sin respuesta la cual presentaba 19 % de ovocitos en estadios de desarrollo secundario (3.5 % con núcleo migrado).

En términos generales, algo semejante ocurrió con las hembras inducidas con LHRH. Solo una hembra de las cuatro inducidas (número 68) tuvo respuesta a la inducción. El resto (49, 64 y 67) no respondieron a la inducción. Si observamos los porcentajes de ovocitos en estadios de

crecimiento secundario comprobamos que esta hembra poseía un 58 % del total, frente a no más del 34 % en las otras tres hembras (49, 64 y 67).

Si tomamos en cuenta a todo el grupo, observamos como la fecundidad fue menor que la conseguida por las hembras del tanque 2, como también lo es el hecho de tener un 50 % menos del número de ovocitos en estadios de desarrollo secundario en abril que las hembras del tanque 2.

Tanque 2

Basándose en los resultados del diámetro de los ovocitos de las hembras del tanque 2, del 19 de marzo, y teniendo en cuenta que en este mes se observaron ovocitos con el núcleo migrado, se procedió a la inducción hormonal.

En general, se observa como las hembras que presentaban un porcentaje elevado de ovocitos en etapas crecimiento secundario (30, 95, 81 y 37) (Figura 10), tuvieron una fecundidad elevada y 2 hembras con pequeño porcentaje o sin muestras (92 y 74) no tuvieron respuesta positiva. Con la excepción de la hembra 39, que a pesar de presentar grandes porcentajes de ovocitos desarrollados no tuvo una fecundidad elevada.

8. Reproducción artificial mediante la inducción hormonal de organismos silvestres

De las 21 hembras inducidas, 6 (29 %) no respondieron a la inducción hormonal, 3 (14 %) tuvieron desoves pobres los cuales no fueron cuantificados y 12 (57 %) respondieron dando de 25×10^3 a 302×10^3 huevos (Tabla VII). No existe relación entre el diámetro inicial y el tipo de respuesta (sin respuesta, poca respuesta o alguna cantidad de huevos), ni tampoco existe relación entre el tamaño del organismo y el tipo de respuesta. La fecundidad total fue de $1,382 \times 10^3$ huevos y el número de huevos viables de 530×10^3 (Tabla VII).

Tabla VII. Resultados de inducción de las hembras (n= 45) silvestres inducidas en el 2004.

Fecha (dd.mm.aa)	Peso (Kg)	Diámetro inicial (μ m)	Fecundidad
17.02.04	1.78	195 \pm 63	No inducida
	2.06	80 \pm 20	No inducida
	2.00	99 \pm 14	No inducida
	0.92	81 \pm 12	No inducida
	0.62	76 \pm 18	No inducida
	0.80	111 \pm 29	No inducida
	1.02	103 \pm 20	No inducida
	0.92	90 \pm 18	No inducida
	0.72	99 \pm 22	No inducida
22.03.04	-	889 \pm 45	No inducida
04.05.04	1.20	57 \pm 21	No inducida
	3.14	929 \pm 45	No inducida
08.05.04	0.70	202 \pm 131	No inducida
	0.84	286 \pm 139	No inducida
	0.54	286 \pm 156	No inducida
	0.48	450 \pm 173	No inducida
	1.66	237 \pm 149	No inducida
	1.20	223 \pm 164	No inducida
	0.46	443 \pm 221	No inducida
18.05.04	2.58	488 \pm 84	225,000
	1.24	858 \pm 19	66,600
	1.64	497 \pm 55	95,400
	0.66	498 \pm 110	Poca puesta
21.05.04	0.90		90,000
	1.02		136,800
	1.22		160,200
25.05.04	0.80	655 \pm 184	Poca puesta
	0.76	439 \pm 76	25,452
	0.66	481 \pm 140	0
	0.54	501 \pm 106	36,000
	0.52	419 \pm 111	30,450
	1.02	469 \pm 90	0
	0.66	643 \pm 167	No inducida
	0.44	606 \pm 165	Poca puesta
	0.98	443 \pm 104	0
	1.00	430 \pm 106	0
	0.74		150,000
	1.52	870 \pm 33	0
	0.78	500 \pm 140	0
	0.90	582 \pm 202	No inducida
	1.60	836 \pm 125	302,400
28.05.04	1.10	886 \pm 42	No inducida
	0.70	579 \pm 164	No inducida
	0.84	874 \pm 32	No inducida
	0.24	655 \pm 184	65,120

9. Diferencias entre la inducción de organismos silvestres y los mantenidos en cautiverio

Existe una clara diferencia entre los resultados obtenidos de los desoves de las hembras mantenidas en cautiverio y de hembras silvestres. Si tomamos en cuenta las inducciones con GCh, observamos un mayor porcentaje de respuesta de las hembras mantenidas en cautiverio (81 %) frente a un porcentaje de respuesta de 57 % de las hembras silvestres. Cabe destacar que aunque las hembras silvestres presentaron un elevado porcentaje de respuesta el número promedio de huevos por hembra fue de 115×10^3 frente a 168×10^3 de las hembras en cautiverio. La tasa de fertilización fue de 66 % para las hembras en cautiverio a comparación con el 38 % de las hembras silvestres. El diámetro de los ovocitos desde febrero a mayo corrobora lo explicado anteriormente para las hembras mantenidas en cautiverio. En febrero se observan ovocitos de 76 a 195 μm y en los meses siguientes aparecen ovocitos de tallas superiores. A mediados de mayo, todas las hembras tenían diámetros de ovocitos superiores a 419 μm , y por lo tanto, maduros. Cabe destacar un número elevado de hembras con ovocitos en diferentes estadios de hidratación y diámetros de 419 a 886 μm .

