

Programa de Estudios de Posgrado

**MADURACIÓN Y DESOVE DEL PARGO AMARILLO *Lutjanus argentiventris*
(Peters, 1869) EN CONDICIONES CONTROLADAS DE TEMPERATURA
Y FOTOPERÍODO**

T E S I S

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

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

p r e s e n t a

Roberto Alexander Martínez Lagos

La Paz, B. C .S., Diciembre del 2003.

ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S.,siendo las____horas del día ___del Mes de _____ del 2003, se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., para revisar la Tesis de Grado titulada:

" MADURACIÓN Y DESOVE DEL PARGO AMARILLO *Lutjanus argentiventris* (Peters, 1869) EN CONDICIONES CONTROLADAS DE TEMPERATURA Y FOTOPERIODO"

Presentada por el alumno:

Roberto Alexander Martínez Lagos

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN Acuicultura

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Dr. Arturo Muhlia Melo
DIRECTOR DE TESIS

Dra. Celia Vázquez Boucard
CO-TUTOR

Dr. Roberto Civera
CO-TUTOR

M.C. Juan Carlos Pérez
CO-TUTOR

**DRA. THELMA ROSA CASTELLANOS CERVANTES,
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

COMITÉ TUTORIAL

Dr. Arturo Muhlia Melo
Dra. Celia Vázquez Boucard
Dr. Roberto Civera
M.C. Juan Carlos Pérez

COMITÉ REVISOR DE TESIS

Dr. Arturo Muhlia Melo
Dra. Celia Vázquez Boucard
Dr. Roberto Civera
M.C. Juan Carlos Pérez

JURADO DE EXAMEN DE GRADO

Dr. Arturo Muhlia Melo
Dra. Celia Vázquez Boucard
Dr. Roberto Civera
M.C. Juan Carlos Pérez
Dra. Silvie Dumas (Suplente)

Resumen

El cultivo de peces marinos ha atraído considerable atención en la última década, experimentando un gran auge en años recientes. Esto se debe principalmente al desarrollo y optimización de la tecnología de cultivo en jaulas, como también al mejoramiento de las técnicas de producción de juveniles, lo que ha incrementado el número de especies para las cuales existen cultivos de orientación comercial. En las circunstancias actuales, para que el cultivo de peces sea rentable es necesario controlar todas las fases del ciclo vital de la especie. En el presente trabajo se abordó esta problemática a través de estudios enfocados a la maduración gonadal y desove a través de tratamientos de temperatura y fotoperíodo denominados no invasivos. En el primer experimento se analizaron los parámetros ambientales de temperatura y fotoperíodo necesarios para que se efectue la maduración gonadal y el posterior desove del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris*. Se estableció un rango de temperatura entre los 26 °C y 29 °C con fotoperíodos entre 14 y 16 horas de luz al día como las condiciones ambientales más apropiadas para motivar la maduración y desove de esta especie. Se observó un porcentaje de fertilización en los desoves obtenidos menor al 35 %. No se observaron diferencias significativas de los desoves obtenidos en la viabilidad, fertilización y eclosión de los mismos, entre los tratamientos evaluados. En un segundo experimento, se analizó la interrelación de los parámetros ambientales de temperatura y fotoperíodo y los desoves. Se comprobó que la ocurrencia de los desoves está correlacionada positivamente con las variables ambientales, sin embargo, constatamos que la temperatura tiene un efecto mayor en el proceso de maduración del pargo amarillo. El análisis de los ovarios del *Lutjanus argentiventris* reveló una organización funcional del ovario de tipo asincrónico, el establecimiento de 7 estadios de maduración gonadal y en forma separada las oogonias, que dividimos en dos fases de desarrollo: en la primera fase hay un período de crecimiento lento y largo que denominamos en el organismo como inmaduro, en esta fase localizamos las oogonias, el estadio I, ovocito peri-núcleo temprano y el estadio II, ovocito peri-núcleo tardío. La segunda fase es un periodo corto en donde los ovocitos crecen y maduran rápidamente para posteriormente ser desovados. En esta fase localizamos el estadio III, ovocito alvéolo cortical, el estadio IV, ovocito en vitelogénesis temprana, el estadio V, ovocito en vitelogénesis tardía, el estadio VI, ovocito en migración de vesícula germinal y el estadio VII, ovocito hidratado ó en maduración final. En los análisis bioquímicos realizados se evaluó el contenido de lípidos totales, triglicéridos y colesterol en los ovarios de organismos silvestres y domésticos. No se encontraron diferencias significativas en el contenido de lípidos totales y triglicéridos, pero si hubo diferencias en el contenido de colesterol entre los ovarios de organismos silvestres y domésticos. Se comparó el contenido de lípidos de los ovocitos en vitelogénesis tardía entre los ovarios de los organismos domésticos y silvestres mediante técnicas histoquímicas, en los cuales se encontraron diferencias significativas, mostrando una disminución del vitelo en los ovocitos de las hembras que han sido sometidas a un ciclo con múltiples desoves. No se encontraron diferencias significativas en el contenido de lípidos totales, colesterol y triglicéridos entre los

huevos viables y no viables obtenidos. Se observaron diferencias significativas en contenido total de ácidos grasos saturados y monoinsaturados entre los huevos viables y no viables con una mayor concentración en los huevos no viables. No se observaron diferencias en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados entre los huevos viables y no viables. Al analizar el contenido de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados en los ovarios de organismos silvestres y domésticos, no se observaron diferencias significativas. No se observaron diferencias en el factor de condición entre los organismos silvestres y domésticos.

Palabras claves: Temperatura, Fotoperíodo, Lípidos.

Dr. Arturo Muhlia

ABSTRACT

In the last decade marine fish aquaculture has called the attention since it experienced a boom in recent years. This is due mainly because of the development and optimization of aquaculture techniques in cages and the improvement of fingerlings production. The number of species under commercial operations has been increased recently. In order to get reasonable economic yield, a marine fish aquaculture system must have control over the entire vital cycle of the species. Our work was focused on gonad maturity and spawning of yellow snapper (*Lutjanus argentiventris*) varying light duration (photoperiod) and temperature under controlled conditions in laboratory. Spawning was recorded under the range of variation in temperature from 26 °C to 29 °C, with photoperiods from 14 to 16 light hours.

Less than 35 % of spawned eggs were fertilized. No significant differences in viability, fertilization, and egg braking were observed.

Inter-relationship of temperature and photoperiod was analyzed during spawning experiments. Ovary analysis of *Lutjanus argentiventris* revealed a non-synchronic type of functional organization.

Seven stages of gonad maturity were observed and oögony divided into two development phases: The first was characterized as a prolonged period of slow growth named as "immature stage". The second phase was a short period where oöocytes grow and mature rapidly and spawn. In this phase we identified stages III, IV, V, VI and VII, the last being an hydrate oöocyte or in final maturity.

Results of biochemical analysis of total lipids, triglycerids, and cholesterol in the ovaries of wild and domestic organisms showed non-significant differences in contents of total lipids and triglycerids, however, significant differences in contents of cholesterol were found.

Significant differences of the contents of lipids of the oöocytes in late vitellogenesis were found by means of histochemical techniques. A decrease of vitelo in oöocytes of females under a multiple spawning cycle was observed.

In relation to content of total lipids, cholesterol and triglycerids non-significant differences were observed between viable and no viable eggs. However, significant differences in total content of saturated and monounsaturated fatty acids between the viable and not viable eggs were observed, with a higher concentration in not viable eggs. No significant differences in the content polyunsaturated fatty acids between the viable and not viable eggs were also observed.

Content of saturated, monosaturated, and polyunsaturated fatty acids in ovaries of wild and domestic organisms resulted in no significant differences. Also the

condition factor between of wild and domestic organisms resulted in no significant difference.

Key Words: Temperature, Photoperiod, Lipids.

Dr. Arturo Muhlia

Dedicatoria

A: Mi señor y salvador Jesucristo

A: La Virgen Maria Santísima madre de Cristo y madre nuestra

Agradecimientos

A la Organización de Estados Americanos (OEA), por financiar mis estudios de maestría a través de su Agencia Interamericana para la Cooperación y el Desarrollo (AICD). Beca # 9467

Al Dr. Arturo Muhlia Melo por aceptarme en el desarrollo de su proyecto AC-5.1

A mi comité tutorial:

Dr. Arturo Muhlia Melo
Dra. Celia Vázquez Boucard
Dr. Roberto Civera
M.C. Juan Carlos Pérez.

A todas las personas buenas y amables que me ayudaron en los laboratorios donde se realizaron los análisis necesarios para el desarrollo del presente trabajo.

A la IBQ. **Sonia Rocha** y IBQ. **Maria Dolores Rondero** del laboratorio de análisis proximales.

A la M.C. **Carmen Rodríguez, Teresa Arteche y Norma Olgún.** Por su apoyo en el desarrollo de los trabajos de histología, histoquímica, y análisis de imágenes.

A la Dra. **Berta Olivia Arredondo** y la M.C. **Laura Carreón**, por su apoyo en los trabajos de cromatografía en el laboratorio de biotecnología de microalgas.

A la M.C. **Roxana Inohuye, Sofía y Norma**, por su apoyo en el laboratorio de diagnóstico parasitológico y microbiológico.

A el M.C. **Roberto Hernández** del laboratorio de bioquímica fisiológica.

A **Jorge Sandoval, Jorge Angulo, Enrique Calvillo**, el Ing. **José Gilberto Colado**. Personal del Patio de cultivo de peces marinos.

A el M.C. **Ernesto Goytortúa** del laboratorio de nutrición acuícola.

Al personal de la dirección de posgrado del CIBNOR:

Dra. Thelma Castellanos, Lic. Osbelia Ibarra, Lic. Leticia González Rubio, Beatriz Gálvez.

Al personal del laboratorio de computo.

Lic. Horacio Sandoval y **Lic. Manuel Melero.**

Al personal de Biblioteca:

M.C. Anamaria Talamantes, Tony Díaz, Susi, Esther, Isabel, Mercedes,

A la **Dra. Sofía Ortega** y la **M.C. Fabiola Arcos** por sus consejos.

A todos mis compañeros y amigos con los que compartí momentos gratos que recordare siempre.

Que Dios y la Virgen santísima les bendigan.

Contenido	Página
Acta de revisión de tesis	I
Comité tutorial	II
Resumen	III
Abstract	V
Dedicatoria	VII
Agradecimientos	VIII
Contenido	IX
Lista de figuras	XII
Lista de tablas	XIV
1. Introducción	1
2. Generalidades	4
2.1 Descripción de la especie	4
2.2 Taxonomía	4
2.3 Distribución y hábitat	5
2.4 Morfología	5
2.5 Alimentación	6
2.6 Reproducción	6
3. Antecedentes	9
4. Justificación	12
5. Hipótesis	14
6. Objetivo general	14
6.1 Objetivos particulares	14

7.	Materiales y Métodos	15
	7.1 Sistema de recirculación con condiciones controladas de temperatura y fotoperíodo	15
	7.2 Colecta de organismos	17
	7.3 Selección de organismos	18
	7.4 Mantenimiento y alimentación	20
	7.5 Recolección de huevos	21
	7.6 Diseño experimental	22
	7.7 Análisis histológicos y bioquímicos	24
	7.8 Análisis estadístico y manejo de datos	28
8.	Resultados	30
	8.1 Maduración gonádica y desove del pargo amarillo en un sistema de recirculación con condiciones controladas de temperatura y fotoperíodo.	30
	8.1.1 Primer experimento	30
	8.1.2 Evaluación de los resultados obtenidos del sistema 1-A en el primer experimento	32
	8.1.3 Evaluación de los resultados obtenidos del sistema 1-B en el primer experimento	33
	8.2 Segundo experimento	34
	8.2.1 Evaluación de los resultados obtenidos del sistema 1-A en el segundo experimento con fotoperíodo variable	36
	8.2.3 Evaluación de los resultados obtenidos del sistema 1-B en el segundo experimento con fotoperíodo fijo	37
	8.3 Descripción microscópica del ovario de <i>Lutjanus argentiventris</i>	38
	8.4 Análisis bioquímicos de ovarios del pargo amarillo y huevos producidos en cautiverio	45

8.4.1 Evaluación del contenido de lípidos totales en las muestras analizadas	45
8.4.2 Evaluación del contenido de triglicéridos en las muestras analizadas	48
8.4.3 Evaluación del contenido de colesterol en las muestras analizadas	49
8.4.4 Evaluación del contenido de ácidos grasos presentes en las muestras analizadas	51
8.4.5 Evaluación del contenido de ácidos grasos saturados en ovarios	53
8.4.6 Evaluación del contenido de ácidos grasos saturados en huevos	54
8.4.7 Evaluación del contenido de ácidos grasos monoinsaturados en ovarios	55
8.4.8 Evaluación del contenido de ácidos grasos monoinsaturados en huevos	56
8.4.9 Evaluación de los ácidos grasos poliinsaturados en ovarios	57
8.4.10 Evaluación de los ácidos grasos poliinsaturados en huevos	58
8.5 Análisis químico proximal	59
8.6 Análisis morfométricos	61
9. Discusión	62
10. Conclusiones	81
11. Recomendaciones	83
Referencias	85
Anexo I	105
Anexo II	109

Lista de figuras

Figura 1	Pargo amarillo <i>Lutjanus argentiventris</i> .	5
Figura 2	Sistema de recirculación con condiciones controladas de temperatura y fotoperíodo.	16
Figura 3	Área de colecta del pargo amarillo <i>Lutjanus argentiventris</i> en la bahía de La Paz y la isla de Cerralvo B.C.S. México.	18
Figura 4	Evaluación de los desoves en el primer experimento sistema 1-A	32
Figura 5	Evaluación de los desoves en el primer experimento sistema 1-B	34
Figura 6	Evaluación de los desoves en el segundo experimento sistema 1-A	37
Figura 7	Diámetro de los ovocitos en los distintos estadios de madurez gonádica	42
Figura 8	Fotografía microscópica de las características del ovario de pargo amarillo	43
Figura 9	Fotografía microscópica de las características del ovario de pargo amarillo	43
Figura 10	Fotografía microscópica de las características del ovario de pargo amarillo	44
Figura 11	Fotografía microscópica de las características del ovario de pargo amarillo	44
Figura 12	Contenido de lípidos totales en ovarios	45
Figura 13	Contenido de lípidos totales en huevos viables y no viables	46
Figura 14	Porcentaje de lípidos en los ovocitos (vitelogénesis tardía) de los organismos silvestres y los organismos domésticos maduros	47
Figura 15	Contenido de triglicéridos en ovarios	48
Figura 16	Contenido de triglicéridos en huevos viables y no viables	49

Figura 17	Contenido de colesterol en ovarios	49
Figura 18	Contenido de colesterol en huevos viables y no viables	50
Figura 19	Contenido de ácidos grasos saturados en ovarios	53
Figura 20	Contenido de ácidos grasos saturados huevos	54
Figura 21	Contenido de ácidos grasos monoinsaturados en ovarios	55
Figura 22	Contenido de ácidos monoinsaturados en huevos	56
Figura 23	Contenido de ácidos grasos poliinsaturados en ovarios	57
Figura 24	Contenido de ácidos grasos poliinsaturados en huevos	58
Figura 25	Estanque supralitoral del CIBNOR	106
Figura 26	Promedios mensuales de temperatura y horas de luz solar en los estanques supralitorales	108

Lista de tablas

Tabla I	Tabla I. Biometrías de peces del experimento I	19
Tabla II	Ciclo fototérmico aplicado en el sistema de recirculación en experimento I	23
Tabla III	Ciclo fototérmico aplicado en el sistema de recirculación en el experimento II (sistema 1-B)	23
Tabla IV	Técnicas de deshidratación e inclusión en parafina	25
Tabla V	Técnica de hematoxilina- eosina (de Harris)	25
Tabla VI	Técnica de tinción azul alciano-Schiff	26
Tabla VII	Evaluación porcentual de los desoves obtenidos en el primer experimento	30
Tabla VIII	Coeficiente de correlación entre los parámetros ambientales y las principales variables de respuesta en el primer experimento	30
Tabla IX	Resultados obtenidos en los sistemas de recirculación mediante la manipulación de la temperatura y el fotoperíodo en el primer experimento	31
Tabla X	Ocurrencia de los desoves en el primer experimento	31
Tabla XI	Evaluación porcentual de los resultados obtenidos del sistema 1-A en el primer experimento	33
Tabla XII	Evaluación porcentual de los resultados obtenidos del sistema 1-B en el primer experimento	33
Tabla XIII	Evaluación porcentual de los desoves obtenidos en el segundo experimento	34
Tabla XIV	Coeficiente de correlación entre los parámetros ambientales y las principales variables de respuesta en el segundo experimento	35
Tabla XV	Resultados obtenidos en los sistemas de recirculación mediante la manipulación de la temperatura y el fotoperíodo en el segundo experimento	35

Tabla XVI	Ocurrencia de los desoves en el segundo experimento fotoperíodo variable	35
Tabla XVII	Evaluación porcentual de los resultados obtenidos del sistema 1-A en el segundo experimento	37
Tabla XVIII	Principales características en cada uno de los estadios de maduración folicular en el pargo amarillo	42
Tabla XIX	Concentración (mg/g) peso seco de lípidos totales en las muestras procesadas	46
Tabla XX	porcentaje de lípidos en los ovocitos de organismos silvestres y domésticos maduros	47
Tabla XXI	Concentración (mg/g) peso seco de triglicéridos	48
Tabla XXII	Concentración (mg/g) peso seco de colesterol	50
Tabla XXIII	Evaluación del contenido de ácidos grasos presentes en ovarios de organismos maduros	52
Tabla XXIV	Evaluación del contenido de ácidos grasos presentes en huevos	52
Tabla XXV	Resultados del análisis bromatológico del alimento proporcionado a los peces durante el desarrollo del experimento	60
Tabla XXVI	Porcentaje de lípidos en los ingredientes utilizados para la dieta de reproductores	60
Tabla XXVII	Porcentaje de ácidos grasos en los ingredientes de la dieta de reproductores	60
Tabla XXVIII	Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados en los ingredientes de la dieta para reproductores	60
Tabla XIX	Factor de condición simple en organismos utilizados en el experimento	61
Tabla XXX	Factor de condición simple en organismos silvestres y domésticos utilizados en análisis bioquímicos	61
Tabla XXXI	Ciclo fototérmico aplicado en el sistema de recirculación	108

1. Introducción

La producción de la pesquería mundial sobrepasó las 128 millones de toneladas en el 2001 (FAO. 2002) no se considera posible lograr incrementos sustanciales en los recursos tradicionales, lo cual es también válido en América Latina y El Caribe, regiones donde la demanda excede la captura potencial de los recursos explotados y no explotados (Tuker y Jory, 1991). Por ello la acuicultura, que ha representado el 78.3% de los incrementos de la producción pesquera desde 1987, actualmente representa el 31.3% del total. De esta forma se observa actualmente la acuicultura como la única vía para incrementar la producción. La maricultura ha presentado un desarrollo más lento que la acuicultura de agua dulce; sin embargo, la tendencia mundial actual muestra un crecimiento sostenido del 5.8% en la maricultura en los últimos años (FAO. 2001).

El desarrollo de la tecnología base para el cultivo de peces marinos se inició en los años 80's con los resultados obtenidos por Noruega con el cultivo del salmón en jaulas flotantes. Este antecedente motivó la participación de los piscicultores europeos, quienes evaluaron el potencial de cultivo de la dorada (*Sparus aurata*) y la lubina (*Dicentrarchus labrax*) y el rodaballo (*Scophthalmus maximus*) en el mediterráneo. Este esfuerzo dio como resultado una creciente producción con alto valor comercial que se estima en más de 15,000 toneladas métricas anuales (Sorgeloos y Sweetman, 1993).

En México el mayor desarrollo en el cultivo de peces marinos se encuentra en la parte Noroeste del país. En el estado de Sonora se realizan estudios básicos

para el cultivo de la *Totoaba macdonaldi*, en Mazatlán se ha desarrollado el cultivo del botete diana (*Sphoeroides annulatus*). En la península de Baja California se tiene el mayor número de proyectos sobre peces marinos. Algunos en fase experimental y otros con experiencia comercial como lo es el cultivo del atún en ranchos marinos, al norte de la ciudad de Ensenada B.C. e Isla de Cedros B.C.S. (Com. Pers., Avilés-Quevedo, 2002). En lo referente a investigación básica, el Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, (CICIMAR-IPN) ha realizado estudios sobre la biología y cultivo larval de *Cynoscion parvipinnis*, *Gerres cinereus*, *Paralabrax maculatofasciatus*, *Eugerres axillaris*, *Calamus brachysomus* y *Atherinops affinis* (Matus-Nivón, et al., 1990). El Centro Regional de Investigación Pesquera de La Paz, B.C.S. desarrollo con éxito la metodología de cultivo de la cabrilla arenera (*Paralabrax maculatofasciatus*) (Avilés-Quevedo et al., 1995).

Uno de los aspectos a contemplar en el desarrollo de la acuicultura, es que la especie a cultivarse tenga una importante demanda comercial local, nacional o internacional. Los pargos son un alimento muy popular, por esta razón son un género de interés en la piscicultura marina. En México el pargo amarillo (*Lutjanus argentiventris*) constituye un importante componente de la pesca artesanal en las regiones costeras del Pacífico mexicano, debido tanto a los elevados volúmenes de captura, como al beneficio económico que su pesca representa, la cual esta destinada exclusivamente al consumo humano. En el año 2000, el registro de

captura de pargos a nivel nacional ascendió a 10,640 toneladas, equivalente a un ingreso de \$22 millones de dólares americanos (SAGARPA. 2001).

Numerosas especies de peces marinos de importancia comercial no se reproducen en cautiverio, por lo que se hace necesario desarrollar métodos para inducir el desove, y de esta forma alcanzar un mayor control del proceso reproductivo e incrementar la eficiencia en el uso de las instalaciones de los laboratorios de larvicultura. Los tratamientos para inducir los desoves de forma controlada en peces marinos, pueden estar basados en el control de condiciones ambientales, incluyendo la alimentación. A estos se les denomina tratamientos no invasivos o suaves, mismos que nos permiten adelantar o atrasar la maduración sexual (Zohar, 1989), la inducción y la sincronización de la puesta (Zanuy y Carrillo, 1993). Otro tipo de tratamientos se consideran métodos invasivos o fuertes, como la administración de sustancias, generalmente hormonas, para intervenir directamente en el proceso fisiológico de la reproducción (Álvarez-Lajonchere y Hernández-Molejón, 2001).

Un paso importante en el desarrollo de una tecnología de cultivo exitosa es el conocimiento del ciclo reproductivo de la especie, base para poderlo desarrollar en cautiverio y de esta forma lograr la obtención de alevines para el posterior cultivo. El presente estudio pretende contribuir con el diseño de una metodología para la inducción a la maduración gonadal y desove del pargo amarillo, mediante la combinación mas apropiada entre los parámetros físicos de temperatura y

fotoperíodo, como inductores del proceso de reproducción; este conocimiento forma parte del desarrollo de la tecnología de cultivo para esta especie.

2. Generalidades de la especie

2.1 Descripción de la especie

Los Pargos de la familia Lutjanidae, están representados por 17 géneros y 103 especies. Dentro del género *Lutjanus*, se encuentran 65 especies, de las cuales 39 están distribuidas en el Indo Pacífico, 9 en el Pacífico Americano, 12 en el Atlántico Oriental y 5 en el Atlántico Americano (Anderson, 1987).

En el Golfo de California se reportan 9 especies, el tipo de hábitat al que pertenecen estos peces es generalmente de arrecifes coralinos someros, plataforma continental con contornos rocosos y cuevas (Allen, 1987).

2.2 Taxonomía

De acuerdo con Anderson (1987). El pargo amarillo pertenece al:

Orden: Perciformes

Familia: Lutjanidae

Subfamilia: Lutjaninae

Género: *Lutjanus*

Especie: *Lutjanus argentiventris* (Peters, 1869)

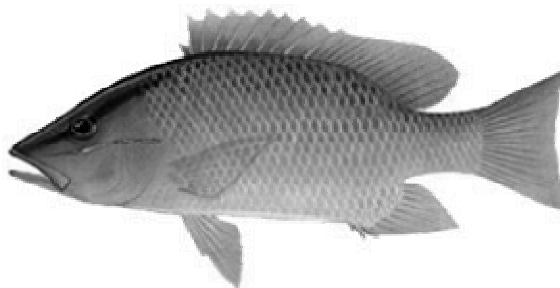


Figura 1. Pargo amarillo *Lutjanus argentiventris*

2.3 Distribución y hábitat

El *Lutjanus argentiventris* es una especie que se distribuye en el Pacífico americano desde las costas de B.C.S. México hasta el Norte de Perú; además se localiza en las Islas Galápagos y Cocos (Allen, 1987).

Habita principalmente aguas costeras someras arrecifales, frecuentemente forman agregaciones durante el día y por la noche; prefieren permanecer solitarios, resguardándose en cuevas o grietas (Thomson *et al.*, 1979; Allen, 1987).

2.4 Morfología

El cuerpo de color amarillo es una característica que distingue a estos organismos, el adulto es ligeramente rosado en su parte anterior y amarillo en su parte posterior. Los jóvenes poseen una distintiva línea azul por debajo de los ojos; llegando a desaparecer por completo con la edad. Los juveniles presentan una prominente raya oscura a través del ojo, que llega a oscurecerse en la etapa adulta. Las aletas generalmente son amarillas o naranja; la aleta anal presenta III

espinas y 8 radios; la aleta caudal ligeramente bifurcada; la aleta dorsal con X espinas y 14 radios; la aleta pectoral con 16 a 17 radios una serie de escamas sobre la línea lateral paralelas con ellas; 5 ó 6 hileras de escamas entre la línea lateral paralelas con ella; 5 a 6 hileras de escamas entre la línea lateral y la base de la primera espina dorsal; branquioespinas en un número moderado de 12 a 13 en la rama inferior del primer arco branquial, hileras de escamas en los costados, marcados por franjas plateadas mas o menos aparentes. Presentan dientes cónicos o coniformes generalmente enfrente de la mandíbula y dientes vomerianos triangulares con un extensión media posterior (Allen y Robertson, 1994).

