

**CIB** CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**ESTUDIO DE LA BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL ROBALO  
PALETA *Centropomus medius* (Günther 1864) PARA SU  
APLICACIÓN EN ACUACULTURA**

**TESIS**

Que para obtener el grado de  
**DOCTOR EN CIENCIAS**  
Uso, Manejo y Preservación de los recursos naturales  
(Orientación en Biología Marina)

PRESENTA

M.C. Minerva C. Maldonado García

La Paz, B.C.S., diciembre del 2004

## **ACTA DE LIBERACION DE TESIS**

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 13:00 horas del día 21 del Mes de Octubre del 2004, 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:

### **"ESTUDIO DE LA BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL ROBALO PALETA *Centropomus medius* (Günther 1864) PARA SU APLICACIÓN EN ACUACULTURA"**

Presentada por el alumno:

**Minerva Concepción Maldonado Garcia**

Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **Biología Marina**

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

### LA COMISIÓN REVISORA

---

**Dr. Vicente Gracia López**  
DIRECTOR DE TESIS

---

**Dr. Manuel Carrillo Estévez**  
CO-TUTOR

---

**Dr. Carlos Rosas Vázquez**  
CO-TUTOR

---

**Dr. Humberto Villarreal Colmenares**  
CO-TUTOR

---

**Dr. Agustín Hernández Herrera**  
CO-TUTOR

---

**Dra. Thelma Castellanos Cervantes**  
DIRECTORA DEL PROGRAMA DE POSGRADO

## **Comité tutorial**

### **Esta tesis fue dirigida por:**

Dr. Vicente Gracia López. CIBNOR

### ***Tutores***

Dr. Manuel Carrillo Estévez. IATS

Dr. Agustín Hernández Herrera. IPN

Dr. Humberto Villarreal Colmenares. CIBNOR

Dr. Carlos Rosas Vázquez. UNAM

### ***Jurado de examen doctoral***

Dr. Vicente Gracia López. CIBNOR

Dr. Manuel Carrillo Estévez. IATS

Dr. Agustín Hernández Herrera. IPN

Dr. Humberto Villarreal Colmenares. CIBNOR

Dr. Carlos Rosas Vázquez. UNAM

### ***Suplente.***

Dr. Angel I. Campa Córdova CIBNOR

Dr. Jesús Rodríguez Romero CIBNOR

## Resumen

Los peces de la Familia Centropomidae se encuentran en las zonas costeras y estuáricas y poseen una amplia distribución tropical y subtropical. Tienen gran importancia por su pesquería comercial y deportiva. Las características biológicas que poseen, su precio y la gran demanda existente las hace de interés para la acuicultura. Las especies de la Familia Centropomidae que se cultivan actualmente son la perca del Nilo, *Lates niloticus*, cultivada en Nigeria; el barramundi, *L. calcarifer*, cultivada en Taiwán, Tailandia, Malasia, Australia e Indonesia, y el robalo común, *Centropomus undecimalis*, cultivado en la República Dominicana. El robalo paleta, *C. medius* es una de las especies del género *Centropomus* que se distribuye en las costas del océano Pacífico, principalmente en Baja California Sur hasta el sur de Colombia y representa una especie con potencial para la acuicultura. Por todo lo expuesto, se realizó un estudio sobre la biología reproductiva y la composición bioquímica anual de los reproductores de *C. medius* para ampliar el conocimiento de esta especie y crear la base para su reproducción en cautiverio. Desde abril del 2001 a noviembre del 2002, 301 hembras y 193 machos fueron capturados. La proporción de sexos fue de 1:1.6 (machos:hembras). Se observaron cinco estadios de desarrollo en las hembras, cada uno con características y tamaños celulares diferentes: Estadio I: previtelogénicos (25-55  $\mu\text{m}$ ). Estadio II: Alveolo cortical (56-250  $\mu\text{m}$ ). Estadio III: Vitelogénicos (251-340  $\mu\text{m}$ ). Estadio IV: Maduración (341-645  $\mu\text{m}$ ). Estadio V. Atrésico (21-100  $\mu\text{m}$ ). En los machos, se observaron cinco estadios reproductivos: Estadio I, Quiescencia; Estadio II, Maduración temprana; Estadio III, Maduración intermedia; Estadio IV, Maduración completa y Estadio V, Regresión. El índice gonadosomático (IGS) y el índice hepatosomático (IHS), y los resultados obtenidos por las técnicas histológicas, sugieren que el periodo de desove se extiende de septiembre a noviembre con un pico reproductivo activo en septiembre (IGS= 0.98 % y IHS= 0.70 %). El periodo de pre-gametogenesis se extiende de enero a junio y está relacionado con el incremento del fotoperiodo; el inicio de la vitelogénesis se produce cuando el fotoperiodo es de 14 horas de luz y 10 de oscuridad (solsticio de verano) y cuando la temperatura del agua se sitúa por encima de los 22 °C. Durante el periodo de pos-desove, en diciembre, el 90 % de los ovocitos observados fueron previtelogénicos y el 10 % atrésicos. El análisis de los resultados demostró que el desarrollo ovárico es sincrónico por grupo y se determinó una estrategia reproductiva hermafrodita protándrica. Los machos presentaron madurez un mes antes que las hembras y mantuvieron la madurez un mes después. En cuanto a la fisiología reproductiva, los resultados nos indican que en *C. medius*, durante el periodo de recuperación (PRp), la concentración de proteína es elevada en el músculo y en la gónada, al contrario que en el periodo de

reproducción (PR). Lo cual indicó que la proteína es utilizada durante el periodo reproductivo. La concentración de glucógeno aumentó en el músculo durante el PRp y disminuyó durante el PR. Lo cual indica que el glucógeno fue movilizado para el crecimiento somático y es utilizado durante el PR. La concentración de lípidos y triglicéridos, aumentó en la gónada y en el hígado durante el PRp y el PR para disminuir en el momento del desove lo cual indicó que los lípidos son las moléculas empleadas para la formación de la gónada. En general, la grasa perivisceral, el hígado y el músculo, juegan un papel principal de almacenamiento de reservas y en su suministro a la gónada del robalo paleta *C. medius*. El patrón de variación de la composición corporal de *C. medius*, no difiere en relación con la de otros teleósteos estudiados y está influenciada por la temperatura y el ciclo reproductor. La variación de la concentración de proteínas, lípidos, triglicéridos, glucógeno y grasa perivisceral, presentaron una variación en la composición corporal y estuvieron relacionados con el desove. En esta tesis se incluye un apartado de aplicación a la acuicultura.

**Palabras clave:** Biología reproductiva, movilización de reservas, robalo.

## Abstract

Fish belonging to Centropomidae family have a widespread tropical and subtropical distribution. They are coastal and estuarine fish, with high commercial and leisure value. Snooks have an aquaculture potential; some species are already being farmed in countries like Nigeria (*Lates niloticus*), Taiwan, Malaysia, Dominican Republic (*Centropomus undecimalis*), Australia and Indonesia (*Lates calcarifer*). The Blackfin snook, *C. medius* is distributed along the Pacific coast throughout Baja California Peninsula. In this study the reproductive biology and biochemical composition of *C. medius* was assessed in order to compliment the information for its aquaculture production. 301 females and 193 males were captured from April 2001 to November 2002, sex ratio was 1:1.6 (male:female). Gonadosomatic (GSI) and hepatosomatic (HSI) indexes with the histological analysis, suggested that the spawning period for *C. medius* extended from September to November with peak on the spawning activity in September. The period of pre-gametogenesis was observed from January to June with a close relation with temperature and photoperiod increase. During the post-spawning period, 90% of the oocytes were previtellogenic and 10% were atretic. Oocytes were classified into five stages of development: Stage I, Previtellogenic (25-55  $\mu\text{m}$ ); Stage II, Cortical alveoli (56-250  $\mu\text{m}$ ); Stage III, Vitellogenic (251-340  $\mu\text{m}$ ); Stage IV, Maturation (341-645  $\mu\text{m}$ ) and Stage V, Atretic (21-100  $\mu\text{m}$ ). Males were classified into five reproductive stages: Stage I, Regressed; Stage II, Early maturation; Stage III, Mid maturation; Stage IV, Full maturation and Stage V, Regression. Ovarian development was determined as group synchronous with a protandric hermaphrodite reproductive strategy. Mature males could be observed one-month prior and one month after mature females. Results demonstrated that in the recovery period (PRp) the muscle and gonad of *C. medius* have higher concentration of protein, while this concentration decreases during the reproductive period (PR). This indicates that protein is being used during this period. The same was observed for glycogen during the PRp and PR periods, indicating that the glycogen is used for somatic growth. The concentration of lipids and triglycerides was elevated in gonads and liver during PRp and lower during spawning. The variability of these reserves is important for *C. medius* gonad condition and is similar to that of other teleosts, which are also influenced by temperature and reproductive cycle. This work includes an appendix about the Blackfin snook, *C. medius* aquaculture applicability.

**Keywords:** Reproductive biology, reserves mobilization, snook.

## **Dedicatoria**

### *A mis padres*

Por todo su amor y confianza durante estos años, especialmente a mi mama María Luisa, que siempre esta ahí con su paciencia, apoyo y comprensión, alentándome a seguir por más difícil que sea el camino.

### *A mis abuelos*

Especialmente a mi abuelita María Hernández, por todo el amor que me dió cuando era niña y por el que me sigue dando a través de sus oraciones, gracias porque formas parte de mí.

### *A mis hermanos*

Lourdes, Blanca, Mimí, Nacho y Den, por tener la fortuna de compartir cada momento de esta vida con Ustedes, espero volvamos a repetir la experiencia juntos.

### *A mis sobrinos*

Lu, Andreita, Denisse, Jorgito, Kenia, Nachito, Alison, Derek y Evan.  
Espero que realicen siempre sus sueños, todo es posible si nace del deseo de hacerlo. Solo recuerden que forman parte de esta gran familia y que sin ustedes no podemos perpetuar.

### *A mi amado Carlos L.*

Que ha sabido ser mi compañero, amigo y amante.  
Te amo bebe, sin tí a mi lado nada sería igual.

### *A mis bebes*

Thor y Shak, que han sido mi diversión y compañía  
en los momentos de soledad.

*A mis Ángeles que me cuidan y me protegen.  
Y a mis futuros hijos*

## **Agradecimientos**

Al Dr. Mario Martínez García, Director del CIBNOR, por darme la oportunidad de estar en el programa de estudiante-investigador, y por darme su apoyo cuando se suscitó el cambio de Director de tesis; al Dr. Sergio Hernández, Dr. Humberto Villarreal y al Dr. Carlos Lechuga, porque con el apoyo recibido en ese momento de cambio de Director, pude continuar adelante con los estudios de doctorado.

Al Dr. Vicente Gracia, por su profesionalismo, que sin su confianza, amistad y conocimiento no se hubiera llevado a cabo esta tesis. Estoy muy agradecida por todo lo que he aprendido de ti y principalmente por todo tu apoyo incondicional a lo largo de estos años. Gracias por todo.

Al Dr. Manuel Carrillo, por sus críticas constructivas, su paciencia en todo momento y su contribución a la biología reproductiva de peces. Gracias por todo el apoyo recibido durante la estancia en España.

A los Doctores Carlos Rosas y Agustín Hernández, por su apoyo y asesoría durante la realización de la tesis. Gracias.

A la Dra. Silvia Zanuy por su asesoría y permitirme realizar una estancia en el Departamento de Fisiología del Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal, CSIC.

Al Dr. Carlos Lechuga por todo su tiempo y apoyo durante la realización de este trabajo de tesis.

A los miembros de mi ex-comité tutorial: Dr. Alejandro Maeda, Dr. Francisco Moyano, Dr. Javier Alarcón, Dr. Manolo Pérez y Dra. Patricia Hernández, por ser profesionales y justos al dar su veredicto a favor. Gracias por todo.

A mis compañeros de trabajo y amigos del grupo de investigación, Margarita Kiewek, Marcela Linares, Miguel Aguilar, José Maquín Pérez, Jorge Sandoval y Pablo Monsalvo, por vivir parte de esta aventura de tesis conmigo y por todo el apoyo recibido de parte de Ustedes. Especialmente a Margarita Kiewek, por su trabajo como editora en inglés. Gracias.

A los técnicos que participaron con su asesoría y apoyo técnico, Tere Arteché, Carmen Rodríguez, Diana Carreño, Roberto Hernández y al grupo de histología del Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal, CSIC.

A la M. C. Claudia Morales, por su ayuda logística en la bibliografía. A Gerardo Hernández por la edición de las fotografías de histología; a los pescadores de Puerto Chale y de Rancho Bueno, por su apoyo en la captura de los reproductores. A los técnicos de servicios generales y de mantenimiento vehicular. A Héctor Acosta por la edición de los artículos en inglés.

A mis amigos que ya saben quienes son, que siempre están junto a mí, en los momentos de alegría y de soledad.

A las personas que quiero, que me quieren y que de alguna manera estuvieron involucradas durante el proceso de esta tesis: Nelly, Francis, Javier, Adriana, Mene, Key, Clau, Carlitos, Antonio, Pablo, Poncho, René, Lauris, Julio C, Onu, Erika, Héctor, Olimpia, Fernando, Chuy, Marco, Gilma, Lula, Mireya, Celita, Mimi...

A Phil y Sarah Sprowl por su cariño y ofrecermme su casa durante la estancia en USA. Gracias por todo su apoyo.

A las chicas de posgrado, Lupita, Lety, Osve, Betty, Claudia por sus ánimos en todo momento y su trato siempre amable y a la Dra. Thelma Castellanos por todo el apoyo recibido. Al personal del centro de cómputo de posgrado Horacio y Manuel, por su apoyo en el soporte técnico.

A todas las personas que no he mencionado pero que han sido importantes en mi vida profesional y especialmente al personal técnico y administrativo del CIBNOR.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la concesión de la beca de doctorado (registro 90780), con la cual también pude realizar una estancia de investigación en el extranjero.

Este trabajo de investigación se realizó con el financiamiento del proyecto CONACYT-35162-B.

## Contenido

Resumen.....	ii
Abstract.....	iii
Dedicatoria.....	v
Agradecimientos.....	vi
Lista de publicaciones.....	xi
Lista de figuras.....	xii
Figuras en apéndice.....	xii
Lista de tablas.....	xiv
Lista de abreviaturas.....	xiv
I. Introducción.....	1
II. Antecedentes.....	3
1. Biología de la familia Centropomidae.....	3
1.1. Taxonomía y distribución.....	3
1.2. Hábitat.....	7
1.3. Alimentación.....	7
1.4. Importancia económica.....	8
2. Reproducción de los teleósteos.....	10
2.1. Estrategias reproductivas.....	10
2.2. Desarrollo gonadal.....	15
2.2.1. Desarrollo testicular y espermatogénesis.....	15
2.2.2. Desarrollo ovárico.....	16
2.2.3. Vitelogénesis y maduración final de los ovocitos.....	18
2.3. Control ambiental de la reproducción.....	20
3. Fisiología de la reproducción.....	22
3.1. Movilización de reservas.....	23
3.2. Moléculas implicadas en la reproducción.....	26
3.2.1. Proteínas.....	26
3.2.2. Lípidos y triacilgliceridos.....	27
3.2.3. Glucógeno.....	28
3.2.4. Colesterol.....	29
III. Hipótesis.....	30
IV. Objetivos.....	30
1. Objetivo general.....	30
2. Objetivos particulares.....	30
V. Material y métodos.....	31
1. Colecta de organismos.....	31
1.1. Área de colecta.....	31
1.2. Método de colecta.....	32

2. Biología reproductiva.....	33
2.1. Procesamiento de muestras (técnicas histológicas) .....	33
2.2. Criterios de clasificación gonadal.....	36
2.3. Abundancia relativa y diámetro celular.....	37
2.4. Índices biológicos.....	38
2.5. Análisis estadísticos.....	39
3. Fisiología de la reproducción.....	39
3.1. Procesamiento de muestras.....	39
3.2. Análisis bioquímicos.....	40
3.2.1. Determinación de proteínas.....	40
3.2.2. Determinación de lípidos totales.....	41
3.2.3. Determinación de triglicéridos.....	42
3.2.4. Determinación de glucógeno.....	43
3.2.5. Determinación de colesterol.....	43
3.3. Análisis estadístico.....	44
VI. Resultados.....	45
1. Biología reproductiva.....	45
1.1. Proporción de sexos, talla y peso de los organismos.....	45
1.2. Desarrollo gonadal.....	47
1.2.1. Desarrollo testicular.....	47
1.2.2. Desarrollo ovárico.....	50
1.3. Tipo de ovario.....	54
1.4. Época de puesta.....	58
1.5. Cambio de sexo.....	61
2. Fisiología de la reproducción.....	62
2.1. Grasa visceral.....	62
2.2. Análisis bioquímico del músculo.....	63
2.3. Análisis bioquímicos del hígado.....	65
2.4. Análisis bioquímicos de la gónada.....	67
VII. Discusión.....	69
1. Biología reproductiva.....	69
2. Fisiología reproductiva.....	80
VIII. Conclusiones.....	85
IX. Referencias.....	87
X. Apéndice.....	1
Aplicación a la acuicultura.....	1
Características biológicas del robalo paleta.....	1
Captura de reproductores.....	6
Transporte.....	8
Aclimatación.....	9
Alimentación.....	9

Inducción al desove .....	10
Fecundidad .....	14
Maduración precoz .....	15
Uso del robalo para policultivos.....	16
Cultivo larval .....	17
Engorde de juveniles .....	17
XI. Anexos .....	18

## Lista de publicaciones

1.- Minerva Maldonado-García, Vicente Gracia-López, Manuel Carrillo, Agustín Hernández-Herrera, Carmen Rodríguez-Jaramillo, 2004. Stages of gonad development during the reproductive cycle of the blackfin snook, *Centropomus medius* Günther. Aceptado en la revista *Aquaculture Research*.

2.- Minerva Maldonado-García, Vicente Gracia-López, Carlos Rosas-Vázquez, Manuel Carrillo. Reserves mobilization and utilization in relation to seasonal changes in the reproductive condition in wild Snook *Centropomus medius* (Günther, 1864). Sometido a la revista. *Journal of Fish Biology*.

3.- Minerva Maldonado-García, Vicente Gracia-López, Manuel Carrillo, Margarita Kiewek-Martínez,. Protandric sex reversal in snook *Centropomus medius* of the Mexican Tropical Pacific. **Por someter a *Aquaculture***.

## Lista de figuras

Figura 1. Ejemplar reproductor de robalo paleta *Centropomus medius*.

Figura 2. Área de captura en el complejo lagunar bahía Magdalena.

Figura 3. Variación mensual de la longitud total y del peso en hembras y machos de *Centropomus medius*, durante dos ciclos reproductivos.

Figura 4. Representación en fotografías que ilustran el estado de desarrollo de los testículos observados durante el ciclo reproductivo de *C. medius*.

Figura 5. Representación en fotografías que ilustran el estado de desarrollo de los ovocitos observados durante el ciclo reproductivo de *C. medius*.

Figura 6. Variación mensual en la abundancia relativa en los diferentes tipos de ovocitos y las células espermatozógenas presentes en *C. medius*, durante un ciclo sexual.

Figura 7. Cambios mensuales en el índice gonadosomático (IGS) y hepatosomático (IHS) en hembras y machos de *C. medius*, relacionados con el fotoperíodo natural, y a la temperatura del agua durante dos ciclos reproductivos.

Figura 8. Cambio de sexo.

Figura 9. Variación mensual de la grasa perivisceral (IGP) durante dos ciclos reproductivos.

Figura 10. Cambios bioquímicos mensuales en músculo de hembras y machos de *C. medius* durante un ciclo reproductivo.

Figura 11. Cambios bioquímicos mensuales en hígado de hembras y machos de *C. medius* durante un ciclo reproductivo.

Figura 12. Cambios bioquímicos mensuales gónada de hembras y machos de *C. medius* durante un ciclo reproductivo.

## Figuras en apéndice

Figura 13. Ejemplares de robalo paleta *C. medius*.

Figura 14. Característica externa de diferenciación de hembras y machos durante el periodo reproductivo de robalo paleta.

Figura 15. Cavity visceral de un reproductor masculino en proceso de maduración.

Figura 16. Ovario de robalo paleta maduro y en proceso de maduración.

Figura 17. Testículo de robalo paleta maduro y en proceso de maduración.

Figura 18. Técnicas de colecta de reproductores vivos.

Figura 19. Recipiente de transportación del lugar de colecta a la orilla de la playa.

Figura 20. Transporte de reproductores de la playa al laboratorio de aclimatación.

Figura 21. Ovocitos del robalo paleta tomados a través de una biopsia ovárica.

Figura 22. Ovocitos hidratados del robalo paleta con presencia de la gota lipídica.

## Lista de tablas

Tabla I. Clasificación taxonómica de la familia *Centropomidae*.

Tabla II. Lista de especies del género *Centropomus* distribuidas en el océano Atlántico y Pacífico.

Tabla III. Captura de robalo (*Centropomus* spp) en diversos países de América Latina de 1990 a 1999 (en toneladas).

Tabla IV. Modelo de reproducción en teleósteos según Balon (1975 y 1981).

## Lista de abreviaturas

<b>g</b>	Gramos
<b>mm</b>	Milímetro (s)
<b>cm</b>	Centímetro (s)
<b>ES</b>	Error estándar
<b>µm</b>	Micra (s)
<b>°C</b>	Grados centígrados
<b>m</b>	Metros
<b>n</b>	Número de muestras
<b>M</b>	Machos
<b>H</b>	Hembras
<b>mg</b>	Miligramo
<b>ml</b>	Mililitro
<b>µl</b>	Microlitro
<b>N</b>	Norte
<b>W</b>	Oeste
<b>S</b>	Sur
<b>E</b>	Este
<b>%</b>	Porcentaje
<b>USD</b>	Dólares americanos
<b>Sp</b>	Especie
<b>P</b>	Probabilidad

## I. Introducción

La producción acuícola mexicana es una actividad industrial en vías de expansión que supone importantes ingresos para el país. Hasta ahora, el cultivo de diferentes especies de camarón (*Litopenaeus* sp.) y su exportación al mercado estadounidense, constituyen la mayor parte del esfuerzo de la acuicultura, lo que ha dado como resultado grandes ingresos. Actualmente, centros de investigación en el desarrollo del cultivo del camarón, como el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR, La Paz, B.C.S.), están incursionando en el área de la piscicultura marina, con el fin de desarrollar el cultivo de nuevas especies. Una atención especial se ha puesto en la selección de especies de peces del Golfo de California y de la costa mexicana del Pacífico, como los pargos y huachinangos (Fam. *Lutjanidae*), lenguados, (Fam. *Paralichthyidae*), cabrillas (Fam. *Serranidae*) y robalos (Fam. *Centropomidae*).

A principios del 2001, comenzó en el CIBNOR un proyecto que versa sobre la reproducción y la cría larval del robalo paleta *Centropomus medius* (Fam. *Centropomidae*). Durante el 2000, se iniciaron algunas pruebas de reproducción preliminares. Hasta ahora se han conseguido favorables resultados en la captura de reproductores, transporte, condiciones de alimentación y manejo en cautividad. Las especies de la Familia *Centropomidae* tienen una amplia distribución tropical y subtropical. Son peces marinos costeros y estuarinos, distribuidos a lo largo de las costas del Pacífico y del Atlántico. Tienen gran importancia por su pesquería comercial, deportiva y por sus características biológicas son consideradas de alto valor para la acuicultura (Tucker *et al.*, 1985; Álvarez-Lajonchère *et al.*, 2001a). Las especies de la Familia *Centropomidae* que se utilizan actualmente en la acuicultura son perca del nilo (*Lates niloticus*) cultivada en Nigeria, barramundi (*L. calcarifer*) cultivada en países asiáticos como Taiwán, Tailandia, Malasia, Australia e

Indonesia y *Centropomus undecimalis* (robalo común) cultivado en la República Dominicana (Patrona, 1984; Tucker, 1987; Tucker, 1998; Cerqueira, 2002).

Para este proyecto de tesis, se trabajó con reproductores silvestres de robalo paleta (*Centropomus medius*). Con diferentes objetivos nos planteamos conocer la época de puesta durante el ciclo anual llevando un seguimiento del desarrollo gonadal; para ello empleamos técnicas histológicas, cálculo de índices biológicos y cambios en la composición bioquímica (lípidos totales, proteínas, triglicéridos y colesterol) de los reproductores principalmente en tejido de músculo, gónada e hígado y la cuantificación de grasa perivisceral.

En general, la información que se obtenga de los diferentes tejidos a distintas etapas del desarrollo ontogénico, tanto de triglicéridos, como lípidos totales, proteínas, colesterol y ácidos grasos, es necesaria para la formulación de dietas, para reproductores como para larvas. Esta información es importante porque se conocerá la preparación de los reproductores al desove. También es indicativo del grado de bienestar fisiológico y puede darnos considerable información acerca del grado de nutrición que se transfiere de los padres a las siguientes generaciones.

Por consiguiente, este trabajo pretende generar conocimiento sobre la biología reproductiva del robalo paleta *C. medius* y algunos de los cambios bioquímicos relacionados con la misma, orientado a establecer las bases iniciales para el control reproductivo en cautiverio de esta especie.

## II. Antecedentes

### 1. Biología de la familia Centropomidae

#### 1.1. Taxonomía y distribución

Las especies del género *Centropomus* están representadas por peces comúnmente conocidos como robalos (inglés: snook). La estructura actual de la familia Centropomidae, según la interpretación de Greenwood (1976), consta de las subfamilias *Centropominae* y *Latinae*. La familia Centropomidae incluye únicamente el género *Centropomus* y la subfamilia *Latinae* está compuesta de los géneros *Lates* y *Pseudoperca* (*Psammoperca*). Rivas y Cook (1968) (Tabla I).

Tabla I. Clasificación taxonómica de *C. medius*.

		Género	Especie
Reino	Animalia		
Phylum	Chordata		
Clase	Osteichthyes		
Orden	Perciformes		
Familia	Centropomidae		
Subfamilia	Centropominae	<i>Centropomus</i>	<i>medius</i>
		<i>Centropomus</i>	<i>undecimalis</i>
		<i>Centropomus</i>	<i>paralellus</i>
Subfamilia	Latinae	<i>Lates</i>	<i>lates</i>
		<i>Lates</i>	<i>calcarifer</i>
		<i>Pseudoperca</i>	<i>Waigiensis</i>

Rivas (1986).

Las especies de *Centropomus* forman un grupo homogéneo y compacto muy distinto a los otros dos géneros de la familia. Además, *Centropomus* se encuentra solamente en los trópicos y subtropicos del Atlántico y Pacífico Americano, mientras que *Lates* y *Pseudoperca* están presentes solamente en Asia, África y la región de Indo-Pacífico. Se han descrito 30 especies del género *Centropomus* y

según Rivas (1986) solo se reconocen doce: seis especies en el Atlántico occidental considerando el Golfo de México y seis especies en el Pacífico oriental (Tabla II).

Las especies del género *Centropomus* son muy similares y a simple vista no pueden ser diferenciadas. El color de la línea lateral oscura, cuerpo similar, forma de las aletas y la coloración uniforme del cuerpo, es similar en todos los robalos. La familia *Centropomidae*, fue descrita por Poey (1860) y el género *Centropomus* por Lacepede (1802), estableciendo entre ambos una diagnosis del género *Centropomus* la cual taxonómicamente describe a los robalos como peces percamorfos que en ocasiones alcanzan un gran tamaño (más de dos metros).

El género *Centropomus* lo ha descrito ampliamente Chávez (1963), como a continuación se describe; Los poros de las escamas de la línea lateral son continuos hasta el margen posterior de la aleta caudal la cual tiene de 24 o 25 vértebras, las primeras dos vértebras de la columna no tienen costillas. Tres huesos predorsales. Aleta dorsal claramente separada. La primera, de espinas (siete u ocho), la segunda con una espina y de 8 a 11 radios ramificados, las dos partes de la aleta separadas claramente por un espacio. Aleta anal con tres espinas y de cinco a nueve radios ramificados. Aleta caudal con 17 radios principales, su margen posterior redondeado, truncado o furcado.

Escamas ctenoideas pequeñas o de tamaño moderado, dorsalmente no se extienden hacia delante sobre la cabeza mas allá del nivel del punto medio del ojo (por lo general solo a nivel del margen posterior de la órbita); presentes sobre mejillas y opérculo, con unas vainas de escamas en la base de la aleta anal y dorsal blanda; las escamas se extienden hacia las membranas de las aletas (incluyendo la caudal). Sin escamas sobre la maxila; presentan un supramaxilar pequeño. Dientes sobre el premaxilar, dentario y dientes de la mandíbula pequeña en viarias hileras.

El número de radios, espinas y la talla, son características particulares de cada una de las especies del género *Centropomus* (Chávez, 1963).

Tabla II. Lista de especies *Centropomus* distribuidas en el océano Atlántico y Pacífico.