DISCUSIÓN

Como ha sido reportado para otros meros (Watanabe *et al.* 1995; Hassin *et al.* 1997; Tucker, 1998; Tucker, 1999), los reproductores de la cabrilla sardinera *M. rosacea* resultaron ser resistentes al manejo, a los tratamientos hormonales y a los masajes abdominales aplicados para la obtención de los gametos durante el periodo experimental. Es sabido que el manejo repetido de los reproductores causa estrés y puede dar como resultado mortalidades antes de la puesta o puede afectar el progreso de la maduración final de los ovocitos (Zohar y Mylonas, 2001). Como en el estudio realizado por Neidig *et al.*, (2000) donde reportan altas mortalidades 5 días después de la puesta debido a infecciones bacterianas en la mandíbula y en el pedúnculo caudal de los reproductores del robalo blanco, *Centropomus undecimalis* causadas por daños en la manipulación.

Los resultados obtenidos después del análisis de las diferentes partes de la gónada (anterior, media y posterior) señalan un desarrollo homogéneo de los ovocitos en todo el ovario. Estos resultados coinciden con el estudio realizado de la gónada del mero *E. akaara* donde no encontraron diferencias al analizar las diferentes porciones de la gónada (Tseng y Ho, 1988) y con los resultados obtenidos para otras especies con el mismo tipo de desarrollo ovárico como es el robalo, *Centropomus medius* (M. Maldonado *com. pers.*).

Al analizar la histología de las gónadas de cada hembra individualmente, podemos asegurar que la cabrilla sardinera posee un ovario de tipo sincrónico por grupo., ya que es posible observar

en cada muestreo, dentro del periodo reproductor, 2 ó 3 grupos predominantes de ovocitos dentro del ovario (Wallace y Selman, 1981). Este análisis queda reforzado porque el grupo de hembras del tanque 2, fue inducido dos veces durante el periodo reproductor liberando una cantidad apreciable de huevos por hembra (Wallace y Selman, 1981). Después de estas dos inducciones todavía se podía observar dentro del ovario ovocitos con diámetros de 480 μm el 10 de junio, lo que indica la presencia de ovocitos maduros y por consiguiente la posibilidad de inducir nuevamente el desove a estas hembras. Los ovarios del tipo sincrónico por grupo han sido reportados para el robalo, *C. undecimalis* (Peters *et al.*, 1998; Grier, 2000) *C. medius* (Maldonado 2004, *com. pers.*), el barramundi, *L. calcarifer* (Garret y Rasmussen, 1978), para y para el mero *Epinephelus marginatus* (Marino *et al.*, 2001; Marino *et al.*, 2003).

Hassin *et al.*, (1997), reportan el máximo diámetro de ovocitos en fresco en estudios con el mero *E. aeneus* en las fases finales de crecimiento secundario fue de 525 μm . Este resultado es similar al encontrado en el presente estudio (569 μm) a finales del mes de marzo.

En el presente estudio se encontró que existe una variabilidad individual e intraespecífica en el tamaño de los huevos. El diámetro promedio de huevos fue de 844 a 884 μm , valor que coincide con los valores obtenidos previamente para la cabrilla sardinera (Gracia-López 2004a; 2004b). Interespecíficamente, también hay una variabilidad como lo demuestran Powell y Tucker (1992), el mero *E. striatus*.

El tamaño los huevos de las especies pertenecientes a la familia Serranidae, varía según la especie; Éstos tienen tamaños que van desde 610 μm (*Diplectrum formosum*) hasta ≈ 1000 μm (*E.*

amblycephalus) (Tucker, 1998). Los meros poseen huevos con diámetros entre 770 y 1000 μm . El diámetro de los huevos de la cabrilla sardinera fue menor que el reportado para *M. microlepis* (920 μm) (Roberts and Schlieder, 1983), *E. striatus* (908 μm) (Watanabe et al., 1995) y *E. costae* (926 μm) (Glamuzina et al., 2000); similar al reportado para *E. marginatus* (888 μm) (Spedicato et al., 1995) y mayor que el de *E. microdon* (769-832 μm) (Tamaru et al., 1996). Sin embargo, señalamos que además de las diferencias interespecíficas mencionadas, se pueden observar diferencias intraespecíficas en diferentes poblaciones de huevos ocasionadas tal vez por deficiencias nutricionales de los reproductores (Chao et al., 1993). En el mismo estudio, se observó un menor diámetro de los huevos al final del periodo reproductivo.

Los tamaños de los ovocitos analizados histológicamente entran dentro de los rangos de tamaños reportados para otras especies. En estudios del lenguado *Paralichthys dentatus* (Merson et al., 2000), encuentran un rango de 30 – 127 μm para lo que en este estudio se encuentra definido como ovocitos primarios, los cuales tienen un diámetro promedio de 64 μm . Y para los vitelogénicos tempranos encuentran un rango de 94 – 301 μm y los vitelogénicos tardíos de 163 – 633 μm . Los ovocitos de la cabrilla sardinera entran dentro de estos rangos, siendo el diámetro promedio de 126 y 307 μm para ambos estadios, respectivamente.

El valor del diámetro de los huevos en fase de núcleo migrado correspondiente al estudio histológico fue de 488 μm . Este valor, es similar a los valores obtenidos para otros meros como *E. guaza*, *E. alexandrinus* y *E. aneneus* donde el diámetro del huevo en preparaciones histológicas es de 442, 446 y 391, respectivamente (Bouain y Siau 1983).