2.5 Alimentación

El género *Lutjanus* es un grupo de peces depredadores, cuya dieta se compone de una gran gama de presas, dominadas principalmente por peces, cangrejos, decápodos, estomatópodos, y cefalópodos. En los organismos de este género la especialización alimentaría es más notable en los adultos, que en los juveniles. En los adultos solamente los eufaucidos llegan a formar parte importante en la dieta, además de los urocordados. En juveniles en cambio, son importantes los carideos, miscidáceos, y peces. (Díaz-Uribe, 1994). Estos organismos se alimentan durante el amanecer y el atardecer (Thomson *et al.*, 1979). Para el pargo amarillo se reporta una dieta muy variada entre los que figuran, decápodos, crustáceos, peces, anfípodos reportando diversas especies para cada uno de los grupos (Maeda-Martínez, 1981).

2.6 Reproducción

Los pargos amarillos son organismos gonocóricos (Allen, 1987). En B.C.S. la etapa de desoves múltiples ocurre a finales de junio y en los primeros días de noviembre (Avilés-Quevedo *et al.*, 1996). En la costa occidental de México, ocurre en los períodos de abril y mayo, con un segundo ciclo de septiembre a noviembre (Crúz-Romero *et al.*, 1996). La relación de sexos en condiciones naturales es 1:0.9 (H:M). El intervalo de peso para la fecundidad en las hembras va de 540 a 639 g. La producción es de 1,000 a 15, 725 huevos por hembra con porcentajes de eclosión superiores al 89.26 % (Avilés y Quevedo, 1996). Las hembras con tallas entre 240 a 565 mm producen de 75,900 a 356,000 (Cruz-Romero *et al.*, 1996). Esta especie presenta un crecimiento longitudinal asintótico, con una longitud máxima de (L_{∞}) 685 mm, peso máximo (W_{∞}) de 6,678 g, tasa de crecimiento anual (k) de 0.155 año^{-1} $t_0 = 0.081$, longevidad hasta de 19 años, mortalidad natural (M) de 0.3252 año^{-1} , mortalidad por pesca (F) un intervalo de $0.01 \text{ a. } 0.32 \text{ año}^{-1}$ y talla mínima de maduración (190-200 mm) (Cruz-Romero *et al.*, 1996).

En el pargo amarillo, como en los demás teleósteos marinos, la vitelogénesis representa el principal acontecimiento funcional del crecimiento del ovocito y comprende la disposición de vitelogenina (lipoglicofosfoproteína). Esta es sintetizada en el hígado y liberada a la sangre en respuesta a los estrógenos circulantes, constituye el principal precursor de las proteínas del vitelo (Carrillo y Zanuy, 1993). La vitelogenina llega a la superficie del ovocito a través de la

circulación sanguínea, después de atravesar las células mesoepiteliales, la teca, la lamina basal, los espacios intracelulares de la granulosa, la matriz extracelular y los canales de la zona radiata a lo largo de las micro vellosidades del ovocito, alcanza el oolema. En ese lugar se forman unas vesículas recubiertas de clatrina que se desprenden del oolema y entran de manera aislada en el ovoplasma periférico. Estos se fusionan y dan lugar a lisosomas modificados, en los cuales se produce la ruptura proteolítica de la vitelogenina para dar lugar a la fosfovítina y lipovítina, que son los principales componentes del vitelo. Los gránulos del vitelo se fusionan posteriormente para formar los glóbulos del vitelo (Wallace y Selman, 1981). En el pargo amarillo, los glóbulos de vitelo se acumulan en forma de esferas de vitelo, las cuales se fusionan durante la maduración postvitelogénica lo que confiere el aspecto transparente característico de los huevos pelágicos. Todos los procesos anteriores, una vez iniciados, pueden acelerarse o retardarse según el régimen hormonal, o incluso abortarse dando lugar a la atresia ovocitaria, lo cual representa una operación de limpieza del ovario, particularmente en especies que presentan un desarrollo asincrónico del ovario, con múltiples desoves (Carrillo y Zanuy, 1993). Una vez completada la vitelogénesis, se produce la maduración de los ovocitos, reiniciándose la meiosis. Este estadio está acompañado por varios procesos de madurez tanto del núcleo como de citoplasma. Estos consisten principalmente en la migración de los cromosomas en la primera fase meiótica seguida por la extrusión del primer cuerpo polar. Los cromosomas restantes entran en la segunda metafase meiótica y la meiosis se

detiene otra vez. Detenido este proceso, el ovocito llega a ser maduro y fertilizable (Wallace y Selman, 1981).

La formación definitiva del huevo depende en gran medida de la regulación de las hormonas, secretadas por la hipófisis y la síntesis y secreción de esteroides secretados por los tejidos del ovario. La formación de los alvéolos corticales, parece ser que es el primer proceso verdaderamente dependiente de la gonadotropina tipo I (GtH I). Durante la vitelogénesis, las células de la envoltura folicular responden a la gonadotropina circulante con la producción de estrógenos y permitiendo el acceso de la vitelogenina a la superficie del ovocito (Carrillo y Zanuy, 1993). La maduración final del ovocito es un proceso rápido que abarca la migración del núcleo a la periferia y la subsiguiente desintegración de la membrana de la vesícula germinal, acompañada por la coalescencia de los gránulos de aceite y un incremento en la transparencia del ovocito. La maduración final esta controlada por la gonadotropina tipo II (GtH II), la estimula la producción de un esteroide que induce a la maduración por la pared del folículo. La maduración final del ovocito es seguida por la ovulación, y esta consiste en la separación del ovocito de las células que rodean el folículo, la hidratación, la ruptura de la pared folicular y la expulsión del óvulo (Lam, 1982).

3. Antecedentes

A pesar de ser una especie explotada para el consumo humano en la mayor parte de la costa del Pacífico mexicano, existen pocos estudios sobre el cultivo, nutrición y fisiología del pargo amarillo (*Lutjanus argentiventris*), podemos

mencionar el trabajo realizado por Guerrero-Tortolero (1997), sobre el crecimiento y sobrevivencia en jaulas del pargo amarillo en donde se demuestra la factibilidad del cultivo de esta especie. El trabajo de Alarcón *et al.*, (2001), sobre inhibidores de proteasas en *L. argentiventris* y *L. novemfasciatus*; Serrano-Pinto y Caraveo-Patiño (1999), estudiaron la sobrevivencia del pargo amarillo a varios niveles de salinidad en condiciones de cautiverio; Hernández-Rauda y Aldegunde (2002), realizaron estudios sobre los cambios en los niveles de dopamina, norepinefrina y serotonina, durante el desarrollo gonadal de los machos en el pargo amarillo. El presente estudio es el primer trabajo sobre la reproducción en cautiverio del pargo amarillo utilizando tratamientos suaves y de esta forma obtener cierto control sobre el periodo de maduración y el desove del pargo amarillo.

De forma practica solo existen 3 niveles a través de los cuales se puede ejercer un control efectivo sobre el proceso reproductor: el hipotalámico o cerebral modulado a través de factores ambientales o sociales, el hipofisario controlado por factores hipotalámicos o sus análogos estructurales asociados o no a los antidopaminérgicos y el gonadal regido por la administración de extractos hipofisarios, gonadotropinas de peces ó mamíferos y esteroides gónadales (Zanuy y Carrillo, 1993). La principal utilización de parámetros ambientales en la piscicultura es el desplazamiento de la época de puesta, en las zonas templadas el uso de estas técnicas, comenzó con los salmónidos, así podemos mencionar trabajos con *Oncorhynchus mykiss* especie en la que se obtienen desoves espontáneos con fotoperíodos cortos y temperaturas entre los 10 y 12 °C (Billard,

1990); *Salmo salar* especie de gran importancia comercial en la cual los desoves espontáneos se obtienen con fotoperíodos cortos y temperaturas entre los 4 y 6 °C (Jobling, 1981; Poxton, 1991). También existen experiencias exitosas en organismos tropicales, en las cuales los desoves se obtienen con fotoperíodos largos y temperaturas altas, podemos mencionar *Lates calcarifer* con temperaturas entre 26 y 34 °C (Maneewong, 1987; MacKinnon, 1990); *Chanos chanos* con temperaturas entre 25 y 34.5 °C (Chang, *et al.*, 1993), *Hippocampus sp.* con temperaturas entre 17 y 33 °C (Liang, 1992); *Lutjanus analis* con temperaturas entre los 24 y 32 °C (Bortone y Williams, 1986); *Coryphaena hippurus* con temperaturas entre los 24 y 32 °C (Szyper, 1991).

A pesar de ser un alimento muy popular los pargos no son peces fáciles de cultivar y son pocos los trabajos exitosos al respecto; se reportan trabajos de engorda en fase experimental para el pargo gris (*Lutjanus griseus*) en Estados Unidos donde se han capturado organismos silvestres juveniles criándolos en acuarios de 37 litros por espécimen, hasta alcanzar una talla comercial (Tuker, 1998). También en la fase experimental se encuentran los trabajos para la metodología en el cultivo del pargo dorado (*Lutjanus johnii*) especie en la cual se ha logrado la maduración y desoves inducidos por medio de hormonas; el cultivo larvario se realiza entre los 28 y 29 °C en tanques de 4 m³, como alimento vivo se utilizo en el cultivo rotíferos, artemia y zooplancton silvestre, logrando obtener el 5 % de sobrevivencia de larvas. En esta especie se logra obtener una ganancia en peso de 600 a 800 gramos en 6 a 8 meses comenzando el engorde con semilla de

90 gramos. (Lim *et al.*, 1985). Se han logrado desoves espontáneos en el pargo rojo del Atlántico (*Lutjanus campechanus*) con el cual se utiliza la técnica de agua verde para el cultivo larvario (Hearn, 1996) esta técnica consiste en el desarrollo de larvas utilizando zooplancton silvestre como alimento, el cual se mantiene con microalgas en conjunto con las larvas. Se ha inducido a la maduración al pargo rayado (*Lutjanus synagris*), y se realiza su cultivo larvario utilizando rotíferos, zooplancton y artemia (Clarke *et al.*, 1997). También se ha logrado la maduración y el desove espontáneo del pargo cola amarilla (*Ocyurus chrysurus*) (Lazo *et al.*, 1997). Son pocas las especies dentro del género que se han llevado de la fase experimental al cultivo, entre ellas podemos mencionar que existe una metodología de cultivo para el pargo rojo de Asia (*Lutjanus argentimaculatus*) (Doi y Singhagraiwan, 1993) El cual se cultiva exitosamente en Filipinas, Taiwán y Australia. Y se ha establecido una metodología exitosa para la reproducción del pargo moteado (*Lutjanus analis*) mediante la técnica de agua verde (Watanabe *et al.*, 1998).

4. Justificación

El Pargo amarillo es una especie que cuenta con una importante demanda comercial en la república de México, siendo este considerado como un producto de primera calidad. En el año 2000 el registro de captura en pargos a nivel nacional ascendió a 10,640 toneladas, equivalente a un ingreso de \$22 millones de dólares americanos (SAGARPA, 2001).

El pargo amarillo es una especie fácilmente domesticable de que se adapta rápidamente al cautiverio, en la cual se han realizado estudios que demuestran la factibilidad de su engorda en cautiverio, (Guerrero-Tortolero, 1997).

Se ha comprobado que la utilización de tratamientos no invasivos para la reproducción de peces marinos, genera una mayor producción de larvas viables, que los tratamientos invasivos (Ako *et al.*, 1994).

La inducción de desoves con tratamientos no invasivos de estimulación ambiental en acuicultura, optimizan la utilización de las instalaciones de larvicultura por las facilidades que presenta, en poder adelantar la maduración sexual de los reproductores y sincronizar las puestas en el tiempo mas conveniente para el acuicultor (Zanuy y Carrillo, 1993).

Este trabajo forma parte de los proyectos del CIBNOR con el objeto de generar conocimiento que contribuya al desarrollo de la tecnología para el cultivo del pargo amarillo (*Lutjanus argentiventris*), siendo esencial la maduración y desove de los reproductores bajo condiciones controladas; esto se puede lograr utilizando los parámetros de temperatura y fotoperíodo que influyen de manera natural en la reproducción de estos organismos.

5. Hipótesis

En condiciones controladas se puede inducir la maduración gonadal y el desove del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris*, mediante la manipulación de los parámetros ambientales de temperatura y fotoperíodo.

6. Objetivo general

Determinar las condiciones de temperatura y fotoperíodo necesarias para la maduración gonádica y el desove del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris* en un medio controlado.

6.1 Objetivos particulares

- 1) Identificar el tipo de desarrollo ovárico y describir los diferentes estadios de maduración gonádica del pargo amarillo mediante técnicas histológicas.
- 2) Determinar la cantidad de huevos, el porcentaje de fertilización y de eclosión en los desoves obtenidos.
- 3) Evaluar la calidad bioquímica de los desoves obtenidos mediante el análisis de su contenido de lípidos totales, triglicéridos, colesterol y ácidos grasos.

7. Materiales y Métodos

7.1 Sistema de recirculación con condiciones controladas de temperatura y fotoperíodo

Para realizar el experimento de inducción a la maduración y el desove se utilizó un sistema de recirculación ubicado en el patio de cultivos del CIBNOR mismo que esta compuesto de las siguientes partes:

- 2 Tanques cubiertos con tapas cónicas. construidos con fibra de vidrio. Sus medidas son: 3 m de diámetro x 1.2 m de altura, su volumen total es de 8.48 m^3 y su volumen útil de 8 m^3 ; los cuales denominamos sistemas 1-A y 1-B.
- Tres lámparas de 60 W. para cada uno de los tanques, colocadas en cada una de las cubiertas.
- Seis Timers Digitales, marca NOM. Modelo TE-102.
- Un tanque de sedimentación con su respectiva tapa, construido con fibra de vidrio. Las medidas de este tanque son: 1.2 m de diámetro x 1.5 m de altura, su volumen total es de 1.69 m^3 y su volumen útil de 1.61 m^3 .
- Un tanque para el filtro biológico marca Rotoplas. Las dimensiones de este tanque son: 1.6 m de diámetro, 1.15 m de altura, su volumen total es de 2.31 m^3 , su volumen útil es de 2.19 m^3 .
- Un filtro de arena marca Tagelus (filtrado de 50 micras), capacidad de flujo 35 galones por minuto.
- Un filtro de cartucho marca Dynamic series 5 (filtrado 20 micras)
- Un calentador de agua de 40 Litros Heat-Master modelo HM-10 (opera con gas).
- Un enfriador eléctrico de agua Aqua-Logic Goldline Modelo TD-30

-Una bomba de flujo Jacuzzi de 1.5 H.P.

-Dos colectores de plástico para los huevos, con las siguientes medidas : 0.55 m de diámetro y 0.55 m de altura; su volumen total es de 0.13 m³ y su volumen útil es de 0.12 m³.

La entrada de aire del sistema se deriva del sistema principal del patio de cultivo que cuenta con un soplador de 4 Hp. Las entradas al sistema son 3 una para cada tanque y una para el filtro biológico, este último se rellena con pedazos pequeños sobrantes de PVC y pedazos de coral muerto, al filtro biológico se le colocan 0.5 gramos de cloruro de amonio por 5 días para activar a las bacterias que degradan la materia orgánica en el agua de desecho en el proceso de circulación. El sistema opera con 20.04 m³ de agua, con un recambio del 10 % diario para reponer el agua perdida durante las actividades de limpieza.



Figura 2. Vista exterior del sistema de recirculación con condiciones controladas de temperatura y fotoperíodo

7.2 Colecta de organismos

Para la realización del presente trabajo se capturaron en la ensenada de La Paz, B.C.S., México, organismos juveniles utilizando como arte de pesca la atarralla. Un primer lote en el año 1996 y un segundo lote en el año 1998, cada uno de los lotes compuesto por 26 organismos, se aplico como tratamiento profiláctico un baño de agua dulce por 5 minutos, posteriormente se han mantenido en los estanques supralitorales del CIBNOR, como alimento durante este tiempo se les a proporcionado pescado fresco y calamar. De estos dos lotes se escogieron los organismos reproductores, con los que se realizaron los experimentos de maduración y desove en condiciones controladas de temperatura y fotoperíodo.

Con el propósito de realizar análisis bioquímicos, histológicos e histoquímicos en organismos silvestres maduros y compararlos con organismos maduros criados en cautiverio, en los años 2002 y 2003 se realizaron capturas de 19 organismos silvestres en la bahía de La Paz, la isla Espíritu Santo y la isla de Cerralvo entre las coordenadas $24^{\circ} 63'$ y $23^{\circ} 99'$ de latitud norte y los $110^{\circ} 05'$ y $109^{\circ} 76'$ longitud oeste. Los ejemplares colectados eran hembras adultas que presentaban un grado de maduración conocido; adicionalmente se sacrificaron 9 hembras adultas de los lotes criados en cautiverio para la obtención de muestras.

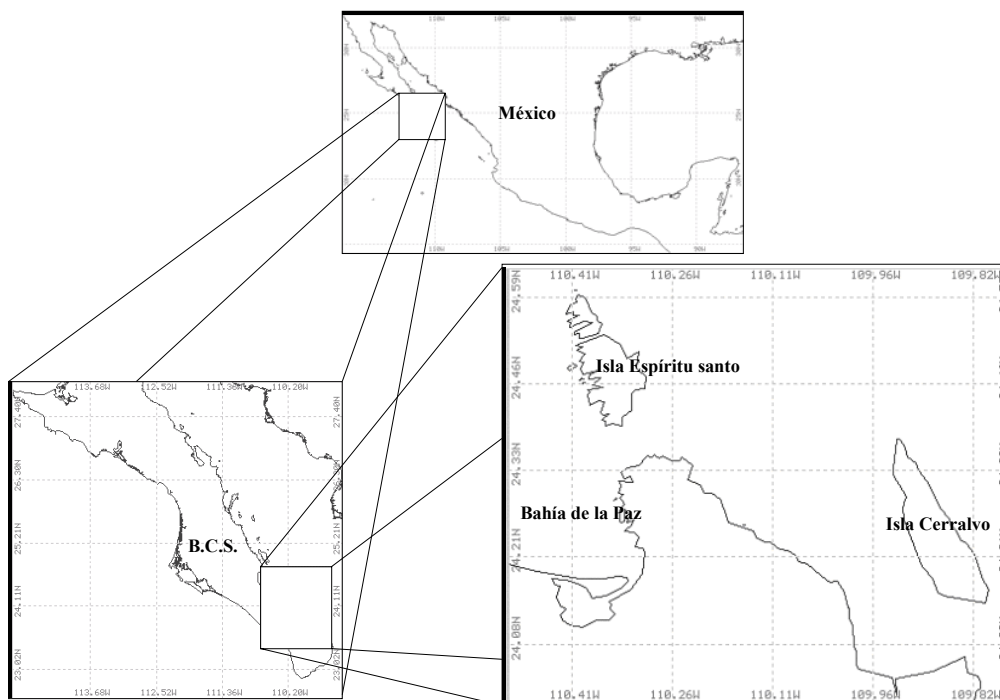


Figura 3. Área de colecta del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris* en la bahía de La Paz y la isla de Cerralvo B.C.S. México.

7.3 Selección de organismos

Para el desarrollo del presente trabajo se realizaron 2 experimentos en el sistema de recirculación con condiciones controladas de temperatura y fotoperíodo. En el primer experimento se colocaron 6 organismos: 3 machos y 3 hembras en cada uno de los tanques denominados sistemas 1-A y 1-B, teniendo un promedio de 1.33 m^3 de agua por pez en cada tanque y la biomasa promedio es de 0.819 kilogramos por m^3 en el sistema. Se escogieron organismos pertenecientes del lote 1996 por presentar mejores características como reproductores. Se evaluó el factor de condición simple entre los organismos,

utilizando los resultados de las biometrías realizadas al principio del experimento (Tabla I), además se utilizó el factor de condición simple para comparar los organismos silvestres y los organismos criados en cautiverio. El factor de condición simple nos da una idea de la condición fisiológica de los organismos conocida frecuentemente como calidad (Emmerson 1980; Rodríguez-Gutiérrez 1992). El factor de condición simple se calculó mediante el uso de la siguiente fórmula:

$$K = (W/LP^b) * 100 \quad (1)$$

En donde: K = Factor de condición simple

W = Peso en gramos

LP = Longitud Patrón en centímetros

b = Pendiente de la correlación W contra LP.

Tabla I. Biometrías de peces del experimento I

# de Pez	Peso (Kg.)	Longitud Total	Longitud Patrón	Sexo	Tanque
1	1.45	420	340	M	1-A
2	1.125	380	315	M	1-A
3	1.4	410	340	M	1-A
4	1.25	390	320	H	1-A
5	1.45	420	340	H	1-A
6	1.25	420	350	H	1-A
7	1.225	415	340	H	1-B
8	1.125	390	330	H	1-B
9	1.25	400	340	H	1-B
10	1.55	450	365	M	1-B
11	1.55	440	365	M	1-B
12	1.8	460	390	M	1-B

Para el desarrollo del segundo experimento se seleccionaron 6 organismos con una proporción 1:1 entre sexos, utilizando los mismos organismos del primer

experimento colocados en el tanque 1-B. El segundo experimento dio inicio inmediatamente concluido el primero.

7.4 Mantenimiento y alimentación

Los organismos con los que se realizaron los experimentos primero y segundo fueron sometidos a un tratamiento preventivo, para eliminación de ectoparásitos y bacterias que pudieran generar problemas de salud en los organismos durante el experimento.

Para el tratamiento primero se aplicó un baño de agua dulce durante 5 minutos y posteriormente los organismos fueron colocados en un tanque de 7 m³ donde permanecieron por tres días en ayuno, con un recambio de agua del 80% diario, posteriormente se les aplicó un tratamiento de antibióticos, Furanace a 30 ppm por un día.

La limpieza del sistema se realizó diariamente, posterior a las actividades de alimentación; el alimento se proporcionó a saciedad aparente, con una dieta que se compone en 25% de peces pelágicos menores, 50% de calamar, y 25% de sardina. Se sabe que simular las condiciones ambientales no es suficiente para lograr una reproducción exitosa, ya que un factor muy importante a considerar es la alimentación (Rosales-Velásquez 1997). En algunos trabajos se menciona como alimento para reproductores de peces, trozos de pescado, con muy buenos resultados (Baynes *et al.*, 1993; Olivares *et al.*, 1993; Toledo *et al.*, 1993, Silva, 1994; Rosales-Velásquez, 1997). A cada uno de los ingredientes de la dieta proporcionada, se les realizó el análisis bromatológico, y bioquímicos para

confirmar si los ingredientes contaban con los nutrientes necesarios para la buena nutrición de los reproductores.

7.5 Recolección de huevos

Los huevos del Pargo amarillo son pelágicos lo que facilita su recolección cerca de la superficie del agua. El sistema de recirculación cuenta con colectores en la parte interior de cada tanque, consiste en un tubo de PVC de 3 pulgadas colocado de forma horizontal sumergido un 75% de su totalidad. El tubo cuenta con una ranura que se coloca en sentido contrario al del flujo de agua en el interior del tanque. De esta forma capta los huevos que pasan junto con el agua a la parte externa del colector donde son retenidos en una malla de 350 micras. Una vez colectados los huevos se trasladan al laboratorio donde se tamizan en una malla de 300 micras para eliminar pequeñas partículas y se enjuagan suavemente con agua marina. Se evaluó la viabilidad de los huevos y la abundancia de los mismos mediante técnicas volumétricas (Piper et al. 1982) en probetas de 25 ml. a 1000 ml, dependiendo del volumen del desove obtenido. De los huevos viables obtenidos se verificó la cantidad de huevos fecundados tomando 3 muestras de 1 ml haciendo los respectivos conteos en una cámara Sewig-Rafter, se estimaron 1000 huevos por ml en los conteos realizados.

Se verificó la eficiencia del sistema para coleccionar los huevos obtenidos mediante el sifoneo de cada sistema, el tanque de sedimentación, y colocando una malla de 350 micras en el paso de agua del tanque de sedimentación al filtro biológico; esta actividad se realiza cada vez que ocurren desoves.

En cada desove se tomaron los criterios de calidad de fecundación mediante la observación al microscopio marca Olympus modelo Bx-41, las imágenes se capturaron con una cámara digital CoolSNAP-Pro con el programa Image-Pro Plus versión 4.5 en una computadora Dell Pentium III. Se verificó eclosión colocando 3 muestras de 35 a 65 huevos en recipientes de 250 ml. a temperatura de 26 °C, que se observan en 24 horas.

7.6 Diseño experimental

Para el desarrollo de este trabajo se realizaron dos experimentos en el sistema de condiciones controladas utilizando organismos inmaduros; como criterio para el sexado y el estadio de maduración gonádica en los organismos se utilizó la apariencia del poro genital (Harvey y Hoar, 1980).

Primer experimento: se diseñó un ciclo de temperatura y fotoperíodo que se aplicó en el sistema de condiciones controladas en los dos tanques (sistema 1-A y 1-B) simulando las condiciones naturales de temperatura y fotoperíodo durante un año en la bahía de La Paz (Tabla II). Lo anterior con el propósito de obtener desoves espontáneos en el sistema de condiciones controladas; (anexo I) la duración de este ciclo fue de 12 semanas ó 84 días. Para poder realizar el análisis correspondiente a los resultados obtenidos en el sistema de condiciones controladas el ciclo de temperatura y fotoperíodo se dividió en 6 tratamientos con duración de una semana cada uno, los cuales se aplicaron en forma ascendente y descendente hasta completar el ciclo anual es importante mencionar que en el tratamiento 6 las dos semanas se aplican en forma continua. Estos tratamientos

se aplicaron de forma continua a los mismos organismos bajo las mismas condiciones experimentales.

