



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

EDAD, TALLA Y PESO DE PRIMERA MADURACIÓN,
E IDENTIFICACIÓN DEL SEXO MEDIANTE LA
CUANTIFICACIÓN DE ESTEROIDES SEXUALES EN
EL HUACHINANGO *Lutjanus peru* NICHOLS Y
MURPHY (1922) (PISCES) PRODUCIDO POR
ACUICULTURA

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

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

Presenta

DANIEL ROMO MENDOZA

La Paz, Baja California Sur, Enero de 2015

ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las **12:00** horas del día **22** del Mes de **Enero** del **2015**, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"EDAD, TALLA Y PESO DE PRIMERA MADURACIÓN, E IDENTIFICACIÓN DEL SEXO MEDIANTE LA CUANTIFICACIÓN DE ESTEROIDES SEXUALES EN EL HUACHINANGO *Lutjanus peru* NICHOLS Y MURPHY (1922) (PISCES) PRODUCIDO POR ACUICULTURA"

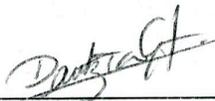
Presentada por el alumno:

DANIEL ROMO MENDOZA

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.

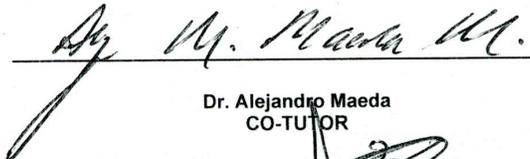
LA COMISION REVISORA



Dra. Danitzia A. Guerrero Tortolero
DIRECTOR DE TESIS



Dr. Rafael Campos Ramos
CO-TUTOR



Dr. Alejandro Maeda
CO-TUTOR



DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA,
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

COMITÉ TUTORIAL

Dra. Danitzia A. Guerrero Tortolero

Director de Tesis. CIBNOR

Dr. Rafael Campos Ramos

Co-Tutor. CIBNOR

Dr. Alejandro Manuel Maeda Martínez

Co-Tutor. CIBNOR

COMITÉ REVISOR

Dra. Danitzia A. Guerrero Tortolero

Dr. Rafael Campos Ramos

Dr. Alejandro Manuel Maeda Martínez

Jurado de Examen de Grado

Dra. Danitzia A. Guerrero Tortolero

Dr. Rafael Campos Ramos

Dr. Alejandro Manuel Maeda Martínez

Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola (suplente)

RESUMEN

El huachinango del Pacífico *Lutjanus peru* es una especie de importancia económica en las pesquerías y su tecnología de cultivo se encuentra en desarrollo. Los huachinangos cultivados en el CIBNOR con tres años de edad se dividieron en tres grupos experimentales: 1) tanque de reproducción en el CIBNOR, 2) estanque supralitoral en el CIBNOR y 3) tanque de reproducción en el CIAD. La primera maduración de huachinango se presentó al cuarto año de edad, a partir de mayo en el CIAD y a partir de junio en el CIBNOR del 2014. Los huachinangos en el estanque supralitoral presentaron maduración gonádica, pero no desove. La supervivencia del huachinango cultivado fue del 16%, equivalente a 40 ejemplares, los cuales presentaron una longitud total (LT) promedio de 562 ± 35 mm, una longitud patrón (LP) promedio de 469 ± 31 mm, y un peso corporal promedio de 2.71 ± 0.41 Kg. De los 40 huachinangos, 9 fueron hembras, y 31 fueron machos, por lo que los sexos no se ajustaron a una proporción de 1:1 ($X^2 = 12.1$, $P < 0.001$), habiendo estadísticamente más machos que hembras, lo que sugiere que ocurrió una mortalidad diferencial por sexo durante el cultivo, en donde al parecer, las hembras fueron más susceptibles de morir durante la engorda y/o la primera maduración, lo cual requiere de más investigación. Las hembras presentaron una LT de 530 ± 13 mm, con un mínimo de 510 y un máximo de 545 mm, una LP de 434 ± 12 mm, con un mínimo de 420 y un máximo de 450 mm, y un peso de 2.45 ± 0.11 Kg, con un mínimo de 2.30 y un máximo de 2.60 Kg. Los machos presentaron una LT de 564 ± 52 mm, con un mínimo de 490 y un máximo de 650 mm, una LP de 462 ± 39 mm, con un mínimo de 420 y un máximo de 540 mm, y un peso de 2.76 ± 0.46 Kg, con un mínimo de 2.00 y un máximo de 3.50 Kg. La hembra de huachinango reproducida en el CIAD presentó una fecundidad absoluta de 47,000 huevos/Kg/desove, mientras que la hembra reproducida en el CIBNOR presentó una fecundidad absoluta de 44,000 huevos/Kg/desove. Para la identificación del sexo, se analizaron los niveles de esteroides sexuales en plasma: 17β -estradiol (E_2), 11-ketotestosterona (11-KT) y testosterona. Con la proporción 11-KT/ E_2 se logró identificar el sexo en huachinango cultivado (generación 2010) y pargo amarillo cultivado (*L. argentiventris*) (generación 2007), así como huachinango silvestre capturado en julio. Sin embargo, no fue confiable identificar el sexo en los huachinangos silvestres capturados en mayo. Con lo anterior, la identificación del sexo a través del análisis de esteroides sexuales fue confiable una vez que los peces presentaron maduración gonádica y reproducción, pero no durante el comienzo de la temporada reproductiva, o bien en huachinangos silvestres inmaduros.

Palabras clave: *Lutjanus peru*, maduración, sexado por esteroides sexuales

ABSTRACT

Pacific red snapper *Lutjanus peru* is a species of economic importance in fisheries and its culture technology is under development. Three year old red snappers reared at CIBNOR were divided in three experimental groups: 1) reproduction tank at CIBNOR, 2) supralitoral pond at CIBNOR, and 3) reproduction tank at CIAD. The first maturation of red snapper occurred during the fourth year of age, from May at CIAD and from June at CIBNOR, 2014. Red snappers in the supralitoral pond had gonadic maturation but not spawning. The survival of cultivated red snapper was 16%, equivalent to 40 fish, which showed an average total length (TL) of 562 ± 35 mm, an average pattern length (LP) of 469 ± 31 mm, and an average body weight of 0.41 ± 2.71 Kg. From the 40 fish, 9 were female, and 31 were males, so the sexes did not fit a ratio of 1: 1 ($\chi^2 = 12.1$, $P < 0.001$), statistically having more males than females, which suggests that differential mortality occurred during sex culture, where apparently, females were more likely to die during the grow out and/or the first maturation, which requires further investigation. Females had a LT of 530 ± 13 mm, with a minimum of 510 and a maximum of 545 mm, a LP of 434 ± 12 mm, with a minimum of 420 and a maximum of 450 mm, and a body weight of 2.45 ± 0.11 kg, with a minimum of 2.30 and a maximum of 2.60 kg. Males had a LT of 564 ± 52 mm, with a minimum of 490 and a maximum of 650 mm, a LP of 462 ± 39 mm, with at minimum of 420 and a maximum of 540 mm, and a body weight of 2.76 ± 0.46 kg, with a minimum of 2.00 and a maximum of 3.50 Kg. The female snapper reproduced at CIAD had an absolute fecundity of 47,000 eggs/kg/spawn, while the female reproduced at CIBNOR had an absolute fecundity of 44,000 eggs/kg/spawn. For the identification of sex, sex steroids levels were analyzed in plasma: 17β -estradiol (E_2), 11-ketotestosterone (11-KT) and testosterone. The ratio of 11 KT/ E_2 allowed the identification of sex in cultivated red snapper (class of 2010) and cultivated yellow snapper (*L. argentiventris*) (class of 2007), and wild red snapper caught in July. However, it was not reliable to identify the sex in the wild snapper caught in May. Therefore, the identification of sex through the analysis of sexual steroids was reliable once fish had gonadic maturation and reproduction, but not during the beginning of the breeding season, or immature wild fish.

Key words: *Lutjanus peru*, maturation, gender identification by sexual steroids

DEDICATORIA

A la ciudad de La Paz.

A todos los que se han involucrado en la búsqueda de una acuicultura sustentable. El uso respetuoso de los recursos marinos en todo el planeta y la solución práctica de los problemas en la domesticación de las especies marinas.

Espero que este trabajo sea útil en la investigación posterior de las especies aquí tratadas.

A mi Abuela Rosa.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación pudo ser terminada gracias al trabajo en conjunto que ha sido realizado en el CIBNOR. Sin toda la investigación previa en esta institución a lo largo de los años, hoy no estaríamos equipados como sociedad con el criterio para llevar a cabo decisiones trascendentales para la vida de esta parte del planeta y formar especialistas comprometidos con nuestra zona biogeográfica.

Gracias al CIBNOR como institución receptora de mis estudios de Posgrado. Se agradece también al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el privilegio de la beca otorgada (Registro No. 281768) que permitió que pudiera llevar a cabo mis estudios de Maestría, así como en este momento permite el de varios otros estudiantes en todo el país.

Al Dr. Leonardo Ibarra Castro del CIAD, Mazatlán, por su colaboración en este estudio. Al técnico José Gilberto Colado Durán quien ayudó en la creación del sistema de recirculación en donde se mantuvieron los peces, llevando a cabo el mantenimiento del mismo y respondiendo ante las eventualidades en los momentos menos adecuados de sus días de descanso, apoyándonos en todo momento posible.

A los técnicos Jorge Angulo Calvillo y Enrique Calvillo Espinoza que fueron de gran apoyo en la captura de los ejemplares silvestres para este trabajo, siendo su éxito una parte crítica para la realización de los ensayos necesarios en este proyecto.

Al Dr. Rodolfo Garza Torres por su apoyo e instrucción en el manejo del equipo del laboratorio y en el procesamiento de las muestras donde invirtió varias horas en verificar que se siguieran los procedimientos de la forma correcta.

Al Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola y a la M.C. Roxana Bertha Inohuye Rivera por su apoyo en la manutención y re-ubicación de los organismos durante los muestreos y cuarentenas; ayudarnos a monitorear la salud de los peces y proporcionar los medicamentos y anestésicos necesarios.

Al técnico Roberto Hernández Herrera por su ayuda en la purificación e interpretación final de las muestras.

A mi comité tutorial: Dra. Danitzia A. Guerrero Tortolero, Dr. Rafael Campos Ramos y Dr. Alejandro M. Maeda Martínez por sus sugerencias, correcciones, enseñanzas y acertadas observaciones hacia un lego del mundo académico al cual era requerido tenerle el doble de paciencia; espero que todo el esfuerzo se vea remunerado con la finalización de este trabajo y los resultados obtenidos.

A la grandísima cronopio Edisa por todos los recuerdos que se le han escapado y a los compañeros del cubículo y de generación con los que he compartido un tiempo muy agradable.

Les agradezco a mis Padres y a toda mi familia por su apoyo incondicional y por estar conmigo para descubrir todas las sorpresas de la vida con todas las particularidades que esta ha tenido en nuestro caso y a las que nadie nos preparó, todos seguimos aún aprendiendo y seguiremos aprendiendo por el resto de nuestras vidas.

A mis amigos Ceci, Paola, Kee, la abominable Chica hámster (yessi), el pato (el pato), José, Hardy, Mauricio, Lluvia y todos los demás. Siempre me acordaré de ustedes.

A todo el personal del Programa de Posgrado del CIBNOR.

Le agradezco al Dr. Alfonso Maeda Martínez su apoyo para esta Tesis.

Gracias.

CONTENIDO

Acta de liberación de tesis	i
Conformación de comites	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Contenido	viii
Lista de Figuras	x
Lista de Tablas	xii
1.INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1. Generalidades de los peces lutjanidos	4
2.2. Huachinango	6
2.3. Reproducción en peces marinos	9
2.4. Esteroides sexuales	12
2.5. Control de la reproducción en cautiverio	13
2.6. Pubertad	15
2.7. Identificación del sexo en reproductores	15
3. JUSTIFICACIÓN	17
4. HIPÓTESIS	18
5. OBJETIVO GENERAL	18
6. MATERIALES Y MÉTODOS	19
6.1. Producción de juveniles de huachinango	19
6.2. Diseño de reproducción	20
6.3. Evaluación de desoves	24
6.4. Captura de reproductores de huachinango silvestres	24
6.5. Anestesia, biometría e identificación del sexo	25
6.6. Muestras de plasma	25
6.7. Purificación de esteroides	25
6.8. Cuantificación de hormonas esteroides	26
6.9. Análisis estadístico	28
7. RESULTADOS	31
7.1. Edad, talla y peso de primera maduración en huachinango cultivado	31
7.2. Talla y peso en huachinango silvestre	31
7.3. Talla y peso en pargo amarillo	32
7.4. Evaluación de desoves y fecundidad	33
7.5. Cuantificación de esteroides sexuales en reproductores	36
7.6. Identificación del sexo mediante la proporción hormonal: 11-ketosterona/ estradiol	40
7.7. Comportamiento reproductivo	45
8. DISCUSIÓN	46
8.1. Edad, talla y peso de primera maduración en huachinango	46

8.2. Fecundidad	48
8.3. Esteroides sexuales	49
8.4. Proporción de hembras y machos de reproductores de huachinango	51
8.5. Comportamiento reproductivo	51
8.6. Anestesia de reproductores de huachinango	52
8.7. Enfermedades en los reproductores de huachinango	53
9. CONCLUSIONES	55
10. LITERATURA CITADA	57

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Huachinango del Pacífico <i>Lutjanus peru</i> producido en CIBNOR. Foto Dr. Rafael Campos Ramos.	7
Figura 2	Ejemplares adultos de tres años de edad de <i>Lutjanus peru</i> en estanques supralitorales, los cuales fueron producidos en el CIBNOR durante el verano del 2010.	20
Figura 3	Tanques de reproducción de <i>Lutjanus peru</i> (Tanque 1) y <i>Lutjanus argentiventris</i> (Tanque 2), cada uno con capacidad de 7 toneladas de agua de mar.	22
Figura 4	Tinaco de 1000 l de capacidad integrado con una bomba de 1 HP, cuyo bombeo pasa a través de un filtro de arena y dos filtros de bolsa (color azul), regresando a los tanques de reproducción.	22
Figura 5	Contenedor de fibra de vidrio de 30 l de capacidad, de color blanco, con tres ventanas de 15 x 20 cm, en donde se instaló malla de 400 μ , para confinar huevos flotantes recién desovados por las hembras durante las primeras horas de la madrugada.	23
Figura 6	Preparación de la placa con la adición de reactivos para llevar a cabo un ELISA.	27
Figura 7	Desoves de huachinango cultivado en el CIBNOR y trasladado al CIAD, Mazatlán al cuarto año para su reproducción.	34
Figura 8	Desoves de huachinango cultivado y reproducido en el CIBNOR en el cuarto año.	35
Figura 9	Desoves de pargo amarillo cultivado y reproducido en el CIBNOR, correspondiente a la generación 2007.	36
Figura 10	Proporción de 11-Ketosterona (11-KT) en relación a Estradiol (E_2) obtenidos para huachinango silvestre capturado en mayo. La línea punteada separa arbitrariamente valores menores a < 0.01 correspondiendo a hembras, mientras que valores iguales o mayores a ≥ 0.01 , correspondiendo a machos. H: hembra, M: macho.	41
Figura 11	Proporción de 11-Ketosterona (11-KT) en relación a Estradiol (E_2) obtenidos para huachinango silvestre capturado en Julio. La línea punteada separa arbitrariamente valores menores a < 0.1 correspondiendo a hembras, mientras que valores iguales o mayores a ≥ 0.1 , correspondiendo a machos. H: hembra, M: macho.	42

- Figura 12 Proporción de 11-Ketosterona (11-KT) en relación a Estradiol (E_2) obtenidos para huachinango cultivado y reproducido en CIBNOR. La línea punteada separa arbitrariamente valores menores a < 0.1 correspondiendo a la única hembra, mientras que valores iguales o mayores a ≥ 0.1 , correspondiendo a machos. H: hembra, M: macho. 43
- Figura 13 Proporción de 11-Ketosterona (11-KT) en relación a Estradiol (E_2) obtenidos para pargo amarillo cultivado y reproducido en CIBNOR. La línea punteada separa arbitrariamente valores menores a < 0.1 correspondiendo a las hembras, mientras que valores iguales o mayores a ≥ 0.1 , correspondiendo a machos. H: hembra identificada por observación de ovocitos. M: macho identificado por esperma fluyente. 44

LISTA DE TABLAS

		Pág.
Tabla I	Registro pesquero de huachinango (HUACH) <i>Lutjanus peru</i> y otras especies de lutjanidos (PARGO) en el Pacífico Mexicano durante 2012.	9
Tabla II	Datos morfométricos (Media \pm DS) de hembras y machos cultivados al cuarto año de edad.	31
Tabla III	Datos morfométricos (Media \pm DS) de hembras y machos de huachinango silvestre sexualmente maduro capturado durante el verano del 2014.	32
Tabla IV	Datos morfométricos (Media \pm DS) de hembras y machos de pargo amarillo, generación 2007 del CIBNOR.	32
Tabla V	Concentraciones hormonales por individuo, peso y sexo de los huachinangos silvestres capturados durante mayo y julio del 2013.	38
Tabla VI	Concentraciones hormonales por individuo, peso y sexo de los huachinangos cultivados (generación 2010) durante julio 2014.	39
Tabla VII	Concentraciones hormonales por individuo, peso y sexo del pargo amarillo <i>L. argentiventris</i> cultivado en el CIBNOR (generación 2007).	40

1. INTRODUCCIÓN

En la piscicultura marina, una especie es seleccionada para ser cultivada cuando se han investigado y evaluado sus atributos de importancia biológica, como son: un crecimiento rápido y resistencia al manejo y estrés en cautividad; su importancia económica, tanto en la evaluación de la especie como un recurso natural explotable y su grado de explotación pesquera; su consumo local, nacional e internacional y otras características de la especie que le añadan valor comercial, como el color, calidad de la carne y la preferencia de consumo. Estos análisis y atributos se cumplen en el huachinango del Pacífico *Lutjanus peru* y por ello es una especie en la que se están invirtiendo recursos de investigación y capital privado para ser cultivada y comercializada en el mercado nacional e internacional.