Especie	Autor	Nombre común	Distribución
<i>C. undecimalis</i>	Bloch, 1792	Robalo común	Costas del Océano Atlántico desde Pamlico Sound, Norte de Carolina, hacia el Sur de Río de Janeiro, Brasil. Costa de Florida, Golfo de México (Veracruz y Tabasco). Costas del Océano Atlántico y costas del Golfo del
<i>C. parallelus</i>	Poey, 1860	Robalo gordo de escama chica	Suroeste de Florida (Sebastian hasta Sarasota) y costas del Golfo de México (Tamaulipas y Tabasco), hacia el sur de Florianópolis, Brasil. Río Changres, Panamá. Lago de Nicaragua, Río de San Juan.
<i>C. pectinatus</i>	Poey, 1860	Robalo sábalo	Océano Atlántico y costas del Golfo de Florida (del fuerte Pierce a la ciudad de Panamá), Sureste del Golfo de México (Veracruz a Campeche), de las Antillas al Sur de Bahía, Brasil.
<i>C. ensiferus</i>	Poey, 1860	Robalo de espolón	Costas del Océano Atlántico. Costas del Golfo de México (Veracruz), Costas del Atlántico hacia el sur de Florida desde el río de san Lucie hacia el sur del río de Janeiro, Brasil.
<i>C. poeyi</i>	Chávez, 1961	Robalo mejicano	Costas del Océano Atlántico. Costas del Golfo de México, Tampico, Tamaulipas hacia el sur de la frontera Veracruz-Tabasco.
<i>C. mexicanus</i>	Bocourt, 1868	Robalo gordo de escama grande	Costas del Océano Atlántico. Costas del Golfo de México (Tamaulipas y Tabasco), Las Antillas hacia el sur de Porto Alegre, Brasil.
<i>C. armatus</i>	Gill, 1863	Robalo de espina larga	Costas del Océano Pacífico Mexicano (Mazatlán, Sinaloa) hacia el sur de Tola, Ecuador.
<i>C. nigrescens</i>	Günther, 1864	Robalo prieto	Costa del Océano Pacífico Mexicano, Mazatlán, Sinaloa, La Paz. Hacia el Sur de Buenaventura, Colombia. Paita, Perú.
<i>C. unionensis</i>	Bocourt, 1868	Robalo de giba	Costas del Océano Pacífico. Bahía Unión, El salvador hacia el Sur de Tumbus, Perú.
<i>C. viridis</i>	Lockington, 1877	Robalo blanco	Costas del Océano Pacífico, Isla Asunción, Baja California Sur y Golfo de California (Guaymas, Sonora y Bahía Concepción, Baja California, México) hacia el sur de Paita, Perú e Islas Galápagos.
<i>C. robalito</i>	Jordan y Gilbert, 1882	Robalito	Costas del Océano Pacífico. Lago de San Juan, Sonora, México. Hacia el sur de Panamá. Norte de Perú.
<i>C. medius</i>	Günther, 1864	Robalo de aleta prieta o paleta	Costas del Océano Pacífico. Baja California Sur (Bahía Magdalena) reportado localmente como paleta, Golfo de California (Guaymas) México, hacia el sur de Buenaventura, Colombia. Ecuador y Perú, reportado localmente como chirichigno.

Autores: Marshall, 1958; Chávez, 1963; Fuentes, 1973; Carvajal, 1975; Vasconcelos, 1978; Rivas, 1986; Tucker, 1987; Cerqueira *et al*, 2001.

El robalo paleta *C. medius*, se ha descrito por Rivas (1986) como un pez de tamaño medio (40 cm), alargado y algo comprimido en el dorso pero no lateralmente; dorso elevado y vientre recto. El tamaño comercial es a partir de los 25 cm. Taxonómicamente se considera con una cabeza alargada, de perfil anterior casi recto. El maxilar alcanza el borde anterior del ojo. La altura del cuerpo es de 3.5 a 4 veces con respecto a su longitud patrón. Pre-orbital y preopérculo fuertemente aserrados; este con dos o cuatro prolongaciones alargadas en el ángulo. Borde preopercular con una o dos espinas débiles en el ángulo; la membrana opercular no llega a la vertical del origen de la primera aleta dorsal. De 16 a 17 branquiespinas, incluidos dos rudimentos de la parte inferior del primer arco branquial. Escamas en una línea longitudinal de 56 a 65. Aleta dorsal con ocho espinas y 10 radios; aleta anal con espinas y siete radios; la segunda espina de igual o de menor tamaño que la tercera. La aleta pectoral, corta y redondeada, no alcanza el extremo posterior de la aleta pélvica. El cuerpo es plateado, dorso oscuro, línea lateral sobre una banda oscura. La primera aleta dorsal de espinas y membrana entre la segunda y tercera espina anal oscuras; aletas pélvicas oscurecidas en su extremo distal, (Rivas, 1986) (Fig.1).



Fig.1. Ejemplar reproductor de robalo paleta *Centropomus medius*

## 1.2. Hábitat

Las especies del género *Centropomus* son marinas, que se han encontrado en aguas tropicales y subtropicales, en zonas estuarianas, en lagunas costeras con aporte de agua dulce, cerca de la costa en mar abierto, en zonas poco profundas próximos o cercanos a la desembocaduras de ríos o canales, en aguas salobres, en zonas características con fondos fangosos, arenosos, con piedras y en ocasiones cubierto de conchas de ostiones o almejas. No están presentes o son muy raras en islas con ausencia de corrientes permanentes o semipermanentes. Su migración entre agua dulce y agua salada es estacional con salinidades desde 10 ppm hasta 38 ppm y temperaturas desde 15 a 30 °C. Habitan en aguas poco profundas, se sugiere que soportan fluctuaciones térmicas considerables. La talla de madurez sexual varía desde 150 a 1230 milímetros.

En etapas tempranas de crecimiento, se asocian a comunidades de manglares, de lirios acuáticos o pastos marinos. Los juveniles soportan rangos entre 12 y 40 °C y salinidades desde 0 a 40 ppm (Marshall, 1958; Volpe, 1959; Chávez, 1963; Vasconcelos *et al.*, 1980; Gilmore *et al.*, 1983; Rivas 1986; Tucker, 1987; Peters *et al.*, 1998; Taylor *et al.*, 2001).

## 1.3. Alimentación

Se han realizado estudios de hábitos alimenticios del robalo *Centropomus undecimalis* y *Centropomus parallelus*, encontrando en la mayoría de estudios que la alimentación está relacionada al hábitat, distribución y época del año y que se alimentan principalmente durante el cambio de marea o en la noche; la alimentación, en general, consiste en peces (57.3 %) (como anchoveta, mojarra, ronco, bagre, curvina, lenguado, mojarra blanca, sardina y lisa) y crustáceos

(camarones 41.0 % y cangrejos el 18 %) (Marshall, 1958; Vasconcelos *et al.*, 1980; Tucker, 1987).

Entre los peces más abundantes encontrados están (*Diapterus sp.*, *Callinectes sapidus*), y peces de la familia Leiognathidae (*Eucinostomus sp.*), Haemulidae (*Orthopristis chrysopterus*), Eleotridae, Gobidae, Mugilidae (*Mugil sp.*, *M. cephalus*), Sparidae (*Lagodon sp.*), Engraulidae (*Anchoa sp.*), Gerridae (*Eucinostomus sp.*) y Poeciliidae (*Mollienisia sp.* y *Gambusia sp.*), entre los crustáceos están las familias Palaemonidae, Penaeidae y Alphaeidae. En etapa juvenil se han encontrado larvas de crustáceos, larvas de camarones de la familia Penaeus, larvas de peces, Isopodos, Holoturideos, larvas de insectos, restos de poliquetos, restos de moluscos, foraminíferos y restos de vegetación (Marshall, 1958; Chávez, 1963; Vasconcelos *et al.*, 1980; Tucker, 1987; Peters *et al.*, 1998; Muller, 2000).

#### 1.4. Importancia económica

Los robalos tienen un alto valor comercial principalmente por su carne. El filete de robalo está considerado como uno de los más cotizados dentro de la industria culinaria por su aroma, la textura y el sabor de la carne, además porque contiene del 20-21% de proteína y 0.83 % de lípidos (Tucker *et al.*, 1985).

El robalo es objeto de cultivo en sus respectivas regiones, con precio de venta bastante elevado y una oferta insuficiente para cubrir toda la demanda. Existe, por tanto, un buen potencial de colocación en el mercado internacional (Patrona, 1984; Cerqueira *et al.*, 2001). Brasil y México son de los países de América Latina que más pescan estos peces obteniendo juntos más del 70% de capturas de los últimos 10 años (Tabla III). En las estadísticas mundiales no incluyen Estados Unidos, porque la pesca comercial del robalo y su comercialización fue prohibida en 1958 debido a

la sobreexplotación de la especie (Volpe, 1959; Cerqueira *et al.*, 2001; Álvarez-Lajonchère, 2001a).

En cuanto al valor de comercialización, Tucker y Jory (1991) estimaron que el precio de venta en los Estados Unidos sería de USD\$5.00 por Kg., para individuos de 500 g, en Brasil varía entre los USD\$3.47 a USD\$5.21 por Kg. dependiendo del peso, época del año y el tamaño del pez (Cerqueira, 2002). En México en el Mercado de abasto del DF el precio de venta fluctúa de USD\$5.24 a USD\$6.99 dependiendo de la frescura del pez, la época del año y la talla del mismo y en La Paz, Baja California Sur el precio de venta va de USD\$3.49 a USD\$7.87 dependiendo de si la compra es directa con el pescador o en el supermercado.

Tabla III. Captura de robalo (*Centropomus spp*) en diversos países de América Latina, de 1990 a 1999 (en toneladas).

País	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99
<i>Costa Atlántica</i>										
Brasil	2300	2351	2310	2310	2320	1820	1686	1866	2996	3090
México	1145	1419	1995	2139	2090	2885	2955	3307	2990	3415
Venezuela	1246	1354	2593	4783	4596	3023	2177	1560	2022	1704
Colombia	118	61	387	86	13	22	111	5	<0.5	---
Granada	<0.5	1	1	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	1
Dominicana	60	163	63	52	94	35	20	24	64	12
<i>Costa del Pacífico</i>										
Colombia	78	34	97	64	63	86	341	73	96	62
México	450	603	481	757	1026	563	587	684	752	996
Total	6077	6586	8771	11627	11027	9558	9190	8659	9937	12405

(FAO 2001 en Cerqueira, 2002)

## 2. Reproducción de los teleósteos

### 2.1. Estrategias reproductivas

En cuanto a sus estrategias reproductoras, así como en otros aspectos de su biología, los teleósteos son los vertebrados más diversificados. Balon (1981) ha propuesto una clasificación comprensible de estilos reproductivos basados en los sitios de desove, en las adaptaciones del huevo y embriones al sitio y al grado del cuidado paternal de los gametos después de la fertilización. Esta clasificación está relacionada con la supervivencia y el crecimiento de la progenie: una buena calidad de agua con suficiente disponibilidad de oxígeno, un riesgo mínimo de depredación de la descendencia y suficiente disponibilidad de alimento para las larvas que han iniciado la ingesta exógena, minimizando igualmente el impacto de la competencia Inter. e Intra., específica (Tabla IV). Balon (1981) establece una división básica entre desovadores pelágicos y desovadores demersales.

Los huevos de desovadores pelágicos son característicos de especies marinas o litorales (Russell, 1976; Sale 1980; Thresher, 1984). En tales especies, el desove regularmente toma lugar en sitios que aseguran la dispersión de los huevos, liberándolos directamente en la columna de agua, dispersándose pasivamente a merced de las corrientes marinas. Los peces demersales mayoritariamente son peces marinos costeros y en menor cantidad son especies de agua dulce; los huevos son muy grandes, con mayor volumen y contenido nutricional en el vitelo; éstos son desovados sobre el sustrato.

Los huevos y los estadios jóvenes de vida libre de los peces, ambos son vulnerables a condiciones abióticas desfavorables y al ataque de depredadores. Consecuentemente, el sitio del desove en la mayoría de las veces, determina la intensa naturaleza de los peligros que los huevos y las larvas encuentran.

Probablemente, el peligro potencial más importante para los huevos y las larvas sea la falta de oxígeno en el agua, el peligro de ser aplastados por sedimento, infecciones por microorganismos y principalmente la depredación. Sin embargo, los sitios de desove están bien concebidos para que el peligro de depredación esté reducido, así como el tener sitios con poco oxígeno, para evitar la colonización por microorganismos (Tabla VI).

Tabla IV. Modelo de reproducción en teleósteos según Balon (1975 y 1981).

<b>Tipo de cuidado</b>
<b>I. Sin cuidado parental (huevos y juveniles)</b>
<i>A) Desovadores en sustratos descubiertos (dispersión de la puesta)</i>
1. Desovadores pelágicos
2. Desovadores bentónicos
<i>B) Desovadores sobre sustratos ásperos (rocas, grava, etc)</i>
1. Pelágicos, embrión y larvas de vida libre.
2. Bentónicos, embrión y larvas de vida libre.
<i>C) Desovadores en plantas</i>
1. No-obligatorio
2. Obligatorio
<i>D) Desovadores sobre sustratos arenosos</i>
<i>E) Desovadores con nidadas ocultas (ocultación de la puesta)</i>
1. Desovadores bentónicos
2. Desovadores en cuevas
3. Desovadores sobre invertebrados
4. Desovadores en playas
<b>II. Cuidado parental</b>
<i>A) Seleccionadores de sustrato (dispersión de la puesta)</i>
1. Desovadores en rocas
2. Desovadores en plantas
3. Desovadores terrestres
4. Desovadores pelágicos
<i>B) Desovadores en nido (ocultación de la puesta)</i>
1. En rocas y grava
2. Sobre arena
3. Sobre plantas
a) producen sustancias adherentes
b) no-producen sustancias adherentes
4. Sobre burbujas
5. Sobre cavidades
6. Sobre varios materiales
7. Sobre anémonas

---

**III. Portadores (transporte de la puesta)**

---

*A) Portadores externos*

1. Transferencia de cría.
2. Cría en la parte frontal
3. Cría dentro de la boca
4. Cría incubada en un receptáculo en agallas
5. Cría pegada al cuerpo del pez

*B) Portadores internos (dentro del sistema reproductor)*

1. Ovi-ovovivíparos
  2. Ovovivíparos
  3. Vivíparos
- 

Estas estrategias reproductoras responden también a las características del hábitat de cada especie, las cuales vendrán determinadas en gran medida por la influencia de los ciclos ambientales, que en muchos casos son moderadamente predecibles. De este modo, otro aspecto de la reproducción de muchas especies es su estacionalidad, es decir que se manifiestan en una determinada estación del año y en un ambiente concreto, adecuado para el posterior desarrollo y supervivencia de la progenie (Munro, 1990).

Desde las primeras investigaciones fue evidente que la reproducción de los peces abarca una gran diversidad de posibilidades: gonocorismo permanente y temporal (sexos separados); hermafroditismo sincrónico o simultáneo; hermafroditismo secuencial protogíneo (funcionan como hembras y después como machos) y protándrico (funcionan como machos y después como hembras); oviparidad (fertilización externa, los huevos son expulsados al medio para su fertilización), ovoviviparidad (fertilización interna, los huevos son retenidos hasta la eclosión) y viviparidad (fertilización interna, tiene a la cría ya como juveniles completamente formados) (Hoar, 1969). En los teleósteos es posible encontrar todo el espectro de estrategias de vida con respecto a la frecuencia de sus desoves, desde uno solo en toda la vida reproductiva llamado semelparí (ej. anguila y salmón del pacífico), varias reproducciones (ej. lubina, rodaballo y dorado) hasta

una reproducción continua (ej. anchoveta de Hawai), llamado iteroparía (Lambert y Ware, 1984).

Lambert y Ware, (1984), mencionan que la gran mayoría de peces presentan una estrategia de reproducción típica para cada especie y pueden tener estrategias reproductivas alternativas dentro de una población, puede haber subpoblaciones, que maduren a edades y tallas diferentes y que ejecuten comportamientos de reproducción diferentes. Algunas caen dentro de la situación en las cuales, las estrategias reproductivas alternativas, son para garantizar la supervivencia de la descendencia, de generación a generación.

La influencia de los factores medioambientales sobre la reproducción de los teleósteos, y de cómo pueden éstos últimos sincronizan sus estrategias reproductoras con los cambios ambientales, ha recibido una importante atención. En este sentido, se ha distinguido una serie de factores determinantes, los cuales determinarían la concentración del esfuerzo reproductor de una especie en un momento y lugar concreto; y otros factores que capacitarían al individuo para el reconocimiento de ese adecuado periodo (Baker, 1938).

El ciclo reproductor de la mayoría de las especies de teleósteos comprende una sucesión de estadios de diferente duración: gametogénesis, mantenimiento de la gónada, maduración final de los gametos, puesta y regresión gonadal. Por otra parte, los factores denominados próximos iniciarían su influencia sobre los ciclos gonadales sincronizando su desarrollo con el medio ambiente, maximizando la fecundidad potencial y la fertilización y consecuentemente la supervivencia de la progenie. Cada una de estas fases puede estar, a su vez, bajo diferente control exógeno o endógeno, y de acuerdo con esto, los factores próximos se han

diferenciado según el estadio determinado que influyen inicialmente (Mañanos *et al.*, 1997).

La clasificación de la influencia ambiental en estos dos factores (exógeno o endógeno) puede resultar algo artificial en ciertas ocasiones, ya que un factor considerado como último puede actuar también como señal sincronizadora. Así por ejemplo, las fluctuaciones del plancton, principal fuente potencial de alimento para las larvas, pueden actuar como señales sincronizadoras en algunas especies lo que conduce a la emisión de la puesta (Carrillo, 1989; Carrillo y Zanuy, 1993).

En las distintas especies de *Centropomus*, se ha determinado que la madurez sexual se alcanza a diferentes tallas: *C. undecimalis* entre 35 y 50 cm de longitud (Bertoni, 1995), *C. pectinatus* entre 26 y 30 cm y en *C. parallelus* alrededor de los 15 cm (Chávez, 1963). Igualmente, existen diferencias importantes en cuanto a la fecundidad de estas especies ya que *C. undecimalis* presenta desoves de 2.6 millones de óvulos, *C. poeyi* de 1.8 millones y *C. parallelus* de 376 mil óvulos (Chávez, 1963). Finalmente, las épocas de desove presentan también diferencias importantes: el desove principal de *C. parallelus* ocurre en los meses de noviembre a abril, para *C. pectinatus* desova en los meses de junio a noviembre. En *C. undecimalis*, se ha reportado que la época de desove comienza en el mes de abril y finaliza en el mes de octubre (Roberts, 1987; Peters *et al.*, 1998; Taylor *et al.*, 1998; Grier y Taylor, 1998; Grier, 2000); otros autores han reportado ha *C. undecimalis* como un hermafrodita protándrico (Taylor *et al.*, 2000); en *Lates calcarifer* se ha reportado una reproducción con inversión de sexo (Moore, 1979; Guiguen *et al.*, 1994).

## *2.2. Desarrollo gonadal*

La gónada, previa a la ovulación y a la puesta, inicia una fase de crecimiento y maduración, en la cual tienen lugar los procesos de gametogénesis; oogénesis y espermatogénesis. Bajo la influencia hormonal del hipotálamo y de la pituitaria, las gónadas a su vez también sintetizan y secretan a la circulación sistémica esteroides sexuales, los cuales regulan diferentes procesos metabólicos. En el ciclo reproductor de las hembras podemos distinguir las siguientes fases: previtelogénesis, vitelogénesis, maduración, ovulación y atresia.

### **2.2.1. Desarrollo testicular y espermatogénesis**

En la mayoría de los teleósteos, los testículos son órgano par, situado en la parte dorsal de la cavidad peritoneal, compuesto de numerosos lóbulos separados por tejido conectivo. La espermatogénesis tiene lugar en los cistes, situados en los lóbulos, constituidos por las células de Sertoli que contienen las espermatogonias. Entre estos lóbulos, existen otras células somáticas intersticiales, llamadas células Leydig (Grier, 2000).

Los diferentes estadios en la espermatogénesis se han definido de acuerdo con las características estructurales de las células germinales y de su núcleo. Al inicio de este proceso, las espermatogonias primarias pasan a espermatogonias secundarias, mediante divisiones mitóticas. Estas últimas se transforman en espermatocitos primarios, los cuales más tarde comenzarán la primera división meiótica y se convertirán en espermatocitos secundarios. Mediante la segunda división meiótica, estas células darán las espermátidas haploides, las cuales se diferenciarán en espermatozoides durante el proceso de espermiogénesis (Miura y Miura, 2001)

### 2.2.2. Desarrollo ovárico

Para conocer el estado de madurez de la gónada se han implementado dos métodos; el macroscópico donde se establece el grado de madurez del ovario de acuerdo a su tamaño, color, presencia o ausencia de ovocitos (Nielsen *et al.*, 1983; Groman, 1982), o el microscópico donde se emplean técnicas histológicas para clasificar los ovarios (Herrera *et al.*, 1988). Ésta última se ha empleado en varias especies de teleósteos (Jones, 1940; Henderson, 1962 Smith y Young, 1966; Macer, 1974; Shikhshabekov, 1972; Shrestha y Khanna, 1976; Shikhshabekov, 1978; Shrestha y Khanna, 1978; Grier y Abraham, 1983; Goodall *et al.*, 1987; Billard, 1987; Brown-Peterson *et al.*, 1988; Scott y Sumpter, 1989; Ntiba *et al.*, 1990; Wilson *et al.*, 1994; Crabtree *et al.*, 1997). En *Centropomus undecimalis*, algunos son los autores que han aplicado esta metodología, basándose principalmente en el conocimiento de la maduración de los testículos y descripción del ovario (Gilmore *et al.*, 1983; Grier *et al.*, 1998; Wallace *et al.*, 1993; Taylor *et al.*, 1998; Neidig *et al.*, 2000).

El ovario también es un órgano par, aunque en algunas especies se puede fusionar constituyendo un solo órgano. Durante la oogénesis, transformación de las ogonias en ovocitos, las oogonias dispersas en el ovario comienzan la primera división meiótica, pero quedan detenidas en el diploteno de la primera profase. Estos ovocitos primarios comienzan un largo periodo de crecimiento, en el que básicamente se pueden distinguir dos estadios: la fase previtelogénica, en la cual los ovocitos aumentan de tamaño mediante un crecimiento del citoplasma, y la fase de vitelogénesis, en la cual los nutrientes de reserva para el embrión son depositadas en el ovocito (Zanuy y Carrillo, 1991) después de esta última fase sucederán los procesos de maduración y ovulación y el huevo estará totalmente formado para ser fertilizado.

El desarrollo de los ovocitos en el ovario de los teleósteos se ha clasificado en tres tipos básicos (Wallace y Selman, 1981). En primer lugar se distinguen los ovarios sincrónicos, en los cuales todos los ovocitos se desarrollan y ovulan al unísono, y no hay reposición de ovocitos más tempranos en desarrollo. Estos ovarios se encuentran en especies que tienen una sola puesta al año y después mueren. Los ovarios sincrónicos por grupo son aquellos en los cuales existen al menos dos poblaciones de ovocitos de tamaños diferentes; uno de ellos, el más numeroso, es relativamente sincrónico y más homogéneo, el otro es más pequeño y está compuesto por ovocitos más jóvenes. Éste es el modelo de desarrollo ovocitario más común en especies de teleósteos. En este caso, la maduración, ovulación y puesta ocurren generalmente una vez durante el ciclo reproductor. Por último, existe el ovario asíncrono, en el cual pueden encontrarse ovocitos en todos los estados de desarrollo. Las especies con estos ovarios, como la dorada (*Sparus aurata*, etc), presentan varias puestas diferentes a lo largo del ciclo reproductor (Wallace y Selman, 1981). En algunas especies de teleósteos, se ha observado que las hembras a pesar de considerarse con el ovario sincrónico por grupo, pueden poner varias veces durante la misma estación de puesta (Zanuy *et al.*, 1986; Prat *et al.*, 1987; Carillo *et al.*, 1989).

En el caso de los *Centropomus*, se ha observado que *C. undecimalis* presenta un desarrollo ovárico del tipo sincrónico por grupo (Peters *et al.*, 1998), mientras que *C. medius*, a través de la observación de los ovocitos extraídos de una biopsia del ovario, presenta una oogénesis del tipo asincrónico (Álvarez-Lajonchère *et al.*, 2001b). La inducción al desove de especies con desarrollo ovárico del tipo asincrónico o sincrónico por grupo ofrece ventajas en su manejo para acuicultura ya que permite la obtención de desoves múltiples a lo largo de la época de reproducción (Carrillo y Zanuy, 1993).

### 2.2.3. Vitelogénesis y maduración final de los ovocitos

El proceso de vitelogénesis representa el principal acontecimiento fisiológico durante el crecimiento del ovocito (Carrillo *et al.*, 1993). Inicialmente se presenta la previtelogénesis; ésta fase marca el inicio de la actividad ovárica después de la última puesta, lo que produce una multiplicación de oogonias por mitosis; posteriormente se inicia la división meiótica formándose los ovocitos primarios. En un principio se hallan organizados en cistes, pero finalmente se aíslan y empiezan a rodearse de células foliculares hasta establecerse finalmente en su definitivo folículo, formado por dos capas de células, la granulosa y la teca.

Durante la fase de vitelogénesis, se produce la síntesis y acumulación de vitelo en el ovocito, por lo que estos presentan un gran crecimiento. La composición del vitelo es, primordialmente, de lípidos y proteínas que pueden ser sintetizados por el mismo ovocito (vitelogénesis endógena) o fuera de él (vitelogénesis exógena). Existen tres tipos de material vitelínico en el ovocito: las gotas lipídicas, las vesículas de vitelo o alvéolos corticales y los gránulos de vitelo. Las vesículas de vitelo son las primeras en aparecer las cuales están formadas por polisacáridos y proteínas de síntesis endógena (Mañanos *et al.*, 1992), las gotas lipídicas suelen aparecer juntamente con las vesículas de vitelo. La síntesis proteica es mayoritariamente exógena y es la responsable del crecimiento de los ovocitos; ésta síntesis se produce en el hígado, en el cual se observa un incremento del tamaño de los hepatocitos, de su actividad citoplasmática y del metabolismo hepático. Los gránulos del vitelo aparecen cuando hay una fusión de las gotas lipídicas y el vitelo, que darán origen a la formación de un citoplasma homogéneo (Carrillo *et al.*, 1993; Zanuy *et al.*, 1986).

Los estudios realizados sobre este proceso han indicado la secuencia de mecanismos que contribuyen a la vitelogénesis: la síntesis hepática y secreción de la fosfolipoglicoproteína, conocida como vitelogenina (VTG), en respuesta a los estrógenos circulantes; la distribución de VTG en la superficie del ovocito por la circulación materna; la entrada selectiva de VTG al ovocito a través de endocitosis medida por receptor, y la translocación y rotura de la VTG en dos subunidades polipeptídicas, lipovitelina y fosvitina, que pasarán a formar parte del vitelo (Carrillo *et al.*, 1993).

La síntesis hepática de la VTG por estrógenos ha recibido una detallada atención, tanto en anfibios como en teleósteos. Este proceso comienza cuando, al inicio de la vitelogénesis, las células de la granulosa del folículo ovárico sintetizan el estradiol, el cual entra en los hepatocitos y se une a receptores citoplasmáticos altamente específicos. En el paso siguiente, el complejo hormona-receptor se unirá a puntos de alta afinidad en la cromatina, lo que llevará a la modulación de la expresión de genes específicos. Al cabo de unas pocas horas, los hepatocitos experimentan una serie de aparentes cambios ultraestructurales y bioquímicos, los cuales en definitiva indican un aumento de la síntesis proteica, que desembocarán en la síntesis y secreción de VTG (Zanuy y Carrillo, 1987).

La maduración se inicia cuando la vitelogénesis está finalizando. Durante esta fase se produce la migración del núcleo, que estaba en posición central o ligeramente excéntrica, hacia el polo animal donde se halla situado el micrópilo, lugar por donde penetra el espermatozoide; en el citoplasma se van fusionando los gránulos de vitelo por una parte, y las gotas de grasa por otra, mientras que se produce un rápido aumento del tamaño debido a la hidratación. Cuando el núcleo ha alcanzado la periferia, se rompe la membrana nuclear (Germinal) y el material se entremezcla con parte del citoplasma que lo rodea. Generalmente, con esta fase

finaliza la primera división meiótica, formándose los ovocitos secundarios y el primer corpúsculo polar. En este momento, los ovocitos ya están listos para la ovulación o expulsión del folículo a la cavidad ovárica; cuando ésto ha ocurrido, se inicia la segunda división meiótica que cuando llega a la metafase, la fecundación ya es posible (Mañanos *et al.*, 1997).

En algunas especies de teleósteos mantenidas en cautividad, y sobre todo cuando las condiciones de cultivo no son las adecuadas, a pesar de que el proceso vitelogénico puede completarse, la maduración y ovulación del ovocito no se producen. Por el contrario, durante el proceso conocido como atresia ovocitaria, los ovocitos degeneran y son reabsorbidos. Este fenómeno es muy conocido y puede ser importante en condiciones de cautividad, aunque también se detecta durante el ciclo ovocitario en condiciones naturales (Zanuy y Carrillo, 1987). Durante el proceso de atresia las células de la granulosa se hipertrofian y se rompe la zona radiata que está formada por las interdigitaciones del ovocito y de las células de la granulosa (Mayer *et al.*, 1988). Las células foliculares hipertrofiadas se transforman en fagocitos y migran hacia el interior del ovocito, donde absorberán los componentes del vitelo. Al final de este proceso se forma el *corpus luteum*, el cual consta de una capa de células de la teca rodeando un amasijo de células foliculares. Esta masa de células posteriormente desaparece, probablemente debido a la desintegración y posterior reabsorción (Zanuy y Carrillo, 1987).

### 2. 3. *Control ambiental de la reproducción.*

Los mecanismos implicados en el control de la reproducción de los peces son múltiples e influenciados por el medio ambiente en que viven; en este medio existen determinadas condiciones ambientales que controlan, facilitan o favorecen la reproducción.

Las señales ambientales, como la temperatura o el fotoperiodo, son traducidos en señales hormonales, las cuales a su vez regularán los procesos de gametogénesis. La mayoría de la información que se tiene acerca de la ruta que siguen esas señales ambientales hace referencia al fotoperiodo. En esta función, los ojos y la glándula pineal, órgano fotorreceptor y glándula endocrina (secreción de melatonina), son las estructuras implicadas en la recepción de la información fótica y en su traducción en señales hormonales.

En las regiones tropicales, el fotoperiodo apenas varía a lo largo del año y la temperatura puede variar ligeramente, según se trate de estación seca o de lluvia. La tendencia de las especies tropicales es la de presentar un periodo dilatado de puesta o incluso una reproducción continua a lo largo del año. A pesar de ello siempre se observan picos de puesta y generalmente están asociados con las lluvias y/o inundaciones estacionales. Como hecho general, los factores asociados a las lluvias o inundaciones, están relacionados con la sincronización de la maduración final y con la puesta. La temperatura, la calidad del agua (pH y conductividad) y la intensidad de la luz son factores importantes que pueden influenciar el desarrollo gonadal (Zanuy y Carrillo, 1987).