Tabla II. Ciclo fototérmico aplicado en el sistema de recirculación en experimento I

Semana	Tratamiento	Horas de luz	Temperatura °C
1	1	8	20
2	2	10	22
3	3	12	24
4	4	14	26
5	5	16	28
6	6	16	29
7	6	16	29
8	5	16	28
9	4	14	26
10	3	12	24
11	2	10	22
12	1	8	20

Segundo experimento: se diseñó un ciclo de temperatura y fotoperíodo que se aplicó en el sistema de condiciones controladas en un tanque (sistema 1-B) simulando las condiciones naturales de temperatura durante medio año en la bahía de La Paz, el fotoperíodo empleado en este ciclo fue estático con el mínimo de horas luz empleado en el primer experimento, es decir 8 horas (Tabla III). En el segundo tanque (sistema 1-A) se aplicaron los 6 tratamientos de temperatura y fotoperíodo del primer experimento. Lo anterior con el propósito de confirmar la interrelación de los parámetros físicos de temperatura y fotoperíodo, en el desarrollo de los procesos reproductivos del pargo amarillo.

Tabla III. Ciclo fototérmico aplicado en el sistema de recirculación en el experimento II (sistema 1-B)

Semana	Tratamiento	Horas de luz	Temperatura °C
1	1	8	20
2	2	8	22
3	3	8	24
4	4	8	26
5	5	8	28
6	6	8	29

La duración total de los dos experimentos fue de 18 semanas o 126 días que es equivalente en las condiciones de temperatura y fotoperíodo a un año y medio en la naturaleza. El primer experimento se desarrolló a partir del mes de marzo hasta el mes de junio, con el propósito de adelantar el periodo de reproducción que se reporta en la naturaleza; el segundo experimento se desarrolló del mes de junio a el mes de julio. Se reporta en En B.C.S. el periodo de reproducción del pargo amarillo ocurre a finales de junio hasta los primeros días de noviembre (Aviles-Quevedo *et al.*, 1996).

7.7 Análisis histológicos y bioquímicos

Para la realización de los estudios histológicos, histoquímicos y bioquímicos se obtuvieron 19 muestras de gónadas de pargo amarillo del medio silvestre capturados entre los años 2002 y 2003. Además se procesaron 9 muestras de gónadas de organismos criados en cautiverio. Como criterio para seleccionar la muestra se tomó que el organismo fuera hembra y que presentara un estadio de maduración conocido.

Con el propósito de conocer las características distintivas en cada una de las fases de desarrollo de los ovocitos en el ovario de *Lutjanus argentiventris* e

identificar el tipo de desarrollo ovárico, se procedió al procesamiento de las muestras obtenidas; se fijaron e incluyeron muestras de la parte media de las gónadas para los análisis de histología e histoquímica (Tabla IV).

Tabla IV. Técnicas de deshidratación e inclusión en parafina

Reactivo	Tiempo
Deshidratación	
alcohol etílico 70° I y II	(mínimo una hora c/u)
alcohol etílico 80°	1 hora
alcohol etílico 90°	1 hora
alcohol etílico 96°	1 hora
alcohol etílico 100° I y II	1 hora en c/u
mezcla alcohol etílico 100°- xilol (1:1)	20 minutos
xilol absoluto 100°	5-10 minutos
Inclusión en parafina	
parafina-xilol (1:1)	25 minutos (tiempo crítico)
parafina I	1 hora
parafina II	1-2 horas
parafina III	1-2 horas
parafina IV	1-2 horas

Se aplicó las tinción de hematoxilina-eosina (Humason, 1997) con el propósito de obtener información general de los tejidos y sin variaciones importantes en los resultados con respecto a las muestra en fresco (Tabla V).

Tabla V. Técnica de hematoxilina- eosina (de Harris).

Reactivo	Tiempos
Xilol I,II y III	10 minutos en cada uno
Alcohol 96%	2 minutos
Alcohol 70% - I y alcohol 70% - II	2 minutos c/u
H ₂ O	5 minutos
Hematoxilina de Harris	1 minuto
H ₂ O -I y II	5 minutos
Alcohol Acido	10-15 segundos
H ₂ O	5 minutos
H ₂ O amoniacal	10-15 segundos
H ₂ O	5 minutos
Alcohol 50%	2 minutos
Alcohol 70%	2 minutos
Eosina azulosa alcohólica	3 minutos
Alcohol 96% I y II	1-2 minutos c/u
Alcohol 100 I y II	1 minuto c/u
XILOL I, II y III	5 minutos c/u
Montar en resina sintética o Entellan	

Además se aplicó la tinción de Azul alciano PAS para muco polisacáridos neutros y ácidos (Sheehan y Hrapchak, 1980). Esta técnica se utilizó para la detección de los alvéolos corticales (Tabla VI).

Tabla VI. Técnica de tinción azul alciano-Schiff

Reactivo	Tiempos
Xilol I,II y III	10 minutos en cada uno
Alcohol 96%	2 minutos
Alcohol 70% - I y alcohol 70% - II	2 minutos c/u
H ₂ O	5 minutos
Azul alciano	3 minutos
H ₂ O	2 minutos
Acido peryódico 0.5%	10 minutos.
H ₂ O	5 minutos
reactivo de Schiff	10 minutos en el refrigerador
solución sulfurosa I, II y III	2 minutos c/u
H ₂ O	5 minutos
hematoxilina férrica de Weigert	5 minutos
H ₂ O	2 minutos
Acido pícrico	1 minuto
Alcohol 96%	5 minutos
Alcohol 100%	5 minutos
Xilol	5 minutos
Montar en resina sintética o Entellan	

La técnica de tinción sudan negro se utilizó para la detección de lípidos (Spicer y Schulte , 1992); en este caso la detección de triglicéridos en los ovocitos de peces se logró fijando las gónadas con Davidson y tiñendo con negro sudan, que tiñe triglicéridos de color azul a negro y fosfolípidos en colores grises. La fijación en Davidson resultó ser adecuada para la estabilización de lipoproteínas y la tinción fue positiva (modificado por Rodríguez-Jaramillo, 2003). En el procesamiento histológico se realizaron cortes a 3 µm de grosor, en el Laboratorio de Histología e Histoquímica del CIBNOR. Para el análisis de las muestras procesadas en el laboratorio de histología e histoquímica, se utilizó un microscopio marca Olympus modelo Bx-41, las imágenes se capturaron con una

cámara digital CoolSNAP-Pro con el programa Image-Pro Plus versión 4.5 de Media Cybernetics (USA), en una computadora Dell Pentium III. Se tomaron muestras de las gónadas en viales criogénicos y guardadas en nitrógeno líquido, para la realización de los análisis de cromatografía de gases, aplicando la técnica de extracción de lípidos totales (Bligh y Dyer, 1959) para posteriormente realizar la extracción de ácidos grasos libres por medio de la técnica de derivación (Sato y Murata, 1988) el procedimiento y desarrollo de las técnica se detalla en el anexo II. Para la detección y cuantificación de los de ácidos grasos se utilizó un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard-GCD sistem, Modelo G1800B.

El cálculo de la concentración ($\mu\text{g}/\text{mg}$) de los distintos ácidos grasos en el peso seco de la muestra se determinó mediante la siguiente formula:

$$\mathbf{CPS = [A/(FC*PM)]*V} \quad \mathbf{(2)}$$

En donde :

CPS = Concentración de ácidos grasos ($\mu\text{g}/\text{mg}$) en el peso seco de la muestra.

A = Área de la curva en el cromatograma

FC = Factor de corrección del ácido graso específico.

PM = Peso de la muestra

V = Volumen utilizado en vial de inyección

En el laboratorio de Bioquímica Fisiológica del CIBNOR se realizó la cuantificación de lípidos totales por el método sulphosphovanillin (Barnes y

Blastokstock, 1973). Colesterol utilizando el análisis colorimétrico (CHOD-PAP, Lakeside), y triglicéridos el análisis colorimétrico (GPO-PAP, Lakeside). Los resultados de todas las técnicas se leen mediante el sistema de micro placa Bio-Rad 550. El cálculo de la concentración (mg/g) en las técnicas colorimétricas se determinó por la siguiente fórmula:

$$C = (MB*V)/(P*PM) \quad (3)$$

En donde:

C = Concentración

MB = Lectura de la muestra menos la lectura del blanco

V = Volumen de diluyente

P = Pendiente calculada

PM = Peso seco de la muestra

El desarrollo de cada una de las técnicas se detalla en el anexo II.

7.8 Análisis estadístico y manejo de datos

En los dos experimentos de maduración y desove se desarrolló una matriz de correlación (Daniel, 1994) en las principales variables de respuesta (número de desoves, huevos totales) y los parámetros de temperatura y fotoperíodo; para cada uno de los sistemas con el propósito de conocer la intensidad de la relación entre los parámetros ambientales y las variables de respuesta.

Dado que en el modelo del experimento no se cumple el supuesto de independencia entre los tratamientos, para el análisis de los tratamientos se

realizaron pruebas no paramétricas, el análisis de varianza, con un solo criterio de clasificación por rangos, de Kruskal-Wallis al 95% ($\alpha=0.05$) (Daniel, 1994) para las variables de interés, entre tratamientos.

Se realizaron análisis de varianza de una sola vía (ANDEVA) se consideró un intervalo de confianza del 95% ($\alpha=0.05$), para los datos obtenidos de lípidos totales, previa la transformación de datos utilizando Logaritmo base 10 para la normalización de los datos (Zar,1999). En los datos obtenidos de triglicéridos y colesterol se utilizó la transformación de raíz cuadrada para la normalización de los datos (Zar,1999), para determinar si existían diferencias significativas entre gónadas de organismos silvestres y organismos criados en cautiverio; los huevos viables y huevos no viables.

Con los datos obtenidos en la identificación y cuantificación de ácidos grasos y utilizando los mismos grupos de muestras se realizaron análisis de varianza (ANDEVA) de una sola vía; se consideró un intervalo confianza del 95% ($\alpha=0.05$). En el análisis porcentual de los ácidos grasos se utilizó la transformación arcoseno para la normalización de los datos (Zar,1999). Para el análisis de los datos de concentración se realizó la transformación a logaritmo base 10 para la normalización de los datos, todas las tablas e histogramas se presentan con los datos retransformados.

En el análisis estadístico del factor de condición simple en los organismos del experimento se utilizó un análisis de varianza (ANDEVA) de una sola vía, se consideró un intervalo confianza del 95% ($\alpha=0.05$).

8. Resultados

8.1 Maduración gonádica y desove del pargo amarillo en condiciones controladas de temperatura y fotoperíodo.

8.1.1 Primer experimento

En la evaluación del ciclo anual de los 6 tratamientos de temperatura y fotoperíodo previamente establecidos no se obtuvieron desoves en los tratamientos 1, 2 y 3, por tanto, el análisis estadístico se realizó para los resultados obtenidos con los tratamientos 4, 5 y 6 en los dos sistemas (Tablas VII, VIII, IX y X).

Tabla VII. Evaluación porcentual de los desoves obtenidos en el primer experimento

Evaluación de los desoves	Sistema 1-A		Sistema 1-B	
	# De huevos	%	# De huevos	%
Huevos totales	1,359,500	100	3,257,600	100
Huevos fertilizados	86,850	6.39	759,931	23.33
Huevos eclosionados	77,214	5.68	669,795	20.56

Tabla VIII. Coeficiente de correlación entre los parámetros ambientales y las principales variables de respuesta en el primer experimento

Variables	Sistema 1-A		Sistema 1-B	
	Desoves	# De huevos	Desoves	# De huevos
Temperatura	0.7*	0.6*	0.76*	0.53
Fotoperíodo	0.64*	0.52	0.71*	0.55

*Coeficiente de correlación significativo

Tabla IX. Resultados obtenidos en los sistemas de recirculación mediante la manipulación de la temperatura y el fotoperíodo en el primer experimento

N.D.	T.	Sistema 1-A				T.	Sistema 1-B			
		H.T.	H.V.	H.F.	H.E.		H.T.	H.V.	H.F.	H.E.
1	5	7,000	1,000	0	0	4	75,000	0	0	0
2	5	18,000	5,000	0	0	4	35,500	500	0	0
3	5	22,000	5,000	0	0	4	100,000	60,000	59,400	53,460
4	5	16,500	0	0	0	4	35,000	15,000	15,000	15,000
5	6	21,000	1,000	950	903	4	122,000	90,000	90,000	85,500
6	6	200,000	20,000	20,000	19,000	4	40,000	10,000	10,000	9,700
7	6	155,000	5,000	5,000	3,000	5	15,000	5,000	4,950	4,703
8	6	100,000	20,000	20,000	19,000	5	10,000	3,000	2,850	419
9	6	60,000	10,000	10,000	9,500	5	20,000	4,000	0	0
10	6	70,000	0	0	0	5	7,100	100	1	1
11	6	150,000	10,000	2,000	100	5	330,000	190,000	188,100	169,290
12	6	85,000	9,000	9,000	8,910	5	155,000	50,000	49,500	42,075
13	6	260,000	10,000	9,900	9,801	5	95,000	40,000	39,600	35,640
14	6	195,000	10,000	10,000	7,000	5	85,000	20,000	20,000	18,000
15						5	60,000	40,000	40,000	39,600
16						5	140,000	50,000	49,500	47,025
17						6	42,000	0	0	0
18						6	85,000	10,000	10,000	10,000
19						6	100,000	20,000	20,000	19,000
20						6	225,000	15,000	15,000	12,000
21						6	121,000	16,000	15,680	12,544
22						6	235,000	20,000	20,000	19,000
23						6	250,000	10,000	10,000	9,700
24						6	50,000	15,000	14,250	1,425
25						6	180,000	10,000	10,000	0
26						6	130,000	20,000	19,800	17,028
27						6	150,000	30,000	30,000	29,400
28						6	43,000	10,000	10,000	10,000
29						6	235,000	10,000	10,000	3,300
30						6	87,000	7,000	6,300	5,985

*Eficiencia de los sistemas en la colecta de huevos 86.87 % .

*El número de huevos por ml se calculó en 1000 ± 52.3

*H.T. = huevos totales

*H.V. = huevos viables

*H.F. = huevos fecundados

*H.E. = huevos eclosionados

*T = Tratamiento

*N.D. = Número de desove

Tabla X. Ocurrencia de los desoves en el primer experimento

Semana	Tratamientos	Horas de luz	Temperatura °C	Desoves sistema 1-A	Desoves sistema 1-B
1	1	8	20	0	0
2	2	10	22	0	0
3	3	12	24	0	0
4	4	14	26	0	2
5	5	16	28	4	4
6	6	16	29	5	7
7	6	16	29	5	7
8	5	16	28	0	6
9	4	14	26	0	4
10	3	12	24	0	0
11	2	10	22	0	0
12	1	8	20	0	0

8.1.2 Evaluación de los resultados obtenidos del sistema 1-A en el primer experimento

Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos 5 y 6 los mejores resultados se obtuvieron en el tratamiento 6 para las variables de huevos totales ($P = 0.0072$), huevos fertilizados ($P = 0.0091$) y huevos eclosionados ($P = 0.0091$) en el sistema 1-A del primer experimento. No se observaron diferencias significativas en la variable de huevos viables ($P = 0.0610$), Figura 4, Tabla XI.

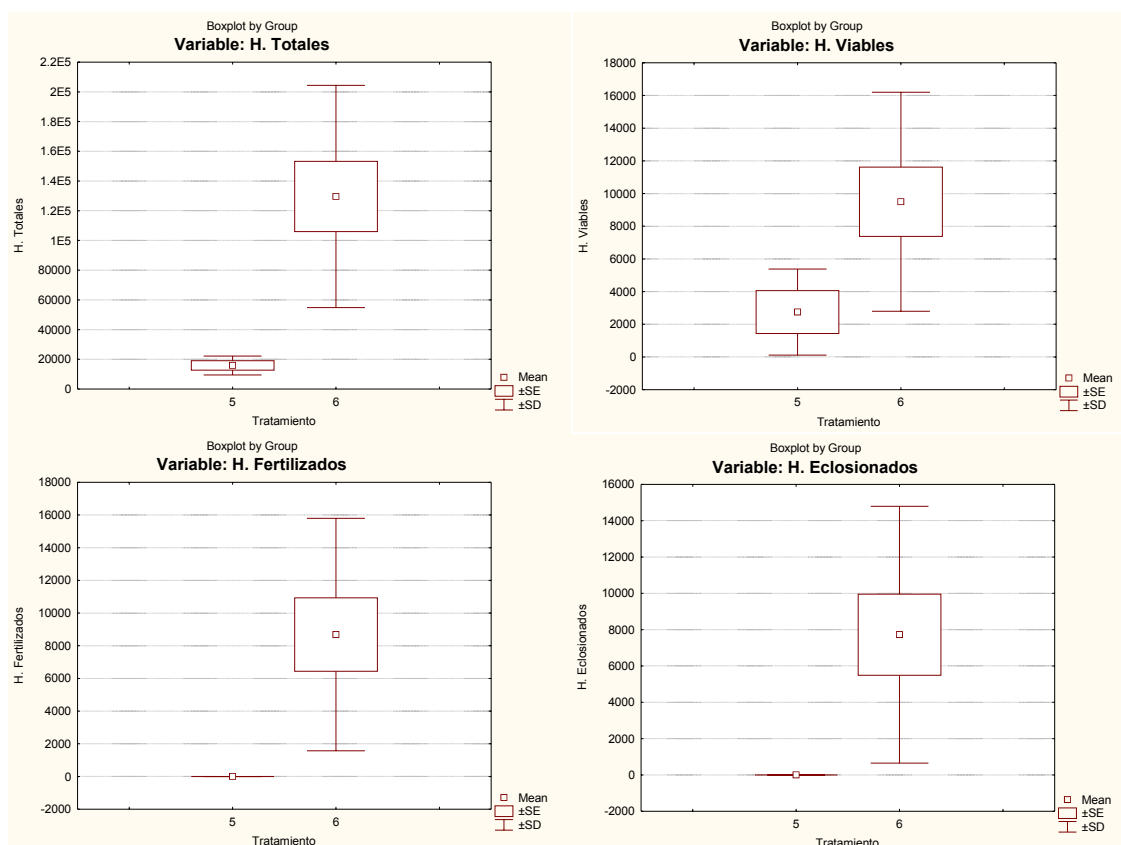


Figura 4. Evaluación de los desoves en el primer experimento sistema 1-A

Tabla XI. Evaluación porcentual de los resultados obtenidos del sistema 1-A en el primer experimento

Tratamiento	Sistema 1-A									
	# D.	%	*H.T.	%	H.V.	%	*H.F.	%	*H.E.	%
T-5 (± 0.41)	4	28.57	63,500	4.67	11,000	10.38	0	0	0	0
T-6 (± 0.53)	10	71.43	129,600	95.33	95,000	89.62	86,850	100	77,214	100
Total	14	100	1,359,500	100	106,000	100	86,850	100	77,214	100

(\pm) Desviación estándar de la temperatura

* Variables en las se observaron diferencias significativas

D. = número de desoves

H.T. = huevos totales

H.V. = huevos viables

H.F. = huevos fecundados

H.E. = huevos eclosionados

8.1.3 Evaluación de los resultados obtenidos del sistema 1-B en el primer experimento

No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos 4, 5 y 6 para las variables de huevos totales ($P = 0.0766$), huevos viables ($P = 0.7081$), huevos fertilizados ($P = 0.7081$), huevos eclosionados ($P = 0.5493$) en el sistema 1-B del primer experimento (Figura 5 y Tabla XII).

Tabla XII. Evaluación porcentual de los resultados obtenidos del sistema 1-B en el primer experimento

Tratamiento	Sistema 1-B									
	# D.	%	H.T.	%	H.V.	%	H.F.	%	H.E.	%
T-4 (± 0.36)	6	20	407,500	12.51	175,500	22.77	174,400	22.95	163,660	24.43
T-5 (± 0.41)	10	33.33	917,100	28.15	402,100	52.18	394,501	51.91	356,753	53.26
T-6 (± 0.53)	14	46.67	1,933,000	59.34	193,000	25.05	191,030	25.14	149,382	22.31
Total	30	100	3,257,600	100	770,600	100	759,931	100	669,795	100

(\pm) Desviación estándar de la temperatura

D. = número de desoves

H.T. = huevos totales

H.V. = huevos viables

H.F. = huevos fecundados

H.E. = huevos eclosionados

Se observaron diferencias significativas entre sistemas en el primer experimento para las variables, huevos viables ($P = 0.0246$), huevos fecundados ($P = 0.0083$) y huevos eclosionados ($P = 0.0248$), el sistema 1-B muestra mejores

resultados en todos los casos. No se observaron diferencias en la variable huevos totales ($P = 0.6675$).

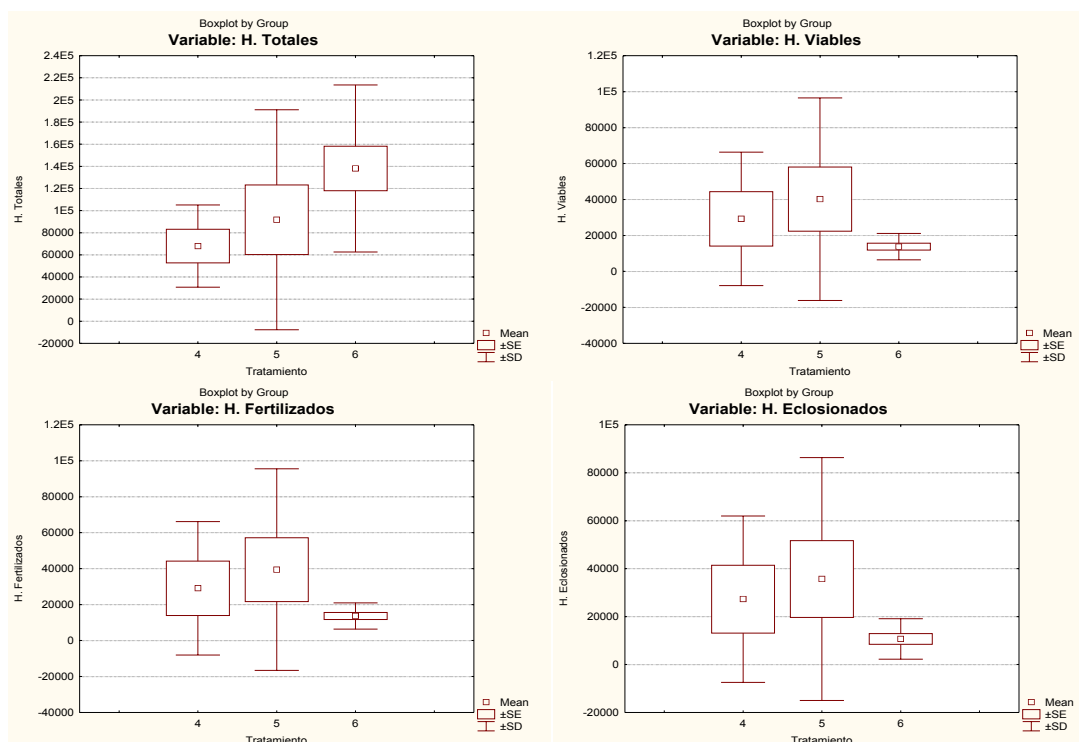


Figura 5. Evaluación de los desoves en el primer experimento sistema 1-B

No se observaron diferencias significativas en la biomasa de los organismos utilizados e los sistemas 1-A y 1-B ($P = 0.4368$). La mortalidad al final del experimento fue de 25%.

8.2 Segundo experimento

En la evaluación del ciclo semestral de los 6 tratamientos de temperatura y fotoperíodo previamente establecidos no, se obtuvieron desoves en los tratamientos 1, 2 y 3, por tanto, el análisis estadístico se realizó para los

resultados obtenidos con los tratamientos 4, 5 y 6 en los dos sistemas (Tablas XIII, XIV, XV y XVI).

Tabla XIII. Evaluación porcentual de los desoves obtenidos en el segundo experimento

Evaluación de los desoves	Sistema 1-A		Sistema 1-B	
	# De huevos	%	# De huevos	%
Huevos totales	2,265,000	100	210,000	100
Huevos fertilizados	1,191,200	53	14,700	7
Huevos eclosionados	1,119,611	49	13,965	6.65

Tabla XIV. Coeficiente de correlación entre los parámetros ambientales y las principales variables de respuesta en el segundo experimento

Variables	Sistema 1-A		Sistema 1-B	
	Desoves	# De huevos	Desoves	# De huevos
Temperatura	0.85*	0.88*	0.59	0.59
Fotoperíodo	0.87*	0.88*	0.5	0.5

*Coeficiente de correlación significativo

Tabla XV. Resultados obtenidos en los sistemas de recirculación mediante la manipulación de la temperatura y el fotoperíodo en el segundo experimento

N.D.	T.	Sistema 1-A				T.	Sistema 1-B			
		H.T.	H.V.	H.F.	H.E.		H.T.	H.V.	H.F.	H.E.
1	4	60,000	5,000	4,950	4,703	6	80,000	5,000	5,000	4,750
2	4	80,000	40,000	38,000	35,340	6	130,000	10,000	9,700	9,215
3	4	60,000	50,000	50,000	49,000					
4	4	475,000	410,000	389,500	370,025					
5	4	115,000	30,000	29,700	28,215					
6	5	120,000	35,000	34,300	30,870					
7	5	170,000	140,000	133,000	119,700					
8	5	175,000	95,000	94,050	86,526					
9	5	195,000	95,000	94,050	89,348					
10	5	55,000	25,000	24,750	23,513					
11	6	300,000	190,000	190,000	180,500					
12	6	50,000	20,000	19,800	17,820					
13	6	210,000	30,000	29,700	27,621					
14	6	200,000	60,000	59,400	56,430					

*Eficiencia de los sistemas en la colecta de huevos 86.87 % .

*El número de huevos por ml se calculó en 1000 ± 52.3

*H.T. = huevos totales

*H.V. = huevos viables

*H.F. = huevos fecundados

*H.E. = huevos eclosionados

*T = Tratamiento

*N.D. = Número de desove

Tabla XVI. Ocurrencia de los desoves en el segundo experimento fotoperíodo estático y variable

Tratamientos	Temperatura °C	Horas de luz sistema 1-A	Desoves sistema 1-A	Horas de luz sistema 1-B	Desoves sistema 1-B
1	20	8	0	8	0
2	22	10	0	8	0
3	24	12	0	8	0
4	26	14	5	8	0
5	28	16	5	8	0
6	29	16	4	8	2

8.2.1 Evaluación de los resultados obtenidos del sistema 1-A en el segundo experimento con fotoperíodo variable.

No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos 4, 5 y 6 para las variables de huevos totales ($P = 0.5846$), huevos viables ($P = 0.8319$), huevos fertilizados ($P = 0.8319$), huevos eclosionados ($P = 0.8353$) en el sistema 1-A del segundo experimento (Figura 6, Tabla XVII).