El cultivo de peces marinos implica investigación en cada una de las etapas de desarrollo de la especie de interés, desde el control de la reproducción, la calidad del desove, la metamorfosis larvaria, el comienzo de la alimentación exógena, la evaluación de peces producidos y la engorda de juveniles. Además, en cada una de ellas se deben de llevar a cabo prácticas de diagnóstico, para el control de parásitos y enfermedades, que permitan llevar a cabo todo el proceso con peces saludables. Toda esta investigación tiene la finalidad, en primera instancia, de cerrar o completar el ciclo de vida en cautividad de la especie, ya que de otra manera, aunque la especie tenga un potencial de cultivo, la tecnología dependerá en su totalidad de la captura de reproductores silvestres, lo cual no permitirá un manejo acuícola adecuado. Adicionalmente, la captura de ejemplares silvestres maduros de huachinango (reproductores) representa un alto costo ya que la disponibilidad del recurso es de difícil acceso, dado el alto grado de explotación pesquera, el cual se abordará más adelante.

En la última década, se ha realizado mucha investigación en las distintas etapas de desarrollo de *L. peru* y paralelamente, también se han evaluado otras especies de lutjanidos con fines tanto de investigación, así como comparativos. La siguiente información destaca las investigaciones en el control de la reproducción de

lutjanidos que se han obtenido en la última década y que fundamentan el presente trabajo de tesis.

La maduración en cautiverio de reproductores silvestres de *L. peru* se logró por primera vez, en un estudio de cinco años, a través de la manipulación de temperatura y fotoperiodo, en donde el desove fue inducido a través de inyecciones intramusculares de la hormona gonadotropina coriónica humana (Dumas *et al.*, 2004). A partir del año 1998 hasta el día de hoy, diferentes especies de lutjanidos se han confinado en estanques supralitorales hasta llegar a adultos, y en todas ellas se ha observado que los reproductores maduran y desovan de forma espontánea durante el verano, sin embargo, el desconocimiento biológico de los ejemplares, no ha permitido establecer la edad y talla de la pubertad o bien, de la primera maduración gonádica (Guerrero-Tortolero, D. A., comunicación personal). La especie más estudiada por la facilidad de obtener los ejemplares silvestres ha sido el pargo amarillo *L. argentiventris*, en donde juveniles silvestres de alrededor de 50 g de peso se cultivaron en estanques supralitorales, logrando al cuarto año de cultivo la maduración y el desove natural durante verano-otoño y adicionalmente, sincronizando y comprimiendo los cambios estacionales del fotoperiodo y temperatura a un periodo de 3 meses, se logró la maduración y el desove natural durante el invierno, por dos años consecutivos. Lo anterior conllevó a concluir que era factible el producir huevos y larvas de esta especie durante todo el año (Guerrero-Tortolero *et al.*, 2010). Otras especies que se han confinado y que han madurado y desovado de manera espontánea han sido: el huachinango *L. peru*, el pargo colorado *L. colorado*, el pargo raicero *L. aratus*, y el pargo prieto o cenizo *L. novemfasciatus* (Guerrero-Tortolero, D.A., y Pérez-Urbiola, J.C., comunicación personal), especies en donde se requiere más investigación. Por otro lado, también el pargo lunarejo *L. guttatus* es una especie de fácil reproducción en cautiverio, en donde su pubertad se alcanza a los dos años de edad y aunque de manera natural la especie desova de manera espontánea, se utilizan implantes de GnRHa (Gonadotropin Release Hormone analog) para optimizar el desove (Ibarra-Castro y Álvarez-Lajonchere, 2009).

En la temporada reproductiva de verano del 2010, se lograron producir 250 juveniles de *L. peru*, en las instalaciones del CIBNOR, los cuales se transfirieron a estanques supralitorales para su engorda. Con lo anterior, el primer objetivo de esta tesis estuvo implicado en analizar la talla y la edad en que estos peces nacidos y cultivados en el CIBNOR, alcanzarían la primera maduración y desove, datos de suma importancia en el manejo del ciclo de vida de esta especie en cautiverio.

Por otro lado, los lutjanidos no presentan dimorfismo sexual. La identificación del sexo es crucial para el manejo de reproductores en la piscicultura marina (Kohn *et al.*, 2013). En la actualidad, no existe un reporte en lutjanidos que indique experimentalmente, cuál es la proporción de hembras y machos y la densidad más adecuada (incluyendo comportamiento) en un tanque de reproducción, lo cual se tendrá que investigar en el futuro. Se sabe por ejemplo, que la proporción del sexo en tilapias tiene un efecto en la fecundidad de la hembras (Khalfalla *et al.*, 2008). En el presente estudio, los reproductores de *L. peru* con tres años de edad, se colocaron al azar en los tanques de reproducción, dado que no había forma de conocer su sexo previamente. Con lo anterior, el segundo objetivo de esta tesis estuvo dirigido a identificar el sexo a través de la cuantificación de hormonas sexuales, para lo cual, se muestrearon huachinangos silvestres al principio de la temporada reproductiva, es decir, en peces de tamaño reproductivo pero que no mostraban signos de maduración de gametos, y también se muestrearon huachinangos silvestres y cultivados en reproducción y como un control positivo y comparativo, pargo amarillo de la generación 2007 producido en el CIBNOR.

2. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades de los peces lutjanidos

De acuerdo a la revisión de Allen (1985), la superfamilia Lutjanidae está compuesta por 17 géneros y 103 especies de peces marinos que viven en los arrecifes y son conocidos como pargos. Se limitan principalmente a las aguas marinas tropicales y subtropicales, aunque tres especies de Indo-Pacífico habitan en agua dulce, y los juveniles de varias especies entran a estuarios de manglar y a las partes bajas de los ríos de agua dulce. La familia se distribuye en cuatro faunas geográficas bien diferenciadas: (1) del Pacífico oriental, (2) Indo-Pacífico Occidental, (3) del Atlántico oriental y (4) del Atlántico occidental. La familia Lutjanidae es divisible en cuatro subfamilias: Etelinae, Apsilinae, Paradicichthyinae, y Lutjaninae que contiene cinco géneros monotípicos: *Hoplopagrus*, *Macolor*, *Ocyurus*, *Pinjalo* y *Rhomboplites*, y las 65 especies conocidas del género *Lutjanus*. Los pargos son delgados y habitan profundidades intermedias hasta los 100 m. Sin embargo, algunas especies habitan en lo profundo de 100 a 500 m. Presentan dientes en el vómer y su aleta caudal puede ser truncada o notablemente bifurcada con escamas alargadas en la base de las aletas caudal y anal. Los pargos son depredadores activos que se alimentan principalmente de noche con una gran variedad de presas, aunque los peces son dominantes en la dieta de la mayoría de las especies. Están equipados con grandes dientes caninos, adaptados para tomar y mantener su presa. Otros alimentos comunes incluyen cangrejos, camarones, otros crustáceos, gasterópodos y cefalópodos. Los pargos de cuerpo fusiforme relativamente delgado y con una aleta caudal bifurcada, como algunos miembros de los géneros *Ocyurus*, *Paracaesio*, *Pristipomoides* y *Rhomboplites*, consumen una cantidad significativa de plancton, especialmente urocordados, y tienen una dentición más débil con menos caninos agrandados en el mandíbulas. La vida máxima de los pargos se ha estimado entre 4 y 21 años, sobre la base de anillos de crecimiento

en otolitos y vértebras. En general, las especies más grandes tienen vidas más largas, quizás en el rango de 15 a 20 años.

Los lutjanidos son gonocóricos (sexos separados) y muestran poco o ningún dimorfismo sexual en la estructura o en el color patrón. Después de la diferenciación sexual, el sexo permanece constante durante todo el ciclo de vida. En promedio alcanzan la primera madurez en aproximadamente 43 al 51% de la longitud total máxima, los machos inician su etapa de madurez, a tallas un poco más pequeñas que las hembras. Sobre la base de la abundancia de larvas, dos tipos de patrones reproductivos estacionales son comunes entre la familia: (1) una temporada prolongada de verano, y (2) un patrón más o menos continuo con la actividad pico en la primavera y el otoño. Las hembras generalmente desovan varias veces durante cada temporada reproductiva, con temperaturas que fluctúan entre los 24-26°C y los 26-28 °C, dependiendo de la latitud de sus zonas de reproducción. Los machos inician el cortejo “picoteando” y frotándose contra el cuerpo de la hembra; eventualmente diez o más peces se unen e inician un ascenso en espiral, liberando los gametos cerca de la superficie. Los huevos pelágicos son esféricos con un diámetro que oscila entre 0.65 a 3.0 mm, aunque los huevos de la mayoría de las especies son menores a 0.85 mm. Se caracterizan por una sola gota de aceite pequeña que proporciona flotación durante la fase pelágica. Los tiempos de incubación varían entre 17 y 27 horas dependiendo de la especie y la temperatura. Las larvas recién eclosionadas son escasamente pigmentadas, tienen un gran saco vitelino, ojos no pigmentados, sin boca, y las capacidades de natación muy limitadas. Las reservas del saco vitelino, duran alrededor de 3 o 4 días. La característica más llamativa de las larvas es el desarrollo de una espina pronunciada en la cabeza y las espinas pélvicas y dorsal alargadas. La metamorfosis generalmente se produce en longitudes totales que varía entre aproximadamente 12 y 20 mm o después de una etapa pelágica estimada de entre 25 y 47 días.

Aunque los pargos rara vez constituyen el principal foco de las principales pesquerías comerciales, son un importante componente de la captura artesanal

local en toda su área de distribución geográfica. Debido a sus hábitos solitarios y comportamiento territorial, las especies más grandes no son capturadas en grandes cantidades, sin embargo, su comercialización es alta en los mercados. Los pargos son capturados con una variedad de métodos que incluyen líneas de mano, trampas, diversos tipos de redes y artes de pesca de arrastre. Debido a su amplia distribución y el arte artesanal de pesca, existe poca estadística de captura para este grupo.

2.2. *Huachinango*

Lutjanus peru Nichols y Murphy (1922), nombre común: huachinango del Pacífico, Pacific red snapper (Fig. 1). Presenta un cuerpo alargado, comprimido, con un dorso un tanto elevado, un perfil dorsal casi recto, hocico poco agudo, boca ligeramente oblicua, dientes mandibulares pequeños, caninos débiles presentes solo en la mandíbula superior; dientes vomerinos agrupados en forma de diamante. Aleta caudal lunada, alta, de lóbulos puntiagudos; aleta pectoral puntiaguda, que llega al origen de la anal. Los especímenes grandes desarrollan una ranura en la parte delantera del ojo a la nariz y en la parte superior del preopérculo detrás del ojo. Muesca preopérculo y pomo débil. Filas de escamas en la parte posterior que se levantan oblicuamente sobre la línea lateral. Color principal de rojo a rosa con una tonalidad plateada; las aletas rojizas. Espinas dorsales (total): 10; radios blandos dorsales (total): 13-14; espinas anales: 3; segunda espina anal más fuerte que la tercera; radios blandos anales: 8. Hueso preorbital muy amplio en los adultos. Su hábitat es marino asociado a arrecifes alrededor de 40 m de profundidad. Sin embargo, los adultos se encuentran sobre fondos duros en zonas de arrecifes costeros hasta una profundidad de al menos 80 m. Su distribución comprende el Pacífico oriental desde el bajo Golfo de California hasta Perú (Tropical; 28°N - 17°S, 115°W - 74°W). Su talla de primera maduración es de 22 cm, su longitud total máxima es de 95 cm, su peso máximo es de 5.8 Kg, y su longitud media es de 50 cm. Es carnívoro, se alimenta de

grandes invertebrados y peces. Se comercializan frescos o congelados gracias a la excelente calidad de la carne (Allen, 1985).



Figura 1. Huachinango del Pacífico *Lutjanus peru* producido en CIBNOR. Foto Dr. Rafael Campos Ramos.

La época de maduración sexual y desove para *L. peru* corresponde al verano. En el caso de las hembras se ha reportado que sus ovocitos pre-vitelogénicos presentan un diámetro de 400 μm aproximadamente; además se ha puntualizado que la fecundidad en las hembras se encuentra relacionada proporcionalmente con el tamaño de las mismas y por lo tanto también con el peso. Los huevos recién desovados presentan un diámetro alrededor de 0.9 mm, mientras que la gota de aceite presenta un diámetro alrededor de 0.151 mm. La eclosión se produce a temperaturas de 25 a 30 °C, con una longitud del eleuteroembrión alrededor de 2.1 mm (Pintos-Terán *et al.*, 2003).

L. peru es un recurso pesquero importante para México (Anónimo, 2010). Es un pez muy popular en la industria restaurantera y turística de tal forma que se oferta en todo el país. Aunque es intercambiable gastronómicamente con otros pargos

rojos en todo el mundo, existen pocos datos de su exportación. El precio entero se encuentra en los \$78/kg al mayoreo y \$94/kg al menudeo (Anónimo, 2012) habiendo una plusvalía en peces de talla L50 al ser el tamaño más manejable y su presentación final gastronómica es muy valiosa modificando mucho el precio final del pez como platillo (Santamaría y Chávez, 1999; Reddy *et al.*, 2013). A nivel genético, no hay una diferenciación poblacional de huachinango a lo largo de las costas de Baja California Sur, Sinaloa y Jalisco, por lo que se sugiere que existe un flujo genético entre ellas (Rocha-Olivares y Sandoval-Castillo, 2003). Actualmente se encuentra en su máximo aprovechamiento sostenible con indicios de sobreexplotación y no existe un control regulatorio de la pesca comercial para esta especie en tallas y veda pero es recomendable que exista, siendo necesario evitar la captura de individuos menores a 37 cm ya que estos son peces que aun no han participado por primera vez en un evento reproductivo a pesar de su talla adulta (Santamaría, 1999; Díaz-Uribe *et al.*, 2004; Reddy *et al.*, 2013). Los registros pesqueros oficiales no permiten reconocer a las distintas especies involucradas en la pesca de lutjanidos, por lo que el diagnóstico ecológico y la salud de las pesquerías puede llegar a considerarse impreciso actual e históricamente (Arreguín-Sánchez *et al.*, 2011). La CONAPESCA emitió los datos estadísticos de pesca para el anuario estadístico de acuicultura y pesca 2012, en donde se registran los valores de captura para "Huachinango" y "Pargo" (Tabla I). Eliminando las zonas del Atlántico en donde no habita *L. peru*, se obtiene que ese año las pesquerías extrajeron 3,108 toneladas equivalentes a *L. peru* y 2,668 de lutjanidos similares del Pacífico mexicano ("pargo") como *L. guttatus* y *L. argentiventris* (Anónimo, 2012).

Tabla I. Registro pesquero de huachinango (HUACH) *Lutjanus peru* y otras especies de lutjanidos (PARGO) en el Pacífico Mexicano durante 2012.

PEZ	ENTIDAD	Total	PEZ	ENTIDAD	Total
HUACH	BC	0	PARGO	BC	1044
	BCS	769751		BCS	368797
	CHIS	27012		CHIS	147474
	COL	136344		COL	80432
	GRO	602428		GRO	363889
	JAL	428516		JAL	305485
	MICH	161802.5		MICH	74016
	NAY	321485.5		NAY	436147
	OAX	453236		OAX	242566
	SIN	237802		SIN	456395
	SON	41728		SON	192232
Total HUACHINANGO		3180105	Total PARGO		266848
Total Kilos					5848583

Anónimo, 2012. Sagarpa Conapesca.