El tamaño de los ovocitos atresicos disminuye mientras se van reabsorbiendo y son mas pequeños que el grupo vitelogénico (Murua *et al.*, 2003). Se puede tomar como un indicador del inicio de atresia cuando los ovocitos no presentan vesícula germinal (núcleo) aunque la apariencia general sea normal (Mylonas *et al.*, 1997). Los ovocitos atresicos aumentan en proporción mientras el periodo reproductivo avanza. En el presente estudio podemos encontrar un aumento significativo de ovocitos atresicos a partir del mes de julio. Es importante para la inducción hormonal poder distinguir en fresco a los ovocitos atresicos de la muestra ovárica ya que el tamaño de éstos se traslapa con los tamaños de los ovocitos en diferentes etapas de desarrollo.

Previa la realización del estudio, los antecedentes que existían sobre la época de reproducción de la cabrilla sardinera, se basaban en la experiencia de la comunidad pesquera de la zona de captura de los reproductores. La época reproductiva estaría comprendida entre marzo y abril (M. León *com. pers.*). Además, existen antecedentes científicos de organismos provenientes del medio natural con ovocitos maduros a finales de junio del 2002 y 2003 (Gracia *et al.*, 2004a; Gracia *et al.*, 2004b), a los cuales se les realizó la inducción hormonal, obteniendo en ambos casos un número pequeño de ovocitos viables.

Los resultados combinados del análisis de ovocitos en fresco e histológicamente demuestran, en general, como los estadios de vitelogénesis tardía aparecen en febrero indicando el progreso en la madurez gonadal. En abril y mayo se obtienen los porcentajes más elevados de ovocitos en crecimiento secundario y los valores mas elevados de diámetro del ovocito, lo que indica que en estos meses ocurre un gran desarrollo del ovario. En junio, los diámetros de los

ovocitos nos indican la proximidad del final del periodo reproductivo y en julio únicamente se aprecian ovocitos atrésicos, dando por terminado dicho periodo reproductor. Existe una variabilidad intraespecífica ya que hay hembras en diferentes estadios en un mismo punto de muestreo. Para el mero *E. aeneus*. (Hassin *et al.* 1997) se encuentran ovocitos maduros desde comienzo de la época reproductiva hasta el final (abril-septiembre), estos entran en el estado atrésico en el mes de septiembre, lo que indica el fin del periodo reproductor.

En cuanto al análisis histológico, podemos observar que en la mayor parte de las hembras, la vitelogénesis comienza entre finales de noviembre y principio de febrero. Existe evidencia del comienzo de la vitelogénesis en noviembre en 3 hembras con un porcentaje medio menor al 3 % del total de ovocitos dentro del ovario. Este hecho confirma que el periodo se encuentra influenciado con la llegada del solsticio de invierno (menor cantidad de horas de luz/día) y la disminución de la temperatura. Taylor *et al.* (1998) en estudios con el robalo *C. undecimalis* encuentran también que el fotoperiodo en decremento controla los procesos reproductivos.

El fotoperiodo y la temperatura son dos de los factores ambientales más importantes ya que influyen los ciclos biológicos controlando así la reproducción de los peces (Carrillo *et al.*, 1989; Zanuy y Carrillo, 1991; Carrillo *et al.*, 1995; Zanuy *et al.*, 1995). Al analizar la temperatura, apreciamos como el inicio de la vitelogénesis coincide con un valor aproximado a 24 °C. Se observa también que el final del periodo reproductor estaría cercano al solsticio de verano con un valor de temperatura próximo a 24 °C. Esto difiere con otros estudios donde encuentran que la temperatura alta influencia la madurez gonadal y dispara el ciclo reproductivo (Shilo y Sarig, 1989).

La clasificación del desarrollo gonadal de los ovarios basada en el tamaño de los ovocitos en fresco permite ahorrarse el uso de las técnicas histológicas. Por el contrario, aunque la técnica es buena, tiene un valor limitado al querer saber el estado de desarrollo de los ovocitos (West, 1990). Los resultados del presente estudio nos indican que las hembras de cabrilla sardinera con diámetros de ovocitos entre 397 y 565 μm (vitelogénesis tardía y núcleo migrado) pueden ser inducidas hormonalmente al desove y obtener huevos viables.

Marino *et al.*, 2000, indican que para la inducción del mero *E. marginatus* el diámetro inicial del ovocito antes de realizar la primera inyección debe estar entre 400 y 500 μm . Estos resultados coinciden con el rango de tamaño encontrado por Watanabe *et al.* (1995) donde encuentran que las hembras del mero de Nassau, *E. striatus* tienen que ser inducidas al presentar diámetros promedio de los ovocitos entre 482 y 561 μm . Lo que concuerda con los resultados obtenidos por Kungavankij *et al.* (1986) para *E. salmoides* donde las hembras deben de ser inducidas a la puesta al presentar diámetros superiores a 400 μm .

Spedicato *et al.* (1995), indican que la efectividad del tratamiento hormonal de *E. marginatus* está en relación con el tamaño de los ovocitos debido a que solo los peces con ovocitos vitelogénicos con un tamaño superior a 420 μm u ovocitos maduros 500 μm tuvieron una respuesta positiva al tratamiento. Ellos especifican una única época de puesta anual durante el verano con un pico en el mes de julio. La vitelogénesis se ve tres meses antes, en abril con ovocitos mayores a 260 μm . Esto concuerda con los resultados obtenidos para la cabrilla sardinera donde podemos observar que aproximadamente tres meses antes de la época de

puesta (abril y mayo) es cuando encontramos el mayor porcentaje de ovocitos vitelogénicos (inicio de febrero).