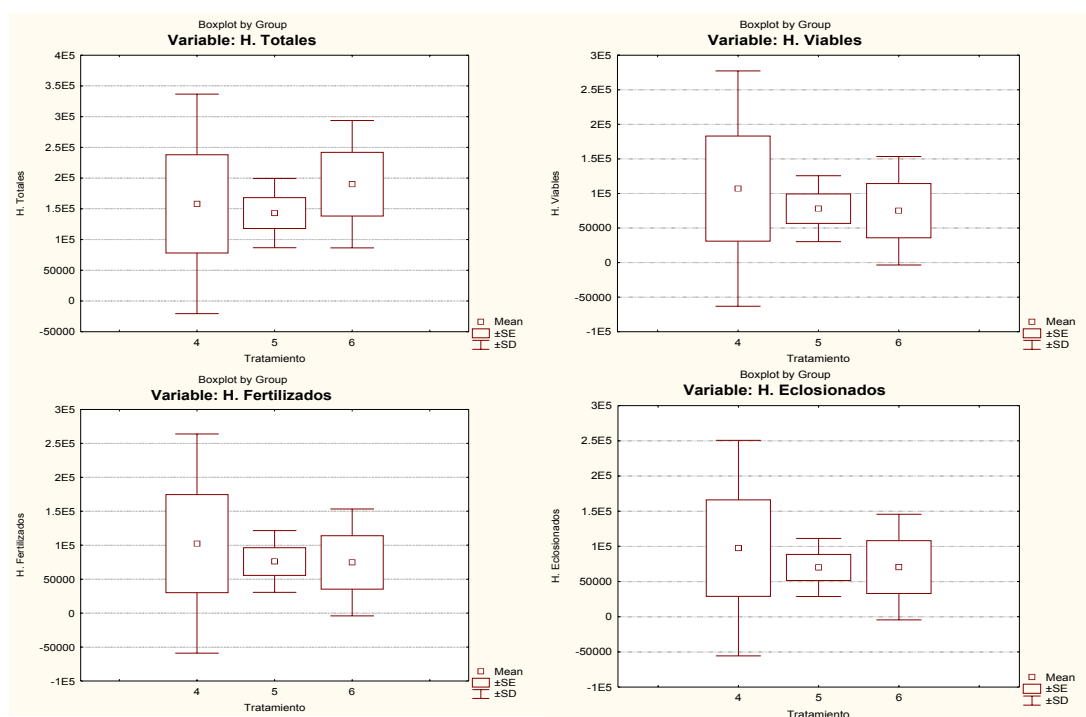


Figura 6. Evaluación de los desoves en el segundo experimento sistema 1-A

Tabla XVII. Evaluación porcentual de los resultados obtenidos del sistema 1-A en el segundo experimento.

Tratamiento	Sistema 1-A									
	# D.	%	H.T.	%	H.V.	%	H.F.	%	H.E.	%
T-4 (± 0.36)	5	35.72	790000	34.88	535000	43.67	512150	43	487283	43.52
T-5 (± 0.41)	5	35.72	715000	31.57	390000	31.84	380150	31.91	349957	31.26
T-6 (± 0.53)	4	28.56	760000	33.55	300000	24.49	298900	25.09	282371	25.22
Total	14	100	2265000	100	1225000	100	1191200	100	1119611	100

(±) Desviación estándar de la temperatura

D. = número de desoves

H.T. = huevos totales

H.V. = huevos viables

H.F. = huevos fecundados

H.E. = huevos eclosionados

8.2.3 Evaluación de los resultados obtenidos del sistema 1-B en el segundo experimento con fotoperíodo fijo

En el sistema 1-B solamente se obtuvieron dos desoves en el tratamiento 6; el coeficiente de correlación entre los parámetros ambientales y las principales variables no es significativo, por esta razón no se procedió con otro tipo de análisis.

Se observaron diferencias significativas entre sistemas en el segundo experimento para las variables de huevos viables ($P = 0.0467$), huevos fecundados ($P = 0.0564$) y huevos eclosionados ($P = 0.0567$); no se observaron diferencias significativas para la variable de huevos totales ($P = 0.6910$). Siendo el sistema 1-A con fotoperíodo variable el que mejores resultados presentó.

8.3 Descripción microscópica del ovario de *Lutjanus argentiventris*.

De las muestras de ovario procesadas histológicamente se observaron las siguientes estructuras: los ovarios están cubiertos por tejido muscular liso longitudinal (MLL) y tejido muscular liso circular (MLC), en conjunto estos dos tejidos forman la túnica albugínea (TA) la cual aumenta de grosor a medida que progresa la maduración (Fig. 8); parte de la túnica albugínea se profundiza y adelgaza para formar las lamelas (L). Las lamelas están formadas por tejido conjuntivo y escasas fibras musculares lisas, que se dirigen hacia la cavidad del ovario y dentro de ellas se distinguen los folículos ováricos. Entre los ovocitos se encuentra tejido conectivo (TC), vasos sanguíneos y epitelio germinal (Fig. 8).

Tomando como base las claves de desarrollo de los ovocitos de Wallace y Selman (1981) y Cerisola (1984) se observaron las siguientes características en cada uno de los estadios de maduración gonádica. Al analizar las muestras obtenidas de organismos silvestres como de organismos criados en cautiverio se observó el crecimiento ovocitario en pequeñas cohortes de ovocitos, pero de manera asincrónica durante la época de maduración gonadal, es decir, están presentes simultáneamente todos los estadios de desarrollo de los ovocitos en las gónadas, por lo que el patrón de desarrollo que siguen los ovocitos del pargo amarillo es asincrónico.

En el *Lutjanus argentiventris* los ovocitos incrementan en tamaño y maduran en dos fases distintas: hay un largo período de crecimiento lento (inmaduro),

posteriormente un período corto (maduro) en donde crecen y maduran rápidamente para posteriormente ser desovados (Tabla XVIII, Figura 7). En los teleósteos se consideran 7 los estadios de maduración folicular, y en forma separada las oogonias (Cerisola, 1984).

Primera fase:

Oogonias (Fig. 9): miden aproximadamente 8 a 12 μm ; se presentan agrupadas formando los nidos ovígeros (NO), su núcleo mide aproximadamente de 5 a 6 μm de diámetro es de forma esférica, con una tonalidad clara de tinción el citoplasma es escaso, basófilo y no se observa un límite celular claro. Las oogonias se observan rodeadas por epitelio germinativo ovárico (EG).

Estadio I. Ovocito peri-núcleo temprano (Fig. 9): miden aproximadamente 28 a 47 μm , son de apariencia irregular, contienen poco citoplasma fuertemente basófilo (E-I), el núcleo es esférico y grande, su diámetro de 16 a 20 μm , en él se observan bandas de cromatina y uno o varios nucleolos.

Estadio II. Ovocito peri-núcleo tardío (Fig. 8): miden aproximadamente 43 a 81 μm , citoplasma menos basófilo debido a la presencia de ribonucleoproteínas rodeadas por organelos citoplasmáticos (Wallace y Selman, 1981) se incrementa su volumen relativo. Al final de este estadio los ovocitos son más redondos y el citoplasma pierde gradualmente su naturaleza basófila. El núcleo mide aproximadamente 31 y 35 μm , incrementa su diámetro; sus nucleolos (NC) basófilos uno o varios de diferente tamaño se distribuyen hacia la periferia del núcleo.

Segunda fase:

Estadio III. Ovocito alvéolo cortical (Fig. 10): miden aproximadamente de 119 a 151 μm ; contiene material citoplasmático ligeramente basofílico, se observa la presencia de estructuras de mucopolisacáridos (alvéolos corticales, AA-positivo) los cuales presentan una coloración azul (AC). Estas estructuras se observan en el centro del citoplasma, pero en mayor número en la periferia del citoplasma posterior a la zona radiata (ZR), se observan además las células de la teca (T), la membrana basal (MB) y comienzan a surgir pequeños glóbulos de vitelo, dando inicio a la vitelogénesis.

Estadio IV. Ovocito en vitelogénesis temprana (Fig.10): miden aproximadamente 183 a 259 μm se forman las primeras vesículas de vitelo (VV) en forma centrípeta en el citoplasma, que es mayor que el núcleo. Este último mide aproximadamente 108 a 142 μm , es de forma esférica, pero de contornos irregulares, se observan nucleolos en la periferia presenta un material acidófilo que consiste en filamentos finos dispuestos irregularmente; la zona radiata ahora se define claramente posterior a la membrana basal.

Estadio V. Ovocito en vitelogénesis tardía (Fig. 10): miden aproximadamente 294 a 400 μm . El tamaño del ovocito ha incrementado, y de la misma forma los glóbulos de vitelo incrementan en tamaño debido a la fusión de los mismos. El núcleo es de contornos irregulares, mide aproximadamente 119 a 135 μm la glóbulos de vitelo presente en toda su extensión, pero en algunos puntos se presenta difusa, el material nuclear a manera de gránulos finos, está dispuesto de

forma homogénea, se observan nucleolos (NC) en la periferia del núcleo. El citoplasma es débilmente basófilo.

Estadio VI. Ovocito en migración de vesícula germinal (VG) (Fig. 11): miden aproximadamente 336 a 466 μm ; se caracteriza principalmente por el desplazamiento del núcleo hacia el polo animal. Ocurre un rápido engrosamiento de la zona radiata, los glóbulos de vitelo aumentan su tamaño, en el interior del núcleo hay pocos nucleolos, de forma esférica. Al final del estadio desaparece la membrana nuclear, el núcleo se encuentra en una posición excéntrica, al mismo tiempo los glóbulos de vitelo se fusionan (VF) formando varios cuerpos grandes o vacuolas citoplasmáticas. Se observa una masa hialoplasmática con elementos nucleares difusos (DN).

Estadio VII. Ovocito hidratado ó en maduración final (Fig. 11): miden aproximadamente 435 a 476 μm ; se observa una masa homogénea de vitelo, el alargamiento del ovocito con apariencia translúcida, no presenta núcleo, el material cromatínico no puede ser visualizado por los métodos empleados, el citoplasma es basófilo en él se pueden observar pequeñas vesículas claras descritas como vitelo primario (VP) (Cerisola, 1984), La vesícula germinal se rompe y se observa el lumen donde se formó la gota de aceite (GA) característica de los huevos de tipo pelágicos.

Folículo post-ovulatorio : se observó un lumen folicular de tamaño variable, mide aproximadamente entre 89 y 39 μm ; en las muestras donde se observaron también estaban presentes ovocitos en distintos estadios de maduración.

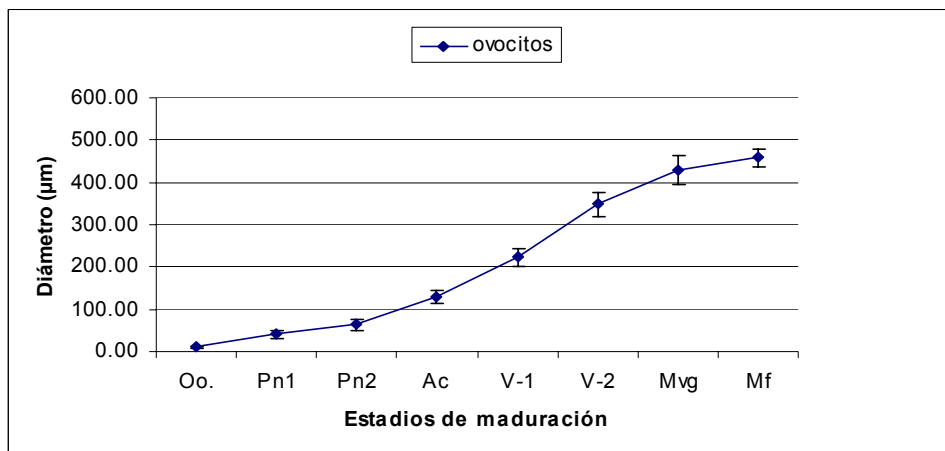


Figura 7. Diámetro de los ovocitos en los distintos estadios de madurez gonádica
Oo= oogonias, Pn1= peri-núcleo temprano, Pn2= peri-núcleo tardío, Ac= alvéolo cortical
V-1= vitelogénesis temprana, V2= vitelogénesis tardía, Mvg= migración de vesícula
germinal, Mf= maduración final.

Tabla XVIII. Principales características en cada uno de los estadios de maduración folicular en el pargo amarillo

Fase	Estadio	Descripción	Diámetro (µm)
	Oogonias	Se presentan en nidos ovígeros, el citoplasma es escaso.	9.93 (± 1.23)
Primera	I. Ovocito peri-núcleo temprano	Apariencia irregular, citoplasma fuertemente basófilo, núcleo esférico grande.	40.51 (± 8.75)
	II. Ovocito peri-núcleo tardío	Citoplasma menos basófilo, se observa zonación, nucleolos en la periferia del núcleo.	63.84 (± 12.84)
	III. Ovocito alvéolo cortical	Alvéolos corticales en la periferia del citoplasma posterior a la zona radiata.	128.95 (± 13.54)
	IV. Ovocito en vitelogénesis temprana	Se forman las primeras vesículas de vitelo, la zona radiata se define claramente.	222.69 (± 21.42)
Segunda	V. Ovocito en vitelogénesis tardía	El tamaño del ovocito a incrementado, fusión de los glóbulos de vitelo, membrana nuclear en algunos puntos difusa.	349.03 (± 28.60)
	VI. Ovocito en migración de vesícula germinal	Desplazamiento del núcleo hacia el polo animal, desaparece la membrana nuclear.	428.31 (± 33.50)
	VII. Ovocito en maduración final	La vesícula germinal se rompe, no observa núcleo celular, masa continua de vitelo, se forma gota de aceite.	458.51 (± 21.05)
	Folículo post-ovulatorio	Lumen folicular de tamaño variable.	69.4 (±13.6)

* (±) Desviación estándar

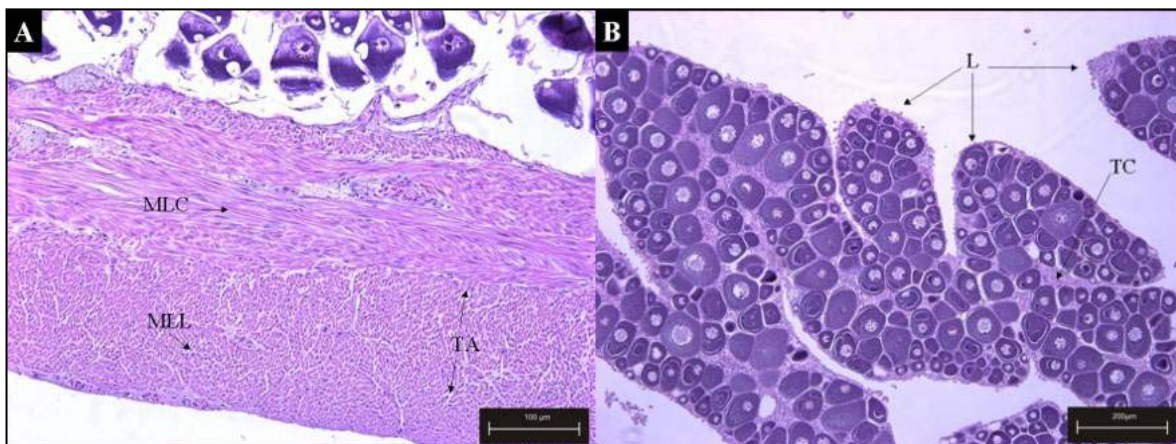


Figura 8. Fotografía microscópica de las características del ovario de pargo amarillo descritas en este estudio. A) túnica albugínea (TA), tejido muscular liso longitudinal (MLL), tejido muscular liso circular (MLC), en tinción de hematoxilina-eosina (20x). Barra escala 100 µm. B) lamelas (L), tejido conectivo (TC), en tinción de hematoxilina-eosina (10x). Barra escala 200 µm.

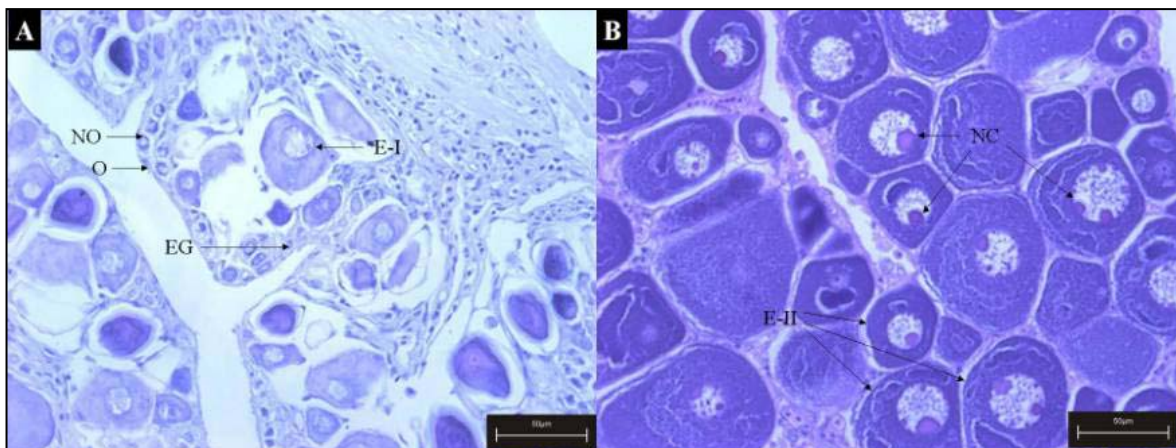


Figura 9. Fotografía microscópica de los estadios de desarrollo gonadal de las hembras del pargo amarillo descritas en este estudio. A) oogonias (O), nidos ovígeros (NO), epitelio germinativo ovárico (EGO), ovocito peri-núcleo temprano (E-I), en tinción de hematoxilina-eosina (40x). Barra escala 50 µm. B) ovocito peri-núcleo tardío (E-II), nucléolos (NC), en tinción de hematoxilina-eosina (40x). Barra escala 50 µm.

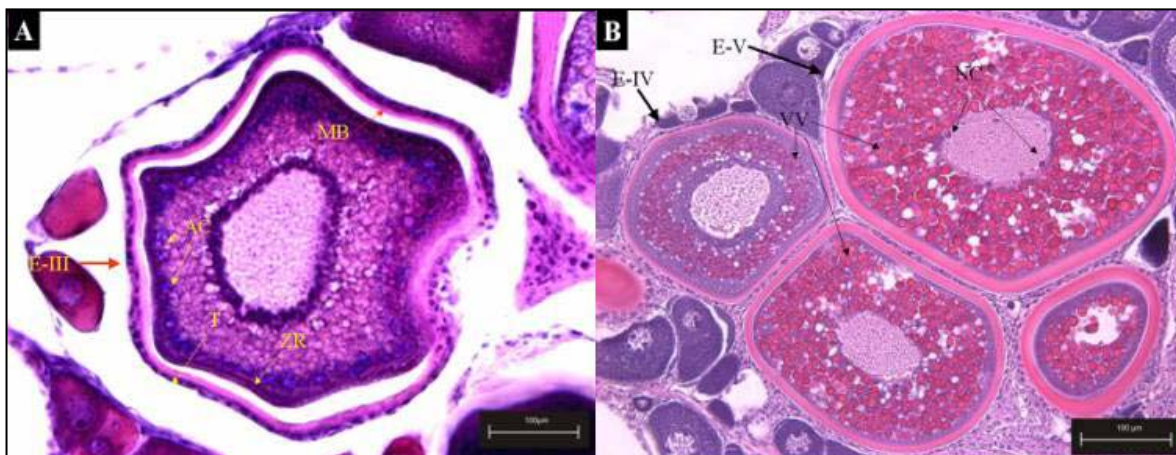


Figura 10. Fotografía microscópica de los estadios de desarrollo gonadal de las hembras del pargo amarillo descritos en este estudio. A) ovocito alvéolo cortical (E-III), alvéolo cortical (AC), zona radiata (ZR), teca (T), membrana basal (MB). En tinción de azul alciano (40x). Barra escala 100 μ m. B) ovocito en vitelo génesis temprana (E-IV), vesículas de vitelo (VV), ovocito en vitelogénesis tardía (E-V), nucleolos (NC), en tinción de hematoxilina-eosina (20x). Barra escala 100 μ m.

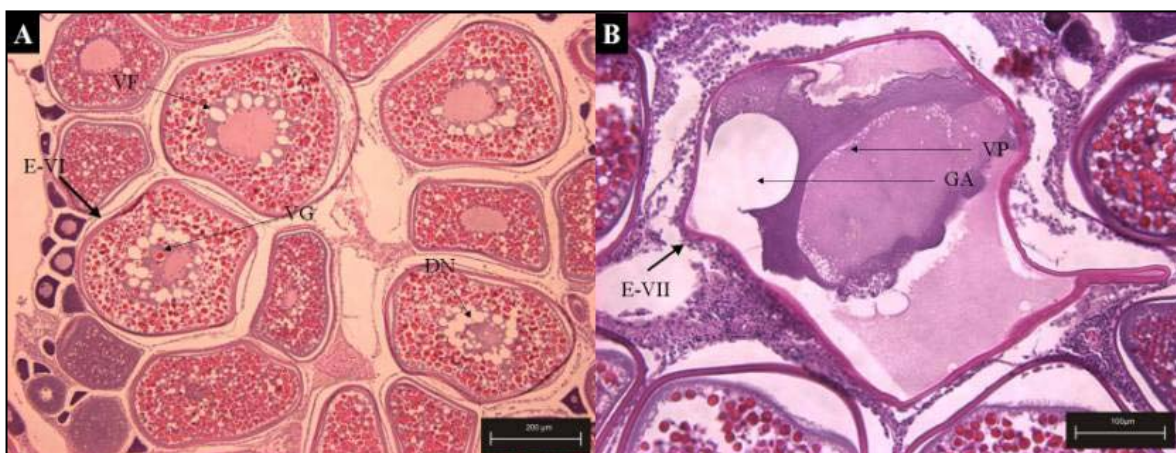


Figura 11. Fotografía microscópica de los estadios de desarrollo gonadal de las hembras del pargo amarillo descritos en este estudio. A) ovocito en migración de vesícula germinal (E-VI), vitelo fusionado (VF), vesícula germinal (VG), núcleo difuso (ND), en tinción de hematoxilina-eosina (10x). Barra escala 200 μ m. B) Ovocito en maduración final (E-VII), vitelo primario (VP), gota de aceite (GA), en tinción de hematoxilina-eosina (20x). Barra escala 100 μ m.

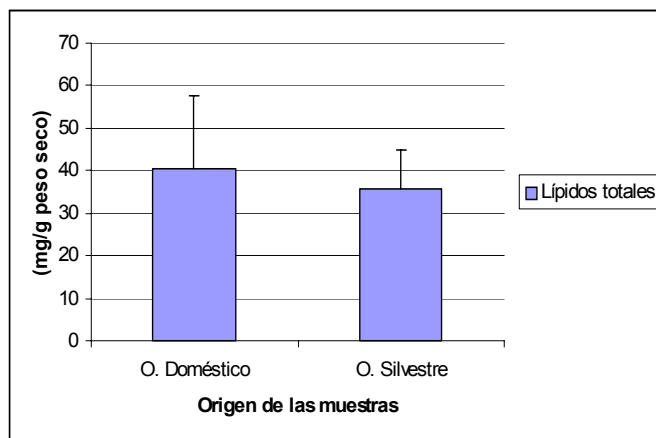
8.4 Análisis bioquímicos de ovarios y huevos producidos en cautiverio

Se analizaron 4 grupos de muestras según su origen :

- 1) Organismos maduros criados en cautiverio, estadio vitelogénesis tardía (n = 7)
- 2) Organismos silvestres maduros, estadio vitelogénesis tardía (n = 4)
- 3) Huevos viables (n = 6)
- 4) Huevos no viables (n = 6)

8.4.1 Evaluación del contenido de lípidos totales

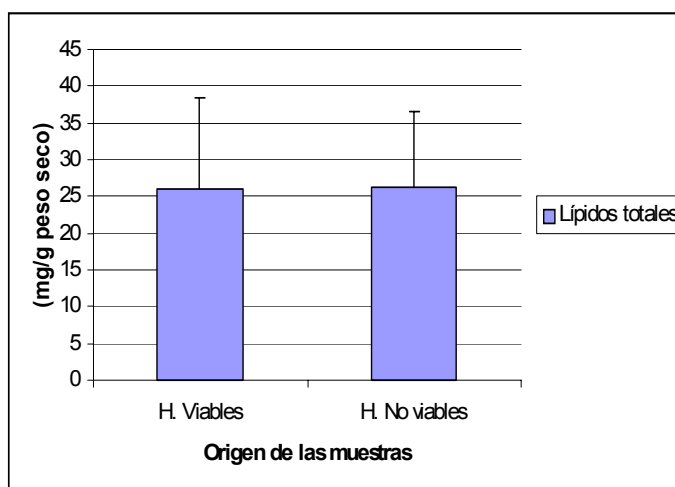
No se observaron diferencias significativas en el contenido de lípidos totales (P = 0.6630) entre los ovarios de organismos silvestres maduros y organismos domésticos maduros (Figura 12, Tabla XIX).