2.3. Reproducción en peces marinos

De acuerdo con la revisiones de Muñoz-Cueto (2005), Yaron y Levavi-Sivan (2011), retomadas por Burgos-Aceves (2011), la reproducción en peces es regulada por factores ambientales externos como el fotoperiodo, temperatura, lluvias, presión atmosférica, mareas, alimento, densidad poblacional, presión de depredación, feromonas etc., que perciben los peces y que activan mecanismos endocrinos internos, que sincronizan tanto machos y hembras e implican una comunicación y coordinación de los órganos involucrados en la reproducción (Hazon y Balment, 1998; Rottman *et al.*, 1991; Bromage *et al.*, 2001). El sistema, o eje endocrino reproductivo, conformado por el hipotálamo, la glándula pituitaria (o hipófisis) y la gónada (HPG), descifra señales tanto externas como internas para dar inicio y término a la maduración gonádica y determina el momento idóneo que garantice una mayor supervivencia de la progenie, con liberación de los gametos (Van der Kraak *et al.* 1998; Bromage *et al.*, 2001; Mylonas y Zohar, 2001; Yaron y

Levavi-Sivan, 2011). El hipotálamo y la glándula pituitaria controlan la reproducción a un nivel neuroendocrino y se retroalimentan por la producción de hormonas de la gónada, lo que ocasiona cambios morfológicos en los peces como la coloración, impone el comportamiento reproductivo de cada especie, y moviliza reservas energéticas para el desarrollo ovárico (Hoar, 1969; Habibi y Andreau-Vieyra, 2007). Una vez iniciada la temporada reproductiva, se activa el eje HPG integrando y traduciendo los estímulos ambientales en señales electroquímicas, por foto-receptores y quimiorreceptores del órgano pineal; perteneciente al sistema nervioso central, los cuales interconectan circuitos neuronales precisos para la liberación de determinadas neurohormonas en el hipotálamo conocidas como hormonas liberadoras de gonadotropinas (GnRHs) o gonadoliberinas que en conjunto con otros factores cerebrales, como el factor inhibidor de la liberación de gonadotropinas (como la dopamina), regulan su actividad dentro de la hipófisis (Ekström y Meissl, 1997; Dufour *et al.*, 2010). Las GnRHs, se producen en diferentes áreas del cerebro (hipotálamo) y acceden a la hipófisis a través de conexiones neuronales directas. Su interacción con receptores específicos, situados en la membrana de los gonadotróforos de la glándula pituitaria y acoplados a diversos sistemas de segundos mensajeros, estimulan la síntesis y secreción de glicoproteínas conocidas como gonadotropinas (Peter, 1983). En la hipófisis se sintetizan dos tipos de gonadotropinas ó GtHs: la GtH I, involucrada en la vitelogénesis y espermatogénesis y la GtH II, involucrada en la maduración final del ovocito, ovulación y espermiación. Éstas hormonas son homologas a la hormona folículo estimulante (FSH, en inglés) y a la hormona leutinizante (LH, en inglés) respectivamente, de tetrápodos y mamíferos (Swanson *et al.*, 2003). Una vez sintetizadas, son liberadas al torrente sanguíneo y secuestradas en la gónada en donde la GtH I ó FSH estimula la síntesis de testosterona (T), un potente andrógeno (Schulz y Miura, 2002), sintetizada en la teca del ovocito y la cual es aromatizada en la granulosa convirtiéndose en 17 β -estradiol (E₂), un potente estrógeno (Dye *et al.*, 1986; Zanuy y Carrillo, 1987; Hara *et al.*, 1993; Ng *et al.*, 1997; González y Piferrer, 2003; Piferrer y Blázquez, 2005), en un proceso de

retroalimentación continuo (Peter y Yu, 1997). En las hembras, el hígado responde al estímulo de E_2 y produce vitelogenina (VTG), que viaja por torrente sanguíneo y es incorporada en los ovocitos vía endocitosis en forma de vitelo (Babin *et al.*, 2007; Mañanós *et al.*, 1994), ocurriendo la vitelogénesis o primera etapa de maduración (Tyler y Sumpter, 1996; Ng *et al.*, 1997; Dawson, 1998). En los machos, en esta primera etapa se lleva a cabo la espermatogénesis que culmina con la producción de espermatozoides flagelados o espermiogénesis (Mylonas y Zohar, 2001). La segunda parte del proceso de maduración final de la gónada, se lleva a cabo una vez que los ovocitos ya han alcanzado un tamaño apreciable, y los espermatozoides ya están en los lúmenes del testículo. A partir de estas condiciones se incrementan los niveles de GtH II ó LH y disminuye el nivel de GtH I o FSH, por lo que se da un cambio en la síntesis de los esteroides producidos por la gónada. En las hembras cercanas a la etapa de ovulación, se da un cambio drástico a algún tipo de precursor de la progesterona, principalmente la $17\alpha,20h$ -dihydroxy-4-pregnan-3-uno, entre otros, dependiendo de la especie y en machos se incrementa la 11-ketotestosterona (Redding y Patiño, 1993; Dawson, 1998; Yaron y Levavi-Sivan, 2011). En las hembras, la maduración final del ovocito (FOM, en inglés) ocurre al finalizar la vitelogénesis. El núcleo o vesícula germinal (GV, en inglés) migra hacia el polo animal formándose el micrópilo, sitio de entrada del espermatozoide. Las gotas lipídicas presentes en el citoplasma se fusionan y hay un rompimiento de la membrana nuclear (GVBD, en inglés), seguida de una marcada hidratación del ovocito, y se reinicia la meiosis poco antes del desove (Goetz, 1983; Yaron, 1995). En los machos, la etapa final o espermiación ocurre durante la temporada de desove e incluye la adquisición de motilidad del espermatozoide, hidratación de los testículos con plasma seminal y producción considerable de esperma (Slater *et al.*, 1994). El proceso reproductivo culmina con la liberación de los gametos al medio externo en donde ocurre la fertilización.

2.4. Esteroides sexuales

De acuerdo con la revisión de Yaron y Levavi-Sivan (2011), retomada por Burgos-Aceves (2011), la gónada de los peces teleósteos produce tres tipos de esteroides que son importantes para la reproducción (Foister *et al.*, 1983): los estrógenos, como el 17- β estradiol (E_2), y la estrona; los andrógenos, como la Testosterona (T), la 11-Ketotestosterona (11-KT), y la androstendiona y por último; las progestinas, progestágenos o esteroides: Pregnenolona, 17 α -hidroxipregnenolona, Progesterona, 17 α -hidroxiprogesterona (17 α HP), 17 α -20 β -dihidroxiprogesterona (17 α 20 β DHP), 17 α -20 β -21 trihidroxiprogesterona (17 α 20 β 21THP). En hembras, el cambio hormonal en la maduración final de los ovocitos (Maturation inducing steroids "MIS", en inglés), en presencia de la LH, puede estar involucrada una de las siguientes hormonas dependiendo de la especie: el 17 α ,20 β -dihidroxi-4-pregnan-3-uno (17,20 β P ó DHP), el 17,20 β ,21-trihidroxi-4-pregnan-3-uno (17,20 β ,21-P ó 20 β -S ó THP), el 20 β dihydroprogesterona y el 11-deoxicorticosterona (DOC) y son sintetizados y secretados de las células foliculares que rodean al ovocito (Nagahama y Yamashita, 2008). Después de su producción los MIS atraviesan la zona radiata, hacen contacto con receptores en la superficie de la membrana del ovocito (Redding y Patiño, 1993; Thomas *et al.*, 2002; Thomas, 2003) y se da inicio la maduración final, en donde está involucrada el rompimiento de la vesícula germinal (GVBD). De estos esteroides, el DHP está considerado como el MIS con mayor eficacia en la mayoría de los teleósteos (Voronina y Wessel 2003; Nagahama y Yamashita, 2008). Estos cambios esteroidogénicos y el proceso de maduración final (FOM) pueden durar tan sólo horas, un par de días o más de una semana dependiendo de la especie (Mylonas y Zohar, 2001). En los machos, los principales andrógenos son la T, la 17 α HP, y la androsterona, los cuales son precursores de la 11-KT y todos juegan un papel preponderante en la espermatogénesis y el comportamiento reproductivo. Sin embargo, la 11-KT es el principal estimulante en el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios de salmones y por lo tanto, los niveles de T y 11-KT varían durante casi todo la

temporada reproductiva (Hoar, 1969). Además, se ha reportado al E_2 como una “hormona masculina” indispensable que juega un papel importante en la renovación de espermatogonias (Miura y Miura, 2003). Las hormonas esteroides circulan en sangre ya sea de manera libre, ligados a albumina o a una proteína ligante de esteroides específicos (sex steroid binding protein, SBP). Los estrógenos y los andrógenos, principalmente E_2 y T, se unen a estas SBP, aunque también se unen a progesteronas y corticoides pero en menor afinidad. Los esteroides unidos a las SBP se protegen del metabolismo, esto es, previenen de la degradación del esteroide por lo que la SBP actúa como un reservorio plasmático de T y E_2 (Hobby *et al.*, 2000).

2.5. Control de la reproducción en cautiverio

De acuerdo con las revisiones de Zohar y Mylonas (2001), Mylonas y Zohar (2001), retomadas por Burgos-Aceves (2011), la acuicultura tiene como objetivo primordial la reproducción de especies de mayor interés socio-económico bajo condiciones controladas de cautiverio. Sin embargo, las condiciones en las que se encuentran las poblaciones naturales, no se pueden simular completamente en cautiverio y por ello, en la mayoría de las especies se observan alteraciones en su ciclo reproductivo, principalmente porque se genera una combinación del estrés por el confinamiento, la manipulación, el espacio insuficiente y la falta de algún estímulo ambiental apropiado (Schreck *et al.*, 2001; Mylonas y Zohar, 2007). Algunas especies no se reproducen durante el primer año en cautividad y otras no llegan a hacerlo nunca, probablemente por alguna alteración endocrina (Matsuyama *et al.*, 1991). Como se ha mencionado anteriormente, el eje HPG involucra varios órganos involucrados en la reproducción, de tal manera que la disfunción se puede presentar durante la primera etapa de la gametogénesis, siendo ésta la más frustrante en la acuicultura dado que los reproductores nunca maduran; por otro lado, la disfunción se puede presentar durante la maduración final (FOM), o bien, durante la ovulación o desove (Zohar y Mylonas, 2001). Con lo anterior, el manejo de factores ambientales, principalmente fotoperiodo y

temperatura, se deben de aplicar de una manera artificial, utilizando lámparas y calentadores que simulen ciclos de fotoperiodo naturales de acuerdo a incrementos graduales de temperatura. En algunas especies sólo se logra llegar hasta la maduración gonádica, sin que se presente el cortejo reproductivo y el desove, por lo que es necesario inducir la maduración final a través de la administración de tratamientos hormonales exógenos (Mylonas y Zohar, 2007). En primer instancia se utilizaba extracto crudo de pituitaria (Houssay, 1930), y posteriormente se comenzó a utilizar la hormona gonadotropina corionica humana (hCG, en inglés), extraída de la orina de mujeres embarazadas (Lam, 1982), sin embargo, se ha visto que en algunos peces pueden llegar a generar resistencia inmune a dicha glucoproteína (Zohar y Mylonas, 2001). La hCG estimula directamente la gónada y actualmente es muy utilizada. Otra forma de inducir el desove es con el uso de hormonas que estimulen cerebro y la pituitaria y que indirectamente estimulen la gónada de una manera más natural. Para ello se han utilizado análogos a la hormona liberadora luteinizante (LHRHa en inglés) (Thomas y Boyd, 1988), y/o bien, a la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRHa en inglés) (Peter *et al.*, 1988), ya que estos decapeptidos son pequeños y no generan respuesta inmune, además pueden permanecer por más tiempo en el torrente sanguíneo ya que son resistentes a la degradación enzimática de las endonucleasas (Zohar y Mylonas, 2001; Mylonas y Zohar, 2007). Sin embargo, el uso de GnRHa no siempre resulta en una ovulación satisfactoria ya que se ha observado que en especies con desarrollo asincrónico y desoves múltiples, es mínimo el porcentaje de hembras que alcanzan la ovulación y el desove, por ello es que se emplean diversos tratamientos hormonales: GnRHa sola, GnRHa más dopamina, GnRHa más LH, etc. y su uso dependerá de la especie (Mylonas y Zohar, 2001). El problema con la inducción hormonal es que los reproductores se tienen que manipular, es decir; se debe de aplicar anestesia para inyectarlos y nuevamente anestésarlos para la extracción de los gametos, por medio de *stripping* o presiones abdominales, lo cual genera un elevado estrés, que se ve reflejado en la disminución de la calidad del desove, fecundidad y fertilidad de los

gametos por un efecto de inmunodepresión (Hobby y Pankhurst, 1997), o bien, un incremento de estrés, evaluado mediante la concentración de cortisol en sangre, el cual está relacionado con una inhibición en la producción de los esteroides sexuales (Tort *et al.*, 2004).

2.6. Pubertad

La pubertad en peces es la transición de un estado de juvenil inmaduro a un adulto maduro en donde su sistema reproductivo es funcional por primera vez. Lo anterior indica una capacidad funcional del eje cerebro hipófisis y gónada. En algunas especies la maduración precoz es un problema, (p.e. salmones y tilapias), esto provoca un menor crecimiento, una disminución en la calidad de la carne, deterioro en el estado de salud, entre otros (Taranger *et al.*, 2010). En otras especies la pubertad tardía también es un problema ya que la maduración no se presenta. La maduración y la talla están moduladas por factores genéticos y medioambientales. El establecimiento de la pubertad es regulada por el eje endocrino y un rango de factores internos y externos que modulan esta activación, como puede ser el crecimiento, la grasa corporal, el fotoperiodo, la temperatura y los factores sociales (Taranger *et al.*, 2010).

2.7. Identificación del sexo en reproductores

La captura de reproductores de peces marinos del medio silvestre es la primera fase esencial de toda actividad piscícola, para el establecimiento de un pie de cría de determinada especie. La captura silvestre pudiera estar sesgada a machos o a hembras, dependiendo de factores ecológicos como la profundidad, como se reporta en *L. vittus* (Davis y West, 1992) y del comportamiento reproductivo de los lutjanidos durante la reproducción (Allen, 1985). La captura silvestre podría estar sesgada a un sexo, en especies hermafroditas secuenciales como los meros de la familia Serranidae, ya que los peces se desarrollan con un sexo y posteriormente se revierten al otro (Warner, 1975). Sin embargo, tratándose de especies gonocóricas, se procura tener un número apropiado de

reproductores en donde ambos sexos estén representados y se espera que aproximadamente la mitad sean hembras y la otra mitad sean machos. Sin embargo, la identificación del sexo en la mayoría de las especies comerciales marinas no es posible, como por ejemplo, la lubina del Mediterráneo *Dicentrarchus labrax*, ó la especie de este estudio, el huachinango del Pacífico *L. peru*, dado que no se presenta un dimorfismo sexual, es decir, las características sexuales secundarias como color, morfología corporal y apariencia relativa a la época de apareamiento, son casi nulas o difíciles de percibir (Zohar y Mylonas, 2001). Para la identificación del sexo por gametos sexuales, el pez debe de ser anestesiado; se puede ejercer una ligera presión sobre el abdomen del pez para poder hacer la observación de esperma fluyente, si no se observa nada, entonces se procede a realizar la extracción de los tejidos gonádicos y ovocitos previtelogénicos mediante un catéter (biopsia ovárica), si no se obtiene nada, se puede intentar identificar anatómicamente la papila genital, en donde en los machos se presentan solo dos aberturas: la anterior, anal, y la posterior, urogenital, mientras que en hembras son tres: la más anterior, el ano, después el poro genital y por último la abertura urinaria (Álvarez-Lanjochére y Hernández-Molejón, 2001). Dicha técnica en especies como los pargos y cabrillas, es o puede ser bastante especulativa, es decir, depende del criterio de quien hace la observación y por lo general es muy imprecisa.

En el pez hapuku *Polyprion oxygeneios* no existe tampoco dimorfismo sexual y la identificación del sexo se pudo establecer mediante la presencia de vitelogenina (Vtg) en plasma; sin embargo, el pez tenía que estar en su etapa de maduración para detectarla y cuantificarla. También la madurez gonadal se pudo evaluar mediante imágenes de ultrasonido tanto en ovarios como en testículos maduros, pero con grandes limitaciones, dado la complejidad de las imágenes y la interpretación de las mismas. La técnica más confiable fue la medición de hormonas esteroides y particularmente la proporción hormonal de las concentraciones de 11-ketotestosterona con respecto al estradiol E₂ (11-KT/E₂) (Khon *et al.*, 2013).

3. JUSTIFICACIÓN

El huachinango del Pacífico es una fuente de proteína de origen marino bien recibida en la población mexicana. El cultivo de esta especie podría fomentar el consumo nacional e incrementar el mercado de exportación, así como generar empleos en la acuicultura. Sin embargo, es necesario que se tenga el conocimiento científico y tecnológico relacionado a su ciclo de vida en cautiverio. La aportación de este estudio es de particular importancia ya que da a conocer el registro de tallas y pesos de primera maduración y el tiempo que se requiere para cerrar el ciclo de vida del huachinango y así programar futuras generaciones de peces. Además, contribuye al manejo de reproductores con la identificación del sexo y fundamenta el método para investigaciones futuras en la generación y selección de familias, entre muchos otros puntos de investigación. El huachinango del Pacífico *L. peru* presenta un crecimiento más rápido en comparación a otras especies de lutjanidos evaluadas. Reportes de engorda muestran un crecimiento de 2.64 - 2.79 g/día (Garduño-Dionate *et al.*, 2010), y representa un gran potencial de explotación en costas mexicanas del Pacífico. En la actualidad, esta especie recibe mucha atención científica, tecnológica y empresarial. Por otro lado, especies con tasas de crecimiento más bajas, pero también importantes económicamente y para la investigación, como el pargo lunarejo (*L. guttatus*) con 1.46 - 2.21 g/día (Garduño-Dionate *et al.*, 2010). Por último, especies de muy bajo crecimiento pero importantes para la investigación como el pargo amarillo (*L. argentiventris*) con 0.30 - 0.50 g/día (Guerrero-Tortolero *et al.*, 1999). Por lo anterior, el Programa de Acuicultura del CIBNOR, considera al huachinango como una especie estratégica de cultivo, lo cual implica el destinar recursos de investigación, formar recursos humanos y la vinculación con el sector privado para que esta especie despegue en la producción acuícola.

4. HIPÓTESIS

Si se considera que en *L. peru* silvestre de B.C.S., la talla de primera maduración es a partir de los 33 cm, correspondiendo a una edad de 3.4 años, entonces la primera maduración en el huachinango producido por acuicultura deberá encontrarse dentro de estos valores. Adicionalmente, si la proporción hormonal de la concentración de 11-ketotestosterona con respecto a la concentración de estradiol es distinta entre hembras y machos de *L. peru*, entonces con estos marcadores bioquímicos se podrá identificar el sexo en los reproductores.