En el presente estudio se encuentra una diferencia significativa de los tamaños de los ovocitos en fresco con los tamaños de los ovocitos en los cortes histológicos. Esto ocurre ya que cuando se miden los ovocitos en fresco no se tienen en cuenta todos los ovocitos previtelogénicos porque aparecen aglomerados con una masa de tejido y en cambio al medir el diámetro de los ovocitos de muestras histológicas, si se miden todos los ovocitos.

En el presente estudio se encontró que las hembras de cabrilla sardinera deben tener ovocitos con un tamaño mínimo de 397 μm para poder ser inducidas al desove. Los tamaños iniciales de los ovocitos son diferentes para cada especie. Existen donde los tamaños iniciales son menores como para *E. akaara* (250 μm) o mayores como los de *E. fuscognitatus* (482 μm), *E. taurina*, *E. fario* y *E. septemfasciatus* (500 μm) (Tucker, 1998).

La cantidad de hormona empleada para la inducción también es de suma importancia para los trabajos de reproducción de peces. Se ha demostrado que el uso del extracto de pituitaria de otros peces no es recomendable ya que puede presentarse una variabilidad en la concentración de hormona liberadora (LH) dentro de la pituitaria y ésta puede tener otro tipo de hormonas adicionales las cuales pueden afectar negativamente al pez receptor y además existe la posibilidad de la transmisión de enfermedades por parte del pez donante (Zohar y Mylonas, 2001).

En el presente estudio se demostró que se obtienen buenos resultados de fecundidad, número de huevos viables y tasa de fertilización al inducir hembras de *M. rosacea* con Gonadotropina Coriónica Humana con dos inyecciones, la primera de 1,000 UI ·Kg⁻¹ y la segunda 24 h después de 500 UI ·Kg⁻¹. En la actualidad, más de 17 especies de peces han sido inducidas con esta hormona aunque las dosis empleadas varían según la especie. Estas dosis han ido desde 100 hasta 4000 Unidades Internacionales por kilogramo de pez (Tucker, 1998; Zohar y Mylonas, 2001). Glamuzina *et al.*, (2000) también obtienen descripción completa del desarrollo larval a partir de huevos obtenidos a partir de la fertilización artificial al mero *E. costae*.

Existen 2 especies de *Mycteroperca* que han sido inducidas con GCh. *M. microlepis* con una dosis de 870 UI ·Kg⁻¹ (Roberts y Schlieder, 1983) y con 1500 UI ·Kg⁻¹ en dos inyecciones (Koenig, 1992 citado en Tucker, 1998). Y la especie *Mycteroperca phenax* también con 1500 UI ·Kg⁻¹ (Koenig, 1992 citado en Tucker 1998).

En estudios con otros meros como *E. marginatus* (Marino *et al.*, 2000) la inducción no tiene una respuesta muy favorable y la dosis empleada es mayor que la empleada en este estudio pero en una sola inyección de GCh (2000 UI ·Kg⁻¹). En otro grupo de peces, Neidig *et al.*, (2000), también obtienen puestas de *C. undecimalis* inducidas con GCh con una dosis de 1000 ó 500 UI ·Kg⁻¹.

Para las hembras de *M. rosacea* inducidas con LHRH-a, la dosis empleada fue mucho menor (5 µg ·Kg⁻¹ en la primera inyección y 10 µg ·Kg⁻¹ tres horas después) que la empleada en otros estudios, como el realizado por Watanabe *et al.*, (1995) donde indujeron al mero *E. striatus* al

desove con LHRH en una dosis de $50 \mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$ en la primera inyección y $100 \mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$ 24 horas después. Es probable que la baja respuesta (25 %) de las hembras al tratamiento con LHRH-a haya sido porque la mayoría (75 %) presentaba diámetros iniciales menores a las $387 \mu\text{m}$.

Es sabido que los peces inyectados con LH o GCh varias veces pueden llegar a desarrollar anticuerpos por lo que es frecuente tener que aumentar las dosis o alternar las hormonas para realizar la inducción hormonal. Una de las ventajas de utilizar GCh para la inducción hormonal es que actúa directamente a nivel de gónada por lo que no se necesita el almacenaje de LH o la activación de la pituitaria (Zohar y Mylonas, 2001).

En el presente estudio se realizó la inducción hormonal a seis hembras 2 veces consecutivas en el mismo periodo reproductivo con GCh obteniendo huevos por parte un 83% de de las hembras, lo que indica una baja o nula respuesta inmune a esta hormona.

Determinar el momento adecuado para el masaje abdominal y obtener los huevos es de suma importancia ya que de esto depende entre otros el éxito de la fertilización. La obtención de los huevos tiene que ser dentro de un corto periodo de tiempo después de la ovulación ya que, de otra forma, los ovocitos pueden sufrir una sobre-maduración lo que ocasiona que no puedan ser fertilizados (Tucker, 1998; Zohar y Mylonas, 2001). En nuestro caso éste momento tuvo lugar entre 36 y 42 horas después de la primera inyección lo que concuerda con los resultados obtenidos por Watanabe *et al.*, (1995) para *E. striatus*, donde las puestas exitosas fueron obtenidas entre 36 y 42 h después de la primera inyección. A diferencia de los bajos resultados

de fertilización obtenidos para *E. marginatus* (Marino *et al.*, 2000) donde el momento de la puesta tuvo lugar 74h después de la primera inyección.