*T = (+) Desviación estándar

Figura 12. Contenido de lípidos totales en ovarios

No se observaron diferencias significativas en el contenido de lípidos totales ($P = 0.88403$) entre los huevos viables y no viables producidos en cautiverio (Figura 13, Tabla XIX)



*T = (+) Desviación estándar

Figura 13. Contenido de lípidos totales en huevos viables y no viables

Tabla XIX. Concentración (mg/g peso seco) de lípidos totales en las muestras procesadas

Origen de las muestras	n	media	$\pm S^*$
Organismos domésticos	5	40.50	16.97
Organismos silvestres	4	35.60	9.3
Huevos viables	6	26.10	12.32
Huevos no viables	6	26.33	10.32

* ($\pm S$) Desviación estándar

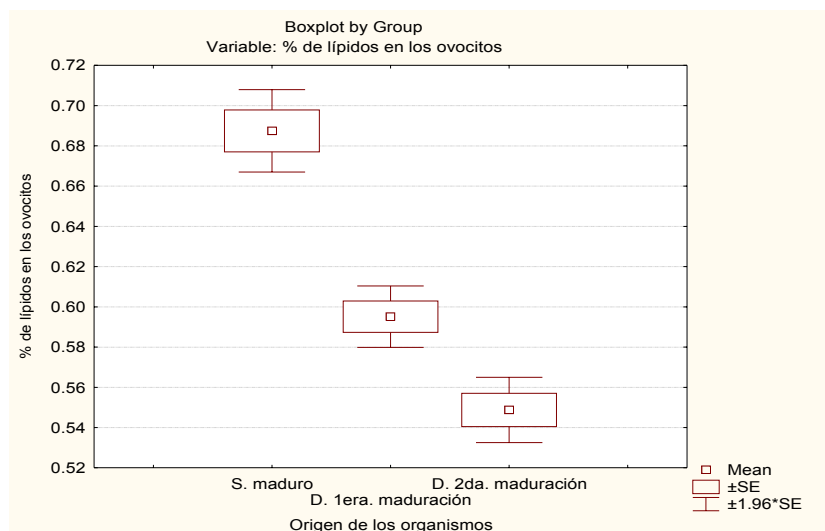
En el análisis porcentual para la cobertura de lípidos en los ovocitos (vitelogénesis tardía), utilizando la técnica histoquímica de sudan negro y el análisis de imágenes por densidad óptica, entre los organismos silvestres maduros y los organismos domésticos madurados en el experimento, se

observaron diferencias significativas entre los tres grupos de organismos analizados ($P = 0.000$); siendo los organismos silvestres los que mayor contenido de lípidos presentaron en los ovocitos, seguidos por los organismos domésticos en la primera maduración y finalmente los organismos domésticos en la segunda maduración (Figura 14, Tabla XX).

Tabla XX. porcentaje de lípidos en los ovocitos de organismos silvestres y domésticos maduros.

Origen de las muestras	n	media	$\pm S^*$
Organismos silvestre maduro	30	63.35	4.26
Organismos doméstico 1era.maduración	30	56.01	3.44
Organismos doméstico 2da. Maduración.	30	52.11	3.78

* ($\pm S$) Desviación estándar

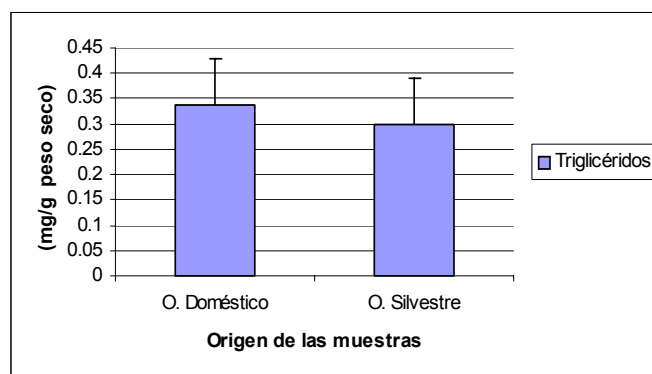


S = silvestre
D = doméstico

Figura 14. Porcentaje de lípidos en los ovocitos (vitelogénesis tardía) de los organismos silvestres y los organismos domésticos maduros

8.4.2 Evaluación del contenido de triglicéridos

No se observaron diferencias significativas en el contenido de triglicéridos ($P = 0.53231$) entre los ovarios de organismos silvestres maduros y organismos domésticos maduros (Figura 15, Tabla XXI).



*T = (+) Desviación estándar

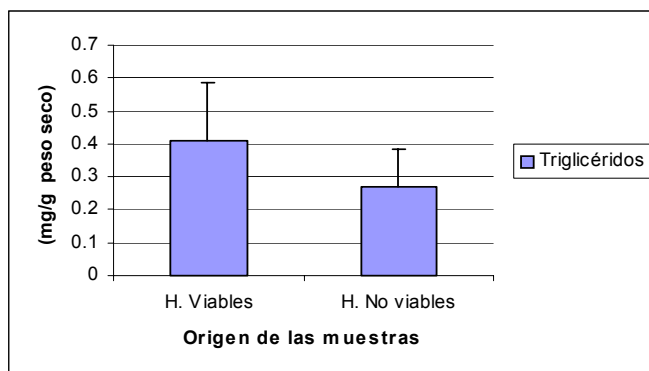
Figura 15. Contenido de triglicéridos en ovarios

No se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en el contenido de triglicéridos ($P = 0.19257$) entre los huevos viables y no viables producidos en cautiverio (Tabla XXI, Figura 16).

Tabla XXI. Concentración (mg/g peso seco) de triglicéridos en las muestras procesadas

Origen de las muestras	n	media	$\pm S^*$
Organismos domésticos	7	0.34	0.09
Organismos silvestres	4	0.30	0.09
Huevos viables	6	0.41	0.18
Huevos no viables	6	0.27	0.12

* ($\pm S$) Desviación estándar

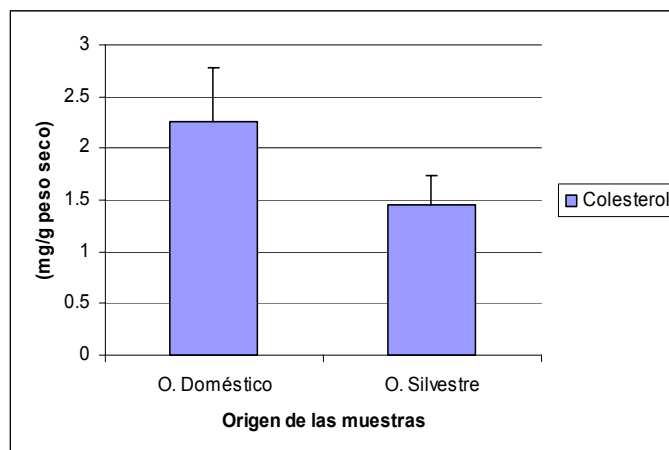


*T = (+) Desviación estándar

Figura 16. Contenido de triglicéridos en huevos viables y no viables

8.4.3 Evaluación del contenido de colesterol

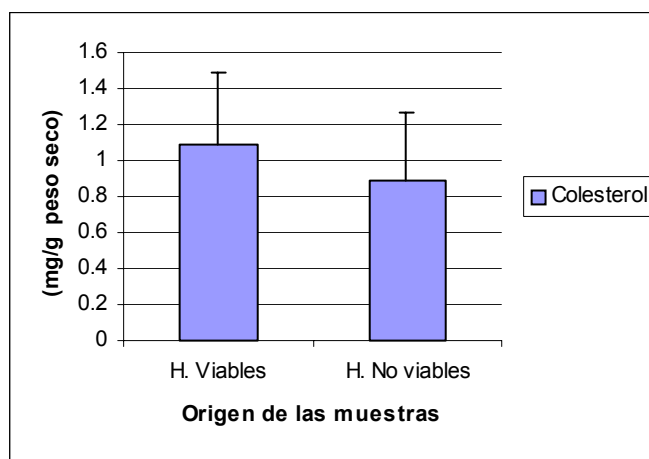
Se observaron diferencias significativas en el contenido de colesterol ($P = 0.0398$) entre los ovarios de organismos silvestres maduros y organismos domésticos maduros, observándose una mayor concentración en los ovarios de organismos domésticos maduros (Figura 17, Tabla XXII).



*T = (+) Desviación estándar

Figura 17. Contenido de colesterol en ovarios

No se observaron diferencias significativas en el contenido de colesterol ($P = 0.47192$) entre los huevos viables y no viables producidos en cautiverio (Figura 18, Tabla XXII).



*T = (+) Desviación estándar

Figura 18. Contenido de colesterol en huevos viables y no viables

Tabla XXII. Concentración (mg/g peso seco) de colesterol en las muestras procesadas

Origen de las muestras	n	media	$\pm S^*$
Organismos domésticos	6	2.25	0.53
Organismos silvestres	4	1.46	0.28
Huevos viables	6	1.08	0.41
Huevos no viables	6	0.88	0.38

* ($\pm S$) Desviación estándar

8.4.4 Evaluación del contenido de ácidos grasos

Se realizó una evaluación cuantitativa ($\mu\text{g}/\text{mg}$) y una evaluación porcentual de los ácidos grasos encontrados en las muestras (Tabla XXIII y XXIV).

- 1) organismos madurados en cautiverio, estadio vitelogénesis tardía (n=5)
- 2) organismos silvestres maduros, estadio vitelogénesis tardía (n=5)
- 3) huevos no viables (n=5)
- 4) huevos viables (n=5).

Los resultados se clasificaron en 3 categorías principales de ácidos grasos. Saturados: Tetradecanoico (14:0), Pentadecanoico (15:0), Hexadecanoico (16:0), Heptadecanoico (17:0), Octadecanoico (18:0).

Ácidos grasos monoinsaturados: Hexadecenoico (16:1), Octadecenoico (18:1 cis-6, 18:1 cis-9), Eicosenoico (20:1 cis-11). Y ácidos grasos poliinsaturados: Octadecadienoico (18:2), Eicosatetraenoico (20:4), Eicosapentaenoico (20:5), Docosaheptaenoico (22:6).

Tabla XXIII. Evaluación del contenido de ácidos grasos presentes en ovarios de organismos maduros

Organismos n	Domésticos				Silvestres			
	4				4			
Ácido graso	(µg/mg)	(± S)	%	(± S)	(µg/mg)	(± S)	%	(± S)
Saturados								
14:0	0.85	0.58	3.84	0.56	0.46	0.19	1.82	0.16
16:0	7.66	4.90	34.51	4.78	7.07	2.17	28.06	1.86
17:0	0.28	0.24	1.26	0.23	0.2	0.16	0.78	0.14
18:0	2.30	1.42	10.36	1.38	2.44	0.66	9.69	0.57
Total	11.09		49.98		10.17		40.37	
Monoinsaturados								
16:1	2.37	1.39	10.67	1.35	1.61	0.67	6.40	0.58
18:1 cis-6 *	1.17*	0.90	5.27	0.87	3.76*	1.88	14.93	1.61
18:1 cis-9	0.47	0.30	2.10	0.29	0.84	0.35	3.33	0.30
Total	4.01		18.06		6.21		24.68	
Poliinsaturados								
18:2	0.47	0.3	2.10	0.29	0.15	0.11	0.61	0.10
20:4	0.81	0.51	3.66	0.50	0.93	0.39	3.70	0.33
20:5	1.76	1.17	7.96	1.14	1.60	0.56	6.34	0.48
22:6	4.03	1.82	18.22	1.77	6.12	2.46	24.28	2.12
Total	7.07		31.96		8.08		34.95	

*Se encontraron diferencias significativas.

*Para realizar los calculos en % se transformaron los datos en Arcoseno (Zar, 1999).

*(± S) Desviación estándar

*Para realizar los calculos de concentración se transformaron los datos a Logaritmo base 10 (Zar, 1999)

Tabla XXIV. Evaluación del contenido de ácidos grasos presentes en huevos

Huevos n	No viables				Viables			
	5				5			
Ácido graso	(µg/mg)	(± S)	%	(± S)	(µg/mg)	(± S)	%	(± S)
Saturados								
14:0	1.08	0.62	1.86	0.21	0.55	0.42	2.15	0.33
15:0	0.77	0.46	1.32	0.14	0.54	0.67	2.08	0.47
16:0	15.81	11.14	27.43	3.45	7.13	5.90	27.67	4.09
17:0	0.63	0.55	1.09	0.17	0.27	0.25	1.05	0.17
18:0	4.82	3.93	8.35	1.22	1.92	1.52	7.45	1.05
Total*	23.11*		40.08		10.41*		40.41	
Monoinsaturados								
16:1	3.34	3.0	5.80	1.03	1.31	1.07	5.07	0.83
18:1 cis-6	8.70	7.84	15.09	2.72	3.0	2.43	11.64	1.89
18:1 cis-9	1.97	1.55	3.41	0.53	0.75	0.62	2.92	0.48
20:1 cis-11	0.27	0.23	0.47	0.08	0.18	0.15	0.71	0.12
Total*	14.28*		24.78		5.24*		20.34	
Poliinsaturados								
18:2	0.43	0.38	0.74	0.12	0.19	0.19	0.73	0.13
20:4	1.69	1.29	2.92	0.40	0.68	0.59	2.63	0.41
20:5	4.50	2.53	7.81	0.78	2.18	1.94	8.47	1.35
22:6	13.63	7.15	23.65	2.21	7.07	6.14	27.42	4.26
Total	20.25		35.14		10.12		39.25	

*Se encontraron diferencias significativas.

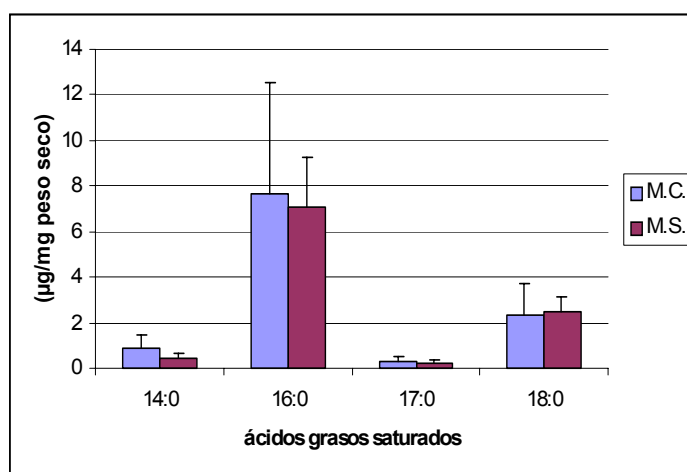
*Para realizar los calculos en % se transformaron los datos en Arcoseno (Zar, 1999).

*(± S) Desviación estándar

*Para realizar los calculos de concentración se transformaron los datos a Logaritmo base 10 (Zar, 1999)

8.4.5 Evaluación del contenido de ácidos grasos saturados en ovarios

No se observaron diferencias significativas en el contenido total de ácidos grasos saturados ($P = 0.8355$). En el análisis de los principales ácidos grasos saturados no se observaron diferencias en el contenido de 14:0 ($P = 0.4590$), 16:0 ($P = 0.9225$), 17:0 ($P = 0.7202$) y 18:0 ($P = 0.6280$), entre los ovarios de organismos silvestres y domésticos (Figura 19).



*M.C. = organismos madurados en cautiverio

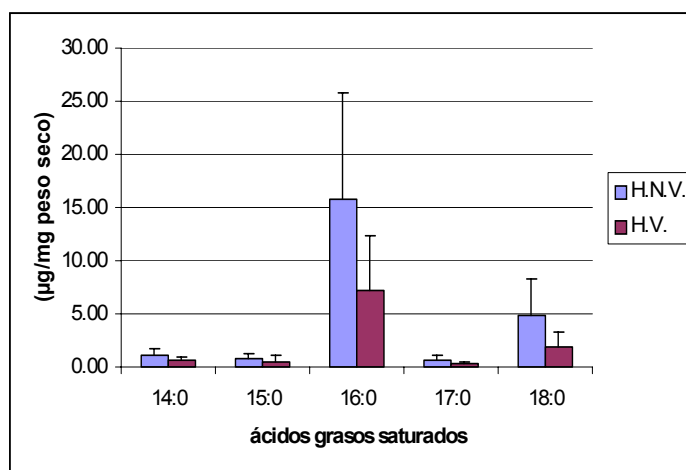
*M.S. = organismos maduros silvestres

Figura 19. Contenido de ácidos grasos saturados en ovarios

En el análisis de variación porcentual no se observaron diferencias significativas en el porcentaje total ($P = 0.6474$) de ácidos grasos saturados. No se observaron diferencias significativas en el porcentaje de los principales ácidos grasos saturados, 14:0 ($P = 0.1892$), 16:0 ($P = 0.6047$), 17:0 ($P = 0.4778$) y 18:0 ($P = 0.8540$), entre los ovarios de organismos silvestres y domésticos.

8.4.6 Evaluación del contenido de ácidos grasos saturados en huevos

Se observaron diferencias significativas en el contenido total de ácidos grasos saturados ($P = 0.0430$) entre los huevos viables y no viables. En cambio no se observaron diferencias en el contenido de 14:0 ($P = 0.1666$), 15:0 ($P = 0.3002$), 16:0 ($P = 0.1315$), 17:0 ($P = 0.1579$) y 18:0 ($P = 0.1188$) (Figura 20).



*H.N.V. = Huevos no viables

*H.V. = Huevos viables

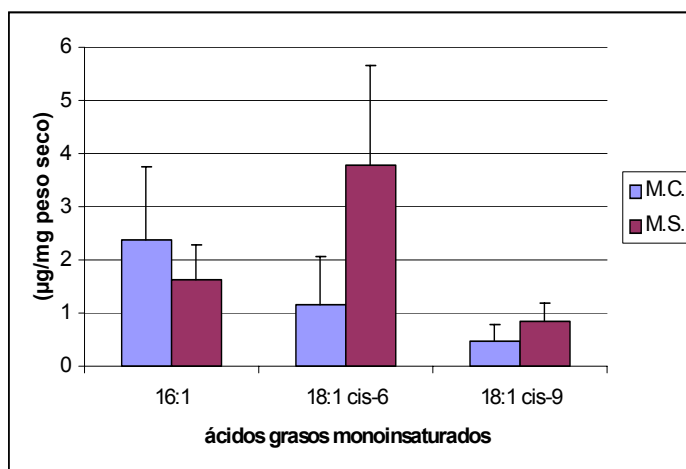
Figura 20. Contenido de ácidos grasos saturados huevos

En el análisis de variación porcentual no se observaron diferencias significativas en el porcentaje total ($P = 0.9862$) de ácidos grasos saturados entre los huevos viables y no viables. Tampoco en el porcentaje de los principales ácidos grasos saturados, 14:0 ($P = 0.7804$), 15:0 ($P = 0.5543$), 16:0 ($P = 0.9857$), 17:0 ($P = 0.9441$) y 18:0 ($P = 0.8282$).

8.4.7 Evaluación del contenido de ácidos grasos monoinsaturados en ovarios

No se observaron diferencias significativas en el contenido total de ácidos grasos monoinsaturados ($P = 0.1207$) entre los ovarios de organismos silvestres y domésticos. ni en el contenido de 16:1 ($P = 0.5058$) y 18:1 – cis 9 ($P = 0.1813$) (Figura 21).

- Se observaron diferencias significativas en el contenido de 18:1 cis - 6 ($P = 0.0309$) con un mayor contenido en los ovarios de organismos silvestres.



*M.C. = organismos madurados en cautiverio

*M.S. = organismos maduros silvestres

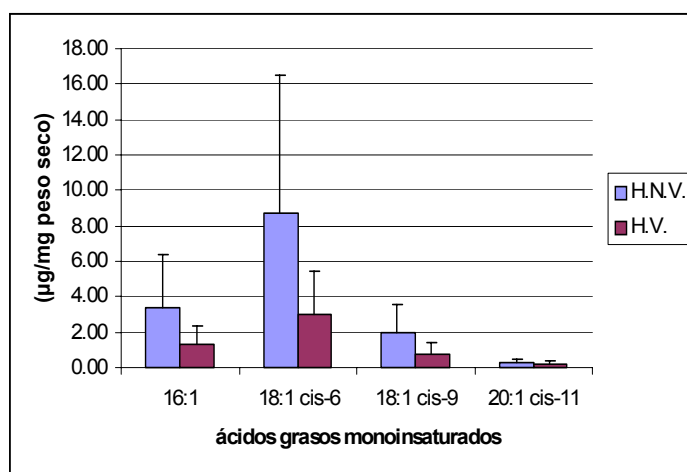
Figura 21. Contenido de ácidos grasos monoinsaturados en ovarios

En el análisis de variación porcentual no se observaron diferencias significativas en el porcentaje total ($P = 0.3996$) de ácidos grasos monoinsaturados, entre los ovarios de organismos silvestres y domésticos, ni en

el porcentaje de los principales ácidos grasos monoinsaturados, 16:1 ($P = 0.2553$), 18:1 cis - 6 ($P = 0.035$) y 18:1 – cis 9 ($P = 0.2537$).

8.4.8 Evaluación del contenido de ácidos grasos monoinsaturados en huevos

Se observaron diferencias significativas en el contenido total de ácidos grasos monoinsaturados ($P = 0.0383$), entre los huevos viables y no viables. En cambio en los principales ácidos grasos monoinsaturados no se observaron diferencias en el contenido de 16:1 ($P = 0.1487$), 18:1 cis –6 ($P = 0.1135$), 18:1 – cis 9 ($P = 0.1130$) y 20:1 cis - 11 ($P = 0.6922$) (Figura 22).



*H.N.V. = Huevos no viables
*H.V. = Huevos viables

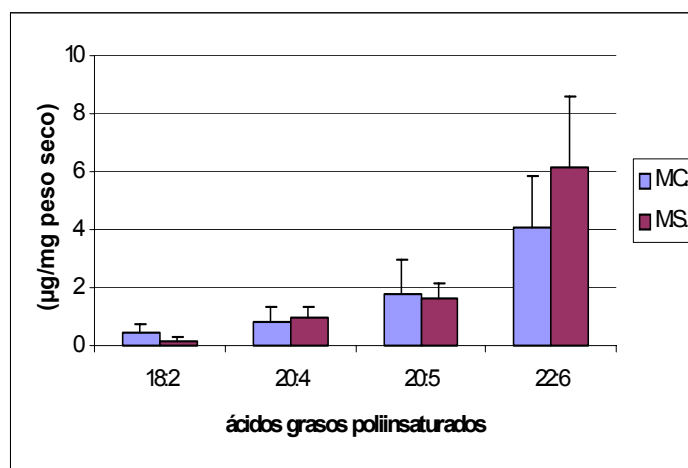
Figura 22. Contenido de ácidos monoinsaturados en huevos

En el análisis de variación porcentual no se observaron diferencias significativas en el porcentaje total ($P = 0.5229$) de ácidos grasos monoinsaturados, entre los huevos viables y no viables, ni en el porcentaje de los

principales ácidos grasos monoinsaturados, 16:1 ($P = 0.8311$), 18:1 cis -6 ($P = 0.6868$), 18:1 - cis 9 ($P = 0.7886$) y 20:1 cis - 11 ($P = 0.5095$).

8.4.9 Evaluación de los ácidos grasos poliinsaturados en ovarios

No se observaron diferencias significativas en el contenido total de ácidos grasos poliinsaturados ($P = 0.7685$) entre los ovarios de organismos silvestres y domésticos ni en el contenido de los principales ácidos grasos poliinsaturados 18:2 ($P = 0.7443$), 20:4 ($P = 0.5641$), 20:5 ($P = 0.9234$), 22:6 ($P = 0.1993$) (Figura 23).



*M.C. = organismos madurados en cautiverio

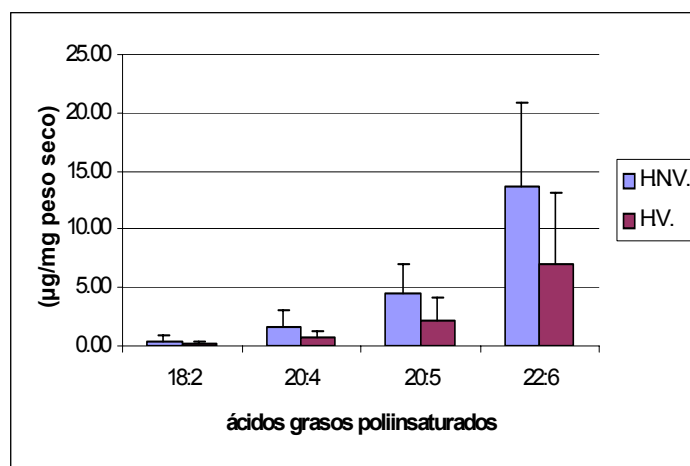
*M.S. = organismos maduros silvestres

Figura 23. Contenido de ácidos grasos poliinsaturados en ovarios

En el análisis de variación porcentual no se observaron diferencias significativas en el porcentaje total ($P = 0.8215$) de ácidos grasos poliinsaturados, entre los ovarios de organismos silvestres y domésticos, ni en el porcentaje de los principales ácidos grasos poliinsaturados, 18:2 ($P = 0.0820$), 20:4 ($P = 0.9779$), 20:5 ($P = 0.5910$) y 22:6 ($P = 0.3792$).

8.4.10 Evaluación de los ácidos grasos poliinsaturados en huevos

No se observaron diferencias significativas en el contenido total de ácidos grasos poliinsaturados ($P = 0.1014$) entre los huevos viables y no viables, ni en el contenido de, 18:2 ($P = 0.7703$), 20:4 ($P = 0.1093$), 20:5 ($P = 0.1176$), 22:6 ($P = 0.1246$) (Figura 24).



*H.N.V. = Huevos no viables

*H.V. = Huevos viables

Figura 24. Contenido de ácidos grasos poliinsaturados en huevos

En el análisis de variación porcentual no se observaron diferencias significativas en el porcentaje total ($P = 0.1014$) de ácidos grasos poliinsaturados entre los huevos viables y no viables, ni en el porcentaje de los principales ácidos grasos poliinsaturados, 18:2 ($P = 0.9699$), 20:4 ($P = 0.8417$), 20:5 ($P = 0.8696$), 22:6 ($P = 0.7606$).

8.5 Análisis químico proximal del alimento proporcionado durante el experimento

Con el propósito de conocer el perfil nutritivo de cada uno de los ingredientes en la dieta de alimento fresco que se proporciono a los reproductores durante el desarrollo del experimento, se realizaron análisis proximales en cada uno de los ingredientes. Lo anterior sirvió para conocer la cantidad de cada uno de los principales grupos de nutrientes aportados en el alimento (Tabla XXV).