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la edad, talla y peso de primera maduración e identificar el sexo del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru* silvestre y cultivado mediante análisis de esteroides sexuales.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Obtener la edad, talla y peso de primera maduración en *L. peru* cultivado en CIBNOR.
2. Evaluar el efecto de temperatura en los desoves y la fecundidad de huachinango cultivado.
3. Medir los niveles de 11-ketotestosterona, testosterona y estradiol en reproductores de *L. peru* mediante la técnica de inmunoensayo ELISA.
4. Analizar la proporción de 11-ketotestosterona con respecto a estradiol para identificar el sexo de los reproductores.
5. Evaluar si las hormonas son detectables durante la maduración gonádica, (ovocitos vitelogénicos y esperma poco o nada fluyente), maduración final (hembras en etapa de desoves y machos fluyentes de esperma) y recrudescencia gonadal.
6. Realizar observaciones de comportamiento reproductivo.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Producción de juveniles de huachinango

En la temporada reproductiva de verano del 2010, ocurrieron desoves espontáneos de *L. peru* en los estanques supralitorales del CIBNOR y los huevos se colectaron y se incubaron en piletas de concreto de 5 toneladas y tanques redondos de fibra de vidrio de 3 toneladas de agua de mar de capacidad. Estos sistemas fueron preparados durante dos semanas previas a la incubación de huevos, suministrando todos los días diferentes especies de microalgas y copépodos de la especie *Pseudodiaptomus euryhalinus* hasta que se observó una biomasa notable de copépodos de diferentes tamaños. Después de un mes de cultivo larvario, entre el 30 de junio y el 10 de julio, se lograron producir 250 juveniles de *L. peru*, los cuales se transfirieron a estanques supralitorales para su engorda. La alimentación de los juveniles consistió de sardina, macarela, y calamar picado cuatro veces por semana *ad libitum*, y complementando con cabeza de camarón. Después de un año de cultivo, la alimentación fue de tres veces por semana también a saciedad (Fig. 2).



Figura 2. Ejemplares adultos de tres años de edad de *Lutjanus peru* en estanques supralitorales, los cuales fueron producidos en el CIBNOR durante el verano del 2010.

6.2. Diseño de reproducción

El presente estudio comenzó cerca del tercer año de cultivo, en donde en el mes de marzo del 2013, se transfirieron al azar 14 huachinangos a un tanque de fibra de vidrio de 7 toneladas de agua de mar de capacidad. Adicionalmente, en otro tanque de la misma capacidad se colocaron 14 pargos amarillos, que fueron producidos durante el verano del 2007 en el CIBNOR (Fig. 3). Ambos tanques se integraron a un sistema semi-cerrado de circulación de agua, con la finalidad de que los factores abióticos como temperatura, pH, oxígeno disuelto, y salinidad fueran los mismos para ambas especies, el cual está descrito en Guerrero-Tortolero *et al.* (2010). El sistema tuvo una capacidad de recircular el agua (un

total de 15 toneladas) aproximadamente seis veces en 24 horas, circulando el agua a través de un filtro de arena y dos filtros de bolsa de 50 y 10 μm respectivamente (Figs. 3 y 4), y en donde un flujo directo de la bomba de pozo renovaba hasta dos veces todo el sistema en 24 horas. Adicionalmente, a cada tanque se le suministraron seis líneas de aire suplementario mediante un soplador (blower) de 1 HP, utilizando manguera de plástico y piedras difusoras para acuarios y ambas especies recibieron la misma luz natural de la nave de cultivo correspondiendo al fotoperiodo natural ($24^{\circ} 13' \text{ N}$ y $110^{\circ} 18' 30'' \text{ O}$). En cada uno de los tanques, una rampa de acrílico de 30 cm de ancho fue instalada 10 cm por debajo de la parte superior del tanque, el cual determinaba el nivel máximo de llenado de los tanques, es decir, la superficie del agua. El sistema de recirculación comenzaba en los tanques y el agua desbordaba por la rampa a un contenedor de 100 L de agua, el cual en su parte inferior tenía acoplado un tubo que subía formando una "U" invertida, para mantenerlo lleno continuamente, el cual a su vez, conectaba a un tinaco de agua de 1000 L de capacidad, integrado con una bomba de 1 HP, la cual succionaba el agua, la pasaba por los filtros y el agua regresaba a los tanques a manera de regadera, o "múltiples chorros de agua" para incrementar la oxigenación. Por adentro de cada uno de los contenedores de agua de 100 L, se instaló un contenedor de fibra de vidrio de 30 L de capacidad, con tres ventanas de 15 x 20 cm, en donde se instaló malla de 400 μm . A esta estructura se le llamó el contenedor, en donde los huevos flotantes recién desovados por las hembras durante las primeras horas de la madrugada, se confinaban durante toda la noche, en condiciones óptimas de recirculación de agua y niveles de oxígeno, para que a primera hora por la mañana fueran evaluados (Fig. 5).



Figura 3. Tanques de reproducción de *Lutjanus peru* (Tanque 1) y *Lutjanus argentiventris* (Tanque 2), cada uno con capacidad de 7 toneladas de agua de mar.



Figura 4. Tinaco de 1000 L de capacidad integrado con una bomba de 1 HP, cuyo bombeo pasa a través de un filtro de arena y dos filtros de bolsa (color azul), regresando a los tanques de reproducción.

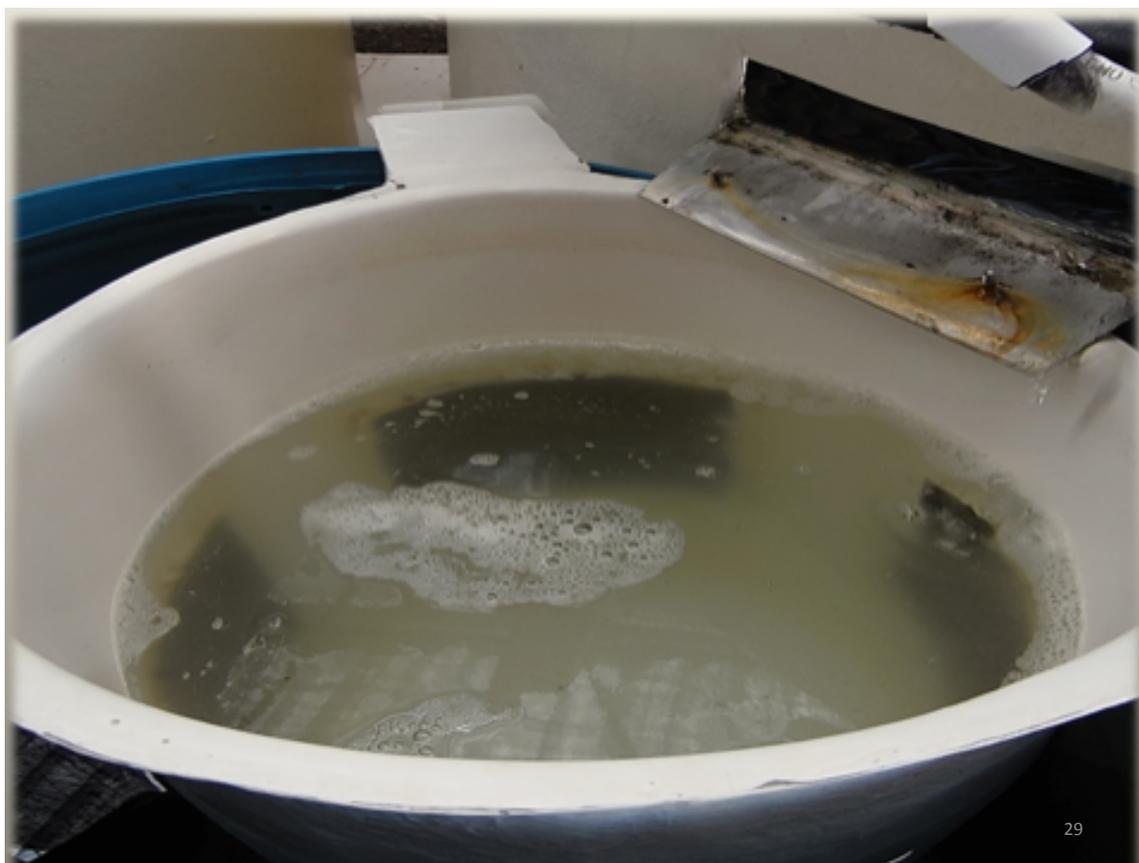


Figura 5. Contenedor de fibra de vidrio de 30 L de capacidad, de color blanco, con tres ventanas de 15 x 20 cm, en donde se instaló malla de 400 μ m, para confinar huevos flotantes recién desovados por las hembras durante las primeras horas de la madrugada.

Por otra parte, del mismo lote de adultos de huachinango, en noviembre del 2013 se trasladaron al azar 14 ejemplares a las instalaciones del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), unidad Mazatlán, en donde los huachinangos se colocaron en un tanque de reproducción ya utilizado para la especie *L. guttatus*, siguiendo los procedimientos rutinarios de alimentación y mantenimiento del laboratorio para los reproductores. En el estanque supralitoral quedaron 12 adultos de *L. peru*, en donde también se llevaron a cabo

observaciones de cortejo reproductivo y huevos flotantes. De esta manera, el diseño experimental de reproducción para el lote de 40 adultos de huachinango, con tres años de edad, quedó repartido en tres sistemas diferentes de confinamiento con la finalidad de tener la certeza de que la edad y la talla de reproducción no tendrían un efecto de un sistema de confinamiento en particular. Los peces fueron alimentados *ad libitum* tres veces por semana, con una dieta natural a base de sardina, macarela, calamar, y cabeza de camarón y adicionada dos veces por semana con una cápsula de vitaminas y otra de omega-3 respectivamente. Se observó el comportamiento reproductivo y se llevó un registro de los parámetros tales como; salinidad, temperatura, oxígeno disuelto, pH, monitoreo continuo de parásitos y un registro alimento consumido. Los peces se marcaron con microchips electrónicos (AVID), introducidos en la parte latero-dorsal, con el objeto de poder reconocer a cada ejemplar.

6.3. Evaluación de desoves

En cada uno de los sistemas, cada día, los huevos fertilizados se evaluaron volumétricamente utilizando una probeta de 1000 mL. Se cuantificaron los mililitros de huevos flotantes y aquellos que se encontraron en el fondo, categorizándolos como huevos viables y no viables respectivamente. Un mililitro de huevos de *L. peru* correspondió a una media de 2,300 huevos, mientras que para *L. argentiventris* fue de 2,500.

6.4. Captura de reproductores de huachinango silvestres

Se colectaron reproductores silvestres de *Lutjanus peru* en Baja California Sur en las cercanías de San Evaristo y la Isla San José (25°00' "N, 110°33' "O) durante abril-mayo y junio-julio, del 2013. Los reproductores fueron colectados por pescadores locales, colocando a los ejemplares adultos en una jaula cerca de la orilla de playa. Posteriormente, personal técnico del CIBNOR colocó a los ejemplares adultos en un tanque de 700 litros a temperatura de 24°C, con

aireación suplementaria y fueron trasladados a las instalaciones del CIBNOR vía terrestre.

6.5. Anestesia, biometría e identificación del sexo

Tanto en ejemplares en sistemas de reproducción, así como en aquellos colectados del medio silvestre, los peces se anestesiaron con eugenol (Sigma de México) a razón de 5 mL/100 L de agua, hasta que el pez se tranquilizara y se volteara, para después tomar las medidas morfométricas, tales como: peso (Kg), longitud patrón, y total (mm). Cada ejemplar se le identificó su sexo mediante masaje abdominal para observar la presencia de esperma fluyente, o bien, mediante una biopsia ovárica realizada con una cánula o catéter, para obtener una muestra de ovocitos. Cuando la obtención de una muestra de gametos no fue posible, el ejemplar se registró como sexo desconocido.

6.6. Muestras de plasma

Una vez que cada pez fue anestesiado y su biometría realizada, se procedió a una toma de muestra de sangre, la cual se realizó por punción caudal, utilizando jeringas impregnadas con heparina. Las muestras de sangre se centrifugaron a 2500 rpm, por 15 minutos, a 4°C, y el plasma obtenido fue separado de la fracción celular y guardado en alícuotas en tubos de 150 µl a -80°C hasta su posterior análisis.

6.7. Purificación de esteroides

Las muestras de plasma fueron descongeladas en hielo y centrifugadas a 2500 rpm a 4°C. Previo al ensayo de ELISA para hormonas, se realizó una purificación (extracción) de la hormona esteroide. En un tubo de vidrio de 10 mL, se añadió una alícuota de 150 µl de plasma y 1 mL de solvente ether-anhidrido y/o etanol al 100 %; se incubó por una hora a 19 °C, con rotación lenta, con el objeto de extraer el componente aromático de las hormonas esteroides. Posteriormente las muestras se liofilizaron y se almacenaron a 4 °C hasta su posterior análisis.

6.8. Cuantificación de hormonas esteroides

Para la cuantificación de los niveles de esteroides en plasma se utilizaron kits comerciales (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA) basados en la técnica de Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas de tipo competitivo (Competitive Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA). Se emplearon los siguientes kits: Estradiol (E_2) EIA Kit (cat. 582251), Testosterona (T) EIA Kit (cat. 582701), y 11-ketotestosterone (11-KT) EIA Kit (cat. 582751). Las muestras fueron resuspendidas siguiendo el protocolo del fabricante, en 150 mL de buffer correspondiente a la hormona a trabajar.

Curva estándar: Se ejemplifica el procedimiento para la hormona estradiol. Se utilizaron nueve tubos de ensayo de 10 mL limpios y se enumeraron ocho de ellos. En el tubo no marcado se colocaron 100 μ l de estándar del esteroide (400 ng/mL) y 900 μ l de agua destilada para obtener una solución estándar de 40 ng/mL. En el tubo #S1 se colocaron 900 μ l de buffer y en los tubos #S2 al #S8, 750 μ l. El siguiente paso fue transferir 100 μ l de la solución estándar (tubo no marcado (40 ng/mL)) al tubo #S1 y mezclar completamente, para después diluirlo en serie, tomando una alícuota de 500 μ l del tubo #S1 y colocándola en el tubo #S2; mezclando completamente; tomar una alícuota de 500 μ l del tubo #S2 y colocándola en el tubo #S3, mezclando completamente, y así consecutivamente para los tubos que siguen (#S4 al #S8) hasta completar la curva estándar. Los valores finales de la curva fueron 4,000; 1,600; 640; 256; 102.4; 41; 16.4 y 6.6 pg/mL, del tubo #S1 al tubo #S8 respectivamente. Una vez elaborada la curva no deben pasar más de 24 horas para su utilización.

Preparación de la placa (Adición de reactivos): Se añadieron los reactivos de acuerdo a la Fig. 6. Se añadieron 100 μ l de buffer a cada uno de los pocillos de enlace no específico (En inglés: non-specific-binding (NSB)). Se añadieron 50 μ l de buffer a cada uno de los pocillos con máximo enlace (B_0). Se añadieron 50 μ l de cada uno de los tubos estándar por duplicado, comenzando de abajo hacia arriba de la placa, es decir, a partir del tubo #S8 continuando hasta el tubo #S1. Se añadieron 50 μ l de cada muestra por triplicado. Se añadieron 50 μ l del

marcador conjugado de Estradiol-acetilcolinesterasa (AChE Tracer, en inglés) a cada pocillo excepto al de Actividad total (TA) y al Blanco (Blk). Este conjugado es el que compete con el estradiol para una cantidad limitada de antisuero de estradiol. La concentración del marcador conjugado se mantiene constante, mientras que la concentración de estradiol de las muestras varía y por lo tanto, la cantidad del marcador conjugado de estradiol que es capaz de ligarse al antisuero de estradiol, es inversamente proporcional a la concentración de estradiol en el pocillo. Se añadieron 50 µl del antisuero de estradiol a cada pocillo excepto a los de Actividad Total (TA), los de enlace no específico (NSB) y a los del Blanco (Blk). El antisuero de estradiol se liga a la inmunoglobulina (IgG) anti-conejo monoclonal de ratón, la cual esta adherida a la placa.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blk	S1	S1	1	1	1	9	9	9	17	17	17
B	Blk	S2	S2	2	2	2	10	10	10	18	18	18
C	NSB	S3	S3	3	3	3	11	11	11	19	19	19
D	NSB	S4	S4	4	4	4	12	12	12	20	20	20
E	B ₀	S5	S5	5	5	5	13	13	13	21	21	21
F	B ₀	S6	S6	6	6	6	14	14	14	22	22	22
G	B ₀	S7	S7	7	7	7	15	15	15	23	23	23
H	TA	S8	S8	8	8	8	16	16	16	24	24	24

Figura 6. Preparación de la placa con la adición de reactivos para llevar a cabo un ELISA.

Incubación de la placa: La placa se cubrió con el papel sellador plástico que contiene el Kit, y se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora.

Revelado de la placa: Los pocillos se vaciaron y se enjuagaron cinco veces con el buffer de lavado con la finalidad de remover reactivos que no se ligaron a la placa. Posteriormente, el reactivo de Ellman's se reconstituyó con agua ultra pura inmediatamente antes de usarse (20 mL del reactivo, es suficiente para 100 pocillos) y se añadieron 200 μ l a cada pocillo. Este reactivo contiene el substrato para la acetilcolinesterasa, produciendo una reacción enzimática que produce un color amarillo distintivo que absorbe a una longitud de onda de 412 nm y que es proporcional al marcador conjugado de estradiol ligado a la placa, e inversamente proporcional al estradiol libre presente en el pocillo después de la incubación. Se añadieron 5 μ l del marcador a los pocillos de Actividad total (TA) y finalmente la placa se cubrió con el plástico sellador. Un revelado óptimo fue obtenido usando un agitador orbital plano y con tapa que permita que la placa se revele en la obscuridad. Este proceso se desarrolla típicamente durante 60 a 90 minutos.

Lectura de la placa: La base de la placa se limpió con un paño limpio para quitar impurezas y la tapa de plástico se quitó con cuidado para no salpicar ni derramar el reactivo de Ellman's. La placa se leyó a una longitud de onda entre los 405 a 420 nm.

Las determinaciones para Testosterona (T) y 11-Ketotestosterona (11-KT), siguen básicamente el mismo protocolo descrito anteriormente, únicamente varían los tiempos de incubación, la hormona blanco purificada con la que se elabora la curva estándar y los anticuerpos monoclonales específicos contra el esteroide adheridos a la placa de pocillos de ELISA, para cada hormona esteroide.