Los peces marinos tropicales varían desde especies en las cuales algunos peces desovan a lo largo del año a otras especies en las cuales tiene bien definida su estación de desove; aún en los grupos formados, hay frecuentemente claras variaciones estacionales en la proporción de peces en una población que son activamente reproductivos (Pawson *et al.*, 2000).

Los estudios recientes confirman que algunos teleósteos responden primero al cambio de la temperatura para regular su ciclo reproductivo, la cual influye y juega un importante rol sobre las hormonas del sistema reproductivo de los

teleósteos (Carrillo *et al.*, 1989; Handeland y Stefansoon, 2001). La fluctuación de la temperatura permite el aumento o decremento de las respuestas hormonales (Stacey, 1984). Esta respuesta puede ser determinada por la presencia del colesterol, el cual es el precursor de las hormonas esteroideas como los andrógenos y estrógenos, que se encuentra principalmente en la gónada y empieza a acumularse durante el desarrollo sexual (Bentley, 1998; Carrillo *et al.*, 2000; Álvarez-Lajonchère, 2001b). Otras maneras de inducción al desove es por medio de la proporción entre machos y hembras, manipulación manual o bien por la utilización de hormonas (Pavlidis *et al.*, 2000; Grier y Taylor, 1998).

### **3. Fisiología de la reproducción**

A través de la alimentación, los reproductores silvestres acumulan energía que en un patrón estacional es utilizada para su crecimiento somático (acumulación de proteínas y lípidos) y para el crecimiento de la gónada (hay una disminución de proteínas y lípidos en el músculo) (Montgomery y Galzin, 1993). En el caso de reproductores cultivados, se pueden esperar cambios similares en la composición corporal cuya energía es proporcionada por la manipulación de las dietas y de las condiciones ambientales.

El conocimiento que se puede adquirir de los organismos silvestres, es básico para evaluar la calidad y condición fisiológica de los organismos cultivados (Smith *et al.*, 1990; Craing *et al.*, 2000). El éxito en la madurez gonádica y en la inducción al desove en condiciones controladas conlleva a una serie de efectos sinérgicos con otras variables como la nutrición, la densidad de los peces en cautiverio, el estrés y otros factores. Un manejo inadecuado de las variables antes mencionadas puede producir la inviabilidad de los huevos (Bromage y Roberts, 1995).

### 3.1. Movilización de reservas

En general, durante la fase de reproducción, el metabolismo de los teleósteos soporta importantes modificaciones, principalmente debidas al crecimiento y diferenciación de las gónadas (Bromage y Roberts, 1995). Fontaine y Olivereau (1975) revisaron detalladamente las modificaciones en la nutrición debidas a la maduración gonadal. Estos autores describieron que algunas especies manifiestan importantes cambios en su comportamiento de ingesta durante la reproducción. Algunas de ellas cesan totalmente de ingerir de alimento bastante antes del periodo de puesta (salmón del Atlántico, *Salmo salar*), mientras que otras especies lo manifiestan justo antes de la emisión de los huevos (abadejo, *Melanogrammus aeglefinus*). Sin embargo, en condiciones de cultivo generalmente la disminución de la ingesta no es tan marcada (Brawn, 1962; Kato, 1975; Hislop *et al.*, 1978).

Al mismo tiempo que ocurre esta reducción de la ingesta de alimento, hay un considerable aumento de peso de la gónada (Luquet y Watanabe, 1986). Estos datos sugieren que el animal debe movilizar sus reservas para obtener la energía necesaria para un activo metabolismo dirigido a la elaboración de la gónada. No obstante, no todo el material depositado en las gónadas, y especialmente en el ovario de las hembras posee un origen endógeno, sino que también existe un importante aporte de nutrientes a través de la dieta (Nassour y Leger, 1989). Este aporte puede darse en etapas anteriores al desarrollo gonadal, como durante el periodo de emisión de la puesta. Por tanto, la calidad y la cantidad de alimento pueden suponer importantes condicionantes para un éxito reproductivo.

Las reservas de los huevos de los teleósteos, se componen de una gran variedad de sustancias, tanto de origen maternal como endógeno. Algunas de estas sustancias son almacenadas en grandes cantidades, las cuales tendrán una gran

importancia en el desarrollo del embrión y de la larva. Otras, constituirán un reservorio para aquellos procesos dependientes de una elevada energía. No obstante, en algunos casos la importancia fisiológica de estos componentes de reserva es desconocida y solo puede inferirse a partir de evidencias circunstanciales (Heming y Buddington, 1988; Osse *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 1997; Izquierdo, 1996).

Los huevos de los teleósteos aptos para ser fertilizados, los cuales contienen del 8 al 32 % de lípidos (% de peso seco), poseen varios tipos de lípidos, diferentes a los derivados de la VTG, cuya proporción relativa depende de la especie. En el caso de lubina europea, *Dicentrarchus labrax* (Devauchelle *et al.*, 1982), lubina americana, *Morone saxatilis*; (Eldridge *et al.*, 1982), y la perca, *Micropterus salmoides* (Kaitaranta y Ackman, 1981), los huevos acumulan grandes cantidades (>80%) de ésteres de ceras y de colesterol, localizados principalmente en la llamada gota lipídica (Nakagama y Tsuchiya, 1971). Esta gota también puede contener algunos triglicéridos y el vitelo acumula principalmente fosfolípidos (Bailey, 1974; Kaitaranta y Nicolaidis, 1981). Respecto al origen de estos esteres se ha postulado que podrían originarse en gran medida por síntesis endógena en el ovocito, a partir de ácidos grasos constituyentes de lipoproteínas (Sand *et al.*, 1971; Wiegand e Idler, 1982). El significado biológico de la acumulación de estas sustancias ha sugerido que podría controlar la flotabilidad del huevo y de la larva, además de suponer una fuente de energía para el embrión (Sand *et al.*, 1971). El glucógeno también es activamente sintetizado a partir de glucosa, la cual es incorporada desde la sangre durante todo el desarrollo de los ovocito (Yurowitzky y Milman, 1975; Mommsen y Walsh, 1988). Todos estos metabolitos supondrán la primera fuente de energía metabolizable, y pueden ser movilizados con relativa facilidad, reservando las proteínas y aminoácidos para las vías anabólicas (Mommsen y Walsh, 1988; Rainuzzo *et al.*, 1997; Sargent *et al.*, 1997).

Para el crecimiento en peces es de mayor importancia la síntesis de proteína que la de lípidos (Saxena y Zandee, 1971). El almacenaje de carbohidratos no es importante por que su contribución es pequeña comparándola con el valor energético de los depósitos lipídicos o el aumento en volumen del músculo por proteínas. Inclusive, las elevadas concentraciones de glucógeno acumulado en los vertebrados (alrededor del 20% de la masa del hígado) como la carpa, *Carassius carassius*, tienen una mínima contribución al peso del pez o a su contenido calórico. Los carbohidratos almacenados en el hígado y cerebro, representan una pequeña proporción de la masa del pez, al contrario del músculo cuya acumulación de glucógeno sirve como una reserva limitada de corto plazo (Saxena y Zandee, 1971; Evans, 1993). Las rutas principales del metabolismo de carbohidratos pueden coincidir con la síntesis de proteína a través de aminoácidos comunes y generar precursores para la síntesis de lípidos (Saxena y Zandee, 1971; Evans, 1993).

Evans (1993) menciona, que los teleósteos poseen varios sitios para el almacenamiento de lípidos (hígado y músculo), y depósitos de lípidos (principalmente triglicéridos), localizados tanto subcutáneos como en la cavidad abdominal, muy frecuentemente asociados con el intestino y los ciegos pilóricos.

Cantidades importantes de triglicéridos se encuentran en el músculo de algunas especies marinas; presentando cambios muy pronunciados durante la migración reproductiva (ej. Trucha, *Oncorhynchus mykiss*) (Wourms y Evans, 1974; Saxena y Zandee, 1971).

Es evidente que existe una mayor atención hacia el estudio sobre el control hormonal de la lipólisis, y menor sobre la biosíntesis lipídica; especialmente, algunos estudios sobre la síntesis de lípidos en membrana, se han centrado en las adaptaciones térmicas (Wourms y Evans, 1974; Evans, 1993).

Los triglicéridos producidos en el hígado y almacenados en otros lugares, se agrupan como lipoproteínas de muy baja densidad para su transporte. La siguiente fase se manifiesta por la captura de lípidos en lugares remotos ayudada por la actividad de la lipoproteína lipasa (LPL) de las células endoteliales del tejido. Finalmente, los lípidos almacenados son movilizados por una hormona sensible a la triglicerol lipasa (TAG Lipasa). El costo metabólico de la lipogénesis puede ser bajo, particularmente si se otorgan en la dieta los triglicéridos, evitando la nueva síntesis de ácidos grasos (Saxena y Zandee, 1971; Wourms y Evans, 1974; Evans, 1993).

En cambio, la síntesis de proteínas es un proceso que consume una mayor proporción de energía del pez. Por ejemplo, para el bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*) se ha estimado un consumo entre el 23 y 42% del consumo total de oxígeno. Estos porcentajes comúnmente muestran una relación inversa de acuerdo a los niveles de actividad; por ejemplo, para la carpa (*Ctenopharyngodon idellus*), un pez muy activo, se han hecho estimaciones que van del 11 al 22% del consumo de oxígeno, las cuales pueden variar de acuerdo a los diferentes estadios de vida, demandas metabólicas competitivas, y factores ambientales (Wourms y Evans, 1974; Evans, 1993).

### 3.2. Moléculas implicadas en la reproducción.

#### 3.2.1. Proteínas.

Las proteínas son polímeros y los monómeros que se combinan para formarlas son los  $\alpha$ -aminoácidos. Las proteínas desempeñan una enorme variedad de funciones: unas transportan y almacenan moléculas pequeñas; otras constituyen gran parte de la organización estructural de las células y los tejidos. Los anticuerpos son proteínas, como lo son los factores de coagulación de la sangre; las

más importantes de todas las proteínas son las enzimas (catalizadores que promueven la enorme variedad de reacciones que canalizan el metabolismo en rutas esenciales). Cada tipo de célula de todos los organismos poseen varios miles de clases de proteínas para cumplir esta diversidad de funciones (Mathews, 1998).

En los peces, las proteínas son los nutrientes esenciales para el crecimiento y el mantenimiento, constituyendo el material orgánico más abundante en el tejido del músculo de los peces, donde representa entre un 65-75% del total corporal en peso seco (Halver, 1989). La proteína consumida por los peces es hidrolizada en aminoácidos, los cuales son absorbidos en el tracto intestinal y usados por varios tejidos para sintetizar nuevas proteínas; los aminoácidos en exceso son utilizados como fuente de energía. Durante la maduración de la gónada, los reproductores aumentan su consumo para poder mantener sus funciones vitales ganando mayor cantidad de tejido corporal y un incremento en la gónada (Tacon *et al.*, 1985). En términos generales cabe esperar que la composición en aminoácidos de la proteína corporal de los peces sea una buena referencia de las necesidades cuantitativas de aminoácidos que requiera el organismo, así como el porcentaje total de proteína corporal necesaria para llevar a cabo sus funciones de reproducción (Cowey y Tacon, 1984).

### **3.2.2. Lípidos y triacilgliceridos.**

Los lípidos son biomoléculas insolubles en el agua que poseen un carácter graso o aceitoso. Desarrollan diversas funciones en el metabolismo energético y en otros procesos son componentes de la membrana lipídica. Las membranas son mucho más que paredes pasivas, puesto que contienen unas puertas muy selectivas que facilitan el paso de determinadas sustancias permitiendo que las distintas partes de las células realicen sus operaciones específicas (Mathews, 1998).

Además, los lípidos funcionan como hormonas esteroideas y prostaglandinas, vitaminas liposolubles, aislantes térmicos y reguladores biológicos (Mathews, 1998).

La mayor parte de los lípidos se encuentran en triacilgliceroles (denominados también como triglicéridos); en los mamíferos están representados como grasa o grasas neutras, almacenada en el tejido adiposo, constituyendo la reserva energética principal. En los sistemas animales, la grasa se almacena en unas células especializadas, los adipocitos, en las que hay unos glóbulos de grasa y ocupan la mayor parte del espacio intracélular. En el citoplasma se acumula como una gota oleosa. Los triglicéridos se sintetizan en el hígado y se transportan a los tejidos periféricos (cavidad abdominal y al ovario de los peces, entre otros) en forma de lipoproteínas de muy baja densidad, las cuales constituyen el principal vehículo para el transporte del colesterol a los tejidos periféricos (Mathews, 1998). Los triacilglicéridos se hallan mucho mejor adaptados que el glucógeno para desempeñar el papel de reserva de energía (Lehninger, 1978).

### **3.2.3. Glucógeno.**

El glucógeno es una molécula biológica que pertenece al grupo de los hidratos de carbono. Está formada por unidades de glucosa con ramificaciones. Los polisacáridos realizan una amplia gama de funciones en los organismos vivos. Algunos, como el almidón y el glucógeno, se emplean principalmente como azúcares de reserva en las plantas y animales. El glucógeno en los animales, se almacena en forma de gránulos dentro de las células, principalmente se depositan en el hígado, que actúa como un órgano central de almacenamiento de energía en numerosos organismos; como en los camarones y principalmente en los peces, se

deposita en el músculo, el cual esta disponible de manera más inmediata para la liberación de energía (Lehninger, 1978; Mathews, 1998).

#### **3.2.4. Colesterol.**

El colesterol es un componente lipídico importante de muchas membranas. Pertenece a un amplio grupo de sustancias denominadas esteroides, que incluyen diversas hormonas importantes, entre las que se encuentran las hormonas sexuales de los animales superiores. El colesterol es considerado como la fuente biosintética de todas las hormonas esteroideas (andrógenos y estrógenos, entre otras); la gónada de los peces es el principal órgano implicado en esta síntesis. Una característica general de las hormonas esteroideas es que no se almacenan para su liberación tras la síntesis. En consecuencia, la concentración de una hormona circulante se controla fundamentalmente mediante su tasa de síntesis, la cuál esta a menudo bajo un control final de señales procedentes del cerebro, principalmente de las células del hipotálamo en respuesta a los estímulos procedentes del sistema nervioso central (Mathews, 1998).

### **III. Hipótesis**

En especies de la familia Centropomidae, como *Lates niloticus*, *L. calcarifer* y *C. undecimalis*, se ha logrado la reproducción bajo condiciones controladas. Para *C. medius* se espera que las características de su biología reproductiva sean similares a otras especies de la misma familia, haciéndolo un candidato a ser manejado bajo condiciones controladas de cultivo.

### **IV. Objetivos.**

#### **1. Objetivo general.**

Estudiar la biología reproductiva y su relación con la composición bioquímica corporal del robalo paleta *Centropomus medius* en el medio natural.

#### **2. Objetivos particulares.**

- 1) Describir el desarrollo gonadal y tipo de ovario, determinar la época de puesta y morfometría de los reproductores, relacionándolos con el fotoperiodo y temperatura durante el ciclo anual.
  
- 2) Determinar la composición bioquímica (proteínas, triglicéridos, lípidos totales, colesterol y glucógeno) en músculo, hígado y gónada de reproductores, durante un ciclo anual, relacionándola con la biología reproductiva.

## V. Material y métodos.

### 1. Colecta de organismos.

#### 1.1. Área de colecta.

La colecta de reproductores de *C. medius* se llevó a cabo en el sur de Bahía Magdalena, ubicada entre los 24° 15' y 24° 20' de latitud norte y los 111° 30' y los 112° 12' de longitud oeste, dentro de la península de Baja California Sur, en las costas del Pacífico Noroeste (Fig. 2).

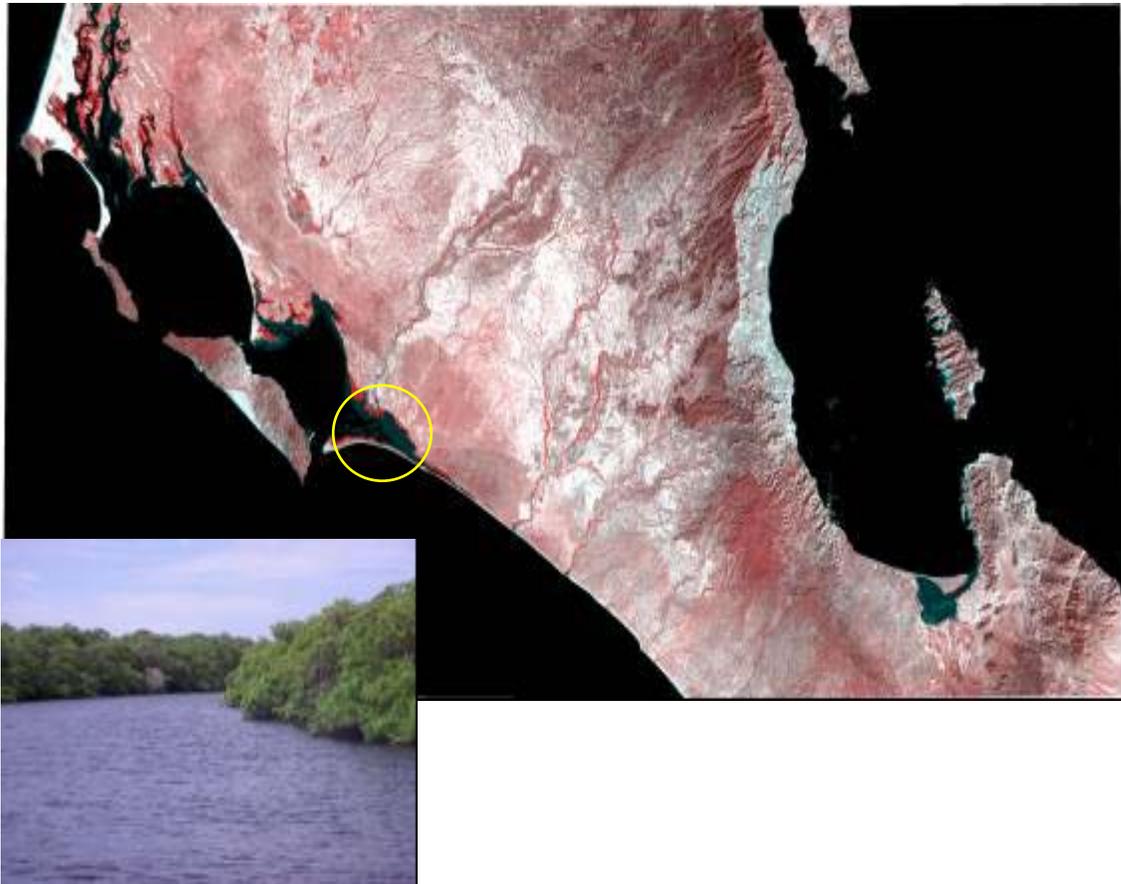


Fig.2. Área de captura dentro del complejo lagunar de Bahía Magdalena.

Es considerada desde el punto de vista de la estructura termohalina, una de las regiones más complicadas en el Pacífico Norte, debido a la confluencia de diferentes masas de agua (subártica, subtropical y tropical); se considera que la región está dentro de una zona de transición subtropical (Norton *et al.*, 1985). Las condiciones oligotróficas entre septiembre-diciembre están vinculadas con la presencia de aguas más saladas provenientes del sudeste y con la mínima actividad de surgencias. En tanto que julio, agosto, enero y febrero se consideran periodos de transición (Bakun y Nelson, 1977). Las condiciones eutróficas que ocurren entre marzo y junio están asociadas con vientos fuertes del noroeste, con la corriente de California bien desarrolladas y con los máximos índices de surgencias. Identificándose como punto principal de generación de surgencias a Isla Margarita (Lynn, 1967; Bakun y Nelson, 1977). El conjunto de estas condiciones hacen que exista una variación de temperatura marcada de un mínimo de 17 °C en invierno y 34 °C en verano como máximo (Lluch-cota *et al.*, 2000), mientras que las condiciones de horas luz:oscuridad en esta latitud son en invierno 11L:14D y en verano 14L:11D; considerando lo anterior, las variaciones de temperatura deben influir en la reproducción en mayor medida que las variaciones de fotoperíodo.

### 1.2. Método de colecta.

Los reproductores de *C. medius* fueron capturados durante dos ciclos anuales (de abril del 2001 a Noviembre del 2002), se capturaron un total de 301 hembras y 193 machos.

Para la colecta de reproductores se utilizó una red tipo agallera de 75 cm luz de malla, con la cual se realizó un encierro alrededor de los mangles dentro de los esteros. Fue necesario sumergirse debajo de las raíces de los mangles para provocar la huida de los robalos hacia la red; después de la captura, la red fue

llevada a la costa en donde fueron desprendidos cada uno de los reproductores. Los cuales fueron transportados en hielo hasta el lugar de procesamiento.

En cada lugar de captura se registró la temperatura  $^{\circ}\text{C}$  y la salinidad  $\text{gL}^{-1}$  del agua de mar (refractometer SR3,  $\text{gL}^{-1}$ ), se registró mensualmente el fotoperiodo natural en horas luz, específico para esta zona ( $24^{\circ} 15' \text{ N}$  y  $111^{\circ} 30' \text{ W}$ ) con la base de datos establecidas por la Comisión Federal de Electricidad (CFE) en relación a la luminosidad dependiendo de la latitud, día y mes. La representación gráfica se hizo según Rodríguez *et al.*, (2001).

## **2. Biología reproductiva.**

### *2.1. Procesamiento de muestras (técnicas histológicas)*

De cada reproductor se obtuvo el peso y longitud total. Los reproductores fueron disectados, la gónada y el hígado fueron separadas y ambos fueron pesados en una balanza analítica (Rossenblum *et al.*, 1987; Heron *et al.*, 1988; Garza *et al.*, 1988).

Las gónadas disectadas fueron analizadas macroscópicamente y de cada una se determinó el grado de madurez y el sexo de acuerdo a Rodríguez y Garza (1986). Las gónadas disectadas fueron también analizadas microscópicamente mediante técnicas histológicas, utilizando tres soluciones fijadoras: 1. solución Davidson AFA compuesta por etanol (330 ml), formalina (220 ml), ácido acético glacial (115 ml) y agua potable (335 ml) (Humanson, 1972). Esta solución resulta ser adecuada para la estabilización de las lipoproteínas en los tejidos según Dorothy *et al.*, (1983); 2. solución *formol-calcio* compuesta de formaldehído al 37 % (10 ml), cloruro de calcio anhidro (10 ml), agua destilada (40 ml) y agua marina (40 ml), descrita por Bayliss (1984) para preservar mejor los fosfolípidos de los tejidos;

y solución *Karnovsky* compuesta por Glutaraldehído (20 ml), sucrosa (40 ml), agua de mar filtrada a 1  $\mu\text{m}$  y esterilizada mediante ultravioleta (40 ml) descrita por Karnovsky (1965) específica para cortes finos en resina.

Desde abril hasta agosto del 2001, las gónadas de machos y hembras, fueron disectadas en tres secciones (parte anterior, media y posterior). Estas muestras fueron fijadas en solución Davidson.

Desde septiembre del 2001 a noviembre del 2002, las gónadas se disectaron en tres (anterior, media y posterior) que aleatoriamente fueron fijadas en solución Davidson, solución formol-calcio y solución Karnovsky.

Las muestras fijadas en solución Davidson y solución formol-calcio fueron procesadas de la siguiente manera: Al término del proceso de fijación (aproximadamente 48 horas) las muestras fueron transferidas a una solución de alcohol etílico al 70%, siguiendo la técnica descrita por Thomas *et al.*, (1988), donde pasaron por un proceso de deshidratación consistente en llevar los tejidos de una concentración de alcohol etílico del 70% al 100% en forma gradual, con un tiempo de inmersión de una hora en cada una de las soluciones alcohólicas, para después incluirlas en una solución de xileno. Posteriormente, el xileno es desalojado por la parafina, infiltrándose en los tejidos.

Posterior a la infiltración en parafina, se realizó la inclusión de los tejidos en parafina pura. Una vez elaborados los bloques se procedió a cortar con microtomo a un grosor de 5  $\mu\text{m}$ . Los cortes se extendieron en una batea con agua a 45 °C y 0.12% de gelatina pura por litro. Se montaron sobre un portaobjetos y se dejó secar el tejido. Tras 24 h, pasaron por diferentes procesos de tinción.

Las muestras fijadas con solución Davidson fueron teñidas con Harris hematoxilina y eosina-floxina (H-E) (Luna, 1968) que es una técnica que nos proporciona información general de los estados de madurez de los ovocitos por que define núcleos y citoplasma. Por esta tinción se establece un contraste entre los dos colorantes para poner de manifiesto estructuras de diferente composición química.

Las muestras fijadas en solución formol-calcio fueron teñidas con sudan-negro, tinción que permite distinguir triglicéridos de color azul-negro y fosfolípidos en color gris. Ayuda a determinar los lípidos en el citoplasma (Bayliss 1984); y con azul Alciano-Schiff (AB-PAS), que es una técnica específica para detectar la presencia de glicoproteínas para identificar los alvéolos corticales (Sheehan y Hrapchak, 1973).

Las muestras fijadas en solución de Karnovsky fueron procesadas de la siguiente manera: 2 días después de la fijación se lavaron con agua destilada durante dos horas. Se dejaron en etanol al 70% para después ser procesadas en el laboratorio de histología del Instituto de Acuicultura de Torre la Sal, en Castelló, España, se llevó a cabo este procesamiento histológico. El proceso de infiltración consistió en lavados cortos (1-2 h) de deshidratación con etanol (70%, 80%, 96%), seguido de impregnación etanol 96%-resina (2 h) y resina (4-5 h). Una vez pasado el proceso de infiltración, se pusieron las muestras en los moldes de polimerización (histoform), preparando la solución de inclusión (15 ml de resina, 1 ml de endurecedor). Transcurridos unos 5 minutos comenzó la polimerización y tras un periodo de 30-45 minutos se adquiere la consistencia suficientemente dura para poderse manipular.

Una vez polimerizadas las muestras, se colocaron los adaptadores (histoblock) en los moldes de teflón y se hizo una mezcla con Technovit 3040 (polvo: líquido, 2:1). Después de 30 minutos, las muestras estuvieron listas para ser cortadas. Los cortes se realizaron en un microtomo a 3 micras de grosor, se montaron sobre un portaobjetos para luego seguir con el proceso de tinción policrómica, la cual consistió en emplear la tinción Cleveland Wolf's. Esta contiene una solución de policrómico I (0.325 g de Azul de Metileno, 0.050 g de Azure II, 25 ml de Glicerol, 25 ml de Metanol y 200 ml de agua destilada) en donde las muestras fueron teñidas durante 2 minutos; después de ese tiempo, las laminillas fueron lavadas durante 15 minutos con agua destilada, pasando a una solución de policrómico II (0.5 g de Fucsina básica, 250 ml de agua destilada) durante un 1 minuto y después permanecieron durante 15 minutos en agua destilada. Mas tarde, se dejaron secar durante 24 horas. Para el montaje se utilizó resina acrílica y antioxidante, agregando 2 o 3 gotas en un lado del portaobjetos. Las laminillas obtenidas fueron etiquetadas y guardadas para su posterior observación.

## 2.2. Criterios de clasificación gonadal.

Para establecer los criterios de la clasificación en los machos de *C. medius* se siguió lo descrito por Grier (2001) en *C. undecimalis* en base en los cambios del epitelio germinal; histológicamente, estos cambios pueden observarse fácilmente. Se basan en la definición del epitelio germinal continuo o discontinuo, y en los estadios de las células germinales presentes (Grier y Taylor 1998). Los estadios de maduración son; Quiescencia (estadio I); maduración temprana (estadio II); maduración intermedia (estadio III); maduración avanzada (IV) y en regresión (estadio V).

Para validar los criterios del estadio reproductivo en las hembras de *C. medius*, fue necesario establecer una escala de madurez con relación al desarrollo

de los ovocitos. En la mayoría de estudios en teleósteos, la escala de madurez se establece en función de las características de la gónada más avanzada (Rodríguez, 1992) o a través del análisis estadístico de la proporción de los diferentes estadios presentes en cada preparación histológica (West, 1990).

Para establecer la escala de madurez sobre el desarrollo de los ovocitos en la gónada de *C. medius*, se hizo una comparación celular con diferentes métodos de fijación (soluciones; Davidson y formol-calcio) y tinción (tinciones; H-E, AB-PAS y Cleveland Wolf's) de la gónada. Los ovocitos fueron clasificados según la descripción de estadios propuesta por Neidig (2000) para *Centropomus undecimalis* y Mayer (1998) para *Morone saxatilis*. De ambas descripciones morfológicas se estableció una clasificación de los estadios de maduración de la gónada para *C. medius*. Las etapas de maduración de los ovocitos son: previtelogénesis (estadio I), alvéolos corticales (estadio II), vitelogénesis (estadio III), maduración (estadio IV) y atresia o reabsorción (estadio V).

### 2.3. Abundancia relativa y diámetro celular

Para determinar el tipo celular, la variabilidad anual y describir la estrategia de desove, un promedio mensual de 12 testículos y 12 ovarios (95% de intervalo de confianza 4-20 gónadas de hembras y machos) desde abril del 2001 hasta noviembre del 2002.

La abundancia relativa en cada tipo celular fue calculada contando el número total de cada tipo de celular que aparecen en una área total de 11.2 mm<sup>2</sup> en las preparaciones histológicas de cada gónada. El área total se obtuvo de la selección aleatoria de nueve áreas de 1.24 mm<sup>2</sup> de cada una de las gónadas observadas en un microscopio óptico (OLYMPUS Bx 41) a un objetivo de 10x (magnificación=100x) para hembras y 20x (magnificación=20x) para machos.

El diámetro celular en cada tipo de célula, fue determinado a través del valor del área total, calculando el diámetro (mm) según la fórmula de  $\text{Área} = \pi \cdot (\text{radio})^2$ . El tipo de células en el testículo y el ovario, fueron observados en sus diferentes estadios, consideraron los estadios de madurez más avanzados en cada mes durante abril del 2001 a marzo del 2002. En el ovario, la talla máxima y mínima dentro de cada estadio de madurez en los ovocitos, fue determinada.