En el presente estudio una hembra desovó voluntariamente en un tanque pero no se observó alguna señal de cortejo por parte de los machos a las hembras y tampoco existió fertilización de los huevos. En el mero *E. aeneus* (Hassin *et al.*, 1997) y en la lobina rallada, *Morone saxatilis* (Mylonas *et al.*, 1997) mantenidos en cautiverio ha sido necesario el masaje abdominal para obtener los huevos debido a la falta de maduración final de los huevos. La falta de puestas voluntarias puede ser atribuida a muchos factores. En algunos casos pueden ser factores ambientales (fotoperiodo, temperatura, salinidad, periodos lunares). Pueden intervenir factores sociales como la proporción de sexos, densidad, efectos de dominancia por machos o hembras que pueden impedir un correcto cortejo, o fisiológicos como algún fallo hormonal en el eje hipotálamo-pituitaria-gónada (Zohar y Mylonas, 2001).

En estudios realizados con varias especies (Zohar y Mylonas, 2001) se ha descrito que los peces mantenidos en cautiverio pueden entrar en fases de desarrollo vitelogénico, debido a que se acumulan altos niveles de LH en la pituitaria pero que la falta de maduración final de los ovocitos es debida que dicha hormona no es liberada hacia el sistema circulatorio.

En el presente estudio, la fecundidad promedio de las hembras inducidas con GCh fue de 175×10^3 huevos/puesta. El mayor número de huevos obtenido por hembra fue de 356×10^3 y el menor de 40×10^3 . Este resultado se consiguió en hembras de 0.78 a 1.69 Kg. La fecundidad total registrada por hembra en la época de reproducción fue mayor ya que un individuo puede

tener más de una puesta en el periodo reproductor anual. La fecundidad acumulada fue de 134×10^3 a 400×10^3 huevos por hembra. Lo que contrasta con el estudio del robalo común *C. undecimalis* (Neidig *et al.*, 2000), donde obtienen 280×10^3 huevos/puesta promedio aunque no mencionan el número de hembras y de puestas obtenidas.

En el presente estudio no se encontró una relación directa entre la fecundidad y el peso del pez. Bouain y Siau (1983), encuentran que las hembras de 3 especies presentan fecundidades superiores a las encontradas para la cabrilla sardinera. Siendo para *E. alexandrinus* (1.58 Kg) de 435×10^3 para *E. guaza* (1.75 Kg) de 606×10^3 y *E. aeneus* (1.74 Kg) de 644×10^3 . Las hembras de *M. rosacea*, de pesos 1.48, 1.68 y 1.69 Kg obtienen una fecundidad de 136×10^3 , 164×10^3 y 323×10^3 , respectivamente. Y los resultados aún superiores reportados por Tucker (1998) donde reporta una fecundidad de $1,469 \times 10^3$ huevos para el mero rojo, *E. morio*. Esta diferencia de resultados podría ser atribuida a los diferentes métodos de calcular la fecundidad, ya que en el estudio mencionado calculan la fecundidad potencial, es decir, que se contabiliza el total de los ovocitos maduros previo al desove en técnicas ictiológicas. En el caso de los meros, calcular la fecundidad potencial no es posible ya que no sacrificamos el pez. Estos peces presentan ovarios sincrónicos por grupo desovando varios paquetes de huevos a lo largo de toda la época reproductiva. La fecundidad calculada en el presente estudio fue contando el número de huevos totales por hembra en el momento del desove.

Los resultados del presente estudio se relacionan mas con trabajos de reproducción de meros inducidos. Hassin *et al.*, (1997), en trabajos de reproducción en cautiverio del mero *E. aeneus* reportan una fecundidad de 242×10^3 huevos/Kg pez. Marino *et al.*, (2003), inducen la

ovulación del mero *E. marginatus* mantenidos en cautiverio utilizando implantes de liberación controlada de GnRHa obteniendo un 85 % de éxito de respuesta y un total de fecundidad de 118×10^3 huevos/pez y un porcentaje medio de fertilización de 48.2 y 52.2 %.

Hubo hembras que desovaron 300×10^3 dos veces, y todavía tenían en junio ovocitos con diámetros superiores a las $450 \mu\text{m}$. Lo que indica que podrían ser nuevamente inducidas.

Esta es la primera vez que se logra la reproducción de la cabrilla sardinera en cautiverio. La experiencia y los resultados del presente estudio, deben permitir obtener un mayor número de veces huevos viables de cada hembra y mantener un mayor número de organismos en cautiverio.

CONCLUSIONES

1. Todas las hembras y machos mantenidos en las condiciones experimentales del presente estudio maduraron en cautiverio.
2. El principio del periodo reproductivo de la cabrilla sardinera inicia a finales de noviembre con la llegada del solsticio de invierno cuando la temperatura se encuentra por debajo de los 24 °C. Por lo tanto concluimos que la inducción hormonal al desove puede ser realizada desde el mes de febrero hasta junio. Encontramos que el mes de julio marca el fin de la época de reproducción.
3. En base al análisis del estudio histológico de las diferentes partes de las gónadas, concluimos que el ovario de la cabrilla sardinera es del tipo sincrónico por grupo teniendo ya que al menos dos grupos de ovocitos de tamaños diferentes se encuentran presentes en un mismo tiempo durante la época reproductiva. Y que no hay diferencias entre las partes de la gónada por lo que presentan un desarrollo homogéneo.
4. Al analizar los promedios de los diámetros iniciales de los ovocitos en fresco nos damos cuenta de que estos coinciden con los estadios de vitelogénesis tardía o núcleo migrado ya que tenemos la correspondencia histológica de las muestras.
5. De las inducciones realizadas con GCh a hembras mantenidas en cautiverio, se encontró que 81.25 % de las hembras presentaron respuesta ya 13 de 16 hembras

desovaron. Al contrario del 25 % de las hembras inducidas con LHRH-a. El alto porcentaje de respuesta para las hembras inducidas con GCh quedó demostrado pero el porcentaje de respuesta en hembras inducidas con LHRH deberá ser corroborado en hembras con diámetros superiores a las 397 μm .