6.9. Análisis estadístico

Efecto de la temperatura en los desoves. El efecto de la temperatura natural registrada sobre los desoves ocurridos en el sistema de tanques del CIBNOR para huachinango y pargo amarillo fue evaluado mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía, con un análisis previo de normalidad de datos con la

prueba de Kolmogorov-Smirnov y de homogeneidad de varianzas con la prueba de Levene. El análisis posterior entre las medias de temperatura se realizó mediante la prueba de Tukey. La significancia fue considerada con un nivel de $P < 0.05$. En el caso del tanque del CIAD no fue posible realizar ningún análisis ya que fueron muy pocos datos de desove.

Esteroides sexuales. Este análisis estadístico se llevó a cabo en pargo amarillo en donde fue posible identificar el sexo por la observación de gametos y análisis hormonal en un lote completo de reproductores. Se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) descrito en el inciso anterior, comparando los valores de testosterona, estradiol, 11-ketosterona y la proporción hormonal 11-ketotestosterona/estradiol entre hembras y machos.

Fecundidad de hembras. Inicialmente se obtuvo el promedio de huevos por desove (número de huevos totales colectados entre el número de desoves obtenidos durante la temporada de reproducción). Posteriormente se obtuvo el peso promedio de las hembras identificadas que desovaron. Finalmente, la fecundidad relativa de las hembras se calculó al dividir el promedio de huevos por desove entre el peso promedio de las hembras y se reportó como:

$$\text{Fecundidad Relativa} = \text{Huevos/kg/desove}$$

Sin embargo, si solamente había una hembra en reproducción, se tomó como fecundidad absoluta.

Curva estándar de esteroides sexuales. Se obtuvieron los promedios de las lecturas de absorbancia de los pocillos de enlace no específico (NSB) y máximo enlace (B_0), cuya diferencia dio el resultado corregido de máximo ligamiento (B_0). Posteriormente se dividió B_0 /absorbancia de TA, y se obtuvo el % de ligamiento (B). Posteriormente se substrajo la absorbancia promedio de NSB a la absorbancia promedio de S1, y se dividió entre el resultado corregido de (B_0) y multiplicado por 100, obteniendo el % de la muestra S1- $\%B/B_0$, y el resultado se transformó mediante el arco-seno (B/B_0). El mismo procedimiento se calculó para las demás muestras de S2 a S8 y todas las muestras problema. Los datos de la curva estándar para cada hormona fueron analizados mediante un análisis de

regresión lineal, obteniendo la pendiente, el intercepto y el coeficiente de correlación (r^2). Para ello, se graficó el B/B_0 de los estándares S1 a S8 en el eje de la "Y" versus el logaritmo de la concentración de estradiol en el eje de la "X" obteniendo por regresión lineal la ecuación:

$$B/B_0 = m(\log \text{ estradiol}) + b$$

en donde m es la pendiente y b es el intercepto.

La determinación de la concentración de cada muestra se llevó a cabo al sustituir en la ecuación lineal la absorbancia de la muestra y despejando log estradiol obteniendo:

$$\text{Log estradiol} = (B/B_0 - b)/m$$

Finalmente, al resultado obtenido se obtuvo el antilogaritmo, el cual fue la concentración de estradiol de esa muestra. Los valores obtenidos de esteroides sexuales fueron expresados como la media \pm D.S.

Proporción de hembras y machos. La proporción de hembras y machos en el huachingo cultivado que sobrevivió después de cuatro años, se analizó con la prueba de Chi-cuadrada, en donde:

$$X^2 = 2 [(hembras \text{ observadas} - hembras \text{ esperadas})^2 / hembras \text{ esperadas}]$$

El dato de "hembras esperadas" se obtuvo con el total de los ejemplares analizados dividido entre dos. En la fórmula se pueden utilizar ya sea los datos de hembras o machos. La significancia fue considerada con un nivel de $P < 0.01$.

7. RESULTADOS

7.1. Edad, talla y peso de primera maduración en huachinango cultivado

La supervivencia del huachinango cultivado fue del 16%, equivalente a 40 ejemplares. La edad de primera maduración de huachinango se presentó al cuarto año de cultivo, a partir de mayo en el CIAD y a partir de junio en el CIBNOR del 2014. Considerando a machos y hembras ($n = 40$), la longitud total promedio fue de 562 ± 35 mm, la longitud patrón promedio fue de 469 ± 31 mm, y el peso corporal promedio fue de 2.71 ± 0.41 Kg. En la Tabla II se presentan los datos morfométricos promedio de hembras ($n = 9$) y machos ($n = 31$). En cuanto a la proporción de los sexos, la prueba de Chi-cuadrada arrojó un valor significativo de $\chi^2 = 12.1$ ($P < 0.001$), habiendo estadísticamente más machos que hembras.

Tabla II. Datos morfométricos (Media \pm DS) de hembras y machos cultivados al cuarto año de edad.

	Hembras (Mínimo-Máximo)	Machos (Mínimo-Máximo)
Longitud total (mm)	530 ± 13 (510 - 545)	564 ± 52 (490 - 650)
Longitud patrón (mm)	434 ± 12 (420 - 450)	462 ± 39 (420 - 540)
Peso corporal (Kg)	2.45 ± 0.11 (2.30 - 2.60)	2.76 ± 0.46 (2.00 - 3.50)

7.2. Talla y peso en huachinango silvestre

En mayo del 2014 se capturaron 11 huachinangos con una longitud total promedio de 540 ± 58 mm, una longitud patrón promedio de 437 ± 50 mm, y un peso corporal promedio de 2.6 ± 0.71 Kg. En julio se capturaron siete huachinangos con una longitud total promedio de 516 ± 75 mm, una longitud patrón promedio de 417 ± 60 mm, y un peso corporal promedio de 1.82 ± 0.84 Kg. En la Tabla III se presentan los datos morfométricos promedio de hembras ($n = 4$)

y machos (n = 4) de huachinango silvestre sexualmente maduro observado por biopsia ovárica o semen fluyente respectivamente.

Tabla III. Datos morfométricos (Media \pm DS) de hembras y machos de huachinango silvestre sexualmente maduro capturado durante el verano del 2014.

	Hembras (Mínimo-Máximo)	Machos (Mínimo-Máximo)
Longitud total (mm)	565 \pm 56 (490 - 620)	558 \pm 68 (480 - 635)
Longitud patrón (mm)	482 \pm 60 (400 - 540)	452 \pm 60 (370 - 480)
Peso corporal (Kg)	2.83 \pm 0.97 (1.55 - 3.90)	2.57 \pm 0.87 (1.30 - 3.30)

7.3. Talla y peso en pargo amarillo

Los reproductores de pargo amarillo de la generación 2007 del CIBNOR presentaron una longitud total promedio de 425 \pm 24 mm, una longitud patrón promedio de 366 \pm 22 mm, y un peso corporal promedio de 1.3 \pm 0.20 Kg. En la Tabla IV se presentan los datos morfométricos promedio de hembras (n = 8) y machos (n = 6) de pargo amarillo sexualmente maduro observado por biopsia ovárica o esperma fluyente respectivamente.

Tabla IV. Datos morfométricos (Media \pm DS) de hembras y machos de pargo amarillo, generación 2007 del CIBNOR.

	Hembras (Mínimo-Máximo)	Machos (Mínimo-Máximo)
Longitud total (mm)	409 \pm 15 (380 - 430)	445 \pm 14 (430 - 470)
Longitud patrón (mm)	351 \pm 17 (320 - 370)	382 \pm 13 (370 - 400)
Peso corporal (Kg)	1.1 \pm 0.13 (0.95 - 1.35)	1.50 \pm 0.70 (1.40 - 1.60)

7.4. Evaluación de desoves y fecundidad

En la temporada reproductiva del 2013, los huachinangos no mostraron comportamiento reproductivo, ni ocurrieron desoves, en ninguno de los dos sistemas, mientras que en los pargos amarillos ocurrieron desoves a partir de mayo hasta septiembre, con temperaturas que incrementaron gradualmente desde los 26 hasta los 31 °C (datos no mostrados).

En la temporada reproductiva del 2014, habiendo ya tres sistemas de reproducción, los huachinangos en el tanque del CIAD estuvieron conformados por cinco hembras (una hembra murió) y ocho machos. Se infiere que solamente una de las cinco hembras desovó por la cantidad de mL de huevos, dado que solamente se observaron dos desoves en mayo y tres en junio (Fig. 7), sin embargo, todas las hembras presentaron ovocitos vitelogénicos mediante una biopsia ovárica. Se observó un rango entre 40 y 50 mL por desove, y con un promedio de 44 mL por desove, equivalentes a 101,200 huevos por desove. El promedio de las hembras fue de 2.3 kg, por lo que la fecundidad absoluta fue de 44,000 huevos/Kg/desove. El total de huevos fue de 220 mL, equivalentes a 506,000 huevos, de los cuales, 278,300 (55%) fueron viables. En julio cesó la reproducción.

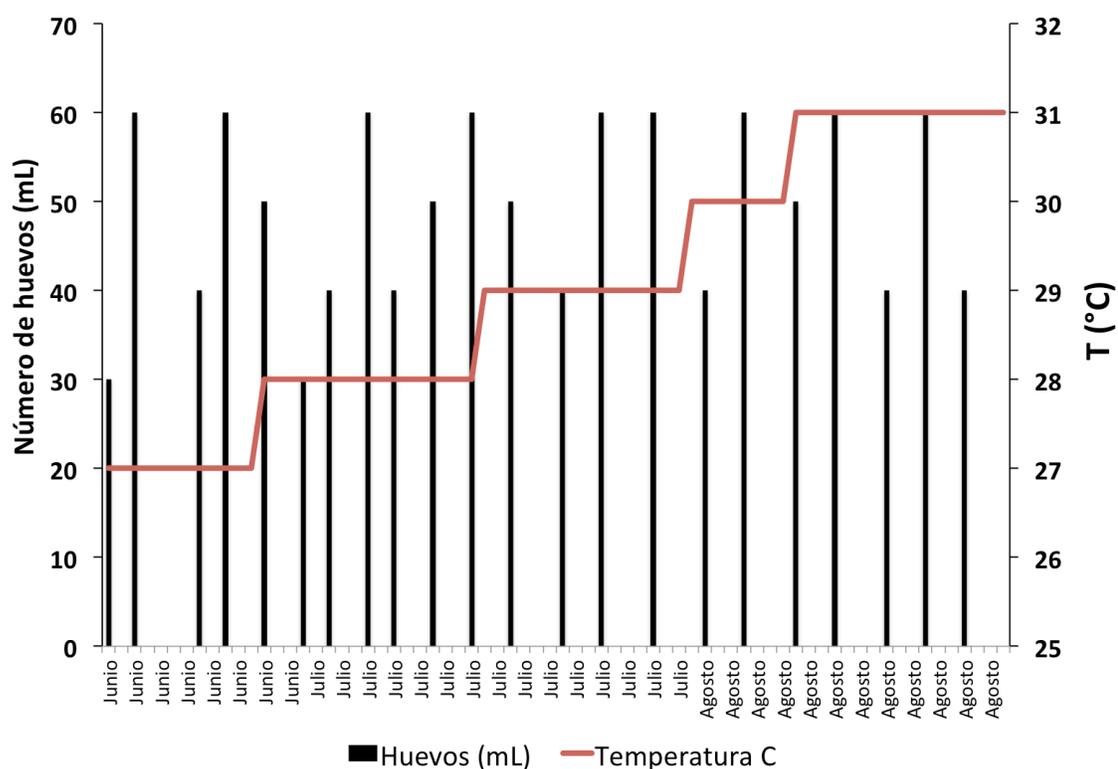


Figura 8. Desoves de huachinango cultivado y reproducido en el CIBNOR en el cuarto año.

Los huachinangos en el estanque supralitoral estuvieron conformados por dos hembras y diez machos, y no se observaron desoves, más sin embargo, las dos hembras presentaron ovocitos vitelogénicos mediante una biopsia ovárica.

Los pargos amarillos en el tanque del CIBNOR estuvieron conformados por ocho hembras y seis machos, y se observaron desoves todos los días durante mayo, junio, julio, agosto y septiembre, con un total de 126 desoves (Fig. 9), con un rango entre 30 y 1200 mL, con un promedio de 226 mL por desove, equivalentes a 565,000 huevos, que dividido entre 8 hembras, se obtuvieron 28 mL por desove, equivalentes a 70,000 huevos por desove. El peso promedio de las hembras fue de 1.1 kg, por lo que la fecundidad relativa fue de 63,636 huevos/Kg/desove. El

valores de testosterona (T) se encontraron en un rango de 0.79 a 1.15 ng/mL, los de estradiol (E_2) en un rango de 0.15 a 4.11 ng/mL, y los de 11-ketosterona (11-KT) en un rango de 0.09 a 0.14 ng/mL. Para los reproductores de julio ($n=7$), la T se encontró en un rango de 0.07 a 0.15 ng/mL, el E_2 en un rango de 4.38 a 14.0 ng/mL, y la 11-KT en un rango de 0.60 a 1.63 ng/mL. En esta Tabla también se observa la identificación visual del sexo para reproductores silvestres de huachinango en mayo, en donde se observaron ovocitos en los individuos 1 y 11, identificados como reproductores hembras, y esperma fluyente en los individuos 4 y 10, identificados como reproductores machos.

Huachinango cultivado. De los 14 ejemplares de huachinango en el tanque del CIBNOR, sólo se pudo tomar la muestra de sangre a una hembra y cuatro machos, en donde los sexos fueron corroborados por canulación observando ovocitos vitelogénicos o mediante masaje abdominal observando esperma fluyente; los ocho machos restantes se corroboraron por esperma fluyente. Los resultados de ELISA para la cuantificación de esteroides sexuales expresados en una concentración de (ng/mL) y una talla en peso (Kg), se presentan en la Tabla VI. Los valores de T se encontraron en un rango de 16.06 a 66.86 ng/mL, el E_2 en un rango de 36.20 a 52.69 ng/mL, y la 11-KT en un rango de 4.33 a 48.60 ng/mL.

Tabla V. Concentraciones hormonales por individuo, peso y sexo de los huachinangos silvestres capturados durante mayo y julio del 2013.

No.	T2	E ₂	11-KT	Peso	Sexo
<i>mayo</i>		(ng/mL)		(Kg)	(visual)
1	1.06	2.18	0.13	1.80	Hembra
2	0.82	0.20	0.09	3.00	
3	1.06	0.57	0.13	1.10	
4	0.79	0.15	0.09	2.80	Macho
5	0.89	0.58	0.10	2.80	
6	0.98	3.21	0.11	2.60	
7	1.15	4.11	0.14	2.80	
8	0.97	3.27	0.11	2.60	
9	1.03	1.53	0.12	2.30	
10	1.15	0.20	0.14	2.90	Macho
11	0.87	2.62	0.10	3.90	Hembra
julio					
1	0.13	10.79	1.11	1.20	
2	0.09	04.38	1.10	3.30	Macho
3	0.12	14.00	0.78	2.90	Hembra
4	0.14	13.83	0.60	1.30	
5	0.09	12.04	0.60	1.55	Hembra
6	0.07	09.98	1.63	1.30	Macho
7	0.15	11.33	0.73	1.25	

Tabla VI. Concentraciones hormonales por individuo, peso y sexo de los huachinangos cultivados (generación 2010) durante julio 2014.

No.	T ₂	E ₂ (ng/mL)	11-KT	Peso (Kg)	Sexo
1				2.70	Macho
2				2.60	Macho
3				2.50	Macho
4				3.10	Macho
5	22.82	36.20	20.84	2.70	Macho
6				3.20	Macho
7	64.22	42.05	42.55	3.10	Macho
8	16.06	44.38	4.33	2.40	Hembra
9	66.86	44.25	48.60	2.00	Macho
10				2.25	Macho
11				3.50	Macho
12				3.50	Macho
13	62.75	52.69	30.46	5.00	Macho
14				3.00	Macho

Pargo amarillo. Los 14 ejemplares de pargo amarillo en el tanque del CIBNOR (8 hembras y 6 machos) se les tomó la muestra de sangre y los sexos fueron corroborados por la observación de gametos. Los resultados de ELISA para la cuantificación de testosterona (T) expresados en una concentración de (ng/mL) y una talla en peso (Kg), se presentan en la Tabla VII. Los valores de T se encontraron en un rango de 3.80 a 32.20 ng/mL, el E₂ en un rango de 3.84 a 41.0 ng/mL, y la 11-KT (significativamente menor en hembras $P < 0.05$), en un rango de 0.09 a 1.71 ng/mL.

Tabla VII. Concentraciones hormonales por individuo, peso y sexo del pargo amarillo *L. argentiventris* cultivado en el CIBNOR (generación 2007).

No.	T ₂	E ₂ (ng/mL)	11-KT	Peso (Kg)	Sexo
1	25.70	41.00	1.33	0.95	Hembra
2	10.90	09.27	0.96	1.30	Macho
3	09.90	09.42	1.71	1.10	Macho
4	32.20	16.03	1.70	1.50	Macho
5	03.80	26.84	0.37	1.10	Hembra
6	13.70	05.45	1.54	1.60	Macho
7	17.30	14.15	1.35	1.55	Macho
8	07.70	15.87	0.52	1.40	Hembra
9	15.90	13.58	0.39	1.50	Hembra
10	29.00	38.24	1.50	1.55	Hembra
11	19.20	34.54	0.99	1.50	Hembra
12	15.20	03.84	0.09	1.10	Hembra
13	20.70	07.03	1.25	1.35	Macho
14	18.50	12.65	0.95	1.15	Hembra

7.6. Identificación del sexo mediante la proporción hormonal: 11-ketosterona/estradiol

Huachinango silvestre capturado en mayo. La Fig. 10 muestra el cociente de la concentración total de 11-ketotestosterona en relación a la concentración total de estradiol en ng/mL, ésta proporción describió un rango arbitrario que ubicó valores cercanos ó menores a ≤ 0.01 , como la identificación sexual de hembras, y en valores mayores o iguales a ≥ 0.01 , a la identificación sexual de machos. Se

observa que en las muestras analizadas de mayo para reproductores silvestres de huachinango, se identificaron los individuos 1, 6, 7, 8, 9 y 11 como reproductores hembras, mientras que los individuos 2, 3, 4, 5 y 10 fueron machos.