Todas las imágenes fueron capturadas con cámara digital (Cool-SNAP-Pro color) y procesadas con el programa Sigma Scan Pro (v. 5.0) diseñado para una alta resolución de análisis de imágenes. En las nueve áreas seleccionadas aleatoriamente del ovario de 10 a 150 ovocitos de cualquier estadio de madurez presente fueron analizados, considerando de 27 a 162 imágenes mensuales (94 promedio). El software automáticamente calcula el área contando el número de píxeles en cada ovocito.

#### 2.4. Índices biológicos

La temperatura registrada en cada muestreo, fue promediada mensualmente desde abril del 2001 a noviembre del 2002.

La época de reproducción fue determinada empleando los siguientes índices biológicos:

1) Índice gonadosomático (IGS) (Rodríguez, 1992):

$$\text{IGS (\%)} = (\text{Pg} / \text{Pt}) \times 100.$$

Pg = peso de la gónada.

Pt = peso total del organismo.

2) Índice hepatosomático (IHS) (Garza *et al.*, 1988):

$$\text{IHS (\%)} = (\text{Ph} / \text{Pt}) \times 100.$$

Ph = peso del hígado.

Pt = peso total del organismo.

La talla de reproducción fue determinada en función del peso (g) y de la longitud (cm) de los reproductores. La proporción de sexos se determinó contando el número de hembras y machos capturados; los números obtenidos fueron divididos.

### 2.5. Análisis estadísticos

Los resultados del peso y de la longitud total fueron expresados en porcentaje (%). La normalidad de las variables fue comprobada con la prueba de Kolmogorov-Smirnov; después se realizó una transformación logarítmica. En el análisis de varianza se aplicó una prueba One-way ANOVA y la homogeneidad entre los meses se determinó con una prueba de Tukey HSD o Newman-Keuls con una  $P < 0.05$ . En cada grafica se determinó el error estándar de la media al 95% de confianza. Los resultados fueron procesados con el programa STATISTICA (5.5), el StatSigma (8.0), Microsoft Excel2000 y Sigmaplot (8.0).

## 3. Fisiología de la reproducción.

### 3.1. Procesamiento de muestras

Los reproductores fueron disectados. De la masa visceral, fue separada y pesada la gónada, el hígado y la grasa perivisceral. Bajo de la primera espina dorsal, se extrajo una fracción de músculo (Rossenblum *et al.*, 1987; Heron *et al.* 1988).

Se tomó  $0.1 \pm 0.05$  g de las muestras de gónada, hígado y músculo (se pesaron en una balanza analítica). Se colocaron dentro de unos tubos ependorff de 1 ml, los cuales fueron almacenados en frío a  $-80$  °C antes de ser procesados (Gatlin, 1995; Craing *et al.*, 2000).

Las muestras de músculo, gónada e hígado fueron liofilizadas y posteriormente homogenizados en 1 ml de solución salina; de cada muestra se tomó 100  $\mu$ l, para los diferentes análisis bioquímicos, para los cuales se utilizaron “Kits” comerciales de colorimetría. Estas técnicas se adaptaron en placas Elisa (microplacas), en las cuales se leyó la absorbancia en un fotocolorímetro (Uniscan II Labsystem).

### 3.2. Análisis bioquímicos.

#### 3.2.1. Determinación de proteínas

Para la determinación de proteínas se empleó la técnica de Bradford (1976) con el colorante azul de Coomassie. Inicialmente se realizó un curva tipo son solución estandar (albúmina bovina), cuya concentración es de 2 mg/ml, con las siguientes concentraciones: 1.0, 0.5, 0.25 y 0.125 mg/ml. Como blanco se utilizó una solución isotópica (NaCl 450 mM).

En el caso del hígado y la gónada se tomaron 5 a 10  $\mu$ l de cada una de las muestras de tejido dependiendo de su concentración y se diluyeron en 20  $\mu$ l de NaOH 0.1 N. De esta dilución se tomaron 5  $\mu$ l y se hicieron reaccionar con 1 ml de la solución reactiva (Bradford). Posteriormente se midió la absorbancia a 595 nm en un espectrofotómetro.

En la determinación del músculo, se tomó 5  $\mu$ l de la muestra, que fue diluido en 90  $\mu$ l de NaOH 0.1 N. De esta dilución, se tomó 5  $\mu$ l y se hicieron reaccionar con 1 ml de la solución reactiva (Bradford). Posteriormente se midió la absorbancia a 595 nm en un espectrofotómetro.

El compuesto colorido formado por los grupos amino (de cada uno de los tejidos) reacciona con el colorante azul de Coomassie, ácido fosforito y metanol. El compuesto colorido formado por la reacción es directamente proporcional a la concentración de proteínas en cada una de las muestras (Bradford, 1976).

### **3.2.2. Determinación de lípidos totales**

Para la determinación de lípidos totales se utilizó el kit Diagnostica Merck (Zöllner *et al.*, 1962). El tejido del músculo, hígado y gónada fueron determinados siguiendo la misma técnica; se tomaron 0.1 ml de cada una de las muestras de tejido y se mezclaron con 1 ml de ácido sulfúrico. Se agitaron y se calentaron en un baño maría a 90 °C durante 10 min. Se dejaron enfriar en baño de hielo y de cada una de las mezclas obtenidas, se tomaron 15  $\mu$ l que se hicieron reaccionar con 0.2 ml de solución reactiva (ácido fosfórico-vainillina). Se elaboró una curva tipo con solución estándar y posteriormente se midió la absorbancia a 560 nm en placas Elisa (microplacas)

El compuesto colorido formado por los lípidos de cada una de las muestras, reaccionan con el reactivo fosforito-vainillina, obteniéndose un producto color rosado, cuya concentración es directamente proporcional a la concentración de lípidos en la muestra (Barnes *et al.*, 1973).

La grasa de la cavidad perivisceral que se acumula alrededor de la gónada y del sistema digestivo fue removida y pesada. El índice IGP fue determinado por la siguiente relación:

$$\text{IGP} = (\text{total del peso de GP} / \text{P}) \times 100$$

GP= Peso de la grasa perivisceral

P= Peso total

### 3.2.3. Determinación de triglicéridos

Para la determinación de los triglicéridos se empleó el método de McGoma *et al.*, (1983), con el reactivo de GPO-Trinder, en el cual los triglicéridos son hidrolizados por lipasas hasta glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es oxidado hasta dihidroxiacetonafofato con producción de peróxido para dar un compuesto colorido 4-(p-benzoquinona-monoimino)-fenazona, el cual es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra.

Inicialmente se realizó una prueba del reactivo usando como control una concentración conocida de triglicéridos (tales como los de Sigma CARDIOLIPID™). Para la determinación en gónada, hígado y músculo, se tomó de 10 a 15  $\mu\text{l}$  de la muestra, y se hizo reaccionar con 200  $\mu\text{l}$  de la solución reactiva por un período de 20 minutos a temperatura ambiente. Se elaboró una curva tipo con la solución estándar; posteriormente se midió su absorbancia a 540 nm. Con los resultados de absorbancia de cada muestra se hicieron los cálculos correspondientes. El incremento de la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos de la muestra.

### 3.2.4. Determinación de glucógeno

Se utilizó el método de Antrona (Van Andel, 1965), que consiste en precipitar el glucógeno presente en la muestra del músculo con etanol y se centrifuga; después es eliminado completamente el etanol y el precipitado es resuspendido en agua destilada (0.5 ml); éste se hace reaccionar con la solución de Antrona al 0.1% en baño María a temperatura de 80 a 90 °C de 15 a 20 minutos. Da un compuesto colorido, que es directamente proporcional a la concentración de glucógeno presente en la muestra, y se lee en un espectrofotómetro a 620 nm. Se elaboró una curva tipo, con una solución estándar de glucógeno de 2 mg/ml, con las siguientes concentraciones; 0.5, 0.25, 0.125 y 0.065 mg/ml.

### 3.2.5. Determinación de colesterol

En cuanto al colesterol se utilizó el método CHOD-PAP, según Sledel *et al.*, (1981) con el cual el colesterol y sus ésteres son separados de las lipoproteínas por detergentes. Los ésteres de colesterol son hidrolizados por la enzima colesterol esterasa. El colesterol producido, junto con el colesterol libre, es oxidado por la colesterol oxidasa, con formación de peróxido de hidrógeno, el cual reaccionará con 4 -amino-antipirina y fenol en la presencia de peroxidasa, produciendo una quinoneimina coloreada, cuya concentración es directamente proporcional a la concentración de colesterol en la muestra.

Para las pruebas del reactivo, se tomó 20 µl de la muestra, y se hizo reaccionar con 200 µl de la solución reactiva por un periodo de 15 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se midió su absorbancia a 492 nm. Se elaboró una curva tipo con la solución estándar.

### 3.3. Análisis estadístico.

Los resultados fueron expresados en miligramos de tejido. La normalidad de las variables fue comparada por la prueba de Kolmogorov-Smirnov; después se realizó una transformación logarítmica. En el análisis de varianza se aplicó una prueba General Lineal Model (GLM) múltiple dependet variable (MANOVA); la homogeneidad entre los meses se determinó con una prueba de Tukey HSD a un rango crítico de diferencia significativa ( $P < 0.05$ ). En cada gráfica se determinó el error estándar con el 95% de confianza. Los resultados fueron procesados con el programa STATISTICA (5.5), el StatSigma (8.0), Microsoft Excel2000 y Sigmaplot (8).

## VI. Resultados

### 1. Biología reproductiva

#### 1.1. Proporción de sexos, talla y peso de los organismos.

De abril del 2001 a noviembre del 2002 se capturaron un total de 494 robalos paleta (*C. medius*) dentro del complejo lagunar Bahía Magdalena. Del total de peces capturados, 301 fueron hembras de  $415 \pm 145$  mm de longitud total, con un peso promedio de  $594.5 \pm 311.5$  g y 193 machos de  $370 \pm 100$  mm de longitud total, con un peso promedio de  $444 \pm 206$  g (Fig. 3).

La proporción de sexos se determinó de 1.0:1.6 (machos:hembras) durante los dos años de captura, se realizó una prueba chi cuadradas para ver si había diferencias entre la proporción de sexos, calculando que estadísticamente el valor obtenido en las hembras de 1.6 no es significativo ( $X^2 = 16.7$ ,  $df=1$ ,  $P > 0.33$ ).

Durante el ciclo anual se observó que durante el periodo reproductivo (PR) los robalos tienen el menor peso ( $\leq 250$  g), del mes de enero a marzo se observa un pico determinado como periodo de crecimiento y engrasamiento (CPE) (Fig. 3), en este periodo estuvo muy activo el crecimiento de esta especie, observándose nuevamente un descenso en cuanto al peso durante el PR del 2002 (Fig. 3).

La talla de las hembras y machos maduros durante el periodo reproductivo se observó en un intervalo de 390 a 400 mm, y de 330 a 370 mm (Fig. 3). Desde junio a septiembre del 2002 no se registraron datos, ya que no fue posible capturar reproductores por cuestiones logísticas.

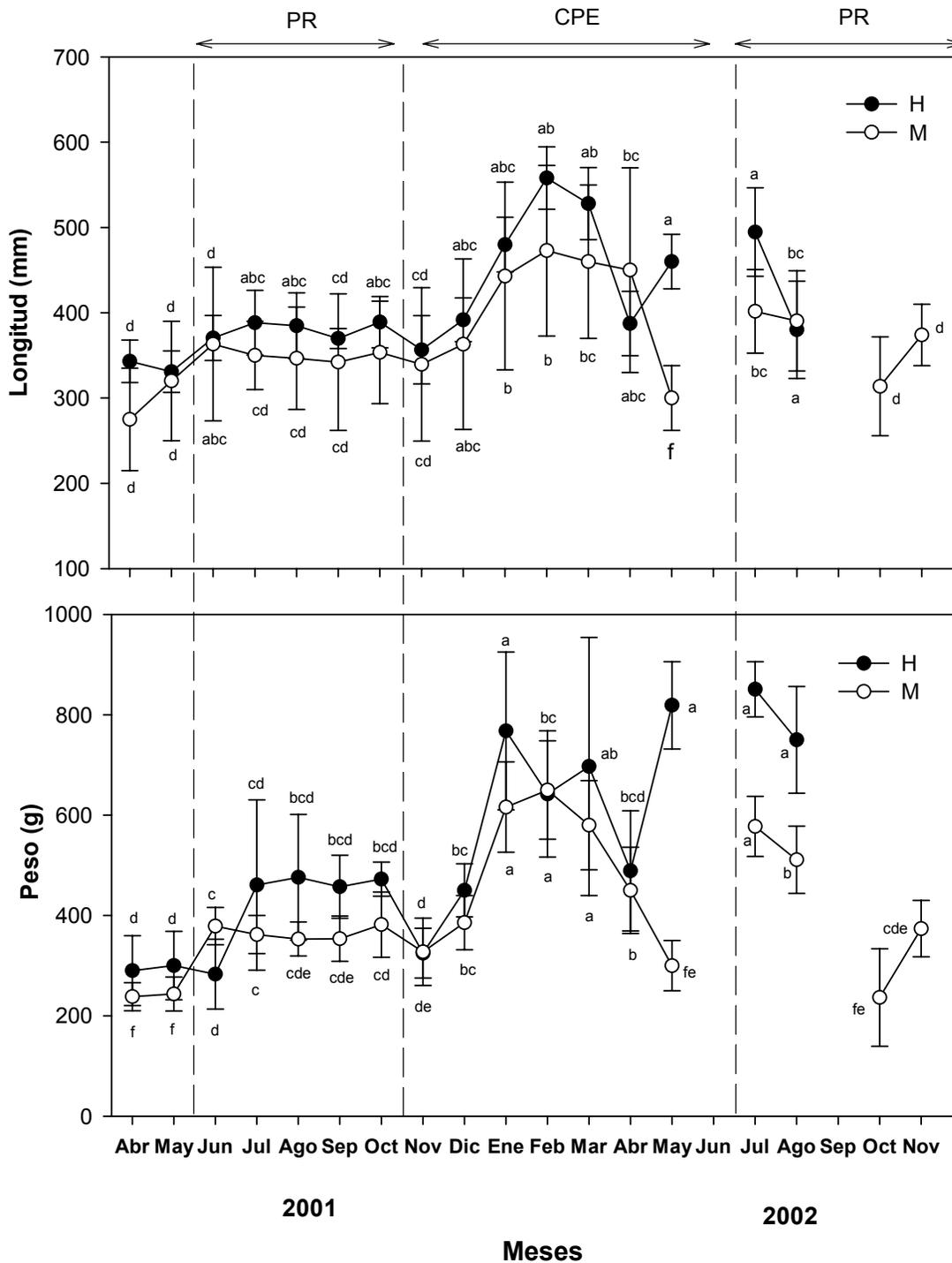


Figura.3. Variación mensual de la longitud total y del peso en hembras y machos de *C. medius*, durante dos ciclos anuales. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre los meses ( $P < 0.05$ ). En círculo se expresa la media y las barras son los errores estándar. H= hembras; CPE= crecimiento y periodo de engrasamiento; M= machos; PR= Periodo reproductivo.

## 1.2. Desarrollo gonadal

### 1.2.1. Desarrollo testicular

Los testículos maduros de *C. medius* son organos pares de color blanco, cada uno de los testículos presenta un conducto deferente el cual se fusiona con su homólogo y posteriormente desemboca en el poro genital. Los testículos por dentro están organizados dentro de lóbulos. Cada lóbulo contiene numerosos tubulos seminíferos, irregularmente distribuidos, formando una red que converge en el ducto deferente de la pared de la gónada. Basados en la clasificación de Grier y Taylor (1998), los testículos de *C. medius* pertenecen al tipo lobular espermatogonial, en los cuales las espermatogonias se distribuyen a lo largo del lóbulo. De acuerdo a los estadios de células espermatogénicas más avanzados en las muestras histológicas, se identificaron cinco estadios en la espermatogénesis (Fig. 4).

**Estadio I, quiescencia** (de enero a abril). Se define por la presencia de espermatogonias en el testículo; se observan agrupamientos de espermatogonias primarias (diámetro de 5.60 - 8.4  $\mu\text{m}$ ); las espermatogonias también están presentes a lo largo de la pared lobular, delineada por una membrana basal. Se observan células intersticiales. Durante este estadio los espermatocitos y espermatidas están ausentes (Fig.4A).

**Estadio II, maduración temprana** (de mayo a junio). Se ha iniciado la espermatogénesis. Se incrementa el ancho de los lóbulos, debido a que la espermatogénesis involucra la formación de espermatocitos dispersos conteniendo espermatocitos primarios (diámetro 3.10 - 3.9  $\mu\text{m}$ ) y a la división mitótica de las

espermatogonias. Los lóbulos se elongan considerablemente y el testículo se alarga (Fig. 4B).

**Estadio III, maduración intermedia** (de julio a octubre). Se presentan todos los estadios de desarrollo de células espermatogénicas. El diámetro del lóbulo aumenta con espermatocitos primarios (3.10 - 4  $\mu\text{m}$ ) y secundarios (2.3 - 3.9  $\mu\text{m}$ ) en meiosis; aparecen espermatidas (1.41 - 2.33  $\mu\text{m}$ ). Hay maduración de esperma que es liberado por los espermatocistos dentro del lóbulo cerca del ducto deferente (Fig. 4C).

**Estadio IV, maduración completa** (de septiembre a diciembre). La espermiación o liberación de los espermatozoides se hace más evidente, en combinación con el decremento de las espermatogonias primarias. Las espermatidas están presentes; los espermatocistos y espermatozoos maduros llenan la longitud total de los túbulos. Las cabezas del esperma miden 0.73 - 1.18  $\mu\text{m}$  (Fig. 4D). Durante este estadio los peces son completamente reproductivos.

**Estadio V, regresión** (diciembre). Caracterizada por la presencia de espermatogonias y de espermatocitos. Los conductos y los lóbulos están llenos de espermatozoides que son fagocitados por las células de Sertoli y consecuentemente hay una reducción de la producción de esperma (Fig. 4E).

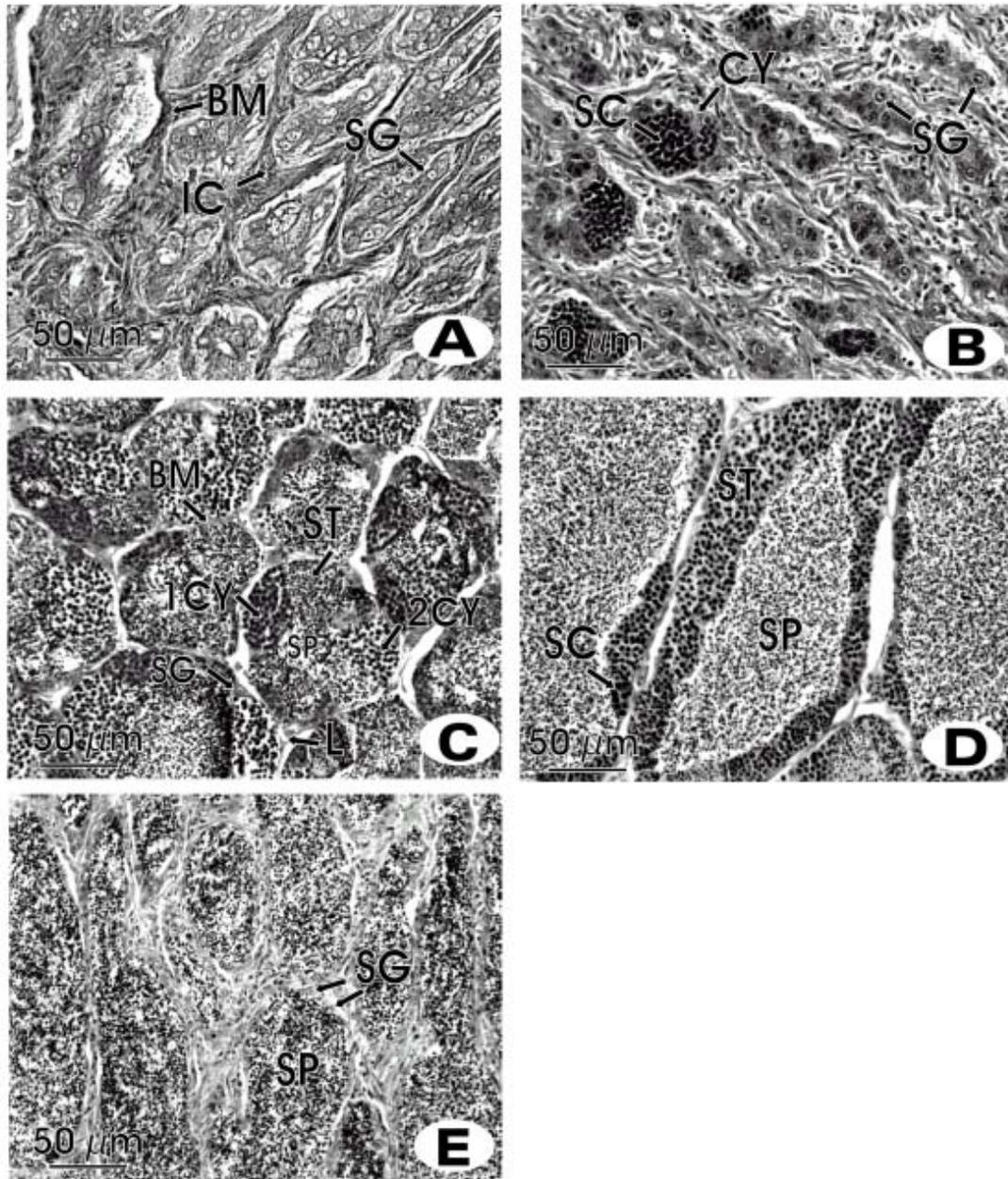


Figura 4. Representación en fotografías ilustrando el estado de desarrollo de los testículos observados durante el ciclo reproductivo de *C. medius*. A) Quiescencia (x40), no ha iniciado la espermatogénesis. B) Maduración temprana (x40), ha iniciado la espermatogénesis. C) Maduración intermedia (x40), presencia de espermatozoides, los peces están listos para reproducirse. D) Maduración completa (x40). E) Regresión (40X), la espermatogénesis termina. Técnica de tinción H-E y AB-PAS. BM= membrana basal; CY= espermatocitos; 1CY= espermatocitos primarios; 2CY= espermatocitos secundarios; IC= células intersticiales; L= Lumen, SC= espermatocitos; SG= espermatogonias; ST= espermatidas; SP= espermatozoides.

### 1.2.2. Desarrollo ovárico

Se identificaron cinco estadios de desarrollo de los ovocitos para *C. medius*; los cuales están descritos de acuerdo a su incidencia a lo largo del ciclo reproductivo, como se describe a continuación (Fig. 5).

**Estadio I, previtelogénicos** (de diciembre a junio, son mas evidentes). Se caracteriza principalmente por una proliferación de ovogonias. El núcleo (N) de estas ovogonias comparado con el citoplasma (Cy) es más grande. En este estadio los ovocitos no presentan vitelo, el citoplasma es de naturaleza basófilo. El diámetro celular oscila entre los 23 a 55  $\mu\text{m}$ . En el estadio I avanzado, las células pregranulosas se multiplican para formar un epitelio granuloso, más allá de la cubierta de soporte; un acomodo irregular de células mesoepiteliales forma una cubierta tecal, rodeando y constituyendo así el folículo ovárico. Al final de este estadio la proporción del tamaño del núcleo disminuye con respecto al citoplasma mientras crece el ovocito y aparecen múltiples nucleolos en la periferia del núcleo (Fig. 5A).

**Estadio II, alvéolos corticales** (de junio a octubre). Diámetro celular varía de 56 a 250  $\mu\text{m}$ . El diámetro del núcleo varía de 51-182  $\mu\text{m}$ , y éste va disminuyendo de tamaño con relación al citoplasma aproximadamente del 50 al 45 %; las gotas lipídicas van aumentando de número y de tamaño (diámetro, 7.77- 20.63  $\mu\text{m}$ ). Por primera vez, una delgada membrana llamada zona radiata o corium (grosor, 2.20 - 3.45  $\mu\text{m}$ ) se hace visible alrededor de la periferia del ovocito y el folículo epitelial es más evidente, observándose la presencia de alvéolos corticales (diámetro, 3.31-6.59  $\mu\text{m}$ ). En el centro del citoplasma. Con la tinción Azul Alciano PAS, los alvéolos se observan como esferas vacías. Estas vesículas (PAS positivo) son

mucopolisacáridos o glicoproteínas y son las primeras estructuras que aparecen en el citoplasma durante esta fase de crecimiento (Fig. 5B).

**Estadio III, vitelogénesis** (de julio a noviembre). El diámetro celular oscila de 251 a 340. Los gránulos de vitelo aparecen en mayor proporción en la periferia del citoplasma; al mismo tiempo que la zona radiata y el epitelio folicular van aumentando de grosor. Durante esta fase, los gránulos de vitelo (diámetro, 5.73-16.98  $\mu\text{m}$ ), aumentan considerablemente de número y de tamaño y se desplazan centripetamente, para ir ocupando el citoplasma. Los alvéolos corticales se desplazan hacia la periferia del citoplasma observándose una corona bien definida de alvéolos corticales. La zona radiata o corium (ch) es muy prominente de 15.21-26.43  $\mu\text{m}$  de grosor, asumiendo una apariencia finamente estriada. En esta etapa final de crecimiento el citoplasma está completamente ocupado por gotas lipídicas y gránulos de vitelo (Fig. 5C).

**Estadio IV, maduración** (de julio a noviembre). El diámetro celular varía de los 341 a 645  $\mu\text{m}$ . La maduración de los ovocitos consiste de múltiples cambios bioquímicos y físicos. Con el rompimiento de la vesícula germinal o núcleo, los gránulos de la proteína del vitelo y las gotas lipídicas se disuelven. Debido a un proceso de hidrólisis de un derivado de la vitelogenina, se crea un incremento en aminoácidos libres (FAA) que provocan una presión osmótica que conduce el agua al interior del ovocito y comienza a aumentar rápidamente su tamaño (hidratación), iniciándose al mismo tiempo el proceso de maduración final del ovocito (Roderick *et al.*, 1996). El contenido es homogéneo y translucido. Durante la maduración, el folículo se adelgaza y se reduce debido a un rápido aumento en el volumen celular, mientras que la zona radiata o corium permanece visible (Fig. 5D).

**Estadio V, atresia** (folículos postovulatorios) (de septiembre a marzo). Los ovocitos atrésicos que no han iniciado la etapa de maduración y, por tanto, no han sido ovulados, permanecen en el ovario hasta que son degradados y reabsorbidos por las células foliculares que les rodean. Las células del folículo granuloso y posiblemente las células tecaes se vuelven abundantes e hipertróficas para formar una estructura compacta vascularizada llamada corpus atreticum. La reacción ocurre con una fagocitosis de las células de la granulosa, una vez rota la zona radiata que rodea al ovocito (corium), y finalmente las células foliculares también degeneran y en su lugar queda una masa rodeada de tejido conjuntivo (Fig. 5E).

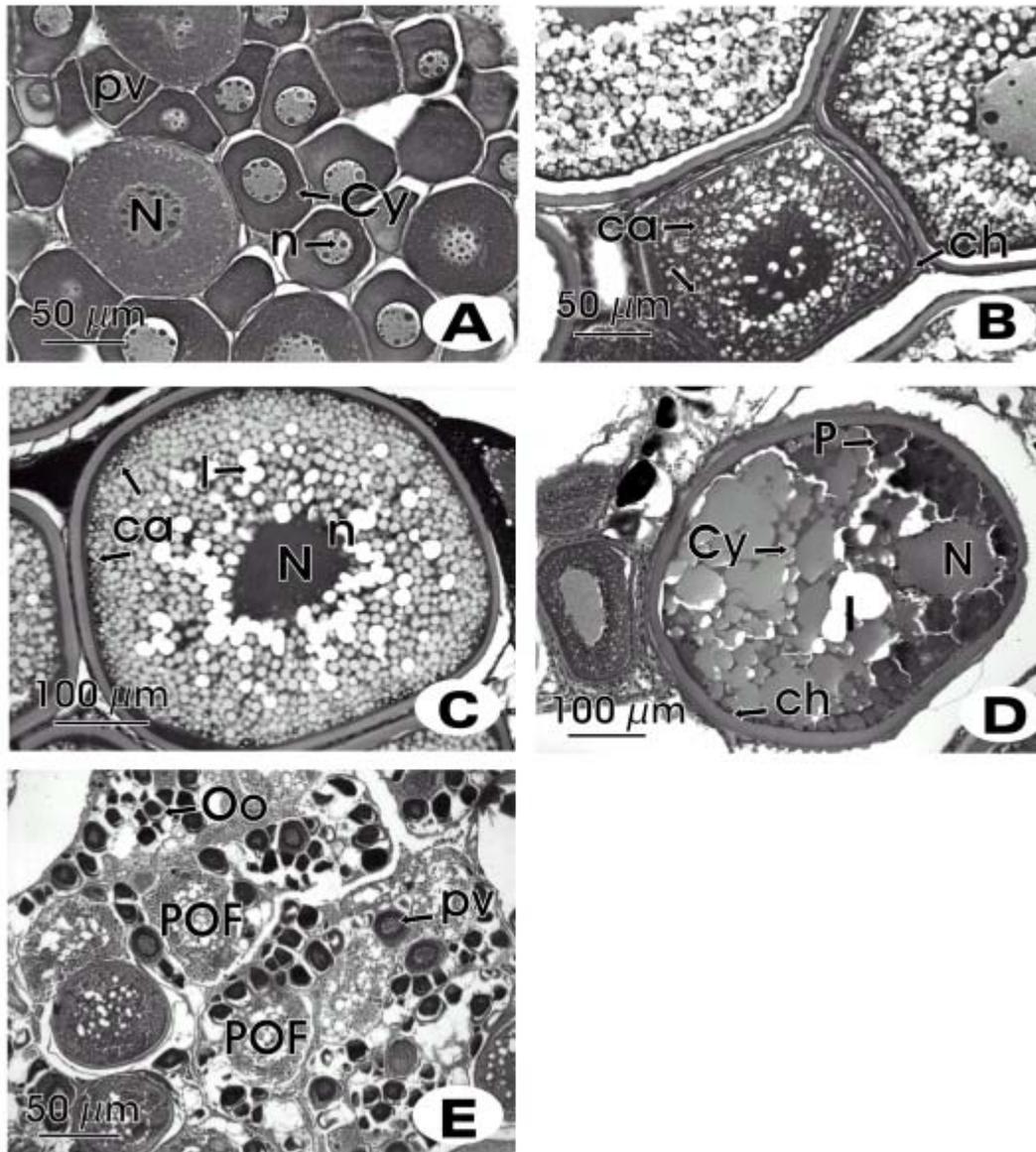


Figura 5. Representación en fotografías ilustrando el estado de desarrollo de los ovocitos observados durante el ciclo reproductivo de *C. medius*. A) Estadio I, ovocitos previtelogénicos (x40). B) Estadio II, ovocitos con alvéolos corticales (x20). C) Estadio III, ovocitos vitelogénicos (x20). D) Estadio IV, ovocitos maduros. El núcleo migra hacia la periferia del citoplasma y vesícula del vitelo empiezan a fusionarse. El corium incrementa (x20). E) Estadio V, ovocitos atrésicos (x10). Técnica de tinción H-E y AB-PAS Cy= citoplasma; N= núcleo; n= nucleolos; I= lípidos del vitelo; ca= alveolo cortical; P= proteína; pv= previtelogénicos; ch= corium; Oo= Ovogonia; POF= Folículos postovulatorios.