6. Los resultados generales nos dicen que en total (incluyendo los dos tipos de hormonas), el 64 % de las hembras respondió a los tratamientos hormonales ya que 9 de 14 hembras tuvo desove.
7. Podemos concluir que 85 % de las hembras inducidas por segunda ocasión con GCh presentaron desove, por lo que no se encontró una respuesta inmune a corto plazo.
8. La tasa de fertilización total fue de 66 %, la fecundidad relativa de 162,609 huevos por kilo de pez y el número de huevos viables por kilo fue de 124,664 huevos.
9. Cuatro hembras (18 %) murieron durante el periodo experimental, lo que nos permite asegurar que la cabrilla sardinera es un pez resistente a la manipulación requerida para realizar las inducciones hormonales
10. Se demostró que el tamaño del organismo no se encuentra en relación con la fecundidad en organismos reproducidos artificialmente.

BIBLIOGRAFÍA

- Akatsu S., Al-Abdul-Elah K.M. and Teng S.K. 1983. Effects of salinity and water temperature on the survival and growth of brown spotted grouper larvae (*Epinephelus tauvina*, Serranidae). J. World Maric. Soc. 14: 624-635.
- Allen G.R. y Robertson D.R. 1998. Peces del Pacífico Oriental Tropical. P-111. CONABIO, Agrupación Sierra Madre y CEMEX. México. 327 pp.
- Billard R. 1989. Endocrinology and fish culture. Fish Physiol. Biochem. 7(1-4): 49-58.
- Bouain A. and Siau Y. 1983. Observations on the female reproductive cycle and fecundity of three species of groupers (*Epinephelus*) from the Southeast Tunisian seashores. Mar. Biol. 73: 211-220.
- Bromage N. and Cumaranatunga R. 1988. Egg production in the Rainbow Trout. En: Muir J.F. and Roberts R.J. Recent advances in aquaculture. Vol. 3. University Press, Cambridge. Pp. 63-139.
- Bruslé J. and Bruslé S. 1975. Ovarian and testicular intersexuality in two protogynous Mediterranean groupers, *Epinephelus aenus* and *Epinephelus guaza*. En: Reinboth R. (Ed). Intersexuality in the animal kingdom. Springer Verlag, New York. Pp-222-227.

- Caddell S.M., Gadomski D.M. and Abbott L.R. 1990. Induced spawning of the California halibut, *Paralichthys californicus*, (Pisces:Paralichthyidae) under artificial and natural conditions. Fish. Bull. 174: 175-197.
- Carrillo M., Bromage N., Zanuy S., Serrano R. and Prat F. 1989. The effect of modifications in photoperiod on spawning time, ovarian development and egg quality in the Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Aquaculture. 81: 351-365.
- Carrillo M., Zanuy S., Prat F., Cerdá J., Ramos E., Mañanós E. and Bromage N. 1995. Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). En: Bromage N. and Roberts R.J. Broodstock management and egg and larval quality (Eds.). Blackwell Science Publications, Oxford. Pp 138-168.
- Chao T.M., Lim L.C. and Khoo L.T. 1993. Studies on the breeding of brown-marbled grouper (*Epinephelus fusoguttatus* Forsskal) in Singapore. En Lee C.S., Su M.S. and Liao I.C. (Eds.) Finfish hatchery in Asia: Proceedings of finfish hatchery in Asia. 3: 143- 156.
- Díaz-Urbe J.G., Elorduy-Garay J.F. and González-Valdovinos M.T. 2001. Age and growth of the leopard grouper, *Mycteroperca rosacea*, in the southern Gulf of California, Mexico. Pac. Sci. 55(2): 171-182.
- FAO. 2002. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. SOFIA. ISBN 92-5-304842-5. Rome, Italy.

Fishbase 2004. <www.fishbase.org>. Descargado en Julio del 2004.

Garret R.N. and Rasmussen I.R. 1978. Induced spawning of barramundi. *Aust. Fish.* 46: 14-17.

Glamuzina B., Glavic N., Tutman P., Kozul V. and Skaramuca B. 2000. Egg and early larval development of laboratory reared goldblotch grouper, *Epinephelus costae* (Steindachner, 1878) (Pisces: Serranidae). *Sci. Mar.* 64(3): 341-345.

Goodyear C.P. and Schirripa M.J. 1991. The red grouper fishery of the Gulf of Mexico. *Natl. Mar. Fish. Serv., SEFC, Miami Lab. Contrib. no. MIA-90/91-86.* 80 p.

Gracia-López V. 2003. Cultivo potencial de la cabrilla sardinera (leopard grouper), *Mycteroperca rosacea*. *Panorama acuícola.* 9(1): 34-37.

Gracia-López V., Rodríguez-Romero J. and Pérez-Ramírez J.M. 2004a. Induced spawning and embryonic development of the leopard grouper *Mycteroperca rosacea* (streets, 1877). *Cienc. Mar.* 30(2): 279-284.

Gracia-López V., Kiewek-Martínez N.M. and Maldonado-García M.C. 2004b Effects of temperature and salinity on artificially reproduced eggs and larvae of leopard grouper *Mycteroperca rosacea*. *Aquaculture.* 237(1-4): 485-498.

Grier H. 2000. Ovarian germinal epithelium and folliculogenesis in the Common Snook *Centropomus undecimalis* (Teleostei: Centropomidae). *J. Morphol.* 243: 265-281.