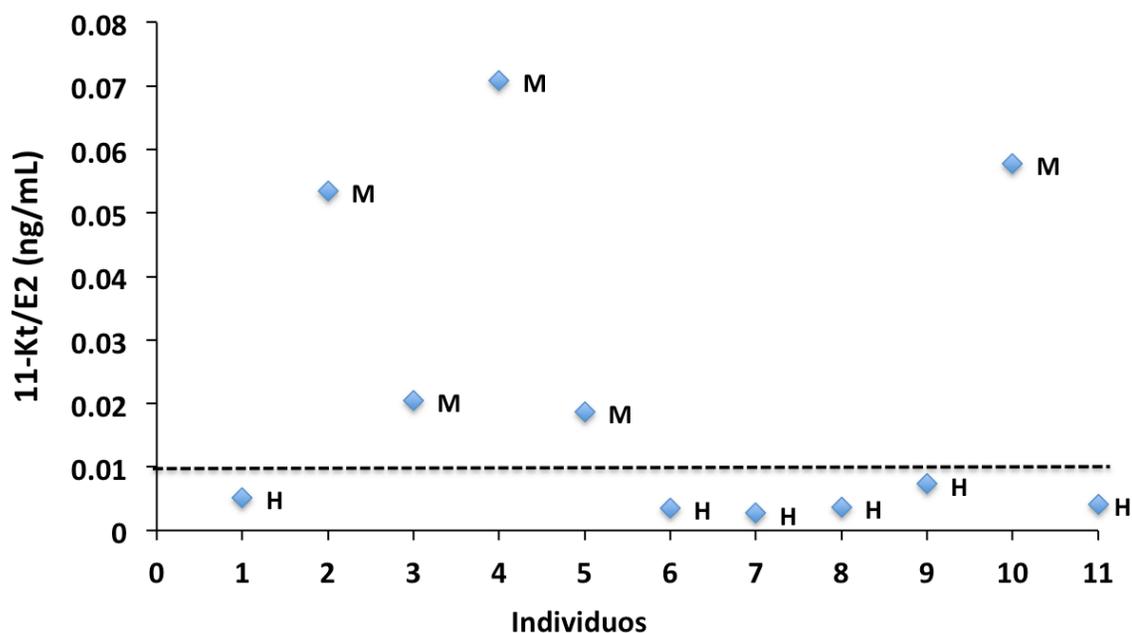


Figura 10. Proporción de 11-Ketosterona (11-KT) en relación a Estradiol (E_2) obtenidos para huachinango silvestre capturado en mayo. La línea punteada separa arbitrariamente valores menores a < 0.01 correspondiendo a hembras, mientras que valores iguales o mayores a ≥ 0.01 , correspondiendo a machos. H: hembra, M: macho.

Huachinango silvestre capturado en julio. La Fig. 11 muestra el cociente de la concentración total de 11-ketotestosterona en relación a la concentración total de estradiol en ng/mL, ésta proporción describió un rango arbitrario que ubicó valores cercanos ó menores a ≤ 0.1 , como la identificación de hembras y en valores mayores o iguales a ≥ 0.1 , a la identificación de machos. Se observa que en los

datos registrados en julio para reproductores silvestres de huachinango, se identificaron los individuos 3, 4, 5 y 7, como reproductores hembras, mientras que los individuos 2 y 6 fueron machos.

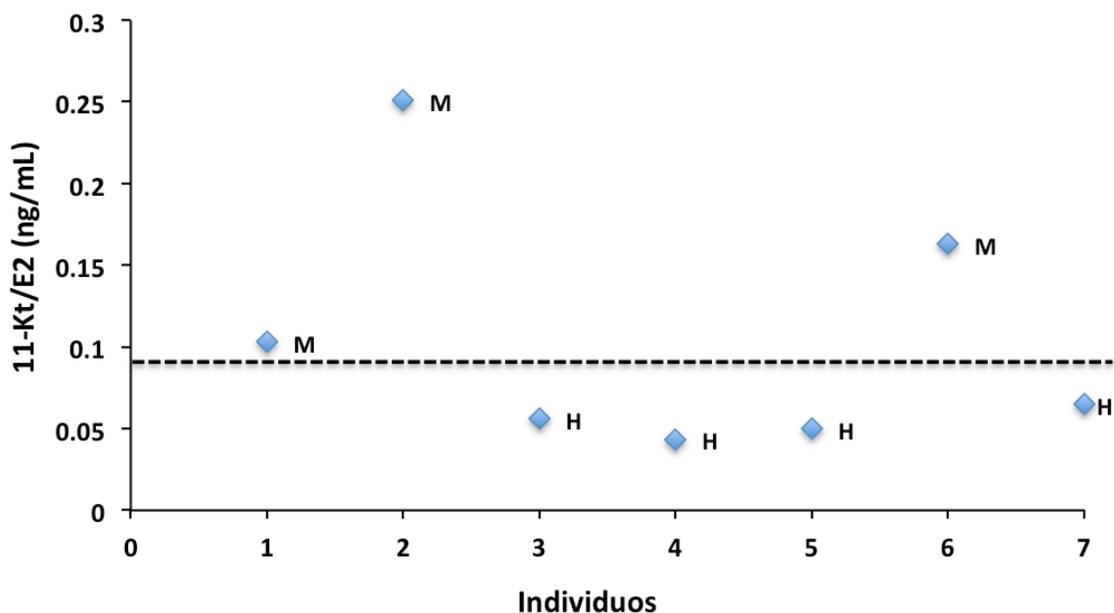


Figura 11. Proporción de 11-Ketosterona (11-KT) en relación a Estradiol (E_2) obtenidos para huachinango silvestre capturado en Julio. La línea punteada separa arbitrariamente valores menores a < 0.1 correspondiendo a hembras, mientras que valores iguales o mayores a ≥ 0.1 , correspondiendo a machos. H: hembra, M: macho.

Huachinango cultivado y reproducido en CIBNOR. Como se observa en la Fig. 12, en los datos registrados en el tanque de reproducción de huachinango del CIBNOR, se observaron ovocitos en el individuo 3, identificado como reproductor hembra, y esperma fluyente en los individuos 1, 2, 4 y 5, identificados como reproductores machos. Sobre la base de la identificación de la única hembra, se

sugiere que el valor menor a < 0.1 de la proporción de 11-ketotestosterona en relación a estradiol, correspondió a la hembra, mientras que valores iguales o mayores a ≥ 0.1 , correspondieron a machos.

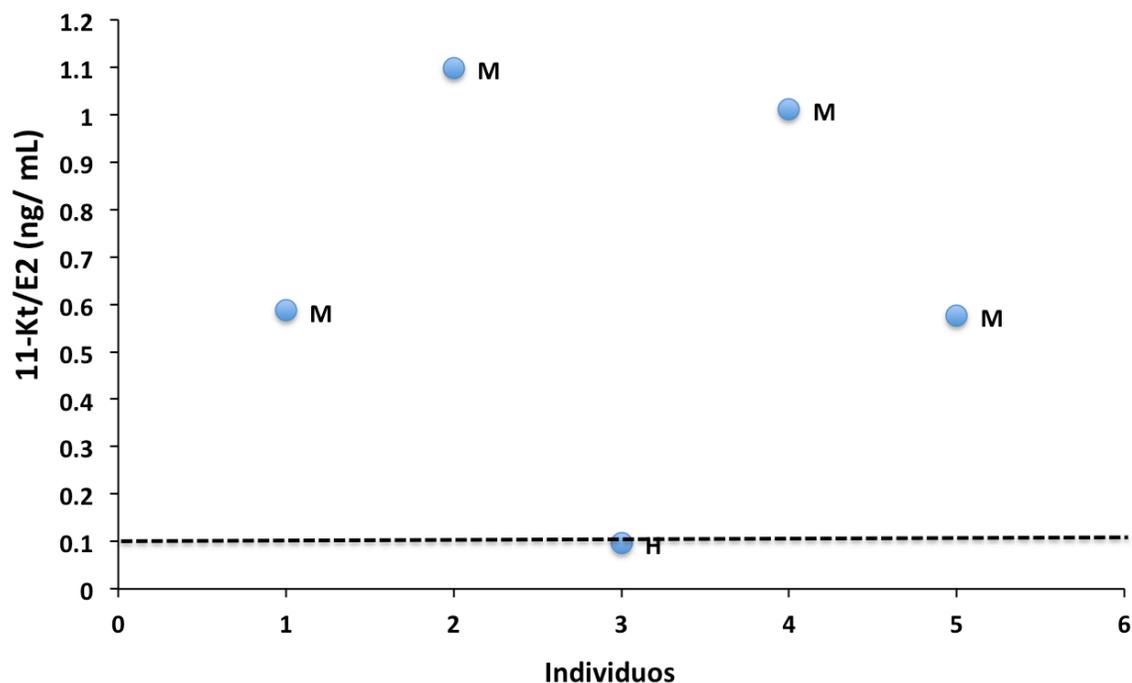


Figura 12. Proporción de 11-Ketosterona (11-KT) en relación a Estradiol (E_2) obtenidos para huachinango cultivado y reproducido en CIBNOR. La línea punteada separa arbitrariamente valores menores a < 0.1 correspondiendo a la única hembra, mientras que valores iguales o mayores a ≥ 0.1 , correspondiendo a machos. H: hembra, M: macho.

Pargo amarillo cultivado y reproducido en CIBNOR. Como se observa en la Fig. 13, en los datos registrados en el tanque de reproducción de pargo amarillo del CIBNOR, se observaron ovocitos en los individuos 1, 5, 8, 9, 10, 11, 12, y 14 identificados como reproductores hembras, y esperma fluyente en los individuos 2,

3, 4, 6, 7, y 13, identificados como reproductores machos. Sobre la base de la identificación de las hembras, se sugiere que los valores menores a < 0.1 de la proporción de 11-ketotestosterona en relación a estradiol, correspondieron a hembras, mientras que valores muy cercanos, iguales o mayores a ≥ 0.1 , correspondieron a machos. El análisis de varianza mostró una diferencia significativa entre los valores de 11-kT/E₂ ($P < 0.01$) y de 11-KT ($P < 0.01$) entre hembras y machos de pargo amarillo. En contraste, no se encontró una diferencia significativa ni para testosterona, ni para estradiol ($P > 0.05$).

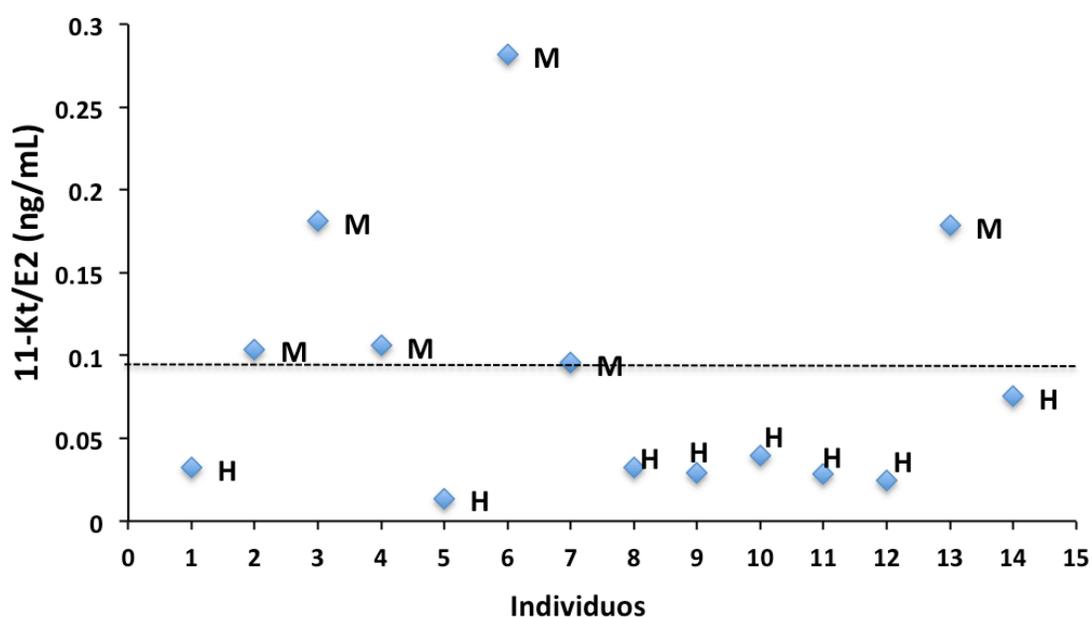


Figura 13. Proporción de 11-Ketosterona (11-KT) en relación a Estradiol (E₂) obtenidos para pargo amarillo cultivado y reproducido en CIBNOR. La línea punteada separa arbitrariamente valores menores a < 0.1 correspondiendo a las hembras, mientras que valores iguales o mayores a ≥ 0.1 , correspondiendo a machos. H: hembra identificada por observación de ovocitos. M: macho identificado por esperma fluyente.

7.7. Comportamiento reproductivo

Tanto en huachinango como pargo amarillo, el comportamiento reproductivo entre hembras y machos se llevó a cabo durante la noche, entre las 11 y las 2 de la madrugada y como resultado se observaron los huevos confinados en el contenedor. Las observaciones con la ayuda de una luz roja y amarilla, permitieron observar en el caso de pargos amarillos y huachinangos, como los machos persiguen a las hembras dando vueltas en el fondo del tanque hasta que hay un ascenso en espiral en donde se realiza el desove y se fertilizan los huevos por los machos. En el caso de los pargos amarillos este comportamiento es un tanto más agresivo en comparación con el huachinango, ya que los machos golpean y azuzan bruscamente a las hembras y hay agresión entre ellos mismos, resultando en escoriaciones en el cuerpo. En el tanque de los huachinangos, la presencia de una sola hembra identificada visualmente por tener el ojo izquierdo cicatrizado, se observó como era constantemente perseguida por un par de machos tanto en horas de la mañana así como en la tarde, por lo que el comportamiento reproductivo no se limitó a la oscuridad.

8. DISCUSIÓN

8.1. Edad, talla y peso de primera maduración en huachinango

La edad de primera maduración se presentó de una manera sincrónica al cuarto año de cultivo (2014), en los tres grupos de huachinangos, ya que los juveniles se produjeron en el CIBNOR entre el 30 de junio y el 10 de julio del 2010, y los desoves de estos peces se presentaron a partir de mayo, en el grupo que se transportó a las instalaciones del CIAD en Mazatlán, Sinaloa, y a partir de junio, en el grupo que permaneció en las instalaciones del CIBNOR en La Paz, B.C.S. Lo más relevante en este aspecto, es que los huachinangos estuvieron en tres sistemas diferentes, en donde los protocolos de mantenimiento fueron independientes y particulares de cada laboratorio (tipo y frecuencia de alimentación, recambio de agua, limpieza de los tanques etc.), así como las diferencias de temperatura y calidad del agua entre Mazatlán y La Paz y fotoperiodo (luz artificial en el CIAD vs luz natural en el CIBNOR) y las condiciones menos controladas en el estanque supralitoral, en donde crecen macroalgas, balanos y existe una fauna particular en el estanque. En los tres sistemas se presentó la primera maduración en las hembras y machos, aunque no todas las hembras alcanzaron la maduración final y desove como se discute más adelante. Con lo anterior, se puede precisar, que la edad de primera maduración se presentó a los cuatro años, independientemente de las ventajas o desventajas que pudieran haber tenido cada uno de los sistemas de reproducción. Otra observación fue la reproducción del pargo amarillo durante el 2013 en el tanque del CIBNOR, la cual sirvió como un control positivo de reproducción, en cuanto a las condiciones abióticas del sistema de recirculación, en donde el huachinango no alcanzó la primera maduración. En el 2014, las dos especies se reprodujeron en el sistema, lo que apoya que la edad de maduración del huachinango ocurrió hasta el cuarto año de cultivo.

En el caso del tanque de CIBNOR, solamente había una hembra, la cual maduró y desovó en forma constante. Por otro lado, en el tanque del CIAD, se sugiere que

aunque había cinco hembras, solamente una entró a la maduración final y desovó de manera discontinua. Sin embargo, las otras cuatro hembras fueron revisadas por biopsia ovárica y presentaron ovocitos vitelogénicos, lo que sugiere que estas hembras maduraron a los cuatro años, pero no participaron reproductivamente. Lo anterior también se observó en los huachinangos del estanque supralitoral, en donde dos hembras presentaron ovocitos vitelogénicos, pero no se observaron huevos flotantes. Esto sugiere que las hembras de huachinango llegaron a la pubertad al cuarto año, más no todas se reprodujeron. Lo anterior lleva a sugerir también que no todos los machos, aunque púberes, participaron en la reproducción.

Los datos de longitud y peso entre hembras y machos estuvieron interpuestos con sus desviaciones estándar, lo que efectivamente no evidencia un dimorfismo sexual. Sin embargo, las tallas y pesos máximos se presentaron en los machos, lo cual se pudo deber a que el número de machos analizados fue de 31, mientras que sólo nueve fueron hembras.