### 1.3. Tipo de ovario

En las hembras de *C. medius* en los meses de abril a mayo, se observan un 90 % ovocitos del tipo I y un porcentaje mínimo del 10 % de ovocitos del tipo V. Los ovocitos previtelogénicos de junio a septiembre disminuyen hasta un 10 % en el mes de septiembre. A partir del mes de octubre a los siguientes meses, se observa un incremento, hasta un aumento máximo del 90 % de abundancia en marzo (Fig. 6A).

Los ovocitos del tipo II (alvéolos corticales), se hacen presentes durante el mes de junio con un 30 %, incrementándose hasta el 40 % de abundancia durante el mes de julio. De agosto a octubre se observa un decremento, principalmente se observan los valores mas bajos de abundancia durante el mes de octubre (Fig. 6A).

Los ovocitos vitelogénicos (estadio III) fueron observados durante el mes de julio con un porcentaje del 20 %, de agosto a octubre se observa un incremento hasta el 40 % de abundancia. Durante el mes de noviembre se observa una reducción hasta el 10%.

Los ovocitos del tipo IV (maduros), se observan a partir del mes de julio con un 10 % de abundancia, de agosto a octubre se observa un aumento hasta un 40 % de abundancia (Fig. 6A). Este pico en la proporción de ovocitos del tipo IV, coincide con los altos valores de IGS (Fig. 7), con la aparición del 5 % de ovocitos atrésicos durante el mes de septiembre (Fig. 6A). La presencia de ovocitos del tipo IV estuvo presente hasta el mes de noviembre con un porcentaje del 10 %.

La máxima abundancia de ovocitos atrésicos fue observada en diciembre, coincidiendo con una reducción del IGS e indicando el fin del periodo de desove

(Zanuy *et al.*, 1986). Los ovocitos atrésicos de enero a marzo presentan una reducción. Los ovocitos atrésicos se presentan junto con los ovocitos de los estadios I y II, antes del periodo de desove, posteriormente los ovocitos en estadio I disminuyen en abundancia desde mayo a septiembre y reaparecen posteriormente después del periodo de desove (Fig. 6A). Estas observaciones nos llevan a definir que los ovarios del robalo paleta, son del tipo sincrónico por grupo, mostrando un solo periodo de reproducción, del mes de septiembre a noviembre (Fig. 6A).

En los machos de *C. medius*, se observa la presencia de espermatogonias del 84 % de abundancia, presentándose una disminución durante los meses de mayo a agosto, principalmente se observa el valor mas bajo (12 %) de espermatogonias durante el mes de junio. En el mes de septiembre, no se observa la presencia de espermatogonias, sin embargo reaparecen incrementando en porcentaje durante los meses de octubre a marzo, alcanzando el máximo valor durante marzo (85 %).

Durante el mes de abril se observa el 16 % de espermatocitos, estos aumentan de mayo a julio, disminuyendo en el mes de agosto e incrementandose nuevamente durante el mes de septiembre y octubre, en noviembre disminuye su abundancia hasta un 5% hasta desaparecer en el mes de diciembre, reapareciendo nuevamente de enero a marzo con mayor porcentaje.

Las espermatidas se observan a partir del mes de mayo con un 23 % de abundancia, manteniéndose el mismo porcentaje hasta el mes de agosto, en septiembre se observa una reducción del 10 % de abundancia, presentando un 40 % de abundancia durante octubre. Durante el mes de noviembre disminuye al 5 % de abundancia, hasta desaparecer durante los meses de diciembre a abril.

Los espermatozoides se observan a partir del mes de mayo a diciembre, presentando durante el mes de noviembre y diciembre el máximo pico.

Con los métodos histológicos se observa un adelanto en el periodo reproductivo de los machos, en comparación de las hembras, y un retraso hasta el mes de diciembre. Esta misma estrategia reproductiva puede ser encontrada en otras especies de teleósteos (Piferrer, 2001). El mes de septiembre puede definirse como el pico reproductivo en machos por la ausencia de espermatogonias, alcanzando mas del 50 % de las células germinales en el testículo (Fig. 6B). Finalmente la regresión aparece durante el mes de diciembre con el incremento de espermatogonias (Fig. 6B).

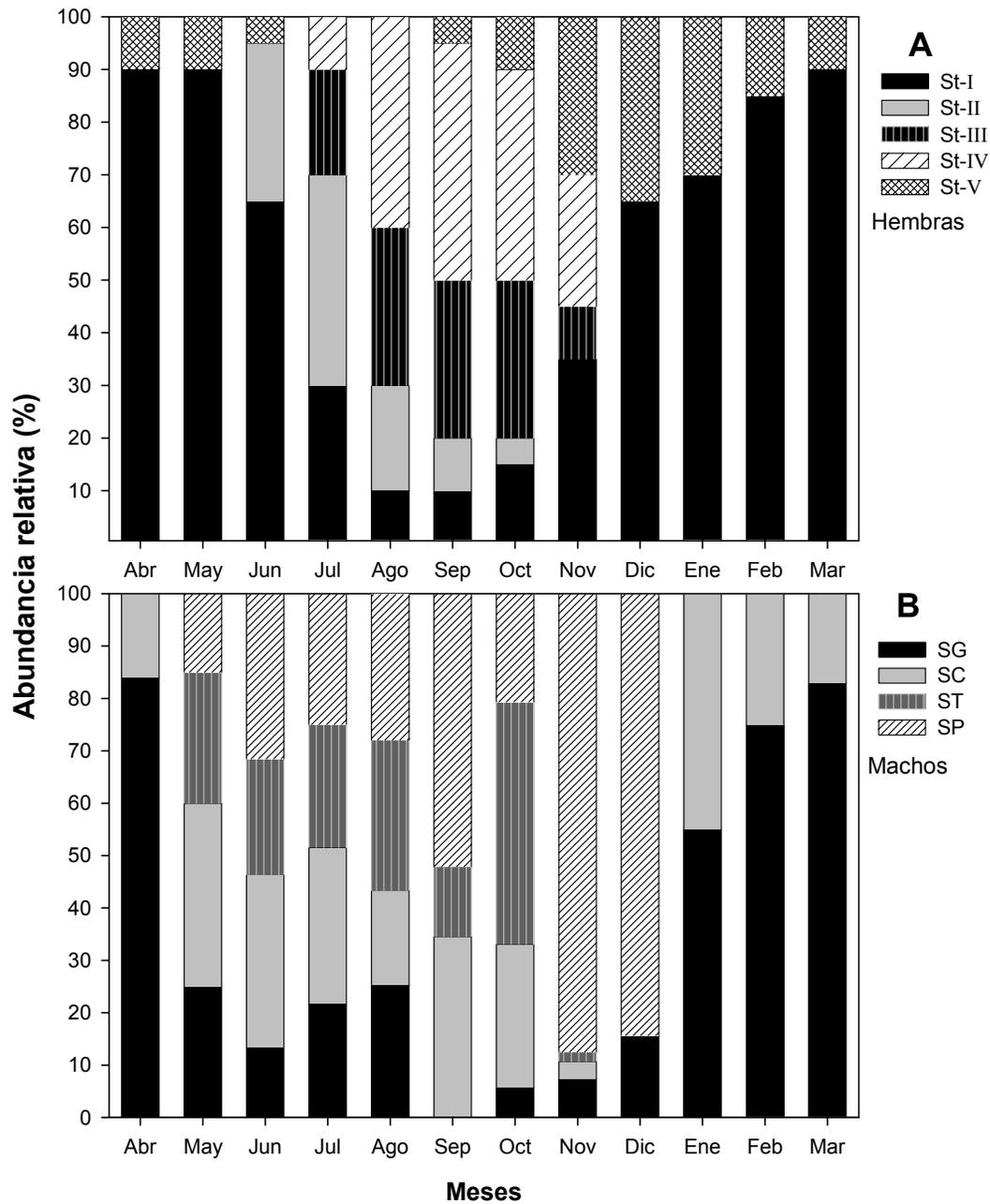


Figura 6. Variación mensual en la abundancia relativa en los diferentes tipos de ovocitos y las células espermatogénicas presentes en *C. medius*, durante un ciclo reproductivo. St-I= estadio I, previtelogénesis; St-II= estadio II, alvéolos corticales; St-III= estadio III, vitelogénesis; St-IV= estadio IV, maduración; St-V= estadio V, atresia o folículo postovulatorio; SG= espermatogonias; SC= espermatocitos; ST= espermátidas; SP= espermatozoides.

#### 1.4. Época de puesta

El periodo reproductivo durante el 2001 para *C. medius* estuvo comprendido entre mediados de julio y noviembre según los valores del IGS y los resultados histológicos.

Durante el periodo reproductivo del año 2002, solo se capturaron hembras en julio y agosto, y machos de julio a noviembre, a excepción del mes de septiembre para ambo sexos; sin embargo, los resultados obtenidos fueron adecuados para permitirnos verificar la época reproductiva de esta especie.

La figura 7, muestra una tendencia similar para el IGS en ambos sexos durante el periodo reproductivo (PR) del 2001 y 2002. Los valores de IGS en machos durante el periodo de pre-gametogénesis (P-PG) de enero a mayo del 2002 fueron bajos ( $0.23 \pm 0.02$  %). Indicando una reducción en la madurez testicular y una supresión rápida de la función reproductiva. Al igual que en los machos, las hembras durante enero a marzo del 2002, presentan los valores mas altos que en los machos ( $0.4 \% \pm 0.05$  %), con una disminución de abril a mayo.

El Índice gonadosomático para machos se incrementó gradualmente a un pico en septiembre (durante el periodo de desove) (Fig. 7), cuando la presencia de fluido espermático fue mas evidente en los machos. Los valores de IGS en hembras fueron mas altos durante el periodo de desove, (septiembre a noviembre), y especialmente durante el mes de septiembre, cuando las hembras alcanzan su máximo valor ( $0.98 \pm 0.07\%$ ) (Fig. 7), además los ovocitos maduros fueron detectados durante este periodo.

Los cambios mensuales en IHS en hembras y machos mostraron una inversa relación con el IGS, el cual fue particularmente evidente en hembras (Fig. 7). El IHS alcanza su mínimo valor durante el mes de septiembre, a mediados del periodo reproductivo.

En relación a las horas luz para esta latitud, se observa que en junio se presenta el solsticio de verano con un máximo de 14 horas luz, a partir de mediados de junio, cuando ha iniciado el periodo reproductivo se observa un decremento en las horas luz, hasta el solsticio de invierno (diciembre) con 11:14 (Luz: Oscuridad). Incrementando nuevamente durante el periodo de pre-gametogénesis (Fig. 7). La temperatura, muestra una tendencia inversa en relación a las horas luz, durante el mes de junio se observan las temperaturas mas bajas entre 17 y 18 °C, a partir de mediados de junio se observa un incremento, hasta alcanzar su máximo en septiembre (28 °C) justo cuando inicia el periodo de desove, disminuyendo a partir del mes de noviembre y diciembre (23 °C), continua disminuyendo en los siguientes meses hasta el mes de junio (Fig. 7).

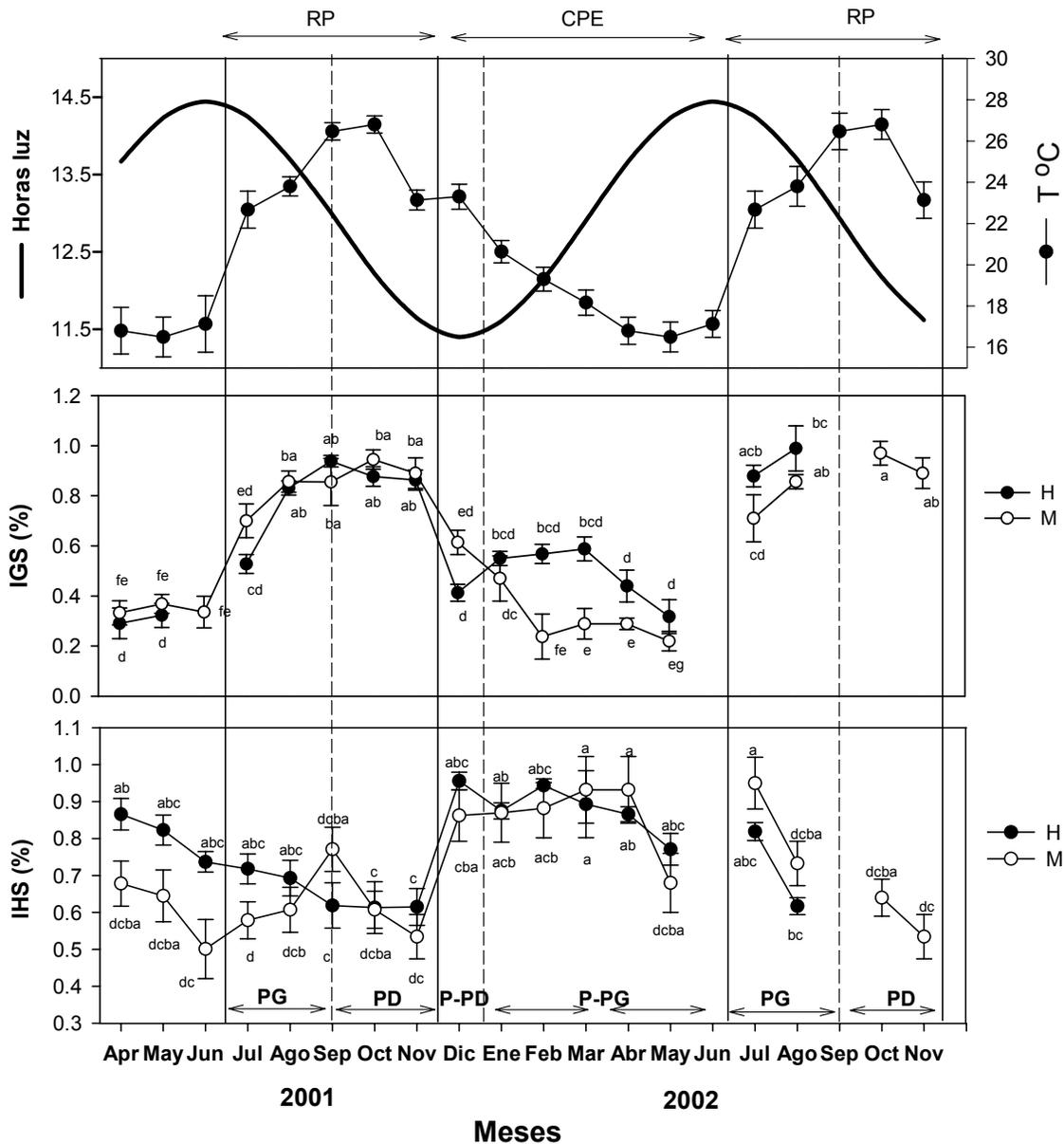


Figura 7. Cambios mensuales en el índice gonadosomático (IGS) y hepatosomático (IHS) en hembras y machos de *C. medius*, relacionados con el fotoperiodo natural y a la temperatura del agua, durante dos ciclos reproductivos. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre los meses ( $P < 0.05$ ). Los valores están expresados por la media ( $\pm$  ES). H= hembras; PG= periodo de gametogénesis; CPE= Crecimiento y periodo de engarzamiento; M= machos; P-PG= Periodo de pre-gametogénesis; PPD= periodo de pos-desove; PR= periodo de reproducción; PD= periodo de desove.

### *1.5. Cambio de sexo*

Durante marzo y abril del 2001, y noviembre del 2002, macroscópicamente se observaron las gónadas de 11 peces con una apariencia delgada y alargada, sin fluido espermático. Las gónadas no presentaban característica de ningún sexo aparente.

La longitud media de los peces indeterminados fue de 30.87 mm ( $\pm 1.63$ ) promedio y de peso de 230 g ( $\pm 48.0$ ) promedio.

En los análisis histológicos, se observó en la sección longitudinal la presencia de ovogonias en la lámela de la gónada (Fig. 8A). Así como la presencia de ovogonias y ovocitos previtelogénicos simultáneamente con espermatozoides (Fig.8B), los conductos espermáticos con un remanente de esperma residual, espermatozoides y espermátidas fueron observados (Fig. 8C). Los conductos presentan células de espermatozoides y se observa los nidos de ovogonias (Fig. 8D).

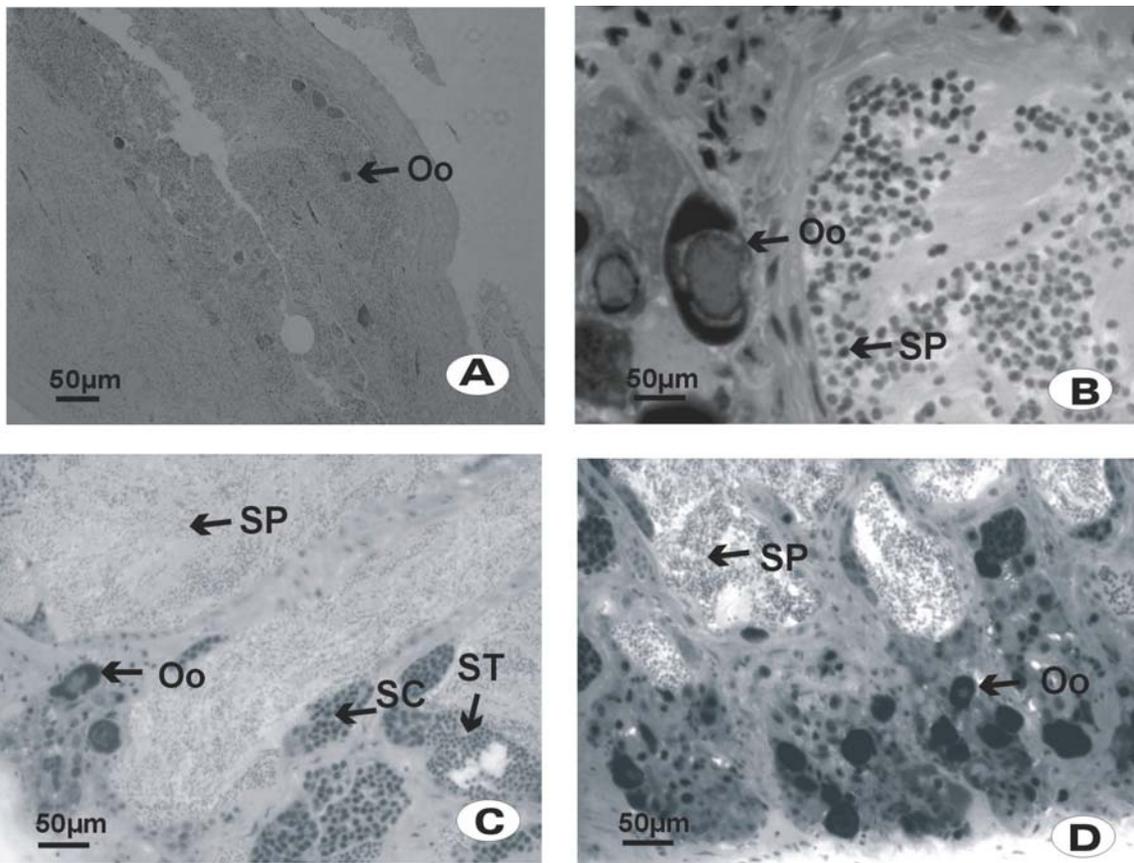


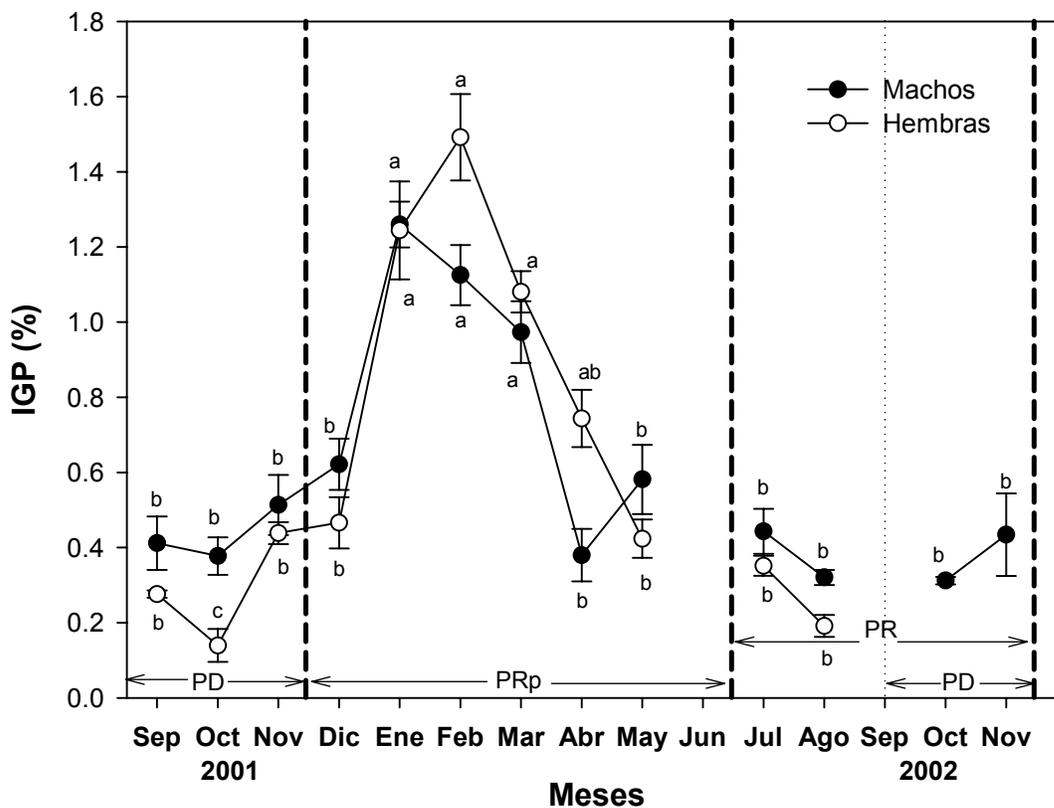
Figura 8. Cambio de sexo. A) sección longitudinal de la gónada (10X). Técnica de tinción H-E. B) presencia de ovogonias y ovocitos primarios, presencia de espermatozoides (40x). C) ovogonias y conductos espermáticos (10x). D) presencia de ovogonias y conductos espermáticos en la región distal de la gónada. Técnica de tinción Cleveland Wolf. Oo= ovogonia; SC= espermatoцитos; ST= espermátidas; SP= espermatozoides.

## 2. Fisiología de la reproducción.

### 2.1. Grasa visceral.

Los valores mas altos del índice de grasa perivisceral en ambos sexos, fueron observados durante el periodo de recuperación (PRp), disminuyendo durante el periodo reproductivo (PR) del 2002. En las hembras, el valor mas alto de IGP fue de 1.5 % durante el mes de febrero, presentando una disminución de marzo a mayo, con un porcentaje mínimo de 0.4 %. Del mes de mayo a agosto del 2002, no se observan diferencias significativas entre los IGP (Fig. 9).

En machos se observa durante el mes de enero, el valor mas alto del IGP de 1.2 %, mostrando una tendencia a disminuir de febrero a mayo, alcanzando el valor mas bajo en agosto y octubre del 2002 (IGP, 0.3) (Fig. 9).



Fig

Figura. 9. Variación mensual de la grasa en la cavidad perivisceral (IGP) durante dos ciclos reproductivos. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre los meses ( $P < 0.05$ ). Los valores están representados por la media ( $\pm$  ES). PD= periodo de desove; PRp = periodo de recuperación; PR= Periodo reproductivo.

## 2.2. Análisis bioquímico del músculo

Los patrones de concentración de proteína en el músculo de hembras y machos son parecidos a los de la grasa perivisceral (IGP), con los valores más bajos durante el periodo reproductivo (PR) (enero) y más altos durante la primera mitad

del periodo de recuperación (PRp), para volver a disminuir abruptamente en los siguientes meses (Fig. 10A).

La concentración de lípidos en el músculo fue muy baja durante todo el RP, y presentaron un aumento estable durante la primera mitad del PRp, y hasta un máximo en el mes de febrero para machos (alrededor de 10 mg por gramo) y un mes después para las hembras (alrededor de 8 mg por gramo). En el mes de abril, ambos sexos alcanzan valores bajos que se mantienen en los siguientes meses (Fig. 10B).

Los triglicéridos en músculo siguen un patrón diferente al de los lípidos musculares. Un primer máximo aparece al final del PR y principio del PRp, siendo el de los machos de mayor magnitud que el de las hembras. Una progresiva disminución de sus valores fue observada durante todo el PRp. Un segundo máximo aproximadamente igual para ambos sexos, aparece en el inicio del PR (Fig. 10C).

En ambos sexos, valores altos de glucógeno fueron encontrados de diciembre a marzo y bajos de abril a noviembre. Sus patrones de variación fueron muy similares a los observados para las proteínas y lípidos del músculo (Fig. 10D).

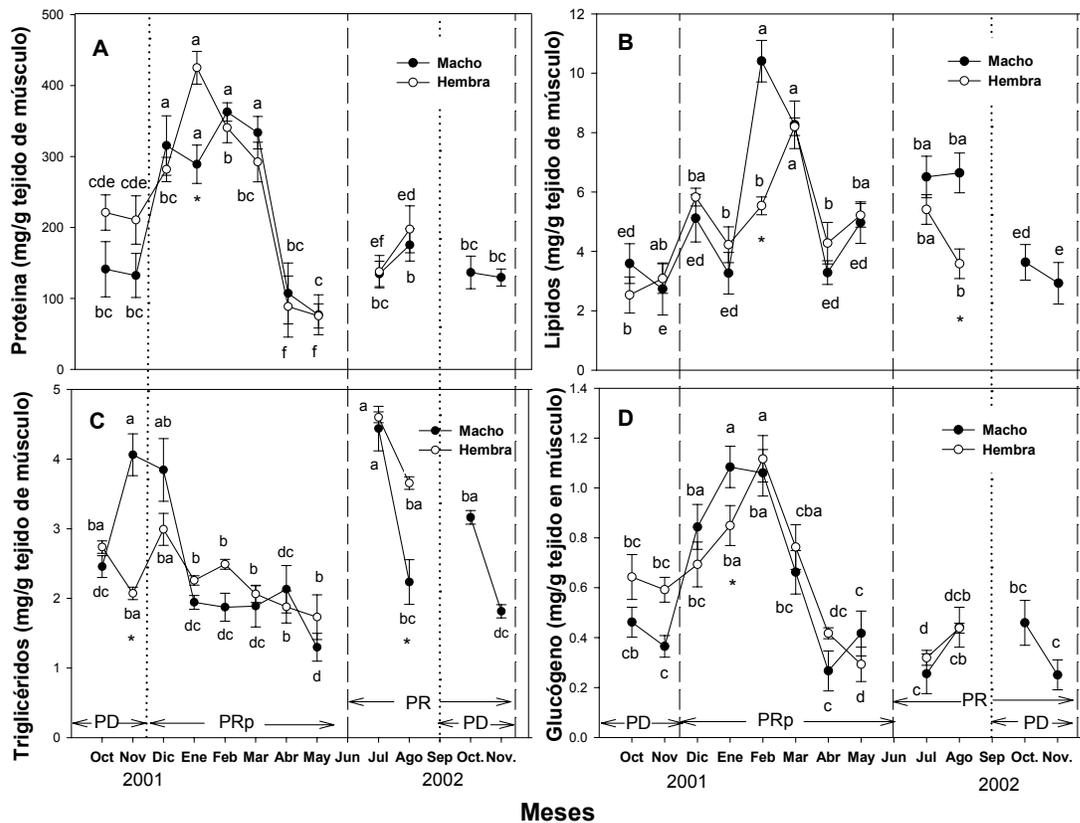


Figura. 10. Cambios bioquímicos mensuales en músculo de hembras y machos de *C. medius* durante un ciclo reproductivo. A) Proteína en músculo; B) Lípidos en músculo; C) Triglicéridos en músculo; D) Glucógeno en músculo. Los valores están representados por la media ( $\pm$  ES). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre los meses ( $P < 0.05$ ). Los asteriscos muestran las diferencias entre hembras y machos durante el mismo mes. PD= periodo de desove; PRp= periodo de recuperación; PR= Periodo reproductivo.

### 2.3. Análisis bioquímicos del hígado

Las proteínas en el hígado tuvieron valores altos durante la parte media del PR en ambos sexos, y una disminución progresiva en los siguientes meses, hasta alcanzar un valor mínimo durante febrero, y volver a aumentar en marzo y abril (Fig. 11A).