Tabla XXV. Resultados del análisis bromatológico del alimento proporcionado a los peces durante el desarrollo del experimento

Código de muestra	Humedad %	* Proteína %	* Extracto Etéreo %	* Cenizas %	* Fibra cruda %	E.L.N.	* Energía cal/gr.
Sardina <i>Opisthonema sp.</i>	63.35 (±0.04)	52.57 (±0.15)	28.86 (±0.15)	10.34(±0.23)	----	8.23	5555.83 (±18.30)
Palometa <i>Peprilus medius</i>	73.31 (±0.15)	72.10 (±0.04)	17.08 (±0.11)	5.58 (±0.06)	----	5.24	5353.79 (±61.45)
Calamar <i>Dosidicus gigas</i>	80.43 (±0.42)	79.3 (±0.16)	1.33 (±0.03)	6.40 (±0.12)	----	12.97	5112.47 (±3.52)
Dieta de alimento fresco	74.38	70.82	12.15	7.18	----	9.85	5283.64

* Resultados expresados en base seca

Humedad.- Determinación por diferencia de peso a 70 °C/ 24 hrs.

Proteína.- Método de microkjeldajl (%Nx6.25)

Extracto Etéreo.- Método Soxleth

Fibra cruda.- Método de hidrólisis sucesiva (ácido/base)

Cenizas.- Determinación por diferencia de peso. Calcinación a 500 °C / 24 hrs.

E.L.N.- calculo por diferencia: 100 –(% Proteínas + % Lípidos + % de fibra cruda + % cenizas).

Energía.- Determinación por calorímetro adiabático.

El balance de los nutrientes se realizo utilizando el programa mixit-win versión 2.36

Como complemento del análisis proximal realizado en los ingredientes de la dieta proporcionada a los reproductores se realizo un análisis de lípidos presentes en cada uno de los ingredientes tomando en cuenta que estos juegan un papel importante en los procesos de producción de energía y como fuente de ácidos grasos esenciales, cuya deficiencia afecta profundamente la calidad de los desoves en los peces (Watanabe *et al.*, 1977). Los resultados obtenidos se

muestran en la Tabla XXVI. Teniendo en cuenta la importancia que los ácidos grasos en los procesos reproductivos de los peces, se realizó su identificación en los ingredientes utilizados en la dieta (Tabla XXVII, XXVIII).

Tabla XXVI. Porcentaje de lípidos en los ingredientes utilizados para la dieta de reproductores

Tipo de lípidos	Palometa	Calamar	Sardina
Triglicéridos	13.04	8.84	5.13
Colesterol	4.91	2.76	0.92
Otros Lípidos	82.05	88.39	93.95

Tabla XXVII. Porcentaje de ácidos grasos en los ingredientes de la dieta de reproductores

Ácidos grasos	Palometa	Calamar	Sardina
saturados	32.92	27.71	37.19
monoinsaturados	14.18	10.56	10.49
poliinsaturados	51.58	58.00	42.47
traza	1.32	3.72	9.84

Tabla XXVIII. Porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados en los ingredientes de la dieta para reproductores

Ácidos grasos	Palometa	Calamar	Sardina
20:4	3.15	2.01	2.19
20:5	5.08	13.47	7.33
22:6	42.82	42.51	32.08

8.6 Análisis morfométricos de los organismo utilizados en el trabajo

Complementariamente se verifico la posible diferencia en el factor de condición entre los organismos utilizados en los sistemas 1-A y 1-B. No se observaron diferencias significativas ($P = 0.4160$) (Tabla XIX).

Tabla XIX. Factor de condición simple en organismos utilizados en el experimento

Organismos	n	F.C.S.	($\pm S$)
Sistema 1-A	6	0.91	0.08
Sistema 1-B	6	0.85	0.14

*F.C.S. factor de condición simple

En el análisis de la comparación del factor de condición entre los organismos silvestres y domésticos tomando las biometrías antes al principio ($P = 0.2554$) y al final del experimento al final del experimento ($P = 0.7921$) no se observaron diferencias significativas (Tabla XXX y XXXI).

Tabla XXX. Factor de condición simple en organismos silvestres y domésticos al principio del experimento

Organismos	n	F.C.S.	($\pm S$)
Silvestres	13	1.06	0.50
Domésticos	12	0.87	0.11

*F.C.S. factor de condición simple

Tabla XXXI. Factor de condición simple en organismos silvestres y domésticos utilizados en análisis bioquímicos

Organismos	n	F.C.S.	($\pm S$)
Silvestres	13	1.06	0.50
Domésticos	9	1.13	0.19

*F.C.S. factor de condición simple

9. Discusión

En el presente trabajo se evaluó el efecto de las variables de temperatura y fotoperíodo en el proceso reproductivo del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris*. Es importante mencionar que los parámetros ambientales como la temperatura y el fotoperíodo, generan sincronía en los procesos reproductivos de los peces, esto se hace gracias a las interacciones del cerebro, hipófisis y la gónada (Carrillo y Zanuy, 1993). Los procesos reproductivos y el comportamiento social en los peces están estrechamente ligados a las fluctuaciones ambientales, de tal manera que los desoves se producen invariablemente en la época del año que ofrece mayores garantías para la supervivencia de la progenie. Esto ha obligado a los teleósteos a desarrollar sistemas que les permitan ajustar su comportamiento de acuerdo a los ciclos anuales, para iniciar, desarrollar y sincronizar con antelación los diferentes procesos fisiológicos que comprende el ciclo sexual. Ya se ha señalado en trabajos previos la importancia de las variables de temperatura y fotoperíodo en los procesos reproductivos (Watanabe, 1990; Heath, 1990; Rodríguez-Gutiérrez, 1992).

La ocurrencia de los desoves en nuestros experimentos se presentó a temperaturas entre los 26 y 29 °C, fotoperíodo entre 14 y 16 horas de luz. Otros autores han obtenido resultados similares en organismos de distribución tropical, *Lates calcarifer* (Maneewong, 1987; MacKinnon, 1990); *Chanos chanos* (Chang et al., 1993), *Hippocampus sp.*(Liang, 1992); *Lutjanus analis* (Bortone y Williams, 1986); *Coryphaena hippurus* (Szyper, 1991).

A pesar de encontrarnos en una zona templada en los límites de distribución geográfica del pargo amarillo (Allen, 1987), estos organismos parecen mantener las características de las especies de distribución tropical, en las cuales las temperaturas altas están asociadas a fotoperíodos largos. Es importante mencionar que en los resultados de los análisis de correlación de las variables de temperatura y fotoperíodo vs. los desoves obtenidos en los distintos tratamientos evaluados, la significancia del estadístico de prueba es similar en la temperatura y el fotoperíodo. En los dos experimentos la ocurrencia de los desoves está correlacionada positivamente con las variables ambientales, confirmando la interrelación de los parámetros de temperatura y fotoperíodo para la ocurrencia del proceso reproductivo en el pargo amarillo.

De manera contraria sucede con los organismos de zonas templadas donde el fotoperíodo es el factor ambiental de mayor importancia en el proceso de maduración de algunas de las especies de cultivo y se utiliza para desplazar la época de puesta según los intereses del acuicultor (Carrillo y Zanuy, 1993). Generalmente, fotoperíodos cortos adelantan la puesta y fotoperíodos largos la retrasan, pero siempre la temperatura es un factor limitante. Podemos mencionar especies de zonas templadas *Oncorhynchus mykiss* (Billard, 1990); *Salmo salar* (Jobling, 1981; Poxton, 1991); *Paralichtys olivaceus* (Matsuoka, 1995) en las que se obtienen puestas a fotoperíodos cortos y temperaturas bajas; generalmente estas especies desovan en invierno. De los resultados obtenidos en el experimento N°2, en el cual se manipuló la variable temperatura, manteniendo un

fotoperíodo corto estático, los resultados fueron mínimos y no significativos. En este experimento constatamos que la temperatura tiene un efecto mayor en el proceso de maduración del pargo amarillo; el fotoperíodo aporta una menor influencia, esto lo confirmamos con los resultados obtenidos en el sistema 1-B del experimento N°2 utilizando un fotoperíodo estático donde se obtuvieron dos desoves.

La reproducción de cualquier especie de pez se ve afectada por un conjunto de factores que son propios del biotopo en el que se desarrolla, sin embargo casi siempre es un factor el que predomina sobre los demás. En nuestros experimentos la temperatura y el fotoperíodo juegan un papel de importancia similar en la ocurrencia del proceso reproductivo en el pargo amarillo. Esta combinación de parámetros ya se ha mencionado en trabajos previos con salmónidos y otros teleósteos marinos de aguas templadas (Watanabe, 1990; Heath, 1990). También es importante tomar en cuenta los factores sociales que se llevan a cabo en el proceso de cortejo; en el desarrollo del experimento se observó una fuerte agresión entre los machos, llegando a la muerte de algunos individuos.

Si evaluamos la calidad de los desoves tomando en cuenta el número y el porcentaje de huevos fecundados (Rosales-Velásquez, 1997) los desoves presentan un número alto de huevos, pero fueron de baja calidad con respecto al porcentaje de huevos fecundados, en promedio menor al 35%. Álvarez-

Lajonchere y Hernández-Molejón (2001), consideran como un buen porcentaje de fertilización del 80% en adelante.

En el desarrollo de nuestros experimentos la fertilización podría estar afectada por el sistema utilizado. Tomando en cuenta que cada tanque del sistema tiene 3 metros de diámetro, que existe una corriente circular de agua hacia el colector y una corriente ascendente de la aireación, muchos de los huevos no son fecundados por la dinámica del agua dentro del sistema, que mueve los huevos al colector incluso antes de que el macho los fertilice. La fertilización también puede depender de qué tan cerca del colector se haga el desove. Por el hecho ser la primera vez que se usa el sistema y no tener optimizados los flujos para obtener una máxima fertilización, los resultados obtenidos deberán ser considerados con reservas siendo necesarias pruebas posteriores en el sistema para validar los resultados obtenidos.

La eclosión de los huevos viables obtenidos, resultó alta en los dos sistemas, superior a 97% de los huevos fecundados. Las muestras obtenidas de todos los tratamientos fueron colocadas en recipientes de 250 ml a una temperatura estable de 26 °C, que corresponde a la temperatura en la cual iniciaron los desoves. Casos similares han sido observados en desoves obtenidos en otras especies donde la temperatura ideal para las larvas no es la temperatura máxima en la que se obtuvieron los desoves.- Por ejemplo en *Melanogrammus aeglefinus* (Laurence y Rogers, 1976); *Seriola quinqueradiata* (Nakada y Murai, 1991); *Sciaenops ocellatus* (Henderson-Arzapalo, 1990). También Álvarez-Lajonchere y Hernández-

Molejón (2001), recomiendan que la temperatura de incubación deberá ser ligeramente inferior a la óptima del medio natural.- Lo anterior se sugiere porque en las condiciones de confinamiento, a mayor temperatura se estimula el crecimiento de bacterias y se acelera el metabolismo de las larvas. Toker (1998), reportó que el vitelo se consume más rápidamente en los huevos y las larvas eclosionan prematuramente a temperaturas más elevadas. También se mencionan evidencias de la influencia de la temperatura en la acumulación de vitelo en huevo y en el desarrollo embrionario de los teleósteos (Munro, 1990).

Como muchas especies de teleósteos marinos, *Lutjanus argentiventris* presenta un patrón de desarrollo ovárico tipo asincrónico. Para otras especies del mismo género se reporta el mismo patrón de desarrollo, (Santamaría-Miranda y Rojas-Herrera, 1997; Lucano-Ramírez *et al.*, 2001), reportan este tipo de desarrollo para el *Lutjanus peru*. Davis y West (1993) describen el desarrollo asincrónico de *Lutjanus vitta*. Se sabe que la mayoría de los peces óseos presentan un desarrollo asincrónico y con más frecuencia se observa este tipo de desarrollo en las especies de peces que habitan en las zonas tropicales.

Estructuralmente, en la túnica albugínea se observaron los tejidos muscular liso y circular, iguales a los descritos por Cerisola (1984), la conformación de lamelas hacia el interior del ovario igual a lo reportado por Lucano-Ramírez *et al.*, (2001) en *Lutjanus peru*. En *Lutjanus argentiventris* observamos 7 estadios de maduración folicular y en forma separada observamos las oogonias. En estos estadios pudimos observar todo el proceso de ovogénesis. González *et al.*, (1979)

encontraron 5 fases de madurez de la 1 a la 4 fueron organismos colectados en el medio silvestre y la fase 5 fue conseguida con inducción hormonal en laboratorio con gonadotropina coriónica humana (GCH). Esto nos indica que la fase de ovocito maduro es difícil de observar en la naturaleza ya que el proceso de ovulación ocurre en pocas horas, esto implica la dificultad que tuvimos en encontrar ovocitos en este estadio de maduración. Cruz-Romero *et al.*, (1991) mencionan que los ovocitos maduros de las especies de pargos estudiados en Colima presentaron diámetros de 350 μm hasta 550 μm .- Los datos obtenidos en nuestras observaciones tienen un valor intermedio entre los valores reportados. Aunque se utiliza una escala de fases microscópicas con mayor detalle que la utilizada por Lucano-Ramírez *et al.*, (2001) para *Lutjanus peru*, el tamaño de los ovocitos en las distintas fases de maduración es similar a lo encontrado en *Lutjanus argentiventris*, pero con un diámetro ligeramente superior para este último. Las diferencias podrían explicarse por la utilización del fijador de Davidson en nuestro trabajo que evita la deshidratación, al contrario del formol utilizado en el trabajo de Lucano-Ramírez *et al.*, (2001).

Las oogonias entran en la primera meiosis y se transforman en ovocitos (Carrillo y Zanuy, 1993) por esto las consideramos fuera de los estadios de maduración folicular. Estas células dan origen a los ovocitos y son abundantes en los organismos considerados inmaduros, por esta razón se consideran en la primera fase de maduración del pargo amarillo (Fig. 9 A). En el estadio II es donde se da un incremento notorio en el tamaño del ovocito, esto se debe a la formación

de organelos y el material que compone el núcleo (ribonucleoproteínas), resultando un incremento del diámetro nuclear y la aparición de nucleolos (Tyler y Sumpter, 1996); esta aparición de nucleolos es indicativa de una ampliación de genes del ribosoma (Wallace y Selman, 1981; Tyler y Sumpter, 1996). A pesar de observarse dicho incremento en el ovocito del estadio II, se considera al mismo como inmaduro debido a que no presenta diferencia significativa en el nivel de concentración de vitelinas, comparado con los ovocitos del estadio I (Merson *et al.*, 2000).

En el pargo amarillo, como en muchos peces teleósteos, el crecimiento del ovocito en el estadio alvéolo cortical, está dado por un proceso de vitelogénesis endógena (dependiente de las gonadotropinas) y ocurre con la producción de alvéolos corticales que contienen material AA-positivo (Khoo, 1979; Nagahama, 1983; Wallace y Selman, 1981; Tyler y Sumpter, 1996). En el estadio III se observó la presencia de alvéolos corticales (Fig. 10 A). Este estadio está caracterizado por la producción endógena de poliglicoproteínas sintetizadas, al parecer por el retículo endoplasmático y/o aparato de golgi (Wallace y Selman, 1981) este mismo patrón fue observado en *Pagrus major* (Matsuyama *et al.*, 1988) y en *Paralichthys californicus* (Burgos, 2003).

La vitelogénesis exógena (estadios IV y V) de esta especie, presenta un patrón de crecimiento similar al descrito para *Pagrus major* (Matsuyama *et al.*, 1988), *Gobio gobio* (Rinchard *et al.*, 1993) y *Paralichthys californicus* (Burgos, 2003) entre otros. El incremento en el tamaño de los ovocitos observado en estos

estadios coincide con la presencia de glóbulos de vitelo, así como con niveles altos de vitelinas (Fig. 10 B) y esteroides sexuales (Burgos, 2003). Dicha presencia se debe a la captación de proteínas extracelulares (vitelogenina) provenientes del hígado vía micropinocitosis. Este mecanismo ocurre en la mayoría de los teleósteos marinos que desovan huevos pelágicos (Nomberg *et al.*, 1991; Tyler y Sumpter, 1996; Matsubara *et al.*, 1999).

Los ovocitos en estadio VI, se caracterizaron por la migración de la vesícula germinal hacia el polo animal (Fig. 11 A), una vez que ha migrado la vesícula germinal ocurren cambios bioquímicos y físicos con el rompimiento de la membrana nuclear y la fusión de los glóbulos de vitelo. La maduración final de los ovocitos se caracteriza por presentar un incremento en el tamaño del ovocito y una apariencia translúcida debido a una marcada hidratación (Fig. 11 B). Los mecanismos de hidratación, junto con los posibles flujos iónicos durante la maduración final, al parecer son debidos al ajuste osmótico causado por un incremento en aminoácidos libres que permiten el flujo de agua dentro del ovocito (Wallace y Selman, 1981; Greeley *et al.*, 1986; Carnevali *et al.* 1992) y a una segunda actividad proteolítica de las proteínas del vitelo (Matsubara *et al.*, 1999).

Los análisis bioquímicos no mostraron diferencias en el contenido de lípidos totales entre los ovarios de los organismos domésticos y silvestres. Sin embargo, el resultado del análisis histoquímico mostró diferencias significativas en el contenido de lípidos entre los ovocitos de los organismos silvestres y los organismos domésticos. Estos resultados nos indican una mala calidad de los

huevos obtenidos, ya que los lípidos representan la principal fuente de energía metabólica para el futuro embrión en los procesos de biosíntesis (Sargent, 1994). Además, los lípidos acumulados en las gónadas de los peces son la principal fuente de energía en el proceso fisiológico de la reproducción (Watanabe *et al.*, 1977).

En las gónadas de los peces se produce un incremento de reservas lipídicas en el proceso de maduración, debido a la incorporación de la vitelogenina a los ovocitos; esta sufre proteólisis, acumulándose los constituyentes proteicos que forman el huevo. Las principales proteínas que se derivan de la vitelogenina son, la fosfovítina, β -componente y la lipovitelina esta última forma la parte lipídica del vitelo (Mommensen y Walsh 1988; Tyler y Sumpter, 1996; Matsubara *et al.*, 1999). Por esta razón los organismos en estadios de maduración avanzada presentan mayor cantidad de lípidos.

Respecto al análisis de lípidos totales entre los huevos viables y no viables, su contenido fue similar. Sin embargo, tomando en cuenta el tiempo transcurrido desde el momento del desove, generalmente entre 9 pm. y 11 pm. y la colecta a las 8 am, el contenido de lípidos debería ser mayor en los huevos no viables por el gasto energético que se da en el desarrollo embrionario de los huevos viables.

Otros autores han encontrado que la aplicación de un ciclo fototérmico inapropiado afecta directamente la calidad de los huevos en términos de viabilidad y supervivencia (Carrillo *et al.*, 1989) y en *Salmo salar* (Taranger y Hansen, 1993).

Respecto al factor de condición simple, no se observaron diferencias entre los organismos domésticos y silvestres. Esto nos da una idea de la condición fisiológica de los organismos conocida frecuentemente como calidad (Emmerson 1980; Rodríguez-Gutiérrez, 1992) y nos indica que los organismos utilizados como reproductores tienen un peso apropiado de acuerdo con su talla, hecho propiciado por una nutrición aparentemente adecuada. De estos resultados podemos inferir que los problemas de calidad de los huevos no son causados por una mala alimentación. La dieta de alimento fresco proporcionada en el transcurso del experimento presenta un perfil de nutrientes aparentemente apropiado para este tipo de organismo. En trabajos previos se ha empleado este tipo de dieta con éxito para reproductores, en peces carnívoros (Baynes *et al.*, 1993; Olivares *et al.*, 1993; Toledo *et al.*, 1993; Silva, 1994; Rosales-Velásquez, 1997).

Una posible causa de la mala calidad de los huevos obtenidos en el experimento sería la incorporación inapropiada de la vitelogenina a los ovocitos, ya que los factores ambientales y sociales, estimulan la secreción de hormonas gonadotrópicas en la sangre, que estimula la producción de estrógenos (17β – estradiol y posiblemente estrona) (Skipper y Hamilton, 1977). El incremento de estradiol en la sangre da inicio a la vitelogénesis exógena, la vitelogenina es incorporada a partir de la sangre a los ovocitos mediante endocitosis mediada por un receptor (Nagahama *et al.*, 1995). Este proceso es controlado por las secreciones hormonales que son inducidas por los factores ambientales, variables que en nuestro experimento fueron manipuladas en el extremo de los límites

recomendados, dos horas de luz y dos grados centígrados semanales (Álvarez-Lajonchere y Hernández-Molejón, 2001). La proporción de las lipovitelinas en los ovocitos posvitelogénicos regulan la flotabilidad de los huevos pelágicos desovados mediante el control de aminoácidos libres disponibles, los cuales tienen una función osmótica durante la hidratación del ovocito (Matsubara *et al.*, 1999). Es necesario realizar estos estudios durante el desarrollo de este tipo de experimentos, ya que la flotabilidad de los huevos es un indicador de calidad.

El análisis del contenido de triglicéridos en ovarios, no muestra diferencias entre los organismos silvestres y domésticos, al igual que en huevos viables y no viables. En este último caso, las tendencias de las medias nos indican un menor contenido de triglicéridos en los huevos no viables. Al comparar nuestros resultados con trabajos previos, los huevos viables obtenidos nuestro trabajo, contienen un porcentaje mayor de triglicéridos que el encontrado por Trocher y Sargent (1984) en el bacalao (*Gadus morhua*) y en el ángel fino (*Melanogrammus aeglefinus*,) pero su concentración es inferior a la reportada por Trocher y Sargent (1984) en el arenque (*Clupea harengus*) y capelin (*Mallotus villosus*) y por (Gordón *et al.*, 1997) en *Dicentrarchus labrax*. En los huevos no viables del pargo amarillo, en todos los casos, el contenido de triglicéridos fue inferior al reportado por los autores citados. Los triglicéridos son los compuestos principales de las lipoproteínas que forma la parte lipídica del vitelo de donde el embrión y la futura larva obtendrán su principal suministro de energía para su desarrollo.

La concertación de colesterol en los ovarios de los organismos silvestres y domésticos presentó variaciones. Es importante señalar la importancia de estas biomoléculas, ya que tanto el colesterol como los fosfolípidos están implicados en la estructura de las membranas celulares dándole rigidez a las mismas (Teshima, 1982). El mayor contenido de colesterol en los ovarios de organismos domésticos, podría ser una consecuencia de la temperatura sobre la membrana celular, ya que se vuelve mas fluida al incrementar esta, aumentando la cantidad de colesterol en respuesta. Además podría afectar la transferencia de otras moléculas al interior del ovocito y la actividad de algunas enzimas, Bell *et al.* (1986).

Comparando el contenido de colesterol en los huevos viables con respecto a lo reportado por Trocher y Sargent (1984), los huevos obtenidos en nuestro trabajo presentan menor cantidad de colesterol que la reportada para los huevos de bacalao, de ángel fino, arenque y de la lubina (Gordon *et al.*, 1997); solamente su contenido es superior al reportado en el capelin.

Es conocida la importancia de los ácidos grasos en los peces, aunque los requerimientos de los distintos ácidos grasos varían de especie en especie (Watanabe, 1987). Generalmente los ácidos grasos proceden de la dieta en los peces y de la síntesis que se realice en sus propios tejidos. Además, una vez que son asimilados pueden ser modificados por un proceso metabólico de elongación y desaturación (Fernández-Borras, 1993).

Watanabe *et al.*, (1983); Kanasawa (1993) y Sorgelos *et al.*, (1993), han demostrado la importancia de los ácidos grasos, específicamente el

Docosahexaenoico (DHA) y el Eicosapentaenoico (EPA). Para los procesos reproductivos. Se ha demostrado que la deficiencia de ácidos grasos afecta profundamente en los desoves de la trucha arco iris y el besugo, que los ácidos grasos juegan un papel tan importante en la fisiología de la reproducción como el tocoferol (Watanabe, 1977; Watanabe 1987).

Los resultados observados en el análisis de los ácidos grasos saturados y monoinsaturados en ovarios nos indican que no hay diferencias marcadas en el contenido y porcentajes de los ácidos grasos de mayor abundancia 14:0, 16:0, 18:0 y 16:1, 18:1 cis-9 las cuales coinciden con lo expuesto por Sargent (1995) quien reporta que en el proceso de gonadogénesis, de los lípidos neutros presentes en las reservas lipídicas, el 60% de los ácidos grasos movilizados son saturados o monoinsaturados. Tomando en cuenta que los peces pueden elongar y desaturar los lípidos, en el análisis se observa una mayor abundancia para los ácidos grasos 16:0 y 18:0 de los que metabólicamente derivan los ácidos grasos 18:1 n-7, 18:1 n-9 que se integran a la membrana celular. Las rutas metabólicas utilizadas para este proceso en los peces han sido detalladas por Ackman y Kean-Howie (1995). Es importante recalcar que al realizar el análisis del contenido total y porcentual de ácidos grasos en los ovarios de organismos silvestres y domésticos no se observaron diferencias significativas lo que nos indica que la alimentación que se proporcionó a los peces domésticos fue buena permitiéndoles tener un estado nutricional similar al de los peces silvestres.

Al verificar el contenido de ácidos grasos saturados y monoinsaturados en los huevos viables y no viables obtenidos en nuestro trabajo, encontramos un mayor contenido en los huevos no viables, hecho relacionado con la mala calidad de los huevos. El contenido y composición de los lípidos en los huevos de las especies de peces marinos varía durante los estadios de desarrollo, de acuerdo a los eventos fisiológicos, la demanda de energía del huevo se suple por los ácidos grasos poliinsaturados de la familia n-3; son esenciales y de importancia para el desarrollo embrionario y la supervivencia de las larvas en especial el 20:5 (n-3) y el 22:6(n-3), (Sargent *et al.*, 1989).