La talla de primera maduración sexual (LT_m) en *L. peru* ha sido calculada en el medio silvestre usando la talla media de primera madurez sexual (L50) la cual corresponde a cuando la mitad de la captura realizada se encuentra sexualmente madura y se asume que los organismos muestreados representan a la población total (Díaz-Uribe *et al.*, 2004). La edad de primera maduración sexual ha sido calculada en organismos silvestres por medio del estudio de escamas y otolitos seccionados o enteros por medio de marcas y anillos de crecimiento anual, así como la revisión histológica de las gónadas. De este modo varios autores han intentado determinar estos dos parámetros para regular la pesquería de organismos silvestres y evitar la captura de organismos jóvenes. Ruiz-Luna *et al.* (1985) encontró la primera madurez sexual en *L. peru* a una longitud total de 28.8 cm, relacionada con una edad menor a 3 años en las costas de Michoacán. Rocha Olivares (1991) la propuso a una talla entre 25 a 35 cm a una edad entre 2 y 3 años en Baja California Sur. Reyna-Trujillo (1993) la propuso a una talla entre 25 a 30 cm en las costas de Baja California Sur, sin indicar la edad. Posteriormente,

Rocha-Olivares (1998) la propuso a una talla entre 25 a 30 cm con una edad entre 2 y 3 años en las costas de Baja California Sur, mientras que Rojas Herrera (2001) la propuso a una talla de 29.5 cm con una edad entre 2 y 3 años en las costas de Guerrero, Díaz–Uribe *et al.* (2004) a una talla de 33 cm con una edad de 3.4 años en Baja California Sur, Zamora Munciño-Arroyo (2005) a una talla de 30-34 cm, sin indicar una edad en las costas de Jalisco, y Gallardo-Cabello (2010) a una talla de 25.45 cm con una edad de 1 año en las costas de Michoacán. La talla de primera maduración de huachinango cultivado no concordó con ninguno de los reportes de talla en huachinango silvestre, ya que la longitud total mínima fue a partir de los 49 cm. Sin embargo, la edad de primera maduración a partir de 3.4 años (Díaz-Uribe *et al.*, 2004), se aproxima al presente estudio, ya que los huachinangos cultivados a los 3.5 años de edad, se encontraban en las temperaturas mínimas de invierno en La Paz, Baja California Sur, en enero del 2014, oscilando entre 20 y 22 °C, y conforme entró la primavera, se dio el incremento natural de temperatura y fotoperiodo, estimulando así el proceso de maduración y culminando con el desove en el verano.

8.2. Fecundidad

Los datos de mililitros de huevos por desove de huachinango, indicaron un promedio de 44 mL en el tanque del CIAD y de 49 mL en el tanque del CIBNOR, dando un promedio general de 46.5 mL por desove, mientras que en pargo amarillo fue de 28 mL por desove. Las hembras de huachinango con un promedio de 2.35 Kg y un promedio de fecundidad de 45,000 huevos/Kg/desove, fue similar a la reportada por Pintos-Terán *et al.* (2003) en una hembra inducida al desove con la hCG: 41,675 huevos/Kg. Sin embargo, la hembra inducida tenía 4.24 Kg de peso corporal. De acuerdo a estos autores, la fecundidad en el huachinango aumenta con el peso de la hembra, por lo que al parecer, la fecundidad obtenida por inducción hormonal es menor al desove natural en términos de peso corporal, por lo que falta más investigación en este punto. De acuerdo a Marte (1989), el desove natural es el método preferible para reproducir peces en cautiverio, lo cual

sugiere que es el caso para el huachinango, ya que a lo largo de la etapa reproductiva, cada hembra presenta múltiples desoves sin la necesidad de una manipulación, ni un tratamiento hormonal. Sin embargo, falta corroborar si la fecundidad aumenta con el peso de la hembra en huachinango producido en cautiverio y también falta determinar si a lo largo de los desoves múltiples existe una calidad diferente de gametos, por ejemplo, por un agotamiento reproductivo que tenga relación a la supervivencia y calidad de la larva. Las temperaturas en las que se reprodujeron los huachinangos tanto en el CIAD y en el CIBNOR, mostraron que esta especie desova y produce huevos viables desde los 27 hasta los 31 °C.

8.3. *Esteroides sexuales*

Los resultados de la hormona 11-ketosterona y la proporción hormonal de 11-ketosterona con relación al estradiol (11-KT/E₂), fueron significativos entre hembras y machos de pargo amarillo. Sin embargo, solamente la proporción 11-KT/E₂ permitió corroborar la identificación del sexo, previamente realizada por la observación de ovocitos vitelogénicos a través de una biopsia ovárica, o bien, esperma fluyente después de una presión abdominal. Lo anterior se debe a que aunque en general se esperan observar valores bajos de 11-KT en hembras, y altos en machos, esto no ocurre y puede haber valores muy cercanos entre ambos sexos. Sin embargo, cuando estos datos se establecen con relación al estradiol, los datos permiten identificar el sexo.

Los reproductores de pargo amarillo fueron los únicos que se encontraban en una proporción sexual 1:1 y que había una cantidad suficiente de ejemplares (datos) para validar la técnica hormonal. Sin embargo, la única hembra que desovó en el tanque en CIBNOR, contrastada contra 4 machos fluyentes, mostró resultados muy similares, así como los huachinangos silvestres de julio, en donde valores por debajo de 0.1 ng/mL identificaron hembras, mientras valores iguales o por arriba de 0.1 ng/mL identificaron machos. Evidentemente que esta separación es arbitraria y es muy posible de que exista un error en datos muy cercanos a 0.1,

como se observó en algunos individuos. Sin embargo, los valores extremos entre hembras y machos permitieron identificar el sexo de una forma conspícua. En el caso de los huachinangos silvestres de mayo, que es cuando la temporada reproductiva esta comenzando, la escala hormonal se redujo a valores muy pequeños entre 0.01 y 0.08 y no fueron del todo confiables, precisamente porque los valores de los machos estuvieron entre 0.02 y 0.08, en donde algunos serían valores que identificaron hembras (< 0.1) durante julio. Los resultados de este estudio fueron similares a los reportados por Kohn *et al.* (2013) en donde las proporciones hormonales de 11-KT/E₂ utilizadas para la identificación sexual del Hapuku (*Polyprion oxygeneios*), mostraron valores alrededor de 0.07 ng/mL para hembras y de 3.61 ng/mL para machos durante la temporada reproductiva, mientras que al final de la temporada reproductiva, los datos ya no fueron confiables; 0.41 ng/mL y 0.71 ng/mL respectivamente. Por otra parte Chu-Koo *et al.* (2009) mencionaron que las concentraciones hormonales considerando a la 11-KT y el E₂ de manera aislada, no contribuían a indentificar el sexo, mientras que cuando se consideraron ambas, el cociente de una contra otra, ya fuera 11-KT/E₂ o bien de E₂/11-KT, permitieron identificar el sexo de un pez pulmonado del Amazonas, conocido comúnmente como Pirarucu (*Arapaima gigas*) que no presenta dimorfismo sexual; los valores mostrados en su estudio, para el cociente de 11-KT/E₂, fueron valores menores ó iguales a 2.5 pg/mL en las hembras y por encima de este valor machos, mientras que para E₂/11-KT, fueron valores menores ó iguales a 0.4 pg/mL en las hembras y por encima de este valor machos; con ambos cocientes la identificación del sexo fue del 100%. En ambos trabajos la separación entre hembras y machos fue establecida de forma arbitraria de acuerdo a los cocientes observados de la especie en estudio, lo cual esta en concordancia con en el presente estudio.

En general, se sugiere que la técnica hormonal en lutjanidos fue confiable una vez que los peces pesentaron una maduración avanzada y durante su reproducción, pero no durante el comienzo de la maduración al inicio de la temporada reproductiva; lo cual nos lleva a sugerir que tampoco sería confiable en la

finalización de la temporada reproductiva y la recrudescencia de la gónada. Lo anterior conlleva también a sugerir el investigar algún marcador genético o fisiológico que permita la identificación del sexo, no solamente antes de la primera maduración, si no a edades más tempranas de engorda, si es que existe una mortalidad diferencial entre el sexo, en donde los machos sobrevivan más que las hembras, como se discute más adelante. No fue posible tomar sangre de los huachinangos del tanque en el CIAD y no fue posible mostrar durante la recrudescencia gonadal por condiciones que estuvieron fuera de nuestro alcance.

8.4. Proporción de hembras y machos de reproductores de huachinango

Después de cuatro años de cultivo, 40 huachinangos llegaron a su primera maduración. De estos, 9 ejemplares fueron hembras y 31 ejemplares fueron machos. La proporción de sexos estuvo desequilibrada en favor de los machos, dado que era de esperarse contar con aproximadamente 20 hembras y 20 machos, es decir; una proporción de 1:1. Este resultado puede ser aleatorio en términos de supervivencia. En julio del 2010, se produjeron 250 juveniles, por lo que 40 individuos representan una supervivencia baja de 16%. Este es el primer resultado reportado de engorda hasta la reproducción en huachinango y sugiere que se debe de llevar a cabo más investigación zootécnica durante la etapa de cultivo, con la finalidad de aumentar la supervivencia de reproductores. Sin embargo, si por alguna razón, dicha proporción no fue un resultado aleatorio, se puede plantear la hipótesis de que ocurrió una mortalidad diferencial por sexo durante el cultivo, o bien, durante la maduración, en donde las hembras, fueron más susceptibles de morir, condición que requerirá ser cotejada en investigaciones futuras.

8.5. Comportamiento reproductivo

El comportamiento reproductivo observado en los tanques de huachinango y pargo amarillo, en donde los machos persiguieron y cortejaron a la(s) hembra(s) hasta formar una espiral ascendente, en donde se produjo el desove durante la

madrugada, concordó con el descrito en lutjanidos por Allen (1985), y con el descrito en particular para *L. kasmira* (Suzuki y Hioki, 1979). Se enfatiza que el comportamiento de machos persiguiendo a hembras también se presentó durante el día.

8.6. Anestesia de reproductores de huachinango

El uso de eugenol para anestésiar a los reproductores de huachinango cultivado no fue muy eficiente. Si bien no fue posible hacer una evaluación como tal, se observó que muchos peces no entraron en anestesia profunda ya que, aunque estaban volteados, en el momento de hacer la punción con la aguja reaccionaban dando coletazos. Esto no permitió tomar una muestra de sangre a varios reproductores y aún incrementando la concentración de eugenol en el tanque, la respuesta seguía siendo la misma, por lo que por seguridad de que el reproductor no se recuperara y muriera por insuficiencia ventilatoria, se prefería regresarlo al tanque de recuperación. El eugenol ha sido utilizado en el CIBNOR en otros lotes de huachinangos, otros pargos y cabrillas sin mayor problema. Lo que se pudo inferir como posible causa fue que la temperatura se encontraba muy alta, llegando casi a los 31 °C, y que pudiera estar relacionada con esta respuesta, es decir, que el efecto anestésico del eugenol es dependiente de la temperatura del agua; dicha hipótesis tendrá que ser evaluada en una investigación posterior. El eugenol, que es el ingrediente activo del aceite de clavo, ha reemplazado al metanosulfonato de tricaína, por su costo y accesibilidad, pero además porque algunos técnicos han sentido cierta reacción en la piel. Sin embargo, la seguridad y eficacia del eugenol como anestésico en peces no ha sido sistemáticamente evaluada (Sladky *et al.*, 2001). En un estudio comparativo de anestesia entre la tricaína y el eugenol en la especie *Piaractus brachypomus*, se observó que los peces anestesiados con eugenol tenían más probabilidades de reaccionar ante una punción de aguja, en comparación a los peces anestesiados con tricaína. Además, las reacciones a la punción con aguja fueron más consistentes, y con frecuencia más exageradas con eugenol, en comparación con las reacciones con

tricaína. Como observación interesante, 14 de 15 peces reaccionaron a la punción de la aguja a una concentración de 100 o 200 mg/L de eugenol, y sólo 10 de 15 peces reaccionaron a 50 mg de eugenol/L. Paradójicamente, a un aumento de la concentración de eugenol, aumentaron las reacciones de la punción de la aguja. En contraste, en los peces expuestos a tricaína a 50 mg/L, sólo 8 de 15 reaccionaron a la punción de la aguja, mientras que a 100 o 200 mg/L sólo un pez reaccionó (Sladky *et al.*, 2001). Con lo anterior, se hace necesario el investigar y establecer protocolos de anestesia con eugenol en las diferentes especies de peces en cautiverio y en particular en el huachinango.

8.7. Enfermedades en los reproductores de huachinango

En la piscicultura marina la presencia de parásitos como hongos, protozoos (flagelados, ciliados y esporozoos) helmintos (digeneos, monogeneos, cestodos, nematodos, acantocéfalos) y crustáceos, pueden desarrollar estados patológicos en los peces confinados (Fuentes Zambrano *et al.*, 2003). Sin embargo, en climas cálidos, los parásitos, especialmente los externos, son el principal grupo de patógenos que causan mortalidad en los peces sometidos a cautiverio (Hepher y Pruginin, 1989). Los parásitos externos se vigilaron constantemente en los reproductores de huachinango, y periódicamente se aplicaron tratamientos preventivos y/o correctivos para evitar la muerte de ejemplares. Dentro de estos, se encuentran los copépodos parasitarios externos, que usualmente se alimentan de células epiteliales y fluidos del hospedero. Cuando la infección es en la piel, el tejido del hospedero se desgasta, produciendo hinchazón; cuando es en las branquias, el hospedero puede sufrir pérdida de su capacidad respiratoria, mientras que aquellos que se alojan en ojos llegan a producir ceguera (Morales-Serna y Pérez Ponce de León, 2012). En este sentido, el presente estudio hace hincapié, en que los ojos del huachinango son muy susceptibles a infectarse, inflamarse y desgastarse hasta llegar a la ceguera. En el mejor de los casos se observa una cicatrización dejando al huachinango tuerto. Sin embargo, esto hace que el reproductor tenga más posibilidades de golpearse el otro ojo en el tanque

de reproducción, por la persecución de los machos, o bien, por un golpe después de que el pez haya saltado durante alguna maniobra de mantenimiento, como alimentación o limpieza del tanque, etc. En el caso de la única hembra en el tanque-CIBNOR, la hembra se trasladó ya con un ojo cicatrizado y fue precisamente, una infección en el otro ojo, la que cesó su reproducción y finalmente murió. Lo mismo ocurrió con una hembra en el tanque-CIAD, la cual se sacrificó. En un estudio realizado en pargos y jureles de la Bahía de Chamela, en Jalisco, se detectaron 11 especies de *Caligus*, que representan un riesgo potencial para la pesquería y la actividad acuícola de esas especies de peces; en particular, la especie *Caligus sclerotinosus*, es un copépodo parásito de *Lutjanus peru* (Morales-Serna y Pérez Ponce de León, 2012). Cada ejemplar de huachinango cultivado representa varios miles de pesos de inversión (Dr. Rafael Campos, comunicación personal), si consideramos que son 4 años para llegar al estado reproductivo, se tendrán que tomar normas más estrictas de prevención y diagnóstico temprano y tratamiento en enfermedades de los ojos del huachinango. Al parecer, se trata de un problema particular de esta especie, ya que en el pargo amarillo por ejemplo, aún cuando su comportamiento reproductivo es mucho más agresivo, raramente se han observado ejemplares con alguno de los ojos en mal estado, de igual forma no hay nada similar observado o reportado en otras especies de lutjanidos cultivadas.

9. CONCLUSIONES

1. La edad de primera maduración de huachinango *L. peru* producido en el CIBNOR se presentó al cuarto año de cultivo, con una longitud total promedio de 562 ± 35 mm, una longitud patrón promedio de 469 ± 31 mm, y un peso corporal promedio de 2.71 ± 0.41 Kg.
2. Las hembras maduraron a una longitud total promedio de 530 ± 13 mm, una longitud patrón promedio de 434 ± 12 mm, y un peso corporal promedio de 2.45 ± 0.11 Kg, mientras que los machos a una longitud total promedio de 564 ± 52 mm, una longitud patrón promedio de 462 ± 39 mm, y un peso corporal promedio de 2.76 ± 0.46 Kg.
3. La supervivencia del huachinango cultivado fue del 16%, equivalente a 40 ejemplares, habiendo estadísticamente más machos que hembras.
4. Las hembras que desovaron presentaron múltiples desoves sin la necesidad de una manipulación, ni un tratamiento hormonal.
5. Las hembras que se reprodujeron presentaron un rango entre 30 y 60 mL de huevos por desove, con un promedio de 46.5 mL, equivalentes a 101,200 huevos por desove. El promedio de las hembras que desovaron fue de 2.3 kg, y la fecundidad absoluta fue de 44,000 huevos/Kg/desove.
6. La viabilidad de los huevos de la hembra que se reprodujo en el CIAD fue del 55%, mientras que en la hembra que se reprodujo en el CIBNOR fue del 100%.
7. No se encontró un efecto de temperatura en el número de desoves de huachinango, la cual tuvo un incremento gradual durante el verano desde los 27 hasta los 31 °C.

8. Durante la reproducción de huaninango cultivado, la Testosterona se encontró en un rango de 16.06 a 66.86 ng/mL, el Estradiol en un rango de 36.20 a 52.69 ng/mL, y la 11-ketosterona en un rango de 4.33 a 48.60 ng/mL.

9. El cociente de la concentración de 11-ketotestosterona en relación a la concentración de estradiol permitió la identificación del sexo del huachinango cultivado (generación 2010) y pargo amarillo cultivado (generación 2007), así como huachinango silvestre capturado en julio. Sin embargo, no fue confiable identificar el sexo en los huachinangos silvestres capturados en mayo o alejados de la época reproductiva natural.

10. Se concluyó que la identificación del sexo mediante la técnica de inmunoensayo ELISA para esteroides sexuales fue confiable una vez que los peces presentaron maduración gonádica y reproducción, pero no durante el comienzo de la temporada reproductiva, o bien en huachinangos silvestres inmaduros. Valores cercanos ó menores a ≤ 0.1 , identificaron a hembras mientras que valores mayores o iguales a ≥ 0.1 , identificaron a machos.

11. El comportamiento reproductivo de huachinango se presentó de forma continua durante el día y los desoves se presentaron alrededor de la media noche y las primeras horas de la madrugada.