Una variación inversa fue observada en los lípidos del hígado, presentando bajos niveles durante la segunda mitad del PR y altos niveles durante la mayor parte del PRp (Fig. 11B).

Los triglicéridos en el hígado también presentaron un patrón similar de variación, aunque de menor magnitud que aquellos observados en los lípidos del hígado, por ejemplo, niveles bajos durante la segunda mitad del PR y niveles altos durante PRp en ambos sexos (Fig. 11C).

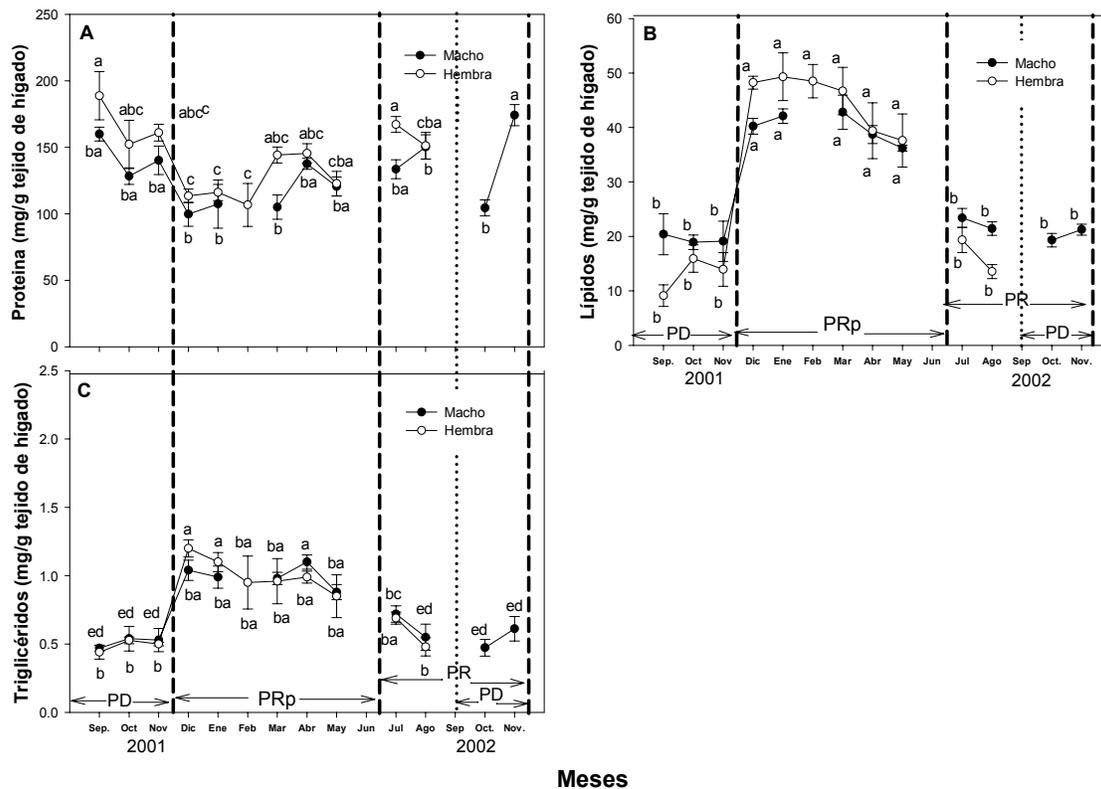


Figura. 11. Cambios bioquímicos mensuales en hígado de hembras y machos de *C. medius* durante un ciclo reproductivo. A) Proteína en hígado; B) Lípidos en hígado; C) Triglicéridos en hígado. Los valores están representados por la media ( $\pm$  SE). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre los meses ( $P < 0.05$ ). Los asteriscos muestran las diferencias entre hembras y machos durante el mismo mes. ). PD= periodo de desove; PRp= periodo de recuperación; PR= periodo reproductivo.

#### 2.4. Análisis bioquímicos de la gónada

El contenido proteínico de las gónadas femeninas presentan una variación con un máximo al final del periodo reproductivo (noviembre) y otro máximo durante febrero y marzo; los machos presentaron valores elevados de enero a marzo. Los valores más bajos fueron observados el resto del tiempo particularmente durante el PR (Fig. 12A).

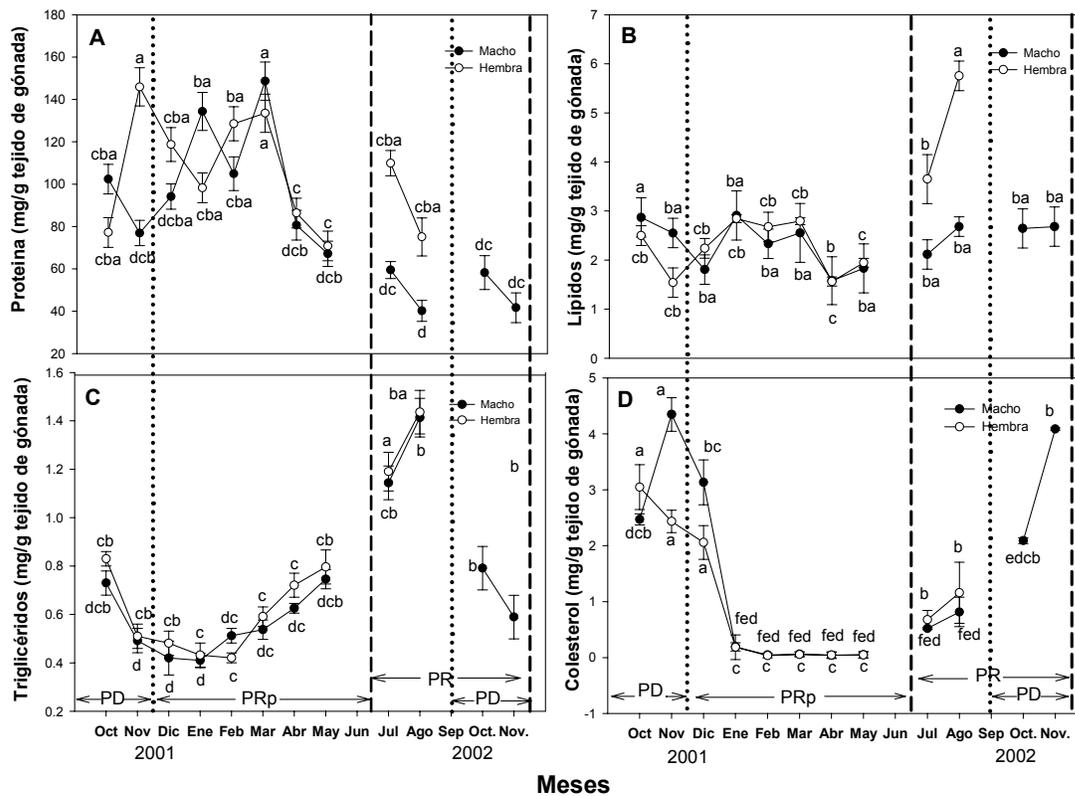


Figura.12. Cambios bioquímicos mensuales en gónada de hembras y machos de *C. medius* durante un ciclo reproductivo. A) Proteína en gónada; B) Lípidos en gónada; C) Triglicéridos en gónada; D) Colesterol en gónada. Los valores están representados por la media ( $\pm$  SE). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre los meses ( $P < 0.05$ ). Los asteriscos muestran las diferencias entre hembras y machos durante el mismo mes. ). PD= periodo de desove; PRp= periodo de recuperación; PR= Periodo reproductivo.

Las concentraciones de lípidos en gónadas para ambos sexos fueron bajas ( $< 3$  mg/gr) a lo largo del ciclo sexual, excepto para las hembras durante la primera

mitad del RP (julio y agosto) los cuales estuvieron particularmente elevados (Fig. 12B).

Los valores mas bajos de triglicéridos en gónadas, se presentaron durante la primera mitad del PRp, mientras que durante la segunda mitad de este periodo se observó un aumento de estos valores culminando con un máximo en el inicio del PR (agosto) (Fig. 12C).

El alto contenido de colesterol en gónada ( $>2$  mg/gr) se observó de octubre a diciembre (final del PR y principio del PRp) y niveles basales fueron observados durante el resto del PRp (Fig. 12D).

## VII. Discusión

### 1. Biología reproductiva

La biología reproductiva de *Centropomus medius* (robalo paleta), ha sido estudiada en este trabajo de tesis y por los resultados obtenidos podemos decir que es muy parecida a la que se conoce para *C. undecimalis* (robalo común), *C. parallelus* (robalo gordo) y *Lates calcarifer* (barramundi), que también son especies de la familia Centropomidae.

La variabilidad de la proporción de sexos en un ecosistema está determinada por factores ambientales, genéticos y evolutivos (Potts 1989). Reay (1989) menciona que la proporción de sexos de manera natural es 1:1 pero en condiciones de cultivo puede variar.

Por los resultados obtenidos en la proporción de sexos entre machos y hembras (1:1.6) para *C. medius*, podemos decir que la población se comporta como lo mencionado por Reay (1989); sin embargo Marshall (1958) menciona que la proporción de sexos puede variar dependiendo del arte de captura por que éstos son selectivos para la talla de captura de los organismos. En relación a lo antes mencionado, podemos notar diferencias con un estudio sobre el robalo *C. undecimalis* en las costas de Florida; Volpe (1959) reporta una proporción de sexos de 1:3 (machos:hembras), en peces mayores a 800 mm, Gilmore *et al* (1983), la encuentra de 3:1 en peces menores a 500 mm y de 1:11 para peces mayores a 800 mm. Taylor *et al* (2000), reportan una proporción de sexos de 1.6:1 y Marshall (1958) la reporta de 1:1.1 para peces menores a 500 mm. Este último autor coincide con lo hallado para *C. medius* en este estudio. Marshall (1958) demuestra que al

utilizar una red de luz de malla de 114 mm, puede capturar peces de 568 a 836 mm ( $702 \pm 134$ ), mientras que con una red extendida, el rango de captura de peces varía de 439 a 879 mm ( $659 \pm 220$ ). Para *C. medius* obtuvimos que con una red agallera de 75 mm de luz de malla, se pueden capturar ejemplares de 270 a 560 mm.

Esta variabilidad de tallas que se presenta con el uso de diferentes métodos de captura o diferente luz de malla de las redes en peces que presentan hermafroditismo, puede influenciar directamente la interpretación de los resultados respecto a la proporción de sexos; los robalos *C. undecimalis* y *C. medius* presentan hermafroditismo protándrico, siendo los organismos de menor tamaño machos y los de mayor tamaño hembras. El uso de una red de luz de malla menor de 75 mm tiene una mayor probabilidad de capturar machos cuyas tallas son menores a 260 mm.

En condiciones de cultivo la proporción de sexos es variable. Mylonas *et al.* (2003), mencionan que cuando los huevos de lobina eclosionan, las larvas no tiene definido su sexo. Esto no sucede hasta unos meses después, cuando los juveniles llegan a una medida de entre 80 y 140 mm. Que lleguen a ser machos o hembras depende fundamentalmente de su componente genético, determinante del sexo. Pero éste puede ser modificado por algunos factores ambientales, principalmente por la temperatura del agua en la que se desarrollan las larvas. En una temperatura de 21°C, que es más elevada de lo normal (13-18°C), la proporción de machos aumenta al 80, 90 o incluso al 100%. Piferrer (2001), determina que los tratamientos hormonales con estrógenos de peces en cautiverio pueden inducir a la feminización y esto lo atribuye a una respuesta que está en el gen *cyp19*, que codifica para el citocromo P450 aromatasa, una enzima responsable de la producción de estrógenos a partir de andrógenos, los dos tipos principales de esteroides sexuales necesarios para la diferenciación gonadal. Por eso han clonado

genes implicados en la síntesis, el transporte, la recepción y el efecto biológico de estos esteroides.

Cuando se expresa la aromatasa se produce la síntesis de estrógenos (las hormonas femeninas). Sin embargo, el aumento de temperatura bloquearía la expresión del gen *cyp19* y, por lo tanto, no se produciría esta síntesis. La consecuencia es que las larvas que tienen en su componente genético la información para llegar a ser hembras, no lo llegan a ser (Piferrer *et al.*, 1994; Piferrer, 2001). De aquí que aumente la proporción de machos. Así, las gónadas sexualmente indiferenciadas son únicas entre todos los órganos de los vertebrados en cuanto que tienen dos opciones para su desarrollo durante el proceso de diferenciación sexual: devenir ovarios o testículos (Piferrer *et al.*, 1994; Piferrer, 2001).

Estos estudios mencionados nos llevan a comprender que debido a los cambios de temperatura presentes en los lugares de captura es posible encontrar peces que presenten hermafroditismo. Principalmente esta característica reproductiva se reporta en especies costeras tropicales en donde las variaciones de temperatura varían de 15 a 35 °C (Guiguen *et al.*, 1994). En los peces (más de 25.000 especies identificadas) se dan todas las formas posibles de reproducción conocidas en los vertebrados, como: gonocorismo (sexos separados), o hermafroditismo sincrónico y secuencial (Zhou *et al.*, 2001). Los hermafroditas secuenciales se dividen en dos: los protogíneos (funcionan como hembras y después como machos) y los protándricos (funcionan como machos y después como hembras) (Meyer, 1999). Esta última característica reproductiva (hermafroditas protándricos) se determinó por primera vez en *C. medius* a través de la observación por técnicas histológicas de la presencia de ovogonias y ductos espermáticos, en una misma gónada. Taylor *et al.* (2000), reporta que en *C. undecimalis* se presenta esta misma

característica reproductiva y Moore (1979) la reporta para *Lates calcarifer*. Esta característica reproductiva, no ha sido todavía identificada en ningún otro ejemplar de la familia Centropomidae.

Taylor *et al.* (2000), menciona, que los machos de *C. undecimalis*, alcanzan la madurez sexual desde los 240 mm, a comparación de las hembras que son maduras a partir de los 400 mm. Estas tallas coinciden con las tallas de los organismos que presentaron cambio de sexo en *C. medius*. Taylor *et al.* (2000), menciona también que, a partir de un año de edad, los machos presentaban ovogonias en la periferia de la porción testicular hasta los 3.5 años de edad, (515 mm) y que, las hembras de 7 años de edad (824 mm), aún presentaban remanentes de ductos espermáticos.

Se observaron 11 peces que presentaban esta característica reproductiva, los cuales fueron capturados antes del periodo reproductivo (marzo) y al finalizar el periodo de desove (noviembre), lo cual coincide con lo mencionado por Taylor *et al.*, (2000) en que la mayoría de *C. undecimalis* que presentaban cambio de sexo fueron capturados durante los meses de septiembre a noviembre al terminar el periodo de desove, y de febrero a marzo antes del desove.

Los hermafroditas protándricos presentan la desventaja frente a los hermafroditas protogíneos que en cultivos intensivos de engorda los machos crecen un 35% menos que las hembras; las investigaciones actuales indican que es posible la producción de lotes de peces en los que todos los ejemplares sean hembras (Le comber y Smith, 2004). Todo esto se puede conseguir a partir de cruces deliberados o con técnicas genéticas consistentes en la manipulación de cromosomas en el momento de la fertilización (Crow, 1994; Venkatesh, 2003). Con estas técnicas se consigue producir ejemplares polyploides (con tres o más

dotaciones de cromosomas), que crecen normalmente pero que son estériles y por lo tanto no pueden reproducirse, o peces de herencia exclusivamente materna. Estas técnicas se están utilizando para la lubina y el rodaballo (Le comber y Smith, 2004).

Una de las ventajas que presenta una especie con cambio de sexo en relación a una especie gonocórica, es porque la inversión del sexo otorga al individuo un mayor éxito en su aspecto reproductivo cualquiera que sean las condiciones del medio ambiente, hábitos alimenticios, tallas, comportamiento, etc. Las especies que presentan cambio de sexo pueden ser herbívoras, zooplantívoras, piscívoras, monógamas, polígamas, promiscuas, de pequeñas y grandes tallas, especies que viven en aguas someras o profundas, especies que mantienen agregaciones monoespecíficas o interespecíficas, que producen huevos pelágicos o sésiles, que defienden su territorio individualmente o en grupos, que presentan migraciones diurnas o son residentes permanentes, que se reproducen diario o mensualmente durante todo el año, o durante cortas y bien definidas estaciones de desoves. Estas ventajas se han mantenido durante la evolución. Esto demuestra que el beneficio de esta estrategia es mayor que el costo energético para mantenerla (Douglas y Shapiro, 1989). Ghiselin (1969), agrega además que el cambio de sexo presenta ventajas sobre el gonocorismo, ya que el potencial reproductivo se mantiene eficiente tanto en un sexo como el otro. En cambio las especies gonocóricas con el tiempo y la edad van perdiendo su potencial reproductivo (Shapiro, 1989).

Las investigaciones actuales sobre los diferentes tipos de reproducción en los peces se están dirigiendo al estudio de las condiciones evolutivas y ecológicas durante este evento (Forsgren *et al.*, 2004; Ghalambor *et al.*, 2004; Seamons *et al.*, 2004).

Los factores medioambientales influyen en la reproducción de los teleósteos. La respuesta a esa influencia es diversa en función de la especie. Lambert y Ware (1984) mencionan que la gran mayoría de los peces presenta una estrategia de reproducción típica para cada especie y pueden tener estrategias reproductivas alternativas dentro de una población; puede haber subpoblaciones que maduren a edades y tallas diferentes y que tengan comportamientos de reproducción diferentes. Carrillo y Zanuy (1999) mencionan que el ciclo reproductivo de la mayoría de las especies de teleósteos comprenden una sucesión de estadios de diferente duración: gametogénesis, maduración final de los gametos, desove y regresión. Particularmente, en las hembras de *C. medius*, la ovogénesis ocurre igual que la reportada para las hembras de *C. undecimalis* (Peters *et al.*, 1998; Taylor *et al.*, 1998; Grier, 2000). Presenta un epitelio germinal a partir del cual se van a diferenciar las ovogonias durante la época de diferenciación sexual (Takashima y Hibiya, 1995; Grier, 2000). Durante el proceso de maduración, los peces pueden presentar tres tipos básicos de desarrollo del ovario: sincrónico, sincrónico por grupo y asincrónico (Mylonas y Zohar, 2001). En los peces sincrónicos por grupo, en los ovarios se encuentran dos o más poblaciones distintas de ovocitos en diferentes estadios de desarrollo, en donde se encuentra una población de ovocitos primarios y una o más poblaciones de ovocitos en desarrollo. Durante la estación anual de desove, las hembras sincrónicas por grupo desarrollan un solo conjunto de ovocitos en su fase final de maduración y ovulan solo una vez como en la lubina rallada y en la trucha. Otras especies como *Dicentrarchus labrax* o *Pleuronectes ferrugineus*, tienen varios conjuntos de ovocitos que desarrollan múltiples ovulaciones en el transcurso de algunos días o semanas. Este patrón de desarrollo ovárico es igual al encontrado para *C. medius* muestra un solo periodo de desove de septiembre a noviembre, similar que el reportado por Taylor (1998) para *C. undecimalis* con un solo periodo de desove (de junio a agosto) y el reportado por

Burker *et al.*, (1998) para *L. calcarifer* con un solo periodo de desove (noviembre a diciembre).

En relación a los machos de *C. medius*, durante el mes de mayo hasta el mes de diciembre, se observó la presencia de esperma, en las muestras analizadas por técnicas histológicas. Por lo tanto, el periodo reproductivo de los machos es más amplio que el de las hembras, con un mes de adelanto (mayo) y terminando un mes después (diciembre). En los estudios realizados por Grier y Taylor (1998) y Grier (2000), este adelanto y atraso reproductivo en los machos se reporta en *C. undecimalis*. Esta característica reproductiva puede ser encontrada en otras especies de teleósteos (Piferrer, 2001). Basados en la clasificación de Grier (2001) para *C. undecimalis*, los testículos de *C. medius* pertenecen al tipo lobular espermatogonial, en los cuales las espermatogonias se distribuyen a lo largo del lóbulo al igual que la estudiada para *C. undecimalis* (Grier, 2001).

Los índices gonadosomático y hepatosomático nos ayudan a comprender el ciclo reproductivo de los peces. Éstos nos expresan la dinámica en la utilización de la energía endógena de los órganos, tales como el hígado y la gónada (González y Oyarzun, 2002). La variación en el peso del hígado refleja unos procesos de almacenamiento y transferencia de proteínas y lípidos, asociados con el esfuerzo reproductivo (Santos *et al.*, 1996). El crecimiento gonadal se ve reflejado en el aumento del IGS presentando una correlación con el periodo reproductivo y una disminución después del desove (Jobling, 1995, Zimmerman 1997).

En nuestro estudio, para determinar el ciclo reproductivo del robalo paleta, empleamos los índices hepatosomático (IHS) y gonadosomático (IGS), calculados mensualmente durante dos años. Los resultados del IHS obtenidos para las hembras y los machos de *C. medius* mostraron una inversa relación con el IGS, lo

cual fue particularmente evidente en las hembras. El IHS alcanzó su mínimo valor durante el mes de septiembre, a mediados del periodo reproductivo (PR). La reducción del IHS durante este periodo reproductivo, puede ser explicada por la movilización de reservas lipídicas y especialmente la vitelogenina (Vg), y una lipofosfoproteína que se sintetizan en el hígado y son liberadas a la sangre en respuesta a los estrógenos circulantes (Carrillo y Zanuy, 1998).

Este proceso incrementa el peso de la gónada aumentando el IGS y disminuye el peso del hígado. Esta variación en los índices se ha descrito en otras especies de teleósteos (Carrillo y Zanuy, 1993; Mañanos *et al.*, 1997; Rodríguez *et al.*, 2001). En el robalo común *C. undecimalis* se realizó un estudio comparativo entre el IGS y los niveles de esteroides hormonales de estradiol (E<sub>2</sub>) y testosterona (T) durante un ciclo anual, obteniendo los valores más altos de IGS, E<sub>2</sub> y testosterona durante el periodo reproductivo (de mayo a septiembre) y los valores más bajos durante el periodo de reposo (de octubre a marzo), y un pico durante el periodo de desove (de junio a agosto) (Steven *et al.*, 1999). En *C. medius* no se han determinado los niveles de esteroides hormonales; sin embargo, lo reportado para *C. undecimalis* indica que los cambios en el aumento o disminución de estradiol (E<sub>2</sub>) y testosterona (T) están asociados con la maduración reproductiva (Steven *et al.*, 1999).

El inicio de la vitelogénesis en el robalo paleta *C. medius*, se produce cuando el fotoperiodo es de 14 horas de luz y 10 de oscuridad (solsticio de verano) y un aumento significativo de la temperatura del agua por encima de 22 °C.

El máximo valor del IGS en *C. medius*, seguido probablemente de las puestas, coincide con la disminución del fotoperiodo (de julio a noviembre) y la máxima térmica anual. Estos cambios son percibidos por el robalo por los

fotorreceptores de la retina o quimiorreceptores del epitelio olfatorio y glándula pineal (Harpster and Henderson, 1978). Estos impulsos eléctricos son transmitidos sinápticamente a otras neuronas. De esta forma, la información fótica se transforma de forma directa en respuesta endocrina. Esta respuesta hormonal se hace a través de la melatonina la cual se sintetiza y se libera durante la noche y se inhibe durante el día; cuando las noches son cortas y las temperaturas elevadas, son capaces de disminuir la secreción de la melatonina y por consiguiente cambiar su ritmo diario. En cambio, durante el solsticio de invierno que inicia el 21 de diciembre, cuando las temperaturas son bajas y las noches mas largas, el periodo de niveles elevados de melatonina se alarga, aunque su amplitud de secreción no cambie (Zanuy y Carrillo, 1999). La duración de la elevación nocturna de melatonina está controlada por el fotoperiodo, pero su amplitud es más dependiente de la temperatura (Carrillo *et al.*, 1995). Este proceso sugiere que en *C. medius* la producción de melatonina sigue unas pautas muy ajustadas a las fluctuaciones de la luz ambiental.

En los peces, la secreción de melatonina y la respuesta reproductora ante el fotoperiodo están relacionadas (Reiter, 1993). Las señales electroquímicas que se dirigen vía neuronas sensoriales al cerebro y de ahí al hipotálamo (Bromage *et al.*, 1988), son procesadas induciendo la secreción de hormonas peptídicas como la hormona liberadora de la gonadotropina (GnRH). Éste tipo de hormonas se dirige a la glándula pituitaria donde inducen y regulan la producción de la hormona gonadotropina (GtH) (Mushiake *et al.*, 1994). La gonadotropina es liberada en la sangre, llega al tejido gonadal, donde participa en la producción de esteroides que controlan las funciones reproductivas (Prat, 1990). Zanuy *et al.*, (1995), menciona que otro de los factores relevantes que influyen en los ciclos reproductivos en el momento del desove de los peces es la temperatura del agua; hay otros factores de menor influencia (lluvias, tormentas, época de sequía, etc.) que contribuyen al

desove (Carrillo *et al.*, 1989). Los efectos de la temperatura dependerán de la estrategia reproductora de las diferentes especies; las especies que se reproducen en verano precisarán de temperaturas elevadas para terminar las últimas fases del proceso reproductor, mientras que aquellas que se reproducen en invierno requerirán de temperaturas bajas (Zanuy y Carrillo, 1999).

La influencia de la temperatura en la madurez gonadal para el robalo paleta, *C. medius* fue muy marcada, tal como ocurre en especies de áreas tropicales y subtropicales (Shilo y Sarig, 1989). Estos autores afirman que la temperatura induce el desarrollo reproductivo marcando el inicio de la época de reproducción cuando aumentan sus valores, de manera que el pico máximo de temperatura coincide con el mayor IGS, tal como ocurre para *C. medius*.

Otros factores son las condiciones climáticas de la zona, la variabilidad inter-específica y las condiciones ambientales, en distintas épocas del año. Ésta influencia, se ha observado en el comportamiento reproductivo de otros teleósteos (Zanuy *et al.*, 1986; Taylor *et al.*, 1998).

En el robalo común (*C. undecimalis*), la influencia de la temperatura en el comportamiento reproductivo se ve reflejada al igual que *C. medius*. Taylor (1998), determina que el periodo reproductivo de *C. undecimalis* en las costas de Florida, se presenta desde finales de primavera y continua hasta mediados de otoño (de abril a octubre, a temperaturas de 15 a 31 °C); el desove ocurre de junio a agosto con temperaturas de 23 a 31 °C, con un pico reproductivo en el mes de julio. El período reproductivo de *C. undecimalis* ocurre durante un aumento del fotoperíodo de 11 a 13.5 horas luz.

Peterson *et al.* (1998) mencionan que los estudios que definen el período de desove en base a la condición reproductiva del adulto, presentan cierta heterogeneidad debido a las diferencias interespecíficas en base a su lugar de colecta; estas diferencias se observan en *C. undecimalis* a lo largo de las costas del sur-este de Florida: Marshall (1958) demuestra que el periodo reproductivo se presenta de junio a noviembre; Volpe (1959) lo reporta de junio a julio; Fore y Schmidt (1973) lo encuentran desde mayo a mediados de noviembre; Tucker y Campbel (1988) mencionan que *C. undecimalis* se reproduce de abril a septiembre y McMichael *et al.* (1989), mencionan que en la bahía de Tampa desovan de mayo a diciembre con un pico de actividad de julio a septiembre. Por lo antes mencionado podemos decir que el periodo reproductivo de *C. undecimalis* reportado por los diferentes autores es similar al reportado por Taylor (1998) con cierta variabilidad de un mes de adelanto o atraso del periodo reproductivo.

En el caso de *C. parallelus* en Florianópolis, Brasil (latitud 25° S) el desove ocurre en los meses de noviembre a abril coincidiendo con un fotoperiodo creciente (13 L: 11 O), y un pico reproductivo de enero a febrero en un intervalo de temperatura de 20.8 a 27.4 °C (Vinicius, 2002; Rocha *et al.*, 2003). *Lates calcarifer*, al norte de Queensland, Australia (latitud 26° S), el periodo reproductivo es de octubre a enero, con un pico reproductivo de noviembre y diciembre a una temperatura de 28 a 29 °C y fotoperiodo de 13 horas luz (Burker *et al.*, 1998).

Por lo antes mencionado se corrobora la heterogeneidad del periodo de reproducción de *C. medius*, *C. undecimalis*, *C. parallelus* y *L. calcarifer*, con diferencias en condiciones de temperatura y fotoperíodo, aún cuando exista cierta coincidencia con el inicio del solsticio de verano en el hemisferio norte (21 de junio) y sur (21 de diciembre), señalando el comienzo del verano, aumento de temperatura y días mas largos.

## 2. Fisiología reproductiva

Los estudios sobre la fisiología reproductiva de los peces marinos se han dirigido hacia su aplicación en acuicultura. Uno de los tópicos de gran importancia ha sido conocer la movilización de reservas para el proceso reproductivo. Para el género *Centropomus*, no se tiene información relacionada con este tema, pero se conoce de otras especies de peces marinos (Tyler y Calow, 1985; Craig *et al.*, 1999).