- Hassin S., de Monbrison D., Hanin Y., Elizur A., Zohar Y. and Popper D.M. 1997. Domestication of the white grouper, *Epinephelus aeneus*: 1. Growth and reproduction. *Aquaculture*. 156(3-4): 305-316.
- Heemstra P.C. and Randall J.E. 1993. FAO species catalogue. Groupers of the world. (Family Serranidae, Subfamily Epinephelinae). FAO Fish. Synops. 125(16).
- Hobson E.S. 1968. Predatory behavior of some shore fishes in Gulf of California. U.S. Fish Wildlife Service, Bureau Sport Fisheries. Wildl. Res. Rep. 73. 92 p.
- IUCN 2003. *2003 IUCN Red List of Threatened Species* <www.redlist.org>. Descargado el 18 de mayo del 2004.
- James M.C., Al-Thobaiti A.A., Rasem B.M. and Carlos M.H. 1998. Growout production of camouflage grouper, *Epinephelus polyphkadion* (Bleeker), in a tank culture system. *Aquac. Res.* 29: 381-388.
- Karnovsky M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 27: 137-138A.

- Kitajima C., Takaya M., Tsukashima Y. and Arakawa T. 1991. Development of eggs, larvae and juveniles of the grouper, *Epinephelus septemfasciatus*, reared in laboratory. Jap. J. Ichth. 38(1): 47-55.
- Kungvankij P., Tiro L.B., Pudadera B.P. and Potestas I.O. 1986. Induced spawning and larval rearing of grouper (*Epinephelus salmoides* Maxwell). En Maclean J.L., Dizon L.B. and Hosillos L.V. (Eds). Proceedings of the First Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society, Manila, P. 663-666.
- Kuo M., Ting Y.Y. and Yeh S.L. 1988. Induced sex reversal and spawning of blue spotted grouper, *Epinephelus fario*. Aquaculture. 71: 113-126.
- Lim L.C. 1993. Larviculture of the greasy grouper *Epinephelus tauvina* F. and the Brown-Marbled Grouper *E. fuscoguttatus* F. in Singapore. J. World Aquac. Soc. 24(2): 262-273.
- Liu H.W., Stickney R.R. and Dickhoff W.W. 1991. Changes in plasma concentrations of sex steroids in adult pacific halibut, *Hippoglossus stenolepis*. J. World Aquac. Soc. 22(1): 30-35.
- Mackie M. and Lewis P. 2001. Assessment of gonad staging systems and other methods used in the study of the reproductive biology of narrow-barred Spanish mackerel, *Scomberomorus commerson*, in Western Australia. Fish. Res. Rep. West. Aust. 136: 1-32.

- Marino G., Azzurro E., Finoia M.G., Messina M.T., Massari A. and Mandich A. 2000. Recent advances in induced breeding of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). Cah. Options Méditerran. 47: 215-225.
- Marino G., Azzurro E., Massari A., Finoia M.G. and Mandich A. 2001. Reproduction in the dusky grouper from the southern Mediterranean. J. Fish Biol. 58: 909-927.
- Marino G., Panini E., Longobardi A., Mandich A., Finoia M.G., Zohar Y. and Mylonas C.C. 2003. Induction of ovulation in captive-reared dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), with a sustained-release GnRHa implant. Aquaculture. 219: 841-858.
- Mendoza-Bustamante J.A. 2002. Aspectos ecológicos del reclutamiento de la cabrilla sardinera *Mycteroperca rosacea* (Streets, 1877) (Pisces: Serranidae) en camas de sargazo, San Juan de la Costa, B.C.S., México. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California Sur. Noviembre del 2002.
- Merson R.R., Casey C.S., Martínez C., Soffientino B., Chandlee M. and Specker J.L. 2000. Oocyte development in summer flounder: seasonal changes and steroid correlates. J. Fish Biol. 57: 182-196.
- Murua H. and Saborido-Rey F. 2003. Female reproductive strategies of marine fish species of the North Atlantic. J. Northw. Atl. Fish. Sci. 33: 23-31.

- Murua H., Kraus G., Saborido-Rey F., Witthames P.R., Thorsen A. and Junquera S. 2003. Procedures to estimate fecundity of marine fish species in relation to their reproductive strategy. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.* 33: 33-54.
- Mylonas C.C., Woods III L.C. and Zohar Y. 1997. Cyto-histological examination of post-vitellogenesis and final oocyte maturation in captive-reared striped bass. *J. Fish Biol.* 50: 34-49.
- Neidig C.L., Skapura D., Grier H.J. and Dennis C.W. 2000. Techniques for spawning common snook: broodstock handling, oocyte staging and egg quality. *North Am. J. Aquacult.* 62(2): 103-113.
- Parrish J.D. 1987. The trophic biology of snappers and groupers. En: Polovina J.J. and Ralston S. (Eds.). *Tropical snappers and groupers: Biology and fisheries management.* Westview Press, Boulder. Pp. 405-459.
- Peláez-Mendoza A.K. 1997. Hábitos 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, Universidad Autónoma de Baja California Sur. Mayo de 1997.

- Peter R.E. 1983. The brain and neurohormones in teleost reproduction. En: Hoar W.S., Randall D.J. and Donaldson E.M. (Eds). Fish Physiology. 9A. Academic Press. EUA. 97-135.
- Peters K.M., Matheson Jr.R.E. and Taylor R.G. 1998. Reproduction and early life history of Common Snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch), in Florida. Bull. Mar. Sci. 62(2): 509-529.
- Powell A.B. and Tucker Jr. J.W. 1992. Egg and larval development of laboratory-reared Nassau grouper, *Epinephelus striatus* (Pisces, Serranidae). Bull. Mar. Sci. 50(1): 171-185.
- Roberts D.E.Jr. and Schlieder R.A. 1983. Induced sex inversion, maturation, spawning and embryogeny of the protogynous grouper, *Mycteroperca microlepis*. J. World Maricul. Soc. 14: 639-649.
- Rosenblatt R.H. and Zahuranec B.J. 1967. The Eastern Pacific grouper of the genus *Mycteroperca*, including a new species. Calif. Fish Game. 53(4): 228-245.
- Rottman R.W., Shireman J.V. and Chapman F.A. 1991a. Introduction to hormone-induced spawning of fish. Southern Regional Aquaculture Center. SRAC Publication 421.