10. LITERATURA CITADA

Anónimo. 2012. Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2012. SAGARPA, CONAPESCA.

Anónimo. 2010. Carta Nacional Pesquera. Diario Oficial, Jueves 2 de diciembre. Segunda Sección. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Social, Pesca y Alimentación. 93 pp.

Álvarez-Lajochere, L., Hernández-Molejón, O. G. 2001. Producción de juveniles de peces estuarinos para un Centro en América Latina y el Caribe: diseño, operación y tecnologías. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, 424 pp.

Allen, G. R. 1985. FAO species catalogue. Vol. 6. Snappers of the world. An annotated and illustrated catalogue of lutjanid species known to date. FAO Fish. Synop., (125)Vol. 6: 208 pp. FAO Fisheries Department.

Arreguín-Sánchez, F., Arcos-Huitrón, E. 2011, La pesca en México: estado de la explotación y uso de los ecosistemas, *Hidrobiologica* 21: 431-462.

Babin, P. J., Carnevali, O., Lubzens, E., Schneider, W. J. 2007. Molecular aspects of oocyte vitellogenesis in fish: 39-76. En: Babin, P. J., Cerdà, J., Lubzens, E. The fish oocyte from basic studies to biotechnological applications. Springer.

Bromage, N., Porter, M., Randall, C. 2001. The environmental regulation of maturation in farmed fish with special reference to the role of melatonin and photoperiod. *Aquaculture* 197: 63-98.

Burgos-Aceves, M. A. 2011. Estudios hormonales, bioquímicos y hemáticos durante la maduración gonádica en la cabrilla sardinera *Mycteroperca rosacea* (Streets, 1877). Tesis de Doctorado, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. 133 pp.

Chu-Koo, F., Dugué, R., Alván Aguilar, M., Casanova Daza, A., Alcántara Bocanegra, F., Cháves Veintemilla, C., Duponchelle, F., Renno, J. F., Tello, S., Nuñez, J. 2009. Gender determination in the Paiche or Pirarucu (*Arapaima gigas*) using plasma vitellogenin, 17 β -estradiol, and 11-ketotestosterone levels. *Fish Physiology and Biochemistry* 35: 125-136.

Davis, T. L. O., West, G. J. 1992. Growth and mortality of *Lutjanus vittus* (Quoy and Galmard) from the northwest shelf of Australia. *Fishery Bulletin U.S.*: 90: 395-404.

Dawson, A. 1998. Comparative reproductive physiology of non-mammalian species. *Pure and Applied Chemistry* 70: 1657-1669.

Díaz-Urbe, J. G., Chávez, E. A., Elorduy-Garay, J. F. 2004. Assessment of the Pacific red snapper (*Lutjanus peru*) fishery in the southwestern Gulf of California. *Ciencias Marinas* 30: 561-574.

Dufour, S., Seber, M. E., Weitzien, F. A., Rousseau, K., Pasqualini, C. 2010. Neuroendocrine control by dopamine of teleost reproduction. *Journal of Fish Biology* 76: 129-160.

Dumas, S., Rosales-Velázquez, M. O., Contreras-Olguín, M., Hernández-Ceballos, D., Silverberg, N. 2004. Gonadal maturation in captivity and hormone-induced spawning of the Pacific red snapper *Lutjanus peru*. *Aquaculture* 234: 615-623.

Dye, H. M., Sumpter, J. P., Fagerlund, U. H. M., Donaldson, E. M. 1986. Changes in reproductive parameters during the spawning migration of pink salmon *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum). *Journal of Fish Biology* 29: 167-176.

Ekström, P., Meissl, H. 1997. The pineal organ of teleost fish. Review in *Fish Biology and Fisheries* 7: 199–284.

Fostier, A., Billard, R., Breton, B., Zohar, Y. 1983. The gonadal steroids: 277-372. En: Hoar, W. S., Randall, D. J., Donaldson, E. M. (Eds.). *Fish Physiology* Vol. 9A, Academic Press. U.S.A.

Fuentes Zambrano, J. L., Rojas, C. S., Reyes León, Y. 2003. Parásitos en juveniles de *Lutjanus griseus* (pisces: lutjanidae) de la laguna de la restinga, isla de margarita, Venezuela. *Interciencia* 28: 463-468.

Gallardo-Cabello, M., Sarabia-Mendez, M., Espino-Barr, E., Anislado-Tolentino, V. 2010. Biological aspects of *Lutjanus peru* in Bufadero Bay, Michoacan, Mexico: growth, reproduction and condition factors. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 45: 205-215.

Garduño-Dionate, M., Unzueta-Bustamante, M. L., Hernández-Martínez, M., Lorán-Nuñez, R. S., Martínez-Isunza, R. M. 2010. Crecimiento de huachinangos juveniles silvestres (*Lutjanus peru*) en un encierro de engorda en Puerto Vicente Guerrero, Guerrero, México. *Ciencia Pesquera* 18: 93-96.

Goetz, F. W. 1983. Hormonal control of oocyte final maturation and ovulation in fish: 117–170. En: Hoar, W. S., Randall, D. J., Donaldson, E.M. (Eds.), *Fish Physiology*. Vol. IX, Part B: Reproduction. Academic Press, Orlando, Florida.

González, A., Piferrer, F. 2003. Aromatase activity in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) brain. Distribution and changes in relation to age, sex, and the annual reproductive cycle. *General and Comparative Endocrinology* 132: 223-230.

Guerrero-Tortolero, D. A., Campos-Ramos, R., Burgos-Aceves, M. A., Pérez-Urbiola, J. C., Colado-Durán, G. 2010. Effects of compressed seasonally changing day-length cycles on spawning performance, production of viable eggs and levels of vitellogenin in plasma in female yellowtail snapper *Lutjanus argentiventris*. *Journal of Fish Biology* 77, 2285-2297.

Guerrero-Tortolero, D. A. Muhlia-Melo, A., Rodríguez-Romero, J. 1999. Preliminary study on the effect of stocking density on the growth and survival of the yellow snapper *Lutjanus argentiventris* confined in cages in a tidal pond. *North American Journal of Aquaculture*: 82-84.

Habibi, H. R., Andreau-Vieyra, C. V. 2007. Hormonal regulation of follicular atresia in teleost fish: 235-247. En: Babin, P. J., Cerdà, J. y Lubzens, E. (Eds). *The fish oocyte from basic studies to biotechnological applications*. Springer.

Hara, A., Sullivan, C V., Dickhoff, W. W. 1993. Isolation and some characterization of vitellogenin and its related egg yolk proteins from coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Zoological Science* 10: 245-256.

Hazon, N., Balment, R. J. 1998. Endocrinology: 441-463. En: Evans, D. H. (Ed.). *The physiology of fishes*. 2a Ed. CRC Press. E.U.A.

Hepher, B, Pruginin, Y. 1989. *Cultivo de peces comerciales (Basado en las experiencias de las granjas piscícolas en Israel)*. Limusa. México. 316 pp.

Hoar, W. S. 1969. Reproduction: 1-72. En: Hoar, W. S. y Randall, D. J. (Eds.). 1969. Fish Physiology. Vol. III. Academic press. E.U.A.

Hobby, A. C., Pankhurst, N. W., Geraghty, D. P. 2000. A comparison of sex steroid binding protein (SBP) in four species of teleost fish. Fish Physiology and Biochemistry 23: 245–256.

Hobby, A. C., Pankhurst, N. W. 1997. The relationship between plasma and ovarian levels of gonadal steroids in the repeat spawning marine fishes *Pagrus auratus* (Sparidae) and *Chromis dispilus* (Pomacentridae). Fish Physiology and Biochemistry 16: 65–75.

Houssay, B. A. 1930. Acción sexual de la hipófisis en los peces y reptiles. Revista de la Sociedad Argentina de Biología 106 : 686–688.

Ibarra-Castro, L., Álvarez-Lajonchere, L. 2009. Improved induced-spawning protocol for the spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*). The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh 61: 121-133.

Khalfalla, M. M., Hammouda, Y. A., Tahoun, A. M., Abo-State, H. A. M. 2008. Effect of broodstock sex ratio on growth and reproductive performance of blue tilapia *Oreochromis aureus* (Steindachner) reared in hapas: 115-125. En: 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture 2008. October 12-14, 2008, Cairo, Egypt.

Kohn, Y. Y., Mark Lokman, P., Kilimnik, A., Symonds, J. E. 2013. Sex identification in captive hapuku (*Polyprion oxygeneios*) using ultrasound imagery and plasma levels of vitellogenin and sex steroids. Aquaculture 384-387: 87-93.

Lam, T. J. 1982. Application of endocrinology in fish culture. *Canadian Journal of Aquatic Fisheries and Science* 39: 11-137.

Mañanós, E. J., Zanuy, Ñ. S., Carrillo, M., Le Menn, F. 1994. Sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) vitellogenin. II-Validation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Comparative Biochemistry and Physiology B* 107: 217-223.

Marte, C. L. 1989. Hormone-induced spawning of cultured tropical finfishes. *Advances in Tropical Aquaculture, AQUACOP IFREMER* 9: 519-539.

Matsuyama, M., Adachi, S., Nagahama, Y., Kitajima, C., Matsuura, S. 1991. Annual reproductive cycle of the captive female Japanese sardine *Sardinops melanostictus*: relationship to ovarian development and serum levels of gonadal steroid hormones. *Marine Biology* 108: 21-29.

Miura, T., Miura, C. I. 2003. Molecular control mechanisms of fish spermatogenesis. *Fish Physiology and Biochemistry* 28: 181–186.

Morales-Serna, F. N., Pérez Ponce de León, G. 2012. Los copépodos parásitos: componentes importantes de la biodiversidad. *CONABIO. Biodiversitas* 104: 1-5.

Mylonas, C. C., Zohar, Y. 2007. Promoting oocyte maturation, ovulation and spawning in farmed fish. Cap. 15: 437-474. En: Babin, P. J., Cerdà, J., Lubzens, E (Eds). *The fish oocyte from basic studies to biotechnological applications*. Springer.

Mylonas, C. C., Zohar, Y. 2001. Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 10: 463–491.

Muñoz-Cueto, J. A. 2005. Control hormonal de la reproducción en peces: 101-158. En: Silva, A. (Ed.) Cultivo de Peces Marinos. Universidad Católica del Norte. Coquimbo. Chile. 266 págs.

Nagahama, Y., Yamashita, M. 2008. Regulation of oocyte maturation in fish. *Development Growth and Differentiation* 50: S195–S219.

Nichols, J. T., Murphy, R. C. 1922. On a collection of marine fishes from Peru. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 46: 501-516.

Ng, N. K., Tsi, D., Munro, A.D. 1997. Induced final maturation and ovulation in a small anabantid teleost, the dwarf gourami (*Colisa lalia*). II. The modulatory effects of monoaminergic and opioid drugs on the responsiveness to LHRHa. *Aquarium Science and Conservation* 1: 199-215.

Peter, R. E. 1983. The brain and neurohormones in teleost reproduction: 97-135. En: Hoar, W. S., Randall, D. J., Donaldson, E. M. (Eds.). *Fish physiology* Vol. 9A. Academic Press. E.U.A.

Peter, R. E., Yu, K. L. 1997. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 7: 173–197.

Peter, R. E., Lin, H. R., Van der Kraak, G. M. 1988. Induced ovulation and spawning in cultured freshwater fish in China: advances in application of GnRH analogous and dopamine antagonist. *Aquaculture* 74: 1-10.

Piferrer, F., Blázquez, M. 2005. Aromatase distribution and regulation in fish. *Fish Physiology and Biochemistry* 31: 215-226.

Pintos-Terán, P. A., Rosales, O. M., Dumas, S., Pliego Cortés, H., Alcántar, J. P. 2003. Características reproductivas del huachinango del Pacífico (*Lutjanus peru*) en cautiverio. II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura: 615-623.

Redding, J. M., Patiño, R. 1993. Reproductive Physiology: 503-54. En: Evans, D. H. (Ed). The physiology of fishes. U.S.A.

Reddy, S. M. W., Wentz, A., Aburto-Oropeza, O., Maxey, M., Nagavarapu, S., Leslie, H. M. 2013 Evidence of market-driven size-selective fishing and the mediating effects of biological and institutional factors. Ecology Applied 23: 726–741.

Reyna-Trujillo, M. M. 1993. Desarrollo gonádico y época de desove del “huachinango” (*Lutjanus peru*) Nichols y Murphy 1922 (Pisces: Lutjanidae) en la Bahía de La Paz, B.C.S., México. Tesis de licenciatura, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco. 73 pp.

Rocha-Olivares, A. 1998. Age, growth, mortality, and population characteristics of the Pacific red snapper, *Lutjanus peru*, off the southeast coast of Baja California, Mexico. Fishery Bulletin 96: 562-574.

Rocha Olivares, A. 1991. Edad y crecimiento del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922), (Perciformes: Lutjanidae) en la Bahía de La Paz y zonas adyacentes, B.C.S., México. Tesis profesional, Departamento de Biología Marina, Universidad Autónoma de Baja California Sur. 121 pp.

Rocha-Olivares, A., Sandoval-Castillo, A., J. 2003. Mitochondrial diversity and genetic structure in allopatric populations of the Pacific red snapper *Lutjanus peru*. Ciencias Marinas 29: 197-209.

Rojas-Herrera A. A. 2001. Aspectos de dinámica de poblaciones del huachinango *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922) y del flamenco *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) (Pisces: Lutjanidae) del litoral de Guerrero, México. Tesis de Doctorado, Facultad de Medicina, Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Colima, México, 194 pp.

Rottmann, R. W., Shireman, J. V., Chapman, F. A. 1991. Introduction to hormone-induced spawning of fish. SRAC Publication No. 421.

Ruiz-Luna, A., Girón, E., Madrid, J., González, A. 1985. Determinación de edad, crecimiento y algunas constantes biológicas del huachinango del Pacífico, *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922): 188-201. En: Memorias del VII Congreso Nacional de Zoología, Morelia, México.

Santamaría, A., Chávez, E. A. 1999. Evaluación de la pesquería de *Lutjanus peru* (Pisces: Lutjanidae) de Guerrero, México, Revista de Biología Tropical 47: 571-580.

Schreck, C. B., Contreras-Sanchez, W., Fitzpatrick, M. S. 2001. Effects of stress in fish reproduction, gamete quality and progeny. Aquaculture 197: 3-24.

Schulz, R. W., Miura, T. 2002. Spermatogenesis and its endocrine regulation. Fish Physiology and Biochemistry 26: 43-56.

Sladky, K. K., Swanson, C. R., Stoskopf, M. K., Loomis, M. R. Lewbart, G. A. 2001. Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachypomus*). American Journal of Veterinary Research 62: 337-342.

Slater, C. H., Schreck, C. B., Swanson, P. 1994. Plasma profiles of the steroids and gonadotropins in maturing female spring Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Comparative Biochemistry and Physiology A* 109: 167-175.

Suzuki, K., Hioki, S. 1979. Spawning behavior, eggs, and larvae of the lutjanid fish, *Lutjanus kasmira*, in an aquarium. *Japanese Journal of Ictiology* 26: 161-166.

Swanson, P., Dickey, T. J., Campbell, B. 2003. Biochemistry and physiology of fish gonadotropins. *Fish Physiology and Biochemistry* 28: 53–59.

Taranger, G. L., Carrillo, M., Schulz, R. W., Fontaine, P., Zanuy, S., Felip, A., Weltzien, F. A., Dufour, S., Karlson, O., Norberg, B., Andersson, E., Hansen, T. 2010. Control of puberty in farmed fish. *General Comparative Endocrinology* 165: 483-515.

Thomas, P. 2003. Rapid, nongenomic steroid actions initiated at the cell surface: lessons from studies with fish. *Fish Physiology and Biochemistry* 28: 3–12.

Thomas, P., Zhu, Y., Pace, M. 2002. Progestin membrane receptors involved in the meiotic maturation of teleost oocytes: a review with some new findings. *Steroids* 67, 511–517.

Thomas, P., Boyd, N. 1988. Induced spawning of spotted sea trout, red drum and orange mouth corvine (Family: Sciaenidae) with Luteinizing hormone-releasing hormone analog injection. *Contribution to Marine Science* 30: 43-48.

Tort, L., Balasch, J. C., Mackenzie, S. 2004. Fish health challenge after stress. Indicators of immunocompetence. *Contribution to Marine Science* 2: 443–454.

Tyler, J. R., Sumpter, J. P. 1996. Oocyte growth and development in teleosts. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 6: 287–318.

Van der Kraak, J., Chang, P., Janz, D. M. 1998. Reproduction : 465-488. En: Evans, D. H. (Ed.). *The physiology of fishes*. 2a Ed. CRC Press. E.U.A.

Voronina, E., Wessel, G. M. 2003. The regulation of oocyte maturation. *Current Topics in Developmental Biology* 58: 53-110.

Warner, R. R. 1975. The adaptive significance of sequential hermaphroditism in animals. *The American Naturalist* 109: 61–82.

Yaron, Zvi. 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture* 129: 49-73.

Yaron, Z., Levavi-Sivan, B. 2011. Endocrine regulation of fish reproduction: 1500–1508. En: Farrell, A. P. (Ed), *Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment*. volume 2, San Diego, Academic Press.

Zamora Munciño-Arroyo, C. 2005. *Biología reproductiva del huachinango *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922) (Pisces: Lutjanidae)*, en punta Pérula, Jalisco. Tesis de Maestría, Universidad de Guadalajara, División de Ciencias Biológicas y Ambientales. 80 pp.

Zanuy, S. M., Carrillo, F. 1987. La reproducción de los teleósteos y su aplicación en acuicultura: 1-132. En: Espinosa de los Monteros, J., Labarta, U. (Eds.). *Reproducción en acuicultura*. FEUGA. España.

Zohar, Y., Mylonas, C. C. 2001. Endocrine manipulation of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*. 197: 99-135.