En los peces carnívoros, las proteínas, los lípidos, las vitaminas y los minerales son los nutrientes esenciales para el crecimiento, mantenimiento y reproducción (Tacon, 1993). Las proteínas constituyen el material orgánico más abundante en el tejido del músculo de los peces carnívoros, donde representa entre el 65 al 75 % del total corporal en peso seco (Halver, 1989). La proteína consumida por los peces es hidrolizada en aminoácidos, los cuales son absorbidos en el tracto intestinal y usados por varios tejidos para sintetizar nuevas proteínas; los aminoácidos en exceso son utilizados como fuente de energía. Durante el periodo de recuperación, los reproductores aumentan su consumo para poder mantener sus funciones vitales ganando mayor cantidad de tejido corporal (músculo) y un incremento del tamaño de la gónada durante el periodo de reproducción (Tacon *et al.*, 1985). En el robalo paleta, *C. medius*, fue claro que durante el periodo de recuperación (PRp) la concentración de proteína aumentó en el músculo y la gónada, para posteriormente ser utilizada durante el periodo reproductivo. Esto lo podemos atribuir a la síntesis proteica que es responsable del crecimiento de los ovocitos; esta síntesis se produce en el hígado y las proteínas son transportadas por la sangre en forma de una sola proteína específica de las hembras, la vitelogenina,

que ha sido identificada en varias especies de peces marinos (Shimizu *et al.*, 1983; Hagenmair, 1985; Hyllner *et al.*, 1992). La vitelogenina es una fosfoglicoproteína, por lo que también aporta lípidos exógenos que al incorporarse a los ovocitos se disocian proteolíticamente en sus componentes principales; éstos son la lipovitelina y fosvitina, los cuales pasarán a formar parte del vitelo de las larvas (Hyllner *et al.*, 2001). Por consiguiente, el cambio en la composición del hígado es debido a la movilización de proteína del hígado, siendo éste un órgano principal de almacenamiento, y conforme la maduración de la gónada avanza, una proporción significativa de nutrientes es requerida por los ovocitos. Consecuentemente, una vez que la maduración es completada, se apreciará un agotamiento de las reservas del hígado y consecuentemente una disminución de proteínas y lípidos durante el periodo de reproducción (Sheik-Eldin *et al.*, 1995). Estos resultados se han observado en este estudio para el robalo paleta, *C. medius*.

El glucógeno se almacena en forma de gránulos dentro de las células; principalmente, se deposita en el hígado, que actúa como un órgano central de almacenamiento de energía en numerosos organismos; en los camarones y principalmente en los peces, se deposita también en el músculo, por lo que está disponible de manera más inmediata para la liberación de energía (Mathews, 1998). En *C. medius*, la concentración de glucógeno aumentó en el músculo durante el PRp y disminuyó durante el PR. Estos resultados nos indican que los nutrientes (proteínas y glucógeno) fueron movilizados para el crecimiento somático y que están asociados con la mayor síntesis de proteínas que requiere la hembra al prepararse para la actividad reproductiva. Esta utilización de los tejidos de reserva durante la maduración sexual ha sido descrita en condiciones naturales en varias especies (Sargent, 1995; Carrillo *et al.*, 1989; Morehead *et al.*, 2001).

En el lenguado, *Solea solea* (Devauchelle, 1987), en la perca, *Micropterus salmoides* (Girin y Devauchelle, 1978), en el capelin (*Mallotus villosus*), en el arenque (*Clupea harengus*) y en algunos salmónidos (Hansen *et al.*, 1995), se ha observado que las reservas proteicas y lipídicas del cuerpo aumentan durante el PRp y descienden durante el PR, al igual que en *C. medius*. En otras especies como algunos salmónidos (*Oncorhynchus sp*), las reservas del músculo no se reducen significativamente durante la maduración de la gónada, sino que justo empiezan a descender durante el periodo de desove; el tejido del músculo y del hígado, juega un papel principal en el almacenamiento de reservas (proteínas y lípidos) y en su suministro posterior a la gónada (Bohemen *et al.*, 1981). En casos críticos, en los cuales el incremento de peso del ovario está asociado con la migración de los peces para el desove, las reservas del músculo juegan un papel predominante en ese caso. En los salmones, principalmente los del género *Oncorhynchus*, consumen toda la energía para la reproducción (aproximadamente el 90% de lípidos y el 50 % de proteínas), quedándose sin energía disponible para sobrevivir (Zohar *et al.*, 1984).

La mayor parte de los lípidos se encuentran en forma de triacilgliceroles (denominados también como triglicéridos). Los triglicéridos se sintetizan en el hígado y se transportan a los tejidos periféricos de la cavidad abdominal y al ovario de los peces, en forma de lipoproteínas de muy baja densidad, (Mathews, 1998). Los triglicéridos se encuentran mucho mejor adaptados que el glucógeno para desempeñar el papel de reserva de energía (Lehninger, 1978). Durante el PRp en *C. medius* la concentración de lípidos y triglicéridos fue menor en el músculo y mayor en el hígado, mientras que en la gónada la concentración de lípidos y triglicéridos fue en aumento durante el PRp y antes del desove (inicio del PR); ambas concentraciones, lípidos y triglicéridos disminuyen durante el desove. Esto se debe a que los lípidos son la fuente de energía metabólica para la formación de la gónada en las hembras (Sargent, 1995).

En el robalo paleta, la grasa perivisceral, al igual que el hígado, juega un papel importante de reserva ya que los mayores valores del IGP que también se observan durante el PRp, disminuyen hacia el PR, indicando que los lípidos se están movilizando hacia la gónada. Así, el total de lípidos y triglicéridos fueron movilizados del tejido del hígado y grasa perivisceral hacia las gónadas para ser usados durante el PR.

Esto mismo ha sido observado en la macarela azul (*Scomber australasicus*), salmón australiano (*Arripis trutta*), merluza azul (*Macruronus novaezealandiae*) y en la brótola (*Pseudophycis bachus*) (Body, 1989); estos hallazgos también se observaron en el sargon (*Abramis brama*) (Komova y Khal'ko, 2003), lubina de mar negro, *Centropristis Striata* (Bruce *et al.*, 1997; Carnevali, 1998) y en la lubina europea, *Dicentrarchus labrax* (Carnevali, 1998).

En general, la grasa intraperitoneal, y principalmente el tejido del hígado y del músculo, juegan un papel principal en el almacén de reservas (proteínas y grasa) y en su suministro a la gónada (Devauchelle *et al.*, 1982). Henderson *et al.*, (1984) mencionan que el capelin (*Mallotus villosus*), puede acumular entre el 10 y el 20% de grasa de su peso húmedo corporal en el tejido perivisceral y subcutáneo en la forma de triglicéridos. Además, más del 70 % de la grasa del músculo que incluye el tejido adiposo subcutáneo de la hembra del capelin, se moviliza durante el desarrollo de la gónada, donde el 40 % de los lípidos movilizados se depositan en los ovocitos. Por lo tanto el 60% de este lípido movilizado es catabolizado para proveer la energía metabólica para la formación de las gónadas de las hembras. El macho del capelin moviliza las mismas proporciones de grasa, pero deposita pequeñas cantidades de la grasa movilizada para la producción de esperma, indicando que hay mayor gasto metabólico o mayor gasto energético en la

actividad física del macho comparado con la hembra (Henderson *et al.*, 1984; Sargent, 1995).

De manera general, Sargent (1995), menciona que la variación estacional en los niveles de lípidos tiene estrecha relación con los ciclos reproductivos. Es una norma en el medio ambiente natural que los peces acumulen grandes reservas de lípidos durante finales de primavera y verano, debido a la mayor abundancia de alimento, justo antes del desarrollo de las gónadas durante finales de invierno y principios de primavera. La mayoría de peces marinos desovan en primavera y de esta manera los huevos fertilizados eclosionan cuando existe abundancia de alimento por los afloramientos fitoplanctónicos de primavera y principios de verano. Consecuentemente, los peces marinos contienen los mayores niveles de lípidos a principios de invierno y menores a principios de primavera (Sargent, 1995).

Sargent (1995) menciona que las variaciones en la composición corporal de los peces están estrechamente relacionadas con la alimentación, migración y cambios sexuales relacionados con el desove. Los peces presentan periodos de inanición por razones naturales y fisiológicas (como el desove o migración), o bien por factores externos como la escasez de alimento. La información obtenida por la composición bioquímica corporal nos puede orientar en el diseño de dietas específicas de la especie del pez, que contengan los requerimientos nutricionales necesarios para poder aplicar esta información a la acuicultura.

El efecto del fotoperiodo sobre la movilización de reservas, ha sido estudiado en *C. medius*, *C. undecimalis*, *C. paralellus* y *L. calcarifer*, en las hembras de la trucha (*Onchorinchus mykiss*). Cuando se exponen a dos periodos de variación de horas luz, presentan una movilización de lípidos para la síntesis de lipoproteínas y la

síntesis vitelogénica durante el PR (Bromage *et al.*, 1992). Otros estudios relacionados muestran que la temperatura afecta la ingesta de alimento modificando la actividad metabólica de los peces por su condición poiquiloterma (Sheridan, 1988) y esto directamente afecta la movilización maternal de nutrientes para el desarrollo de los embriones y consecuentemente la calidad en la producción de huevos de cualquier especie de pez.

## VIII. Conclusiones

- La biología reproductiva del robalo paleta *C. medius*, se asemeja a la de las especies de la familia Centropomidae.
- Durante el desarrollo gonadal de las hembras y machos de *C. medius*, se determinaron cinco estadios reproductivos, siendo la descripción morfológica de la gónada similar a la que se describe para *C. undecimalis*.
- Se determinó el periodo reproductivo de las hembras de junio a mediados de noviembre; el inicio del periodo se relaciona con un máximo fotoperiodo (14 horas luz: 10 de oscuridad) y una temperatura de 22 °C. El final del periodo reproductivo se relaciona con un fotoperiodo de 11 horas luz: 13 de oscuridad y una temperatura de 22 °C.
- Se comprobó que el periodo reproductivo de los machos se produce de mayo a diciembre, un mes antes y después en relación a las hembras.
- El periodo de desove ocurre desde el mes de septiembre a mediados de noviembre, y se relaciona con un fotoperiodo decreciente.
- La temperatura en el inicio del periodo de desove fue de 28 °C y en el fin del periodo de desove de 24 °C.
- Se determinó que el tipo de ovario es sincrónico por grupo, ya que presenta un periodo de desove relativamente corto, con la presencia de dos o más

grupos predominantes de ovocitos en estadios de desarrollo ovárico distintos.

- Presenta un solo periodo de desove durante un ciclo anual.
- El robalo paleta *C. medius* presenta una estrategia reproductiva hermafrodita protándrico.
- Durante el principio del periodo de recuperación (PRp), la concentración de proteína es elevada en el músculo y en la gónada y disminuye a partir de la mitad de ese periodo. Lo cual indicó que la proteína es utilizada por el organismo a partir de ese momento.
- La concentración de glucógeno aumentó en el músculo durante el PRp y disminuyó durante el PR. Lo cual indica que el glucógeno fue movilizado para el crecimiento somático y es utilizado durante el PR.
- La concentración de lípidos y triglicéridos, aumentó en la gónada y en el hígado durante el PRp y el PR disminuyendo antes del desove, lo cual indicó que los lípidos son las moléculas empleadas en la formación de la gónada.
- La grasa perivisceral, el hígado y el músculo, juegan un papel principal de almacenamiento de reservas y en su suministro a la gónada del robalo paleta *C. medius*.
- El patrón de variación de la composición corporal de *C. medius*, no difiere en relación con la de otros teleósteos estudiados y está influenciada por la temperatura y el ciclo reproductor.

## IX. Referencias

- Álvarez-Lajonchère L. A., Arritola J. B., Bellido S. J. D. y Averhorff O. L. 1983. Método de muestreo *in vitro* de ovocitos intraováricos de lisa *Mugil lisa* y *M. curema* (Pises, Mugilidae) y en el Patao *Eugerres brasilianus* (Pises, Gerridae). Rev. Lat. Acui. Lima- Perú 18: 1-48.
- Álvarez-Lajonchère L. A. y Hernández M. O. G. 2001a. Producción de juveniles de peces estuarinos para un centro en América Latina y el Caribe: diseño, operación y tecnologías. Baton Rouge, *The World Aquaculture Society*. L.A., USA. 424 pp.
- Álvarez-Lajonchère L. A., Guerrero-Tortolero D. y Pérez-Urbiola. J. C. 2001b. Validation of an ovarian biopsy method in sea bass, *Centropomus medius* Günther. Aquaculture Research. 32: 379-384.
- Bailey W. M., 1974. An evaluation of striped bass introductions in the southeastern United States. Proceedings of the 28th Annual Conference of the Southeastern Association of Game and Fish Commissioners 28: 54-68.
- Baker J. R. 1938. The evolution of breeding season. En Evolution: Essays on aspects of evolutionary biology. Beer G. R. (edts), Oxford University Press. Oxford. pp. 161-171.
- Bakun A. y Nelson C. S. 1977. Climatology of upwelling related processes off Baja California Coop. Oceanic Fish Investigate Report. 19: 107-127.
- Balon E. K. 1975. Reproductive guilds of fishes: a proposal and definition. J. Fish, Res. Board Can. 32: 821-864.
- Balon E. K. 1981. Additions and amendments to the classification of reproductive styles in fishes. Env. Biol. Fishes. 6: 377-389.
- Barnes H y Blackstock J. 1973. Estimation of lipids in marine animals and tissues: detailed investigation of the sulphophosphovanillin method for "total" lipids. J. exp. Mar. Biol. Ecol. 12: 103-118.
- Bayliss H. O. 1984. Lipid histochemistry. En: Department of pathology Guy's Hospital Medical School (ed). Microscopy handbooks. Royal Microscopical Society. Oxford University Press. London, 68 pp.

- Bentley P. J. 1998. Comparative vertebrate endocrinology. Cambridge University Press (3<sup>rd</sup>), Cambridge. 526 pp.
- Bertoni M. 1995. The reproductive biology and feeding habits of the snook *Sphyraena novaehollandiae*, in South Australian waters South Australian Res. and Dev. Inst., Adelaide, S.A. 5001, Australia. 3(2): 34-35.
- Billard R. 1987. The reproductive cycle of male and female brown trout (*Salmo trutta fario*): a quantitative study. *Reprod. Nutr. Dvelop.*, 27: 29-44.
- Blake C. y Blake B. F. 1981. Age determination in six species of Fish from Mexican Pacific Coastal Lagoon. *Journal of Fish Biology*. 18: 471-478.
- Bocek A. 1992. Introducción al policultivo de peces. *Acuicultura y aprovechamiento del agua para el desarrollo rural*. Auburn University pp. 1-11.
- Body D. R. 1989. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- Bohemen Ch. G. Van, Lambert J.G. D. y Peute J. 1981. Annual changes in plasma and liver in relation to vitelogenesis in the female rainbow trout, *Salmo gairdneri*. General and comparative. *Endocrinology*, 44: 94-107.
- Bradford M. M. 1976. The lipid composition of the roe tissues from four common new Zealand marine fish species. *J. Food Compos. Anal.* 4: 350-355.
- Brawn V. M. 1962. Physical properties and hydrostatic function of the swim-bladder of herring (*Clupea harengus* L.) *J. Fish. Res. Board Can.* 19, 635-656.
- Bromage N, Carrillo M y Zanuy S. 1988. Light controls spawning in sea bass. *Fish Farming International*, January, 22.
- Bromage N., Jones J., Randall C., Thrush D. J., Springate J., Duston J. y Baker G. 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the time of egg production in the rainbow trout (*Onchorinchus mykiss*). *Aquaculture*. 100: 141-166.
- Bromage N. R. y Roberts R. J. 1995. Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Chapter 7. En: *Broodstock management and egg and larval quality*. Blackwell Science. Oxford: pp.138-164.
- Brown-Peterson N., Thomas P. y Arnold C. R. 1988. Reproductive Biology of the spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus*, in south Texas. *Fish. Bull.* 86: 373-388.

- Bruce M., Oyen F., Bell G., Asturiano J. F., Farndale B., Carrillo M., Zanuy S., Ramos J. y Bromage N. 1999. Development of broodstock diets for the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) with special emphasis on the importance of n-3 and n-6 highly unsaturated fatty acid to reproductive performance. Proceedings of the Third International Symposium on Research for aquaculture: fundamental and applied aspects, Barcelona, Spain, August 24-27, 1997. *Aquaculture*. 177: 85-97.
- Burke J. B., Longhurst C. J. y Haddy P. A. 1998. Maintenance and treatment of barramundi broodstock. En: *Barramundi farming information package*. Introductory information for prospective barramundi farmers. Freshwater Fisheries and Aquaculture center, Department of primary Industries (ed.), Kennedy Highway, Walkamin. pp 7-9.
- Carnevali O., Mosconi G., Centonze F., Navas J. M., Zanuy S., Carrillo M. y Bromage N. R. 1998. Influence of dietary lipid composition on yolk protein components in sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Scientia Marina*. 62: 311-318.
- Carrillo M. 1989. Bases fisiológicas de la reproducción de los peces y su relación con la acuicultura. Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal, Ribera de Cabanes., 12595, Torre de la Sal, Castellón. España.
- Carrillo M., Bromage N. R., Zanuy S., Serrano R. y Prat F. 1989. The effects of modifications in photoperiod on spawning time, ovarian development and egg quality in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*. 81: 351-365.
- Carrillo M. y Zanuy S. 1993. Fisiología de la reproducción de los teleósteos. En: *Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la reproducción*. F. Castello (ed). Pub. Univ. Barna, Barcelona, España. pp. 143-156.
- Carrillo M., Zanuy S., Prat F., Serrano R. y Bromage N. R. 1993. Environmental and hormonal control of reproduction in sea bass. En: *Recent Advances in Aquaculture IV*. N Bromage, E. M. Donaldson, M. Carrillo, S. Zanuy y J Planas (ed.), Blackwell Scientific Publications, Oxford, Great Britain. pp 43-54.
- Carrillo M., Zanuy S., Prat F., Cerdá J., Ramos E., Mañanós E. y Bromage N. 1995. Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). En: *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. N Bromage y R J Roberts (ed.). Blackwell Science Publications, Oxford, Great Britain. pp 138-168.
- Carrillo M., Zanuy S., Oyen F., Cerdá J., Navas J. M. y Ramos J. 2000. Some criteria of the quality of the progeny as indicators of physiological broodstock fitness. En: *Recent Advances in Mediterranean Aquaculture Finfish Species*

- Diversification. En: Proceedings of the Seminar of the CIHEAM Net-work on Technology of Aquaculture in the Mediterranea (TECAM), jointly organized by CIHEAM and FAO, Zaragoza (España), 24-28 mayo de 1999. Cahiers. 47: 61-73.
- Carvajal J. 1975. Contribución al conocimiento de la Biología de los robalos *Centropomus undecimalis* y *Centropomus poeyi* en la Laguna de Términos, Campeche, México. En: Boletín del Instituto de Oceanografía. Universidad de Oriente (ed.), Cumana, Venezuela. 14: pp. 51-78.
- Carvajal M. V. 1997. Introducción a la maduración y desove del robalo (*Centropomus nigrescens*) en cautiverio mediante la utilización de las hormonas HCG (Gonadotropina Corionica Humana) y LHRHa (Luteinizing Hormona Releasing Hormona Ethylamide) Tesis de grado, Guayaquil-Ecuador. Escuela Superior Politecnica del litoral. 76 pp.
- Cerqueira R. V. y Brügger A. M. 2001. Effect of light intensity on initial survival of fat snook (*Centropomus parallelus*, Pisces: Centropomidae) Larvae. Brazilian Archives of Biology and Tecnology. 44(4): 343- 349.
- Cerqueira R. V. 2002. Cultivo do robalo: aspectos da reprodução, larvicultura e engorda. R.V. Cerqueira (ed.), Universidad Federal de Santa Catarina, Laboratorio de Piscicultura Marina. Florianópolis, Brasil. 94 pp.
- Civera R., Ortiz J.L., Dumas S., Nolasco H., Alvarez A., Aguas B., Peña R., Rosales M., Carrasco V., García R. y Goytortúa E. 2002. Avances en la Nutrición de la Cabrilla Arenera (*Paralabrax maculatofasciatus*). En: Avances de Nutrición Acuícola VI. Memorias del Sexto Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 Sep, 2002. Cancún. Quintana Roo. México.
- Cowey C. B. y Tacon N. 1984. The effect of vitamin E and oxidized fish oil on the nutrition of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) grown at natural, varying water temperatures. Br. J. Nutr. 51:443-51.
- Crabtree, R. E., Snodgrass D. y Harden C. W. 1997. Maturation and reproductive seasonality in bonefish, *Albula vulpes*, from the waters of Florida Keys. Fish. Bull. 95: 456-465.
- Craig S. R., Washburn B. S. y Gatlin III. D. M. 1999. Effects of dietary lipids on body composition and liver function in juvenile reed drum, *Sciaenops ocellatus*. Fish Physiol. Biochem. 21:249-255.

- Craig S. R., MacKenzie S. D., Jones G. y Gatlin D. M. III. 2000. Seasonal changes in the reproductive condition and body composition of free-ranging red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*. 190: 89-102.
- Crow J. F. 1994. Advantages of sexual reproduction. *Dev Genet* 15(3):205-13.
- Champam. P., Cross F., Fish W. y Jones K. 1982. Artificial cultural snook. Final report for sportfish introductions Project, Game and Frehs Water Fish Comisión, Florida. 36pp.
- Chávez H. 1961. Estudio de una nueva especie de robalo del Golfo de México y Descripción de *Centropomus undecimalis* (Bloch) (piscies: Centropomidae). *Ciencia*. México. 1:75-83.
- Chávez H. 1963. Contribución al conocimiento de la biología de los robalos, Chucumite y Constantino (*Centropomus spp*) del estado de Veracruz (Pisc. *Centropomus*). *Ciencia*. México. 22: 141-161.
- Dando P. R. 1989. Reproduction in Estuarine Fish. En: *Fish Reproduction. Strategies and Tactics* (eds) G.W Potts y R.J. Wootton. 3<sup>era</sup> edición. Academic press limited. London. pp.155-170.
- Devauchelle N., Alexandre J. C., Le-Corre N. y Letty Y. 1987. Spawning of sole (*Solea solea*) in captivity. *Aquaculture*. 66(2): 125-147.
- Devauchelle N., Brichon G., Lamour F., y Stephan G. 1982. Biochemical composition of ovules and fecunds eggs of sea bass (*Dicentrarchus labrax*), sole (*Solea vulgaris*) and turbot (*Scophthalmus maximus*). *Proceedings of the International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*. pp. 155-7.
- Dorothy W. H. y Cecelia S. S. 1983. Histological Techniques for Marine Bivalve Mollusks. En: *NOOA Technical Memorandum NMFS-F/NEC-25* US. Department of Commerce (ed.), Woods Hole, Massachusetts. pp. 97.
- Eldridge M. B., Whipple J. A. y Bowers M. J. 1982. Bioenergetics and growth of striped bass, *Morone saxatilis*, embryos and larvae. *Fish. Bull.* 80:461-474.
- Evans D. H. 1993. Storage products. En: *The Physiology of Fishes*. D. H. Evans (ed.), CRC Press, Boca Raton, pp. 68-78.
- Fontaine At. y Olivereau M. 1975. Some aspects of the organization and evolution of the vertebrate pituitary. *Am. Zool.* 15(1):61-79.

- Fore P. L. y Schmidt T. W. 1973. Biology of juvenile and adult snook *Centropomus undecimalis*, in the Ten Thousand Island, Florida. En: Ecosystems Analyses of the Big cypress swamp and estuaries. U.S. Environmental Protection Agency, Surveillance and Analyses Division (ed.). Athens, Georgia. pp. 1-18.
- Forsgren, E., T. Amundsen, A.A. Borg, y J. Bjelvenmark. 2004. Unusually dynamic sex roles in a fish. *Nature* 429: 551-554.
- Fuentes C. 1973. Contribución al conocimiento de la biología del róbalo prieto (piscis, *Centropomus poeyi*) en el área de Alvarado Veracruz. México. Rev. Sociedad Mexicana de Historia Natural. 34: 369-421.
- Garza G. y Rodríguez M. 1988. Algunos índices relacionados con la madurez gonadal en peces. En: Uso de hormonas en la reproducción de peces. FONDEPESCA (ed.). México. pp. 52-60.
- Gatling D. M. III. 1995. Review of red drum nutrition. En: Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture. Lim C. E. y Sessa D. J. (ed.) AOCS Press, Champaign.
- Gilmore R. G., Donohoe C. J. y Cooke D. W. (1983) Observations on the distribution and biology of east-central Florida populations of the common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch). *Florida Science* 46, 313-336.
- Girin, M. y Devauchelle N. 1978. Décalage de la période de reproduction par raccourcissement des cycles photopériodiques et thermiques chez des poissons marin. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 18: 1059-1066.
- Ghalambor, C.K., Reznick D. N., y Walker J. A. 2004. Constraints on adaptive evolution: The functional trade-off between reproduction and fast-start swimming performance in the Trinidadian guppy (*Poecilia reticulata*). *The American Naturalist* 164: 38-50.
- Gonzalez P y Oyarzun C. 2002. Variabilidad de índices biológicos en *pinguipes Chilensis Valenciennes 1833* (Perciformes, Pinguipedidae): Guyana (Concepc.). 66(2):249-253.
- Goodall J. A., Capra M. F. y Blackshaw A. W. 1987. Quantitative histology of the seasonal changes in the gonads of summer whiting *Sillago ciliata*. *Journal of Fish Biology.* 30:589-595.
- Greenwood P. H. 1976. A review of the family Centromidae (Pices, Perciformes). *Bull. British Mus. Nat. Hist., Zool.* 29 (1):1-81.

- Grier H. 2000. Ovarian Germinal Epithelium and Folliculogenesis in the Common Snook *Centropomus undecimalis* (Teleostei: *Centropomidae*). *Journal of Morphology* 243:265-281.
- Grier, H. J. y Abraham M. 1983. A model for testicular recrudescence in *Oreochromis aureus*. En: International Symposium on Tilapia in Aquaculture. Fishelson, L. y Yaron, Z., (eds). Tel Aviv University Press. Tel Aviv. pp 200-209.
- Grier H. J. y Taylor R. G. 1998. Testicular maturation and regression in the common Snook. *Journal of Fish Biology*. 53: 521-542.
- Groman D. B. 1982. Histology of the striped bass. American Fisheries Society Monograph. Number. 3.
- Guiguen Y.C., Cauty A., Fostier J., Fuchs X. y Jalabert B. 1994. Reproductive cycle and sex inversion of the Sea bass *Lates calcarifer*, reared in sea cages in French Polynesia: histological and morphological description. *Environmental Biological Fisheries*. 39: 231-247
- Hagenmaier H. E. 1985. The hatching process in fish embryos. VIII. The chemical compositions of the trout chorion (zona radiata) and its modification by the action of the hatching enzyme. *Zool. J. Physiol.* 89: 509-520.
- Halver J. E. 1989. Fish Nutrition. J. E. Halver (ed) Academic Press, Inc. 789 p.
- Handeland S. O. y Steffansson S. O. 2001. Photoperiod control and influence of body size on off- season parr- smolt transformation and post- smolt growth. *Aquaculture*. 192:291- 307.
- Hansen T., Kjesbu O. S. y Karlsen J. C. 1995. Growth, gonadal development and spawning time of Atlantic cod (*Gadus morhua*) reared under different photoperiods. En: Goetz, F. W., Thomas, P. (eds), Proceedings of the fifth International Symposium on the Reproductive Physiology in Fish. University of Texas, USA 186.
- Heming T. A. y Buddington R. K. 1988. Yolk absorption in embryonic and larval fishes. En: Hoar W. S; Randall D. J (ed). *Fish physiology*. A. Academic Press, New York. 11:407-446.
- Henderson N. E. 1962. The annual cycle in the testes of the easter brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *Can. J. Zool.* 40: 631-641.

- Henderson R. J. y Almatar S m. 1989. Seasonal changes in the lipid composition of herring (*Clupea harengus*) in relation to gonad maturation. *Journal of Marine Biological Association of the UK*. 69: 323-334.
- Henderson R. J., Sargent J. R. y Hopkins C. C. E. 1984. Changes in the content and fatty acid composition of lipid in an isolated population of the capelin *Mallotus villosus* during sexual maturation and spawning. *Mar. Biol.* 78:255-263.
- Heron F., Bucke D., Chubb J. C. y Wallace I. D. 1988. Re-appraisal of the James Johnstone collection of examples of diseased fish materials. Meet. of the Int. Counc. for the Exploration of the Sea, (Bergen (Norway)), (Conference 6 Oct 1988). Zool., Univ. Liverpool, P.O. Box 147, Liverpool L69 3BX, UK. ICES COUNCIL MEETING 1988 (COLLECTED PAPERS). PICES, COPENHAGEN (DENMARK). 9 pp.
- Herrera G., Bustos-Obregon E. y Balbontin F. 1988. Morphological aspects of gonadal maturation in the hake, *Merluccius gayi gayi*. *Rev. Biol. Mar.* 24(1): 55-71.
- Hislop J. R. G., Robb A. P. y Gauld J. A. 1978. Observations on effects of feeding level on growth and reproduction in haddock, *Melanogrammus aeglefinus* (L.), in captivity. *J. Fish. Biol.*, 13: 85-98
- Hoar S. W. 1969. Reproduction. En: *Fishy Physiology*. W. S. Hoar y D. J. Randall (ed.). Academic Press. pp. 1-72.
- Humanson G. L. 1972. *Animal Tissue Techniques*. W. H. Freeman (ed.) San Francisco, USA. 569 pp.
- Hyllner S. J. Haux C. 1992. Immunochemical detection of the major vitelline envelope proteins in the plasma and oocytes of maturing female rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Endocrinol.* 135: 303-309.
- Izquierdo M. S. 1996. Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquacult. Nutr.* 2:183-191.
- Izquierdo M. S., Fernández-Palacios H. y Tacon A. G. J. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*. 197:25-42.
- Jobling, M. 1995. *Environmental Biology of Fishes*. Chapman & Hall. 455 pp.