Una posible explicación tendría que ver con la dieta suministrada a los reproductores, ya que aunque los nutrientes evaluados están presentes en la dieta, desconocemos los requerimientos de los mismos para la especie. Existen reportes donde la composición de la dieta tiene efectos directos sobre la fertilización (Izquierdo *et al.*, 2001), especialmente las carencias en 22:5 (n-3) y el 20:4 (n-6) teniendo un efecto paterno pronunciado. Sin embargo no se realizó ninguna evaluación del esperma en los machos empleados en el presente trabajo, por lo que no podemos saber si estos se vieron afectados por la dieta que recibieron.

Otra posible causa a los resultados obtenidos sería una alteración en el contenido de ácidos grasos debido a la temperatura ya que esta tiene una relación inversa con el contenido de ácidos grasos poliinsaturados en las membranas celulares de los peces marinos (Bell *et al.*, 1986). La temperatura también altera el

contenido de fosfolípidos como el fosfatidilinositol, metabólicamente muy activo, y que juega un papel importante en la traducción de señales hormonales a través de las biomembranas (Berridge, 1984). Ya que la incorporación de la vitelogenina al ovocito está mediada por receptores, que a su vez son controlados hormonalmente (Nagahama *et al.*, 1995). La entrada de la vitelogenina pudo ser afectada por los efectos de la temperatura sobre este tipo de biomoléculas que actúan como mensajeros.

Comparando nuestros resultados con otros trabajos, encontramos un mayor porcentaje de ácidos grasos saturados que lo reportado por Trocher y Sargent (1984) para los huevos del bacalao (*Gadus morhua*), el ángel fino (*Melanogrammus aeglefinus*), el arenque (*Clupea harengus*) y el capelin (*Mallotus villosus*). También es superior al contenido de ácidos grasos saturados y monoinsaturados polares reportados por Bell *et al.*, (1997) en los huevos de *Dicentrarchus labrax*, al contenido reportado por Tamaru *et al.*, (1992) en los huevos de lisa (*Mugil cephalus*), pero inferior a lo reportado por Ako *et al.*, (1994) en los huevos de milkfish (*Chanos chanos*). La abundancia de los ácidos grasos saturados y monoinsaturados encontrados en nuestro trabajo coincide con lo observado por Izquierdo (1996), quien reporta que los ácidos grasos saturados y monoinsaturados más abundantes en los huevos de peces marinos al 16:0 y el 18:1 n-9, mientras que en nuestro caso son 16:0 y el 18:1 n-6.

En relación al porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados en huevos encontramos un menor porcentaje que lo reportado por Trocher & Sargent (1984),

en las distintas especies que reportadas en su trabajo. En los resultados de Tamaru *et al.*, (1992), y de Ako *et al.*, (1994), encontramos un contenido menor que los encontrados en los huevos de lisa, pero superior al encontrado en milkfish.

Los fosfolípidos y triglicéridos son de los principales grupos de lípidos en los huevos de los peces marinos. Estos están compuestos principalmente por los ácidos grasos poliinsaturados conocidos como PUFA (por sus siglas en ingles). Estos son reconocidos por su importancia en el proceso de desarrollo embrionario en los peces marinos, especialmente el 22:6 (n-3), el 20:5 (n-3) y el 20:4 (n-6), este último localizado en los fosfolípidos (Sargent, 1995).

En los análisis realizados, no se encontraron diferencias significativas en el contenido entre los distintos grupos de muestras. Los resultados nos orientan a un mayor contenido en 20:5 (n-3) y el 22:6 (n-3) y porcentualmente las tendencias persisten. Pues es en los huevos donde el contenido de lípidos neutros incrementa habiendo ocurrido una serie de conversiones metabólicas hasta dar como productos finales los ácidos grasos poliinsaturados Sargent *et al.*, (1993).

El no encontrar diferencias significativas en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados entre los huevos viables y no viables, nos remite a la necesidad de realizar estudios sobre los requerimientos de ácidos grasos en la especie. El hecho de que un huevo sea considerado viable y que eclosiona, son parámetros de calidad que deben ser complementados con la supervivencia de las larvas en el tiempo. Ya que no podemos asegurar que los huevos que consideramos viables son de buena calidad, posiblemente el contenido de ácidos grasos en los huevos

viables sea suficiente para complementar el desarrollo embrionario, pero pueden ser pocos para complementar el desarrollo larvario en los primeros días de vida. Una posible causa de esta deficiencia en ácidos grasos poliinsaturados es la dieta. Se conoce que en los peces marinos carnívoros la capacidad de elongación y desaturación de los ácidos grasos es disminuida por lo que los niveles de ácidos grasos en la dieta son mucho muy críticos, (Fernández-Borras, 1993). La calidad de los huevos obtenidos durante nuestro trabajo depende en gran medida de la nutrición y del estado nutricional de los reproductores. Otro factor que pudo haber afectado la calidad de los huevos, especialmente el contenido de ácidos grasos poliinsaturados, es la temperatura, (Bell *et al.*, 1986; Fernández-Borras, 1993), mencionan que una exposición prolongada de 15 días o más a temperaturas elevadas afecta las propiedades físicas de las membranas celulares, especialmente su composición, además afectan el metabolismo celular. Comparando nuestros resultados con trabajos previos, en el ácido graso 20:4(n-6) encontramos un porcentaje mayor que lo reportado por Trocher y Sargent (1984) para todas las especies reportadas en su trabajo. Así mismo, el porcentaje es menor que lo reportado en la lisa por Tamaru *et al.*, (1992) y el milkfish (Ako *et al.*, 1994). Al comparar el contenido de 20:5 (n-3) con lo reportado por Trocher y Sargent (1984) el porcentaje es inferior a lo reportado en todas las especies de su trabajo, pero superior al reportado por Tamaru *et al.*, (1992) para la lisa y Ako *et al.*, (1994) para el milkfish.

Es de especial importancia, como un indicador de calidad en los huevos de peces marinos, el contenido de 22:6 (n-3) presente en los fosfolípidos y triglicéridos que son de mucha importancia en el desarrollo embrionario y larval de los peces Sargent, (1995). Los porcentajes observados en los huevos obtenidos en nuestro trabajo son superiores a los reportados por Sargent, (1995) en lípidos neutros para el bacalao, ángel fino, arenque, y el capelin, pero inferior a los lípidos polares en todos los casos excepto en el capelin. Lamentablemente no se realizamos una separación de lípidos neutros y polares. Una mejor comparación sería la realizada con los reportes de Tamaru *et al.*, (1992) para la lisa y Ako *et al.*, (1994) para el milkfish, en ambos casos el porcentaje de 22:6 en los huevos aquí obtenidos fue inferior a lo reportado por esos autores. Es importante mencionar que el 22:6 (n-3) es el ácido graso poliinsaturado que tiene mayor relevancia para el desarrollo embrionario y larvario (Mourente y Odriozola, 1990; Rainuzzo *et al.*, 1991), siendo este el ácido graso poliinsaturado de mayor abundancia en los resultados obtenidos en nuestros análisis. Al realizar los análisis sobre el contenido total de ácidos grasos entre los huevos viables y no viables, no se observaron diferencias significativas. Izquierdo (1996) reporta la importancia de un contenido alto de 20:5 n-3 (EPA) y 22:6 n-3 (DHA) en los huevos de peces marinos, necesarios para el desarrollo embrionario y larval. La acumulación de ácidos grasos saturados en el huevo podría disminuir su calidad pues estos ácidos no podrían estar disponibles como fuente de energía inmediata para el desarrollo embrionario y larvario en el pargo amarillo.

10. Conclusiones

- Los factores ambientales de temperatura y fotoperíodo afectan directamente el proceso de maduración del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris*, siendo necesaria una interacción apropiada de estos factores para la ocurrencia de los desoves.
- El intervalo de temperatura de los 26 a los 29 grados centígrados, combinado con un fotoperíodo de 14 a 16 horas de luz, son los parámetros ambientales apropiados para inducir el proceso de maduración y posterior desove del *Lutjanus argentiventris* en condiciones de cautiverio.
- Los factores ambientales de temperatura y fotoperíodo simulados en un sistema de recirculación para propiciar el proceso de maduración del pargo amarillo afectan indirectamente la calidad de los desoves obtenidos.
- Existe un agotamiento reproductivo en *Lutjanus argentiventris*, reflejado en el contenido de lípidos de los ovocitos en un estadio de maduración avanzado, en hembras que han tenido múltiples desoves.
- Tomando en cuenta las clasificaciones del desarrollo de los ovocitos utilizadas por Wallace y Selman (1981) y Cerisola (1984) se observó el proceso de ovogénesis en 7 fases diferentes de crecimiento de los ovocitos y las oogonias.
- Los diámetros promedios de los ovocitos en las distintas fases de desarrollo fueron: oogonias $9.93 \mu\text{m} \pm 1.23$, ovocito peri-núcleo temprano $40.51 \mu\text{m} \pm 8.75$, ovocito peri-núcleo tardío $63.84 \mu\text{m} \pm 12.84$, ovocito alvéolo cortical

128.95 $\mu\text{m} \pm 13.54$, ovocito en vitelogénesis temprana 222.69 $\mu\text{m} \pm 21.42$, ovocito en vitelogénesis tardía 349.03 $\mu\text{m} \pm 28.6$, ovocito en migración de vesícula germinal 428.31 $\mu\text{m} \pm 33.50$, ovocito en maduración final 458.51 $\mu\text{m} \pm 21.05$, y el huevo que tiene un diámetro de 794.36 $\mu\text{m} \pm 33.55$.

- El tipo de desarrollo ovárico del *Lutjanus argentiventris* es asincrónico.

11. Recomendaciones

- Realizar una réplica en el tiempo del experimento en el sistema de recirculación.
- Realizar un nuevo experimento aplicando el ciclo fototérmico utilizado, disminuyendo los cambios de temperatura y fotoperíodo en los tratamientos aplicados.
- Realizar un estudio comparativo de otolitos de organismos criados en cautiverio y reproductores silvestres, con el propósito de confirmar si los organismos criados en cautiverio tienen un crecimiento similar a los organismos silvestres.
- Optimizar el uso del sistema de recirculación determinando el flujo adecuado por las noches para maximizar la fertilización de los desoves obtenidos.
- Realizar análisis cuantitativos de las clases de lípidos presentes en las gónadas y huevos del pargo.
- Realizar estudios bioquímicos que nos permitan la cuantificación de moléculas involucradas en el proceso reproductivo ej. La vitelina.
- Realizar un contraste de la composición bioquímica de los desoves obtenidos en cautiverio de organismos domésticos con desoves obtenidos de organismos silvestres.
- Modificar las proporciones de los componentes de la dieta, incrementando el contenido de carne de pescado (excepto sardina) y calamar, por su mayor

contenido de colesterol y ácidos grasos poliinsaturados, y disminuyendo el contenido de sardina por su exceso de lípidos saturados.

- Realizar análisis de lípidos en los huevos del pargo amarillo donde se separen los lípidos neutros y polares, para determinar la cantidad de lípidos de reserva y los lípidos estructurales.
- Repetir el experimento con diferentes densidades de organismos en los sistemas.
- Realizar estudios de nutrición para conocer los requerimientos de ácidos grasos en los reproductores de pargo amarillo.

Referencias

- Ackman** R.G. and J. Kean-Howie. 1995. Fatty acids in aquaculture: Are ω -3 fatty acids always important?. In: Lim C.E. y Sessa D.J. (Eds). Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture. AOCS Press. USA. 82-104 pp.
- Ako** H., Tamaru C.S., Lee Ch.S. 1994. Chemical and physical differences in milkfish (*Chanos chanos*) eggs from natural and hormonally induced spawns. *Aquaculture*. 127: 157-167.
- Alarcón** F. J., García-Carreño F. L., Navarrete del Toro M. A. 2001. Effect of plant protease inhibitors on digestive proteases in two fish species, *Lutjanus argentiventris* and *L. novemfasciatus*. *J. Fish Physiology and Biochemistry* 24 (3): p 179-189
- Álvarez-Lajonchere** L. y Hernández-Molejón O.G. 2001. Producción de peces estuarinos para un centro en América Latina y El Caribe: Diseño, Operación y Tecnologías. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, 424 pp.
- Allen** G.R. 1987. Sistematics of the fishes of the family Lutjanidae In: J.J. Polovina and S Ralston (Eds.) Tropical Snappers an Groupers; Biology and Fisheries Management. Westview Press. USA. 1-31 pp.

Allen G.R., Robertson, D.R. 1994. Fishes of the Tropical Eastern Pacific. University of Hawaii Press, Honolulu. 332 pp.

Anderson, W.D. 1987. Systematics of The fishes of the family Lutjanidae Perciformes: Percoidei, the Snapper. In: J.J. Polovina and S. Ralston (eds.) Tropical Snappers and Groupers; Biology and Fisheries Management. Westview Press USA.: 1-31 pp

Anuario estadístico de pesca 2001 (<http://www.sagarpa.gob.mx/conapesca/>) SAGARPA. En línea el 30 de septiembre del 2003. México

Aviles-Quevedo. 1995. Biología y Cultivo de la Cabrilla Arenera (*Paralabrax maculatofasciatus*). Centro Regional de Investigación Pesquera La Paz, Agencia de Cooperación Internacional del Japón. 85 pp.

Aviles-Quevedo, A., Reyes-Juárez, L., Valdez-Murillo, S., Hiraes-Cosio, O., Rodríguez Ramos, R., McGregor-Pardo, U., Lisawa, M. 1996. Manejo de Reproductores y Producción de Huevos de pargo amarillo *Lutjanus argentiventris*, (Peters, 1869) bajo condiciones de cultivo, Memorias del IX congreso Latinoamericano de Acuicultura, 15-18 de octubre, Coquimbo, Chile.

- Barnes** H. y J. Blastokstock. 1973. Estimation of lipid in marine animal and tissues: detailed investigation of the sulphophosphovanillin method for total lipids. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 12: 103-118, 1973.
- Baynes**, S.M.; Howell; T.W. Beard. 1993. A review of egg production by captive, *Solea solea* (L.). Aquacult. Fish. Manage., 24:171-180.
- Bell**, J.G., Farndale B., Bruce M., Navas J., Galindo M. 1997. Effects of broodstock dietary lipid on fatty acid composition of eggs from sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture. 149 (1-2): pp. 107-119
- Bell**, M. V., Henderson R. J., y Sargent J. R. 1986. The role of polyunsaturated fatty acids in fish. J. Comparative biochemistry (ENGLAND). 83:(4) p.711-9
- Billard**, R. 1990. Culture of salmonids in fresh water. In: G. Bernabé (ed.), Aquaculture, Vol. 2. Ellis Horwood, New York, p 549-592.
- Berridge** M.J. 1984. Inositol triphosphate and diacyl-glycerol as secon messenger. Biochem, J. 220, 345-360.

- Bortone**, S.A., y J.L. Williams. 1986. Species profiles: life histories and environmental requirements of coastal fishes and invertebrates (South Florida). Gray, lane, mutton, and yellowtail snappers. U.S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep. 82 (11.52), 18 p.
- Bligh**, G.E., y Dyer, J.W. 1959. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. 37:3 pp 911-917.
- Burgos-Aceves** M.A. 2003. Maduración gonadal de hembras del lenguado de California *Paralichthys californicus* en el medio natural. Tesis de Maestría, CIBNOR. La Paz B.C.S. México. 100 pp.
- Carnevali**, O., G.Mosconi, A. Roncarati, M. Romano y L. Limatola. 1992. Changes in the electrophoretic pattern of the yolk proteins during vitellogenesis in the gilthead sea bream *Sparus aurata* L. Comp. Biochem. Physiol. 103B: 955-962.
- Carrillo** M., Bromage N., Zanuy S., Serrano R. 1989. The effect of modifications in photoperiod on spawning time, ovarian development and egg quality in the sea bass (*Dicentrarchus labras* L.). Aquaculture, 81: 351-365.

- Carrillo** M. y S. Zanuy. 1993. Fisiología de la reproducción de los teleósteos. In :
Acuicultura marina. F. Castello Orvay (Ed.). Universitat Barcelona
Publicacions. España. pp 125-142
- Cerisola** H. 1984. Cambios estructurales del folículo ovárico durante su
maduración en el pejesapo *Sicyases sanguineus*, Muller y Troschel 1843
(Gobiesocidae: Teleostei). Rev. Biol.. Mar., Valparaíso, 20 (1): 1-21.
- Clarke**, M.E., M.L. Domeiner & W.A. Laroche. 1997. Development of larvae and
juveniles of the mutton snapper (*Lutjanus analis*), lane snapper (*Lutjanus
synagris*) an yellowtail snapper (*Lutjanus chrysurus*). Bull. Mar. Sci. 61:511-
537.
- Cruz-Romero**, M., Chávez, E.A., Espino, E. García, A. 1996. Stock assessment of
a snapper complex (*Lutjanus spp.*) of the Eastern Pacific. In: S. Arreguin-
Sanchez J.L. Munroe, M.C. Balgos, Pauly (Eds) Biology, Fisheries and
cultive of Tropical Groupers and Snappers. I.C.L.R.M. Conf. Proc. 48: 331-
337 pp.
- Chang**, R.-L., M.-S. Su & I C. Liao. 1993. Milkfish fry production in Taiwan. In: C.-
S. Lee, M.-S. Su, and I C Liao (Eds.), Finfish hatchery in Asia. Tungkang
Mar. Lab. Conf. Proc. (3):157-171.

- Daniel W.** 1994. Bioestadística base para el análisis de las ciencias de la salud. Noriega editores. México. 667 pp.
- Davis,** T.L.O. and G.J. West. 1993. Maturation, Reproductive seasonality, Fecundity and spawning frequency in *Lutjanus vitta* (Quoy and Gaimard) from the west shelf of Australia. Fish. Bull. 91: 224-236.
- Díaz-Uribe,** J.G. 1994. Análisis trofodinámico del huachinango (*Lutjanus peru*) en la Bahía de la Paz y la Ventana, B.C.S. México. Centro de Investigación Científica y Estudios Superiores de Ensenada. Tesis de Maestría en Biología. 57 pp.
- Doi,** M., y T. Singhagraiwan. 1993. Biology and culture of red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. Res. Proj. Fishery Resource Dev. Kingdom of Thailand, 51 pp.
- Drevon,** B. y J.M. Schmit. 1964. La réaction sulfo-phosphovanillique dans l'étude des lipides sériques. Applications biochimiques, cliniques et pharmacologiques. Bull. Trav. Soc. Pharm. Lyon, T. 8, pp. 173-178.
- Emmerson,** W.D. 1980. Induced maturation of prawn *Penaeus indicus*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 2: 121-131.

FAO. Fishery Department, Fishing Information, Data and Statistics Unit. 2001. FISHSTAT plus: Universal software for fishery statical time series. Versión 2.3.2000.

FAO. Estado mundial de la pesca y la acuicultura. 2002. (http://www.fao.org/sof/sofia/index_es.htm) FAO. Pesca. En línea 30 de septiembre del 2003. Roma.

Fernández-Borras, J. 1993. Lípidos en la nutrición de los peces. In: F. Castelló Orvay (Ed.). Acuicultura marina. Universitat Barcelona Publicacions. España 245-252 pp.

González, E., T. Damas, N. Millares y M. Borrero. 1979. Desove inducido en el caballero (Lutjanus griseus Linné, 1758) en condiciones de laboratorio. Rev. Cub. Inv. Pesq. 4(1): 43-63.

Gordon, B., B.M. Farndale, M.P. Bruce, J.M. Navas y M. Carrillo. 1997. Effects of broodstock dietary lipid on fatty acid compositions of eggs from sea bass (*Dicentrarchus labrax*) Aquaculture 149: 107-119.

- Guerrero-Tortolero D.** 1997. Efecto De La Densidad De Siembra De Juveniles Del Pargo Amarillo *Lutjanus argentiventris* (Peters, 1869) Cultivado En Jaulas. Tesis de Maestria. IPN, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR). 87 pp
- Greeley, M.S., D.R. Calder y R.A. Wallace.** 1986. Changes in teleost yolk proteins during oocyte maturation: correlation of yolk proteolysis with oocyte hydration. *Com. Biochem. Physiol.* 84B (1): 1-9.
- Hearn, R.** 1996. Researchers take critical step in protecting, producing red snappers. *Aquac. Mag.* 22(6):6-9.
- Henderson-Arzapalo, A.** 1990. Red drum egg and larval incubation. Texas A&M Univ. Sea Grant TAMU-SG-90-603, p 51-52.
- Heath, A. G.** 1990. Water pollution and fish physiology. CRC Press. Florida, U.S.A. 245 pp.
- Harvey, B. y Hoar, W.** 1980. Teoría y práctica de la reproducción inducida en los peces. Centro internacional de investigación para el desarrollo. Ottawa, Ort. CIID. 48 pp.

Hernández-Rauda R. y **Aldegunde** M. 2002. Changes in dopamine, norepinephrine and serotonin levels in the pituitary, telencephalon and hypothalamus during gonadal development of male *Lutjanus argentiventris* (Teleostei). *J. Marine Biology (Berlin)* 141 (2): p 209-216

Humason, G.L. 1997. *Animal Tissue Techniques*. 5th ed., Johns Hopkins Univ Pr. USA. 536 pp.

Izquierdo M.S. 1996. Essential fatty acid requirements of culture marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition*. 2:183-191.

Izquierdo, M. S., **Fernández-Palacios** H., y **Tacon** A. G. J. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *J. Aquaculture* 197 (1-4): p 25-42

Jobling, M. 1981. Temperature tolerance and the final preferendum—rapid methods for the assessment of optimum growth temperatures. *J. Fish. Biol.* 20:431-444.

Kasawa, A. 1993. Importance of dietary docosahexaenoic acid on growth and survival of fish larvae pp 87-95. In: *Proceedings of Finfish Hatchery Asia*. L. Cheng-Sheng, S. Mao-Sen, L. I-Chiu (Eds.) Keelung, Taiwan.

- Khoo**, K.H. 1979. The histochemistry and endocrine control of vitellogenesis in goldfish ovaries. *Can. J. Zool.* 57: 617-626.
- Laurence**, G.C., y C.A. Rogers. 1976. Effects of temperature and salinity on comparative embryo development and mortality of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). *J. Cons.* 36: 220-228.
- Lazo**, J.P., A. Davis y C. Arnold. 1997. The effect of dietary protein level on growth, feed and protein efficiency and survival of yellowtail snapper (*Ocyurus crysurus*) in culture. *World Aquac. '97 Book of Abs.*, p 273.
- Liang**, B. 1992. Research on the culture of Hippocampus. *J. Ocean Univ. Qingdao* 22:39-44 (in Ch., Eng. abs.)
- Lim**, L.C., L. Cheong, H.B. Lee & H.H. Heng. 1985. Induced breeding studies of the John's snapper, *Lutjanus johni* (Bloch), in Singapore. *Sing. J. Pri. Ind.* 13:70-83.
- Lam**, T.J. 1982. Applications of endocrinology to fish culture. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39:111-113.

- Lucano-Ramírez, G., Villagran-Santacruz, M., Ruiz-Ramírez, S. y López-Murillo T.** 2001. Histología de los ovocitos de *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922) (Pisces: Lutjanidae). *Ciencias marinas*. 27(3): 335-349.
- Maeda Martínez A. N.** 1981. Composición, Abundancia, Diversidad Y Alimentación De La Ictiofauna, En Tres Lagunas Costeras El Golfo De California. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Nuevo León. 140 pp.
- Maneewong, S.** 1987. Induction of spawnin of sea bass (*Lates calcarifer*) in Thailand. *Austral. Ctr. Internat. Agric. Res. Proc.* (20):116-119.
- Mackinnon, M.R.** 1990. Status and potential of Australian *Lates calcarifer* culture. *Advances in tropical aquaculture, AQUACOP. IFREMER. Actes Colloq.* (9): 713-727.
- Matus-Nivon, E., R. Ramírez-Sevilla, R. Martínez Pecero y J. L. Galindo.** 1990. Potencial acuacultura de ocho especies de peces marinos del Pacifico Mexicano, con base en su biología temprana. En: De Lanza- Espino, G. Y J. L. Arredondo Figueroa (eds). *La Acuicultura en México: Conceptos de Producción*. 67-74.

Matsouka, S. 1995. A review of the nursery and growout culture techniques for flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Japan. In: K.L. Main & C. Rosenfeld (Eds.), Culture of high-value marine fishes in Asia and the United States. Oceanic Inst., Honolulu, p 139-145.

Matsubara, T., N. Ohkubo, T. Andoh, C.V. Sullivan y A. Hara. 1999. Two forms of vitellogenin, yielding two distinct lipovitellins, play different roles during oocyte maturation and early development of Barfin flounder, *Verasper moseri*, a marine teleost that spawns pelagic eggs. *Developmental Biology*. 213: 18-32

Matsuyama, M., S. Adachi, Y. Nagahama y S. Marsuura. 1988. Diurnal Rhythm of oocyte development and plasma steroids hormone level in the female red sea bream *Pargus major* during the spawning season. *Aquaculture* 73: 357-372.

Merson, R.R., C.S. Casey, C. Martínez, B. Siffientino, M. Chandlee and J.L. Specker. 2000. Oocyte development in summer flounder: Seasonal changes and steroid correlates. *J. Fish Biol.* 57: 182-196.

- Mommsen** T.P. y P.J. Walsh. 1988. Vitellogenesis and oocyte assembly. In: Fish Physiology. W.S. Hoar y D.J. Randall, (eds.). Vol. XI A: 347-406. Academic Press NY.
- Mourente**, G. Y Odriozola, J.M. 1990. Effect of broodstock diets on lipid classes and their fatty acid composition in eggs of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) Fish Physiol. Biochem., 8: 93-101.
- Munro** A. D. 1990. Reproductive seasonality in teleosts: Environmental influences. CRC Pres. Boca Raton, Florida, 254 pp.
- Nagahama**, Y. 1983. The functional morphology of teleost gonads. In: Hoar, W.S., D.J. Randall and E.M. Donalson (eds). Fish Physiology Vol. 9A. Academic Press. E.U.A. 223-275.
- Nagahama**, Y., M. Yoshikuni, M. Yamashita, T. Tokumoto y Katsu. 1995. Regulation of oocyte growth and maturation in fish. Current topics in developmental biology. 30: 103-145.
- Nakada**, M., & Murai. 1991. Yellowtail aquaculture in Japan In: J.P. McVey (ed.), Handbook of Mariculture: Vol. II, Finfish Aquaculture. CRC Press, Boca Raton, Florida, p 55-72.