- Rottman R.W., Shireman J.V., Chapman F.A. 1991b. Capturing, handling, transporting, injecting and holding brood fish for induced spawning. Southern Regional Aquaculture Center. SRAC Publication 422.
- Rottman R.W., Shireman J.V., Chapman F.A. 1991c. Hormonal control of reproduction in fish for induced spawning. Southern Regional Aquaculture Center. SRAC Publication 424.
- SAGARPA. 2003. Indicadores de la actividad pesquera. Dirección de estadística y registro pesqueros. <www.sagarpa.gob.mx>. Descargado en octubre, 2003.
- SEMARNAP. 1998. Anuario estadístico de pesca 1998 y 1999. <www.semarnat.gob.mx> Descargado en abril 2004.
- Shapiro D.Y. 1987. Reproduction in groupers. En: Polovina J.J. and Ralston S. (Eds.). Tropical snappers and groupers: Biology and fisheries Management. Westview Press, Boulder, 295-327.
- Spedicato M.T., Lembo G., Di Marco P., Marino G. 1995. Preliminary results in the breeding of dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). Cah. Options Méditerran. 16: 131-148.

- Shilo M. and Sarig S. 1989. Fish culture in warm water systems: Problems and trends. En: Shilo M. and Sarig S. (Eds.). United Press USA. Pp. 70-71.
- Tait M.J. and Hichman R.W. 2001. Reproduction, gamete supply and larval rearing of New Zealand turbot *Colistium nudipinnis* (Hutton 1873): a potential new aquaculture species. *Aquac. Res.* 32: 717-725.
- Tamaru C.S., Carlstromtrick C., Fitzgerald W.J., and Ako H. 1996. Induced final maturation and spawning of the marbled grouper, *Epinephelus microdon*, captured from spawning aggregations in the republic of Palau, Micronesia. *J. World Aquac. Soc.* 27(4): 363-372.
- Taylor R.G., Grier H.J. and Whittington J.A. 1998. Spawning rhythms of Common Snook in Florida. *J. Fish Biol.* 53(3): 502-520.
- Thomas P. and Boyd N. 1988. Induced spawning of spotted sea trout, red drum and orangemouth corvina (Family: Sciaenidae) with Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Analog injection. *Contrib. Mar. Sci.* 30: 43-48.
- Tookwinas S. 1990. Review of knowledge on grouper aquaculture in south East Asia. En: Barret J. (Ed.) Actes de Colloques. Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer, Brest, Advances in Tropical Aquaculture Workshop. ACUACOP, IFREMER. Tahiti, 9: 429-435.

- Tseng W.Y. and Ho S.K. 1988. The biology and culture of red grouper. Chien Cheng publisher, Kaohsiug. 134 p
- Tucker J.W.Jr. 1998. Marine fish culture. Kluwer academic publishers, USA. 750 p.
- Tucker J.W.Jr. 1999. Species profile. Grouper aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center. SRAC Publication 721.
- Tucker J.W.Jr. 2003. Grouper culture. World Aquac. 34(3): 32-39.
- Tyler C.R. and Sumpter J.P. 1996. Oocyte growth and development in teleosts. Rev. Fish Biol. Fish. 6: 287-318.
- Tyler C.R., Pottinger T.G., Coward K., Prat F., Beresford N. and Maddix S. 1997. Salmonid Follicle-Stimulating hormone (GtHI) mediates vitellogenic development of oocytes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Biol. reprod. 57: 1238-1244.
- Wallace R.A. and Selman K. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. Amer. Zool. 21: 325-343.
- Watanabe W.O., Ellis S.C., Ellis E.P., Head W.D., Kelley C.D., Moriwake A., Lee C.S. and Bienfang P.K. 1995. Progress in controlled breeding of Nassau grouper (*Ephinephelus striatus*) broodstock by hormone induction. Aquaculture. 138: 205-219.

- West G. 1990. Methods of assessing ovarian development in fishes: a Review. Aust. J. Mar. Freshw. Res. 41: 199-222.
- Yeh S.L., Chu Y.T. and Ting Y.Y. 1991. Studies on the artificial propagation for broodstock establishment of groupers. The embryonic development of blue-spotted grouper (*E. fario*) and comparing with hybrid (*E. fario* X *E. malabaricus*). Bull. Taiwan Fish. Res. Inst. 50.
- Zanuy S., Carrillo M. 1987. La reproducción de los teleósteos y su aplicación en acuicultura. En: Espinosa de los Monteros J. y Labarta U. (Eds.). Reproducción en acuicultura. Plan de formación de técnicos superiores en acuicultura. Industrias gráficas, Madrid, 1-102.
- Zanuy S. and Carrillo M. 1991. El control de la reproducción de los teleósteos y su aplicación en acuicultura. Política Científica. 27: 29-34.
- Zanuy S., Prat F., Carrillo M. and Bromage N.R. 1995. Effects of constant photoperiod on spawning and plasma 17 β -estradiol levels of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquat. Living Resour. 8: 147-152.
- Zohar Y. and Mylonas C.C. 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. Aquaculture. 197: 99-136.