- Nomberg**, B., V. Valkner, I. Huse, I. Karlsen and G. Grund. 1991. Ovulatory rhythms and egg viability in the atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) *Aquaculture* 97(4): 365-371.
- Olivares**, A.; A. Borquez, M. Quiñones; Miranda. 1993. Efecto de la alimentación natural y artificial en la maduración gonadal de *Paralabrax humeralis* en cautiverio. In Resúmenes V Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar, La Paz B.C.S., México. P. 39.
- Piper**, R. G., McElwain, I.B., Orme, L.E., McCraren, J.P., Fowler, L.G., Leonard, J.R. 1982. *Fish Hatchery Management*. Washington, United States Department of the Interior Fish and Wildlife Service, 5^a ed., 517 pp.
- Poxton**, M.G. 1991. Incubation of salmon eggs and rearing of alevins: Natural temperature fluctuations and their influence on hatchery requirements. *Aquacultural Eng.* 10: 31-53.
- Rainuzzo**, J.R., Reitan, K.I. y Jorgensen, L. 1991. Fatty acid and lipid utilization in the yolk-sac stage of marine fish larvae. In: *Larvi 91-fish y Crustacean Larviculture Symposium* (Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers, E. y Ollevier F. eds.) pp. 26-29. Special Publication No. 15, European Aquaculture Society, Gent, Belgium.

- Richard**, J., P. Kestemont, E.R. Kühn y A. Fostier. 1993. Seasonal Changes in plasma levels of steroids hormones in an asynchronous fish the gudgeon *Gobio gobio* L. (Teleostei, Cyprinidae). Gen. Comp. Endocrinol. 92: 168-172.
- Rodríguez-Gutiérrez**, M. 1992. Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces. AGT México. 79 pp.
- Rosales-Velásquez**, M.O. 1997. Efecto de la alimentación sobre los desoves de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Teleostei: Serranidae) mantenida en cautiverio. Tesis de Maestría, CICIMAR-IPN. La Paz B.C.S. México. 62 pp.
- Santamaría-Miranda**, A. y A.A. Rojas-Herrera. 1997. Análisis de la variación morfológica del huachinango, *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922) (Pisces: Lutjanidae) en el litoral de la costa chica de Guerrero, México. Periodo noviembre 1992- diciembre 1994. Resúmenes del V congreso Nacional de Ictiología, Mazatlán, Sinaloa. 170 pp.
- Sargent**, J.R., Henderson, R.J. y Trocher, D.R., 1989. The lipids. In: Halver, J. (Ed.), Fish nutrition, 2nd edn. Academic Press, London, pp. 153-217.

Sargent, J.R., Bell, J.G., Bell, M.V., Henderson, R.J. & Tocher, D.J. 1993. The metabolism of phospholipids and polyunsaturated fatty acids in fish. In: Lahlou B. & P. Vitiello. (Eds). Aquaculture : Fundamental and applied research. Coastal and estuarine studies, 43, 103-24. American Geophysical Union, Washington DC.

Sargent J.R. 1995. Origins and functions of egg lipids: Nutritional implications. In: Brommage N. R. y Roberts R. J. (Eds.) 1994. Broodstock management and egg and larval quality. Blackwell science. 353-372.

Sato N. Y Murata N. 1988. Membrane lipids. Meth & Enz. 167: 261-267.

Sheehan D. Y Hrapchak B. 1980. Theory and practice of histotechnology. 2nd Ed. Battelle Press, Ohio. 173 pp.

Serrano-Pinto V. y Caraveo-Patiño J. 1999. Survival of Amarillo snapper *Lutjanus argentiventris* (Peters 1869) at different salinities in captivity. J. Aquaculture Research 30 (6): p 467-470

Sledel, J., H. Schlumberger, S. Klose, J. Ziegenhom y A.W. Wahlefeld. 1981. Boehringer Mannheim GmbH. J. Clin, Chem. Biochem 19. 838 pp.

- Silva, A.** 1994. Spawning of the chilean flounder *Paralichthys microps* Gunther, 1881 in captivity. J. World Acuculture Soc., 25: 342-344.
- Sorgeloos, P.** y J. Sweetman. 1993. Aquaculture success stories. World Aquaculture, Vol (24):4-14.
- Skipper, J. K.** y Hamilton, T. H. 1977. Regulation by estrogen of the vitellogenin gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74:2384-2388.
- Spicer S.S.** y Schulte B.A. 1992. Diversity of cell glycoconjugates shown histochemically: a perspective. J. Histochem. Cytochem. 40(1): 1-38.
- Szyper, J.P.** 1991. Culture of mahimahi: review of life stages. In: J.P. McVey (ed.), Handbook of Mariculture, vol. II, Finfish aquaculture. CRC Press, Boca Ratón, Florida, p 228-240.
- Tamaru C.S.,** Ako H. Lee Ch.S. 1992. Fatty acid and amino acid profiles of spawned eggs of striped mullet, *Mugil cephalus* L. Aquaculture. 105: 83-94
- Taranger, G. L.** y Hansen T. 1993. Ovulation and egg survival following exposure of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., broodstock to different water temperatures. Aquaculture and Fisheries Management 24 (2): p 151-156 1993.

- Teshima**, S. 1982. Sterol metabolism. In: Proceedings of the 2nd. International Conference on Aquaculture Nutrition, edited by G.D. Pruder, C.J. Langdon and D.E. Conklin. Luisiana State Univ. Baton Rouge p. 205-216.
- Toledo**, J. D.; A. Nagai; D. Javellana. 1993. Succesive spawning of grouper, *Epinephelus suillus* (Valenciennes), in a tank and a floting net cages. *Aquaculture*, 115: 361-367.
- Thomson** D.A., Findley L.T. y A.N. Kerstich. 1979. Reef fishes of the sea of Cortez. John Wiley and Sons, New York, 302 pp.
- Tuker**, J.W. y D.E. Jory. 1991. Marine fish culture success stories. *Wolrd Aquaculture*, 22(1): 10-27.
- Tucker** W. J. 1998. *Marine Fish Culture*. Kluwer Academic Publishers. Boston.750 pp.
- Trocher**, D.R. y Sargent, J. R. 1984. Analyses of lipids and fatty acids in ripe roes of some northwest European marine fish. *Lipids*. 19, 492-9.
- Tyler**, C.R. y J.P. Sumpter. 1996. Oocyte growth and development in teleosts. *Reviews in fish and Fisheries*. 6: 287-318.

- Wahlefeld** A. W. 1974. Methoden der enzymatischen analyse. En: H.U. Bergmeyer (Ed.) Methoden der enzymatischen analyse. 3ra. Edición. 1878 pp.
- Watanabe**, T., Takeuchi, T.; Ogino, C. y Kawabata, T. 1977. Effect of α -tocopherol deficiency on carp. VII. The relationship between dietary levels of linoleate and α - tocopherol requirement. Bull. Japan. Soc. scient. Fish. 43: 935-946.
- Watanabe**, T., C. Kitajima y S. Fujita. 1983. Nutritional values of live organism used in Japan for mass propagation of fish: A review. Aquaculture 34: 115 – 143.
- Watanabe**, T. 1987. Requerimiento de ácidos grasos y nutrición lipídica en los peces. In: Espinosa de los Monteros y U. Labarta (Eds.) Nutrición en Acuicultura II. Industrias Graficas. España 99-149 pp.
- Watanabe**, T. 1990. Nutrition and growth. In: Intensive fish farming. C.J. Shepherd y N. Bromage (Eds.). BSP Professional Books. Great Britain. pp. 154-197

- Watanabe**, W.O.,E.P. Ellis, S.C. Ellis, J. Chaves, C. Manfredi, R.W. Hagood, M. Sparsis & S. Arneson. 1998. Artificial propagation of mutton snapper *Lutjanus analis*, a new candidate marine fish species for aquaculture. J. world Aquac. Soc. 29:176-187.
- Wallace**, R.A. y Selman, K. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. Amer. Zool., 21:325-343.
- Zanuy** S. y Carrillo M. 1993. Técnicas de control de la reproducción en los teleosteos. In : Acuicultura marina. F. Castello Orvay (Ed.). Universitat Barcelona Publicacions. España. pp 125-142.
- Zar**, J. H. 1999. Biostatistical Analysis. Prentice Hall. New Jersey. United States of America. 663 pp.
- Zohar**, Y. 1989. Endocrinology and fish farming: Aspects in reproduction, growth and smoltification. Fish Physiol. Biochem., 7 (1-4): 395-405.
- Zöllner**, N. y K. Kirsch. 1962. Über die quantitative Bestimmung von Lipoiden (Micromethode) mittels der vielen natürlichen Lipoiden (allen bekannten Plasmalipoiden) gemeinsamen Sulphophosphovanillin-Reaktion. Z. ges. Exp. Med., Bd 135, S. 545-561.

Anexo I

Diseño del ciclo fototérmico aplicado en el sistema de recirculación

Monitoreo de estanquería supralitoral

En el experimento de monitoreo del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris* en condiciones naturales de temperatura y fotoperíodo se utilizaron un lote de organismos capturados en la bahía de La Paz B.C.S. en 1996 y un segundo capturado en el mismo sitio en 1998, estos lotes estaban compuestos por 26 organismos que se han mantenido en los estanques supralitorales del CIBNOR, con un volumen útil de 200 m³.



Figura 25. Estanque supralitoral del CIBNOR volumen útil 200 m³.

Para la determinación de los ciclos a emplear en el experimento de maduración y desove se monitorearon en los años 2000 y 2001 las variables ambientales de foto período y temperatura, sabiendo que el ciclo de vida de cada especie, y en especial la etapa reproductiva, esta íntimamente relacionada con los factores ambientales tales como la temperatura, el foto período, y la disponibilidad de

alimento, que influyen directamente sobre la estimulación hormonal (Rodríguez-Gutiérrez, 1992).

Para determinar la temperatura de los estanques supralitorales se utilizó un sensor de temperatura (onset computers Inc. HOBO) calibrado para registrar datos cada 10 minutos. De los datos obtenidos, se calculó el promedio mensual para los años 2000 y 2001. Tomando los registros diarios del USS. Naval Observatory - Astronomical Applications Department, para la ciudad de La Paz Baja California Sur México, con las coordenadas 24°9' N y 110° 18' W, se calculó el promedio mensual de horas luz desde la salida hasta la puesta del sol en la zona.

Tabla XXXI. Promedios mensuales de temperatura y horas de luz solar en los estanques supralitorales.

MES	HORAS DE LUZ SOLAR	TEMPERATURA EN GRADOS °C DE LOS ESTANQUES SUPRALITORALES	AÑO
Enero	10.84	19.1	2000
Febrero	11.36	19.9	2000
Marzo	11.99	20.6	2000
Abril	12.71	22.0	2000
Mayo	13.29	23.1	2000
Junio	13.60	25.9	2000
Julio	13.48	27.8	2000
Agosto	12.98	29.4	2000
Septiembre	12.30	29.0	2000
Octubre	11.61	28.1	2000
Noviembre	10.99	24.7	2000
Diciembre	10.67	21.4	2000
Enero	10.84	19.2	2001
Febrero	11.36	19.4	2001
Marzo	11.99	20.3	2001
Abril	12.71	22.2	2001
Mayo	13.29	23.5	2001
Junio	13.60	27.2	2001
Julio	13.48	28.6	2001
Agosto	12.98	29.6	2001
Septiembre	12.30	28.4	2001
Octubre	11.61	27.8	2001
Noviembre	10.99	25.0	2001
Diciembre	10.67	21.8	2001

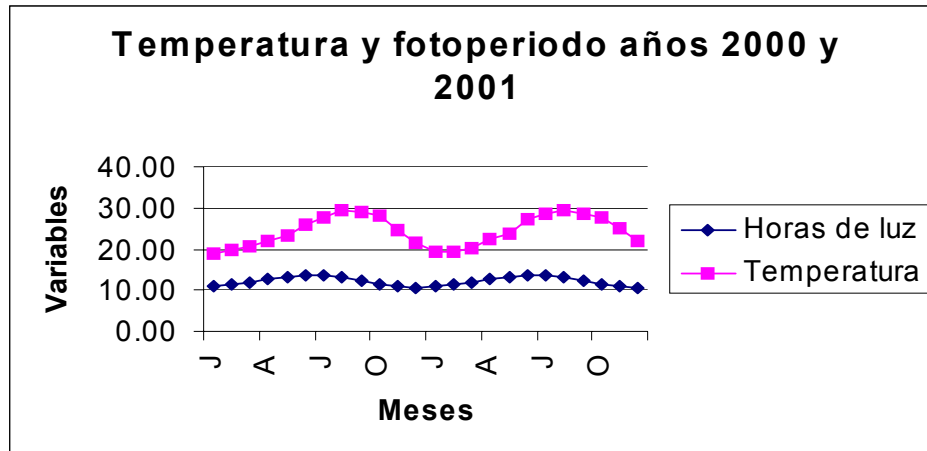


Figura 26. Promedios mensuales de temperatura y horas de luz solar en los estanques supralitorales.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se diseñó un ciclo de temperatura y foto período que se implementó en el bioensayo, la aplicación del mismo cubre ciclos anuales, extendiéndose en las temperaturas y foto períodos mayores y menores imitando el verano y el invierno.

Tabla XXXII. Ciclo fototérmico aplicado en el sistema de recirculación.

Semana	Horas de luz	Temperatura °C
1	8	20
2	10	22
3	12	24
4	14	26
5	16	28
6	16	29
7	16	29
8	16	28
9	14	26
10	12	24
11	10	22
12	8	20

Anexo II

Descripción de las técnicas de extracción de lípidos totales, triglicéridos, colesterol y ácidos grasos.

EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS TOTALES

La base de todos los procedimientos de extracción es separar los lípidos de una matriz biológica por ejemplo células, tejidos animales, fluidos corporales etc. del resto de los constituyentes, proteínas, polisacáridos, y moléculas más pequeñas como amino ácidos y azúcares, además de preservar estos lípidos para análisis subsecuentes. Los lípidos se encuentran inmersos en los tejidos formando dos tipos de uniones principalmente:

- 1) Uniones no polares Vander Waals resultado de la interacción lípido – lípido
- 2) Enlaces hidrofóbicos, electrostáticos y puentes de hidrógeno resultado de la interacción lípido-proteína y lípido-carbohidrato.

Dada la naturaleza hidrofóbica o hidrofílica de los lípidos se utilizan mezclas de disolventes orgánicos de naturaleza polar (metanol, etanol, isopropanol, acetona) y de naturaleza no polar (éter de petróleo, cloroformo, tolueno, xileno, hexano). La utilización de un sistema de disolventes polar/no polar asegura la extracción de la mayoría de los lípidos.

El procedimiento utilizado para la extracción de lípidos totales en el desarrollo de nuestro trabajo fue de acuerdo a la técnica de Blygh y Dyer (1959). Esta técnica se basa en la formación de una mezcla monofásica de $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$ con la que se asegura la extracción de la mayoría de los lípidos incluyendo aquellos que se encuentran ligados a otras moléculas. Se le agrega agua y cloroformo al extracto resultante de tal manera que se forma una solución bifásica formada por metanol y agua en la parte superior y cloroformo en la parte inferior. Para el

procesamiento de nuestras muestras solamente se realizo una modificación a la técnica utilizando solamente $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ en una proporción 1:2 y una proporción 20:1 del solvente con respecto a la muestra.

Procedimiento para la extracción de lípidos totales

Para el desarrollo de la técnica de lípidos totales se utilizo lo siguientes:

Materiales

2 Tubos de vidrio de 15 ml con tapa

1 Tubo de vidrio de 10 ml con tapa

Pipetas Pasteur de vidrio

Papel Aluminio

El equipo utilizado:

Balanza Analítica

Centrifuga refrigerada

Sonicador

Agitador (vortex).

Reactivos:

CH_3OH

CHCl_3

BHT al 1% en CHCl_3

H_2O

Nitrógeno gaseoso.

Limpieza de material

Todos los tubos de vidrio deberán ser tratados previamente con mezcla crómica por lo menos con un día de anticipación, enjuagados con agua destilada, secados en la estufa ($70 \pm 5 \text{ C}^\circ$), enjuagados con $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ secados, y finalmente enjuagados con CHCl_3 .

Procedimiento

- a) Pesar de 2-5 mg de una muestra liofilizada, en un tubo de vidrio de 15 ml (tubo 1).
- b) Adicionar 3 ml de una mezcla metanol:cloroformo (2:1). Cubrir el tubo que contiene la muestra con papel aluminio.
- c) Agregar 5 μL de BHT al 1% en CHCl_3 , 10 μL de solución del estándar interno (1 mg/ml en CHCl_3), Llevar a sequedad con nitrógeno gaseoso.
- d) Sonicar por 15 minutos (3 ciclos) en frío en un baño de agua con hielo.
- e) Incubar los tubos con la mezcla total al menos 4 h/4 C° y cubiertos con papel aluminio; se recomienda dejar dicha mezcla en refrigeración de un día para otro, de esa manera se favorece la extracción completa de los lípidos.
- f) Sonicar otros 15 minutos (3 ciclos) en frío antes de centrifugar.
- g) Centrifugar a 4000 rpm por 20 min a 5 C° . Recuperar el extracto con una pipeta Pasteur y pasarlo a un tubo de vidrio de 15 ml (tubo 2). Agregar 2 ml. de $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (2:1) a la biomasa residual y centrifugar nuevamente a 4000 rpm por 20 min. a 5 C° , recuperando el extracto (tubo 2).

- h) Agregar agua destilada (igual al volumen de $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$) al tubo 2, que contiene el extracto y agitar. Centrifugar a 4000 rpm por 10 min. a $5\text{ }^\circ\text{C}$ y separar la fase CHCl_3 :lípidos.
- i) Eliminar la mayor parte de la fase acuosa superior ($\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$) y separar la fase inferior (CHCl_3 :lípidos), introduciendo con cuidado una pipeta Pasteur y burbujando aire hasta el fondo del tubo. Colocar la fase CHCl_3 :lípidos en un tubo de 10 ml (tubo 3).
- j) Lavar la fase acuosa con 1 ml de CHCl_3 , mezclar con el vortex y centrifugar nuevamente a 4000 rpm durante 10 minutos, recuperar la fase inferior (CHCl_3 :lípidos) y colocarlo en el tubo 3.
- k) En la campana de extracción, secar la fase CHCl_3 :lípidos (tubo 3) con nitrógeno gaseoso.

Extracción y cuantificación de ácidos grasos

Antes del análisis por CGL es necesario preparar derivados no reactivos de los ácidos grasos (normalmente metil ésteres), que además son más volátiles que los ácidos grasos libres. Los lípidos activados son transformados por una reacción de transesterificación, en la cual un mol de glicerol es desplazado por tres moles de otro alcohol (metanol) en condiciones ácidas (HCl o BF_3) o básicas. Para determinar los ácidos grasos presentes en una muestra celular, se realiza un paso previo que consiste en la derivatización analítica de los lípidos este proceso se hace principalmente por dos razones:

- 1) Para permitir el análisis de los compuestos que son volátiles e inestables y que por su naturaleza no se encuentran directamente disponibles.
- 2) Para mejorar la detección de los compuestos durante el análisis cromatográfico.

Los derivados de ácidos grasos más comunes son los metil-ésteres, los derivados butil- y otros alcali ésteres también se emplean, sin embargo, éstos tienen la particularidad de que son algo inestables.

La generación de metil ésteres puede realizarse en condiciones ácidas o alcalinas, el procesamiento de nuestras muestras se realizó en condiciones ácidas.

Materiales

Tubos de tapón de rosca, lavados y secos (3 por muestra)

Tapones de baquelita con septo de teflón

Jeringa de 200-300 μL (sin empaques de goma)

Jeringa de 10 μL (sin empaques de goma)

Viales para insertos de 200-300 μL

Insertos de 200-300 μL

Tapones con septo de teflón para viales

Engargoladora

Desengargoladora

Pipetas pasteur

Propipetas

Gradillas

Equipo

Balanza analítica

Baño de temperatura controlada

Campana de extracción

Vaporizador de salidas múltiples

Puntas para vaporizador

Base ascendente

Reactivos

Solución $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (1:2, v/v)

Solución $\text{HCl}:\text{CH}_3\text{OH}$ (5%, p/p)

Hexano grado HPLC

Nitrógeno gaseoso

Procedimiento:

- a) Pesar 5- 10 mg de muestras (liofilizada) en un tubo con tapón.
- b) Agregar 3 ml de la mezcla de $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (1:2, v/v), continuar con el protocolo de extracción de lípidos totales descrito al inicio de la práctica.
- c) Secar el extracto lipídico con nitrógeno gaseoso y someter a metanólisis (derivatización) adicionando 2.5 ml la mezcla de $\text{HCl}:\text{CH}_3\text{OH}$ (5%, p/p), a 85°C por 2.5 h (Sato y Murata, 1988).
- d) Los metil-ésteres obtenidos de la reacción de metanólisis se extraen con 1 ml de hexano (C_6H_{12}), repitiendo este paso dos veces hasta su total extracción.

- e) Una vez obtenido el hexano se lava con 2 mL de agua destilada 3 veces, atravesando el hexano con una pipeta pasteur (burbujeando); después del tercer lavado se recupera el hexano en el tercer tubo.
- f) Secar el extracto de hexano que contiene los ácidos grasos metil esterificados, con nitrógeno gaseoso.
- g) Resuspender en 250 μ L de hexano los ácidos grasos y colocarlos en un vial con tapa de teflón.
- h) Sellar el vial e inyectar 1 μ l en el cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas.

Los ácidos grasos presentes en las muestras se identifican mediante la comparación de los espectros de masas con los espectros contenidos en la biblioteca (base de datos) de espectros de masas WIST/NBS. Esta identificación se confirma por:

1. Comparación y análisis detallado de los espectros de metil-ésteres de ácidos grasos conocidos.
2. Comparación con los tiempos de retención de los picos en la muestra, con los tiempos de retención de un patrón comercial de metil-ésteres de ácidos grasos poliinsaturados.

Para calcular la concentración de los ácidos grasos presentes en las muestras, se integra el área bajo los picos, que en el sistema GC-MS es directamente proporcional a la masa.

Extracción y cuantificación de lípidos totales, colesterol y triglicéridos

Lípidos totales

La técnica empleada para la cuantificación de lípidos totales en las muestras procesadas durante el desarrollo de nuestro experimento se fundamenta en los trabajos de Barnes H. y J. Blastokstock (1973), basado en la reacción de sulphophosphovanillin descrita por Zöllner y Kirsch (1962) y Drevon y Schmit (1964). El procedimiento empleado para el desarrollo de la técnica se describe a continuación.

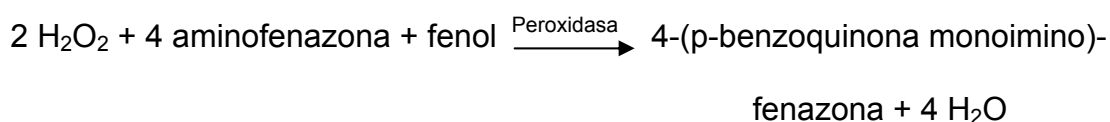
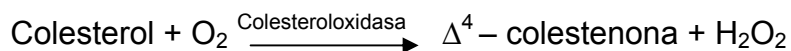
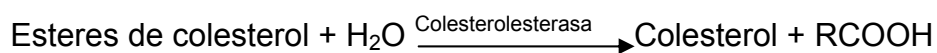
Procedimiento

- 1)** Se pesa 0.1 g de muestra liofilizada, se le agrega 1 ml de solución salina como diluyente se homogeniza para obtener la muestra de trabajo.
- 2)** Se toma 25 µl de muestra de trabajo en un tubo de ensayo.
- 3)** Se colocan 250 µl de H₂SO₄ concentrado.
- 4)** Se calienta a 90 °C, 10 minutos.
- 5)** Se enfría en baño de hielo.
- 6)** Se colocan 20 µl en la placa.
- 7)** Se colocan 200 µl de solución reactiva
- 8)** Se deja incubar por 40 minutos
- 9)** Se lee a 540 nm.

Colesterol

La técnica empleada para la cuantificación de colesterol en las muestras procesadas durante el desarrollo de nuestro experimento se basa el método empleado en los trabajos de Sledel, *et al.* (1981).

Fundamento de la prueba



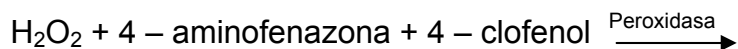
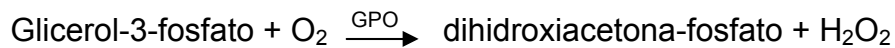
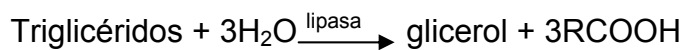
Procedimiento

- 1) Se pesa 0.1 g de muestra liofilizada, se le agrega 1 ml de solución salina como diluyente se homogeniza para obtener la muestra de trabajo.
- 2) Se colocan 20 μl en la placa.
- 3) Se colocan 200 μl de solución reactiva.
- 4) Se deja incubar por 10 minutos
- 5) Se lee a 490 nm.

Triglicéridos

La técnica empleada para la cuantificación de triglicéridos en las muestras procesadas durante el desarrollo de nuestro experimento fundamenta el método empleado en los trabajos de Wahlefeld (1974). El procedimiento empleado se describe a continuación.

Fundamento de la prueba



Procedimiento

- 1) Se pesa 0.1 g de muestra liofilizada, se le agrega 1 ml de solución salina como diluyente se homogeniza para obtener la muestra de trabajo.
- 2) Se colocan 20 μl en la placa.
- 3) Se colocan 200 μl de solución reactiva.
- 4) Se deja incubar por 10 minutos.
- 5) Se deja incubar por 15 minutos.
- 6) Leer a 490 nm.