- Johan S. H., Westerlund L. Olsson P.E., y Schopen A. 2001. Cloning of Rainbow trout egg envelope proteins: Members of the unique group of structural proteins. *Biology of reproduction* 64:805-811
- Jones J. W. 1940. Histological changes in testes in the sexual cycle of male salmon parr (*Salmo solar*). *Proceedings of The Royal Society of London, Series B* 12: 499-509.
- Kaitaranta J. K. y Ackman R. G. 1981. Total lipids and lipid classes of the fish roe. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 69: 725-729.
- Kaitaranta J. K. y Nicolaidis N. 1981. Response and linearity of different lipid compounds when analyzed by thin-layer chromatography with flame ionization detection. *J Chromatogr.* 205(2):339-47.
- Karnovsky M. A. 1965. Formaldehyde glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 27: 137.
- Kato F. 1975. On the distribution of a sea-run form of the salmonid fish, *Oncorhynchus rhodurus*, found in southwestern Japan. *Jap. J. Ichthyol.* 21(4). 191-197.
- Komova, N. I. y Khal'ko V. V. 2003. Comparative analysis of the biochemical composition of gonads in bream *Abramis brama* (Cyprinidae) from different prespawning aggregations. *Voprosy Ikhtiologii.* 43: 242-248.
- Lacépède B. G. 1802. Discours d'ouverture et de clôture du cours d'histoire naturelle des poisons. *Plassan An. Paris, France.* 4:1-728.
- Lambert T. C y Ware D. M. 1984. Reproductive strategies of demersal and pelagic spawning fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41: 1565-1569.
- Lehninger 1978. *Principles of Biochemistry*, 3ed. David L. Nelson, David L. Nelson, Michael M. Cox. (ed). Worth Publishers Inc. New York. 1104 pp.
- Lie O., Mangor-Jensen A. y Hemre G. I. 1993. Broodstock nutrition in cod (*Gadus morhua*) effect of dietary fatty acids. *Fiskeridir. Skr., Ser. Ernaer.* 6: 11-19.
- Lluch-Cota S. E., Pacheco-Ayub C. A., Bautista-Romero J. J., Hernández-Vázquez S. y Lluch-Cota D. B. 2000. Colección de información ambiental para el Pacífico mexicano CD-ROM. CIBNOR, S.C./CONACYT.
- Luna L. 1968. Manual of histology staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Luna L. (ed.). McGraw Hill Book Company. . 258.p

- Luquet P. y Watanabe T. 1986. Interaction "nutrition-reproduction" in fish. *Fish Physiol. Biochem.* 2: 121-129.
- Lynn R. J. 1967. Seasonal variation of temperature and salinity at 10 meters in the California Current. *Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep.* 11:157-186.
- Macer C. T. 1974. The reproductive biology of the horse mackerel *Tranchurus tranchurus*(L.) in the North Sea and English Channel. *Journal of fish Biology.* 6: 415-438.
- Mañanos E. L., Zanuy S., Carrillo M., Núñez J. y Le Menn F. 1992. Vitellogenic events following photoperiod manipulation of the reproductive sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Abstracts of the Second International Symposium on Fish Endocrinology. Saint Malo.
- Mañanos E., Núñez R. J., Le Menn F., Zanuy S. y Carrillo M. 1997. Identification of vitellogenin receptors in the ovary of a teleost fish, the Mediterranean sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Reproduction Nutrition Development.* 37: 51-61.
- Marshall A. R. 1958. A survey of the snook fishery of Florida, with studies of the biology of the principal species, *Centropomus undecimalis* (Bloch). Florida Board Conservation. Marine Research Laboratory Technical Series 22:1-39.
- Mathews C. K. 1998. *Bioquímica* 2ed. Mcgraw-hill. España. pp 1283.
- Mayer I. 1998. Effect of the long-term pinealectomy on growth and precocious maturation in Atlantic salmon, (*Salmon salar*) parr. *Aquatic Living Resources.* 13(3):139-144.
- Mayer I., Shackley S. E. y Ryland J. S. 1988. Aspects of the reproductive biology of the bass, *Dicentrarchus labrax* L.I. A histological and histochemical study of oocyte development. *Journal of Fish Biology.* 33: 22-609.
- Meyer A. y M. Schartl. 1999. Gene duplication and genome duplications in vertebrates: the one-to-four (-to-eight in fish) rule and the evolution of novel gene functions. *Current Opinion in Cell Biology* 11: 699-704.
- McGowan M. W., Artiss J. D., Strandbergh D. R. y Zak B. 1983. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin. Chem.* 29: 538 pp.

- McMichael R. H., Peters K. M y Parson G. R. 1989. Early life history of the snook, *Centropomus undecimalis*, in Tampa Bay, Florida. *Northeast Gulf Sci.* 10:112-125.
- Miura T. y Miura C. 2001. Japanese Eel a Model for Analysis of Spermatogenesis. *Zoological Society of Japan Zoological Science.* 18: 1055-1063.
- Mommsen T. P. y Walsh P. J. 1988. Vitellogenesis and oocyte assembly. En: Hoar, W. S., Randall, D. J. (Eds); *Fish Physiology*, vol. XIXA. Academic Press, New York, pp. 247-406.
- Montgomery W. L. y Galzin R. 1993. Seasonality in gonads fat deposits and condition of tropical surgeon fishes (Teleostei: Acanthuridae). *Marine Biology.* 115: 529-536.
- Moore R. 1979. Natural sex inversion in giant perch, *Lates calcarifer*. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research.* 33: 647-661.
- Morehead D. T., Hart P. R., Dunstan G. A., Brown M. y Pankhurts N. W. 2001. Differences in eggs quality between wild striped trumpeter (*Latris lineata*) and captive striped trumpeter then were fed different diets. *Aquaculture* 192: 39-53.
- Muller R. G. 2000. The 2000 stock assessment update of common snook *Centropomus undecimalis*. Florida Marine Research Institute, pp. 1-4.
- Munro A. D. 1990. Tropical freshwater fish, in *Reproductive Seasonality in Teleosts: Enviromental Influences.* A. D. Munro, A. P. Scott y T. J Lam (eds), CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 145-239.
- Mushiake K., K. Kawano, W. Sakamoto y I. Hasegawa. 1994. Effects of extended daylenght on ovarian maturation and HCG-induces spawning in yellowtail fed Moist pellets. *Fisheries Science*, 60(6), 647-651.
- Mylonas C. C. y Zohar Y. 2001. Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish. *Reviews in fish biology and fisheries* 10: 463-491.
- Mylonas K, Anezaki L, Zanuy S, Piferrer F y P. Divanach. 2003. Influence of temperature during larval rearing on sex differentiation in the European seabass (*Dicentrarchus labrax*). National Cent. for Marine Research, Athens (Greece). 7th Hellenic Symposium on Oceanography and Fisheries. Chersonissos, Greece, 6-9 May 2003. [Hell. Symp. Oceanogr. Fish. Abstr ].

- Nakagama H. y Tsuchiya Y. 1971. Studies on rainbow trout egg (*Salmon gairdnerii irideus*). IV. Changes of yolk content during embryogenesis. J. Fac. Fish Anim Husb Hiroshima Univ 10: 11-19
- Nassour I y Leger C. L. 1989. Deposition and mobilization of body fat during sexual maturation in female trout (*Salmo gairdneri* Richardson). Aquatic living resources 2(3):153-159.
- Navas J. M., Bruce M., Thrush M., Farndale B. M., Bromage N., Zanuy S., Carrillo M. Bell J. G. y Ramos J. 1997. The impact of seasonal alteration in the lipid composition of broodstock diets on egg quality in the European sea bass. J. fish Biol. 51: 760-773.
- Neidig L. C., Skapura D. P., Grier H. J. y Dennis W. C. 2000. Techniques for Spawning Common Snook: Broodstock Handling, Oocyte Stating and Egg Quality. North American Journal of Aquaculture. 62: 103-113.
- New M. B., Tacon A. G. J. y Csavas I. 1993. FARM-MADE AQUAFEEDS. Regional Office for Asia and the Pacific food and agriculture organization of the united nations and ASEAN-EEC aquaculture development and coordination programme (AADCP). RAPA Publication. AADCP/PROC/5. Prayurawong printing. Bangkok. Thailand. 434p.
- Nielsen L. A., Johnson D. L. y Lampton S. S. 1983. Fisheries techniques. American Fisheries Society, Southern Printing Co., Inc., Blacksburg, Virginia. 468 pp.
- Nión H. 1977. Técnicas para la producción de semillas en cultivo de peces en América Latina. FAO, Inf. Pesca, (159) 2:114-30.
- Nogueira A. L. 1991. Cultivo de camorin, *Centropomus undecimalis* Bloch, 1972 (pices, Centropomidae) em ambiente aquidulcícola 1. Efeito de predação sobre tilapia, *Oreochromis niloticus*. Tesis para obtención de título de Master en acuicultura, Programa de pós-graduacao em acuicultura, Universidade Federal de Santa catarina, 36 pp.
- Norton J., McLain D., Brainard R. y Husby D. 1985. The 1982-1983 El Niño Event off Baja and Alta California and its Ocean Climate Context 44-72. En: El Niño North Washington Sea Grant By W.S. Wooster & D. Fluharty(ed.), Program University of Washington, Seattle. 312. pp.
- Ntiba M. J y Jaccarini V. 1990. Gonad maturation and spawning times of *Siganus sutor* off the Kenya coast: evidence for definite spawning seasons in a tropical fish. Journal of Fish Biology 37: 315-325.

- Olsen Y. Y Skjervold H. 1995. Variation in content of  $\omega$ 3 fatty acids in farmed Atlantic salmon, with special emphasis on effects of non-dietary factors. *Aquaculture International*. 3:22-35.
- Olsen R. E., Myklebust R., Kaino T. y Ringo E. 1999. Lipids digestibility and ultrastructural changes in the enterocytes of Arctic char (*Salvelinus alpinus* L.) fed linseed oil and soybean lecithin. *Fish Physiol. Biochem.* 21:35-44.
- Oppen-Berntsen D. O., Hyllner S. J., Haux C., Helvik J. V. y Walther B. T. 1992. Eggshell zona radiata-proteins from cod (*Gadus morhua*) extra-ovarian origin and induction by estradiol-17 beta. *Int. J. Dev. Biol.* 36(2):247-254.
- Osse J. W. M., Van den Boogart J. G. M., Van Snik G. M. J. y Van der Sluys L. 1997. Priorities during early growth of fish larvae. *Acuaculture* 155: 249-258.
- Patrona L. D. 1984. Contribution a la biologie du rodalo *Centropomus parallelus* (Pises Centropomidae) du sud-est du Brésil: possibilitis aquacoles. Toulouse. L'Institut National Polytechnique de Toulouse, Franca, Tese (Docteur de 3e cycle) Sciences et techniques en Production Animale, L'Institut National Polytheccnique de Toulouse.
- Pavlidis M., Koumoundouros G., Steriotti A., Somarakis S., Divanach P. y Kentouri M. 2000. Evidence of temperature-dependent sex determination in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Journal of Experimental Zoology* 287: 225-232.
- Pawson M. G., Pickett G. D. y Witthames P. R. 2000. The influence of temperature on the onset of the first maturity in sea bass. *Journal of Fish Biology*. 56: 319-327
- Peters K. M., Matheson R. E. Jr. y Taylor R. G. 1998. Reproduction and early life history of common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch), in Florida *Bulletin of Marine Science*. 62: 509-529.
- Peterson M. S y Gilmore R. G. 1988. Hematocrit, osmolality, and ion concentration in fishes: consideration of circadian patterns in the experimental design. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 121:73-78.
- Piferrer F. 2001 Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture*. 197:229-281.
- Poey F. 1860. Poissons de Cuba, especes nouvelles Mem. Hist. Nat. Isla de Cuba. 2(49): 115-336

- Poey F. 1868. Synopsis Piscium Cubensium. Repertorio Fisico-Natural de la Isla de Cuba 2:279-484.
- Prat F., Zanuy S. y Carrillo M. 1987. Effects of LHRH analog alone or combined with pimozyde on plasma sex steroids, egg quality and spawning of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Gen. Comp. Endocrinol. 66: 21-2.
- Prat F., S. Zanuy, M. Carrillo, A. Mones y A. Fostier. 1990. Seasonal changes in plasma levels of gonadal steroid of sea bass *Dicentrarchus labrax* L. Gen. Comp. Endocrinol. 78:361-373.
- Rainuzzo J. R., Reitan K. L. y Olsen Y. 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. Aquaculture 155: 103-115
- Reiter, R. J. 1993. The melatonin rhythm both a clock and a calendar. Experientia 49:654-664.
- Rivas L. R. 1986. Systematic review of the perciform fishes of the genus *Centropomus*. Copeia. 3: 579-611.
- Rivas L. R. y Cook B. A. 1968. Relationships of the western Pacific "percichthyid" fish, *Nippon spinosus*, with the family Centropomidae. Wassman J. Biol. 26(2):201-208.
- Roberts D. E. Jr. 1987. Induced Maturation and Spawning of Common Snook, *Centropomus undecimalis*. Proceedings 30<sup>th</sup> Annual Meeting of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute, pp 222-230.
- Roberts D. E. Jr., B. V. Harpter y G. E. Henderson. 1978. Conditioning and induced spawning of the red drum (*Sciaenops ocellata*) under varied conditions of photoperiod and temperature. Proc. Wor. Mar. Soc. 9:311-332.
- Rocha I y Okada Y. 1980. Experimento de policultivo entre curima (*Mugil brasilienses* Agassiz, 1829) e camorin (*Centropomus undecimalis* Bloch, 1972) em viveiros estuarinos (Itamaracá- Pernambuco). En: Simposio Brasileiro de Acuicultura, 1, Recife. Anais., Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciencias. p 163-173.
- Rocha I., Ostini S. y Serralheiro P. C. S. 2003. Culture of the fat snook *Centropomus parallelus* in sea water recirculation system. Realizing The Potencial: Responsible Aquaculture for a secure future. En Word Aquaculture. Salvador, Brazil Mayo19-20,2003. p 905.

- Roderick E. E., Santiago L. P., Garcia M. A., y Mair G. C. 1996. Induced spawning in *Oreochromis niloticus* L. 3. Int. Symp. on Tilapia in Aquaculture, Abidjan (Cote d'Ivoire), 11-16 Nov 1991. The Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture. [ICLARM Conf. Proc.]. Pullin R.S.V; Lazard J., Legendre M, Amon Kottias J. B; Pauly D. (ed). pp.41. 548
- Rodríguez M. y Garza G. 1986. Soluciones aclaradoras para transparentar oocitos de *Cyprinus carpio*. Primer Simposium Nacional de Acuicultura. Pachuca, Hidalgo. México.
- Rodríguez M. 1992. Temas actuales sobre reproducción de teleosteos. Secretaria de Pesca. UAM. p 120
- Rodriguez L., Zanuy, S., y Carrillo M. 2001. Influence of daylength on the age at first maturity and somatic growth in male sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Aquaculture. 196: 159-175.
- Rojas J. C. 1975. Contribución al conocimiento de la biología de los robalos *Centropomus undecimalis* y *C. poeyi* en la Laguna de Términos. Campeche, México. Boletín Instituto Oceanográfico Universidad Oriente 14: 51-70.
- Rossenblum M., Pudney J. y Callard I. 1987. Gonadal morphology enzyme histochemistry and plasma steroid level during the annual reproductive cycle of male and female brown bullhead catfish, *Ictalurus nebulosus*. *Lesueur. J. Fish Biol.* 31:325-341.
- Russell F. S. 1976. The Eggs and Planktonic Stages of British Marine Fishes, Academic Press London.
- Sale P. F. 1980. The ecology of fishes on coral reefs. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*,118:3367-421.
- Sand D. M., Hehl J. L. y Schlenk H. 1971. Biosynthesis of wax esters in fish. Metabolism of dietary alcohols. *Biochemistry.* 10(13):2536-2541.
- Santos R.S., S.J. Hawkins y R.D. Nash. 1996. Reproductive phenology of the Azorean rock pool blenny a fish alternative mating tactics. *J. Fish Biol.* 48: 842-858
- Sargent J. R. 1995. Origin and functions of lipids in fish eggs: nutritional implications. En Bromage, n. R., Roberts, R. R. (Eds). *Broodstock Management and Egg and Larval Quality.* Blackwell. Oxford, pp. 353-372.

- Sargent J. R., McEvoy L. A. y Bell J. G. 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture*, 155:117- 127.
- Saxena S. C. y Zandee D. I. 1971. Biosynthesis of lipids and fatty acids in skin and body of a fresh water carp, "*Scardinius erythrophthalmus*" L., after the injection of (1- 14 C) sodium acetate. *Arch Int Physiol Biochim.* Aug;79(3):499-510.
- Seamons, T.R., P. Bentzen, y T.P. Quinn. 2004. The effects of adult length and arrival date on individual reproductive success in wild steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* 61: 193-204.
- Scott A. P. y Sumpter J. P. 1989. Seasonal variations in testicular germ cell stages and in plasma concentrations of sex steroids in male rainbow trout (*Salmo gairdneri*) maturing at 2 years old. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 73: 46- 58.
- Schreck C. B., Contreras-Sánchez W. y Fitzpatrick M.S. 2000. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture.* 197:3-24.
- Shapiro D. Y. 1989. Sex Reversal and Sociodemographic Processes in Coral Reef Fishes. en *Fish Reproduction. Strategies and Tactics* (eds) G.W Potts y R.J. Wootton. 3<sup>era</sup> edición. Academic press limited. London. pp.103-118.
- Sheehan D. C. y Hrapchak B. B. 1973. Lipids. En: *Theory and practice of histotechnology.* Mosby company(ed.), Saint, Louis. pp. 144-155.
- Sheikh-Eldin M., De Silva S. S., Anderson T. A. y Gooley G. 1995. Physical characteristics, and proximate composition of oocytes, liver and muscle of wild caught and tank-reared Macquarie perch. *Aquaculture International* 3:172-185.
- Sheridan M. A. 1988. Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comp. Physiol. Biochem.* 90(B): 679-690.
- Shikhshabekov M. N. 1972. The annual cycle of the gonads in wild *Cyprinius carpio*(L.)from Terek Delta. *Journal of Ichthology* 12: 855-859.
- Shikhshabekov M. N. 1978. The sexual cycle of the catfish *Silurus glani*, the pike *Esos licius*, the perch, *Perca fluviatilis*, and the pike- perch *Lucioperca lucioperca*. *Journal of Ichthology.* 18: 457-468.
- Shilo M. y Sarig S. 1989. *Fish Culture in Warm Water Systems.* En: *Problems and Trends.* Shilo & Sarig (ed.), Press United States. pp. 70-71.

- Shimizu S. Tsuji M. y Dean J. 1983. In vitro biosynthesis of three sulfated glycoproteins of murine pellucidae by oocytes grown in follicle culture. *J. Biol. Chem.* 258: 5858-5863.
- Shrestha T. K. y Khanna S. S. 1976. Histology and seasonal changes in the testes of a hill-stream fish *Schizothorax plagiostomus*. *Zeitschrift für mikroskopisch anatomische Forschung (Leipzig)*. 90: 749-761.
- Shrestha T. K. y Khanna S. S. 1978. Seasonal changes in the testes of a hill stream teleost, *Garra gotyla* (Gray). *Acta anatomica* 100: 210-220.
- Sleder J., Schlumberger H., Klose J., Ziegenhom J. y Wahlefeld A. W. 1981. *Journal Clin. Chem. Biochem.* 19:838-42.
- Smith C. L. y Young P. H. 1966. Gonad structure and the reproduction cycle of kelp bass, *Paralabrax clathratus* (Girard). With comments on the relationships of the serranid genus *Paralabrax*. *California fish and Game*. 52: 283-292.
- Smith R. L. y Paul A. J. 1990. Seasonal changes in energy and energy cost of spawning in Gulf fo Alaska Pacific cod. *J. Fish Biol.* 36: 307-316.
- Stacey N. 1984. Control of the timing of ovulation by exogenous and endogenous factors. En: Potts, G. y Wootton, R. (Eds). *Fish reproduction: Strategies and tactics*. 207-222 p.
- Steven C., Gothilf Y., Holland M. C. H., Stubblefield J., Mylonas C. C. y Zohar Y. 2000. Differential expression of the three GnRH genes in wild and captive striped bass, *Morone saxatilis*, in responses to natural and hormonally induced maturation. In: Norberg, B., Kjesbu, O.S., Tarnger, G. L. Andersson, E., Stefansson, S.O. (Eds) *Redroductive Physiology of Fish*. University of Bergen, Bergen. p. 66.
- Steven C., L. Comber y Smith C. 2004, Polyploidy in fishes: patterns and processes. En *Biological relevance of polyploidy: ecology to genomics*. by A. R. Leitch, D. E. Soltis, P. S. Soltis, I. J. Leitch and J. C. Pires (eds). *Biological Journal of the Linnean Society*, 82, 431-442.
- Suárez G. 2003. El dinamismo de la acuicultura mexicana. Publicado en Mural.
- Sundararaj, B. I y Vasal S. 1976. Photoperiod and temperature control in the regulation of reproduction in the female catfish, *Heteropneustes fossilis*. *J. Fish. Re. Board. Can.* 33:595-973.

- Tacon, A. G. J. y Cowey C. B. 1985. Protein and amino acid requirements. En: P. Tyler and P. Calow (Eds), *Fish energetics: New perspectives*. Croom Helm, London, pp.155-183.
- Takashima. F. e Hibiya T. 1995. *Atlas of fish Histology*, segunda edición. p.134-153
- Taylor R. G., Grier H. J. y Whittington J. A. 1998. Spawning rhythms of common snook in Florida. *J. Fish Biol.* 53: 502-520.
- Taylor R. G., Whittington J. A., Grier H. J., y Crabtree R. E. 2000. Age, growth, maturation and protandric sex reversal in common snook, *Centropomus undecimalis*, from the east and west coast of South Florida. *Fish. Bull.* 98:612-624.
- Taylor R. G., Whittington J. A. y Haymans D. E. 2001. Catch-and-Release Mortality Rates of common Snook in Florida. *North American Journal of Fisheries Management.* 21:70-75.
- Thresher R. E. 1984. Habitat effects on reproductive success in the coral reef fish, *Acanthochronis polyacanthus* (Pomatocentridae). *Ecology.* 64: 1184-1199.
- Tracy, M.R. y S.B. Hedges. 2000. Evolutionary history of the enolase gene family. *Gene* 259: 129-138.
- Tucker J. W. Jr., Landau M. P. y Faulkner B. E. 1985. Composition and culinary value of captive and wild common snook. *Florida Scientist.* 48: 196-200.
- Tucker J. W. 1987. Snook and Tarpon Snook culture and Preliminary Evaluation for commercial farming. *The progressive Fish-culturist.* 49: 49-57.
- Tucker J. W. Jr. y Campbel S. W. 1988. Spawning season of common snook along the East central Florida coast. *Florida Scient.* 51(1):1-6.
- Tucker J. W. y Jory E. D. 1991. Marine fish culture in the Caribbean region. *World. Aquaculture.* 22: 10-27.
- Tucker J. W. 1998. The future of marine fish culture. En: *Marine Fish Culture*. L. Thomson (ed.). Kluwer Academic Publishers. pp. 750
- Tyler P. y Calow P. 1985. *Fish Energetics: New perspectives*. Croom Helm. London 349pp.
- Van Handel E. 1965. Estimation of glycogen in small amounts of tissue. *Analytical Biochemistry.* 11: 256-265.

- Vasconcelos P. M. L. 1978. Fecundidad del robalo prieto *Centropomus poeyi* (Chávez) de la zona de Boca del Río. In: Resumen del VI Congreso Nacional de Oceanografía, pp. 69-70. Veracruz, México.
- Vasconcelos, F. A. L. y Galiza E. M. B. 1980. Hábitos alimentares dos peixes centropomídeos cultivados em viveiros da região de Itamaraca Pernambuco. Rev. Nordest. Biol., 3 (especial): 111- 122.
- Venkatesh, B. 2003. Evolution and diversity of fish genomes. Current Opinion in Genetics and Development 13: 588-592.
- Volpe A. V. 1959. Aspects of the biology of the common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch) of southwest Florida. Florida State Board Conservation, Marine Laboratory Technical Series 31: 1-37.
- Wallace R. A. y Selman K. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. Am. Zool. 21: 325-343.
- Wallace R.A., Boyle S. M., Grier H. J., Selman K. y Petrino R. 1993. Preliminary observations on oocyte maturation and other aspects of reproductive biology in captive female snook, *Centropomus undecimalis*. Aquaculture. 116: 257-273.
- Watanabe T., Kitajima C. y Fujita S. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. Aquaculture. 34. 115-143.
- West G. 1990. Methods of assessing ovarian development in Fishes: a Review. Aust. J. Mar. Freshwater. Res., 41:199-222.
- Wiegand M. D. y Idler D. R. 1982. Systematics of lipids by the rainbow trout (*Salmon gairneri*) ovary in vitro. Can. J. Zool., 60:2683-2693.
- Wilson C. A y Nieland D. L. 1994. Reproductive biology of red drum, *Sciaenops ocellatus*, from the neritic waters of the northern Gulf of Mexico. Fish. Bull. 92: 841-850.
- Wourms J. P. y Evans D. 1974. The embryonic development of the black prickleback, *Xiphister atropurpureus*, a Pacific Coast blennioid fish. Can. J. Zool. 52: 879-887.
- Yurowitzky Y. G. y Milman L. S. 1973. Coordinative changes in the activities of enzymes in carbohydrate metabolism during oogenesis in *Mysgurnus fossilis*. Institute of Developmental Biology, Academy of Sciences USSR, Moscow, USSR.FEBS Lett. 1971 Apr;14 (2):105-106.

- Zanuy S., Carrillo M. y Ruiz F. 1986. Delayed gametogénesis and spawning of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) kept under different photoperiod and temperature regimes. *Fish Physiol Biochem.* 2: 53-63.
- Zanuy S. y Carrillo. M. 1987. La reproducción de los teleósteos y su aplicación en acuicultura. En Reproducción en Acuicultura. Plan de formación de técnicos superiores en Acuicultura (FEUGA). 318 p.
- Zanuy S. y Carrillo M. 1991. El control de la reproducción de los teleósteos y su aplicación en acuicultura. *Política Científica.* 27: 29-34.
- Zanuy S., Prat F., Carrillo M. y Bromage N. R. 1995. Effects of constant photoperiod on spawning and plasma  $17\beta$ -estradiol levels of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquat. Living Resourc.,* 8: 147-152.
- Zanuy S. y Carrillo M. 1999. Factores ambientales en el control de la reproducción de peces. En. *Patología, Fisiología y Biotoxicología en especies acuáticas* Carmen Sarasquete M. L., González de canales y J. A. Muñoz-Cueto (Ed.). p 241-252.
- Zhou, R., H. Cheng, y T.R. Tiersch. 2001. Differential genome duplication and fish diversity. *Rev. Fish Biol. Fish.* 11: 331-337.
- Zimmerman, M. 1997. Maturity and fecundity of arrow tooth flounder, *Atheresthes stomias*, from the Gulf of Alaska. *Fish. Bull.* 95: 598-611.
- Zohar Y. 1989. *Fish Culture in Warm Water Systems: Problems and Trends.* CRS Press. EUA 259 pp.
- Zohar, Y., R. Billard, y C. Weil. 1984. La reproducción chez la daurede (*Sparus aurata*) et le bar (*Dicentrarchus labrax*): Connaissance du cycle sexuel et control'e de lagametogenese et de la ponte. In: G. Bernabé and R. Billard (Editors), *L'Aquaculture du Bar et des Saprídes.* INRA. Publ., Paris, pp. 3-24.
- Zöllner N. y K. Kirsch. 1962. Über die quantitative Bestimmung von Lipoiden (Micromethode) mittels der vielen natürlichen Lipoiden (allen bekannten Plasmalipoiden) gemeinsamen Sulphophosvanillin/ Reaktion. *Z. gees. Exp. Med.,* Bd 135: S. 545-561.

## X. Apéndice

### Aplicación a la acuicultura.

Las necesidades de incrementar la dinámica productiva en todas las áreas del ámbito económico de México, han propiciado una gran demanda para desarrollar y adaptar las tecnologías de cultivo de peces marinos que ya han sido cultivados en otros países, basándose principalmente en estudios previos relacionados al conocimiento de la biología reproductiva. El entendimiento de este conocimiento es necesario para poder establecer la reproducción, la producción y la comercialización logrando la domesticación de la especie.

Una de estas especies potenciales es el robalo paleta *Centropomus medius* cuya biología reproductiva se estudia en esta tesis, presentando características biológicas adecuadas para ser una especie con potencial a ser cultivada.

En este apéndice, mencionaremos algunas consideraciones básicas referentes al potencial de cultivo de este robalo. Principalmente, hacemos mención de sus características biológicas, captura de reproductores vivos, transporte, aclimatación, inducción al desove y fecundidad. Finalmente hacemos referencia sobre la inducción a la maduración por fotoperiodo y temperatura, maduración precoz y posibilidades de policultivo.

#### *Características biológicas del robalo paleta*

Los robalos (*Centropomus* sp.) se ubican dentro del grupo de peces marinos con mayor potencial de cultivo en latitudes tropicales y subtropicales. Los robalos habitan en ambientes acuáticos continentales y en zonas estuarinas no muy

profundas con presencia de manglares y sustrato pedregoso (Marshall, 1958; Cerqueira, 2001).

El robalo paleta presenta una amplia distribución desde las costas del océano Pacífico en Baja California Sur, principalmente dentro del complejo estuarino bahía Magdalena (24° Norte y 111° Oeste), Golfo de California, hasta el sur de Colombia y Ecuador. Las especies que coexisten con *C. medius* son *C. nigrescens* y *C. viridis*.

Las especies pertenecientes al género *Centropomus* son peces que tienen el cuerpo alargado y fusiforme, poseen una línea lateral remarcada por un color negro que recorre longitudinalmente todo el cuerpo. Los robalos se diferencian entre ellos principalmente por las siguientes características: en la región dorsal se encuentran dos aletas dorsales separadas, la anterior de forma triangular está formada por fuertes espinas conectadas entre sí por una membrana, la posterior de forma trapezoidal está compuesta por una espina y radios ramificados de número variable según la especie. La aleta anal está conformada por tres espinas y radios presentes en número variable según la especie (Chávez, 1963).

Las hembras del robalo, *C. medius* por lo general son más grandes que los machos. Sin embargo, la talla no debe tomarse como la única variable para diferenciar los sexos (Fig.13)

El robalo paleta *C. medius*, durante el periodo de reposo (de enero a junio), no presenta características externas diferentes que ayuden a diferenciar las hembras de los machos. Sin embargo, durante el periodo reproductivo (de julio a noviembre) se observa una característica que puede dar una primera percepción del sexo de los individuos.

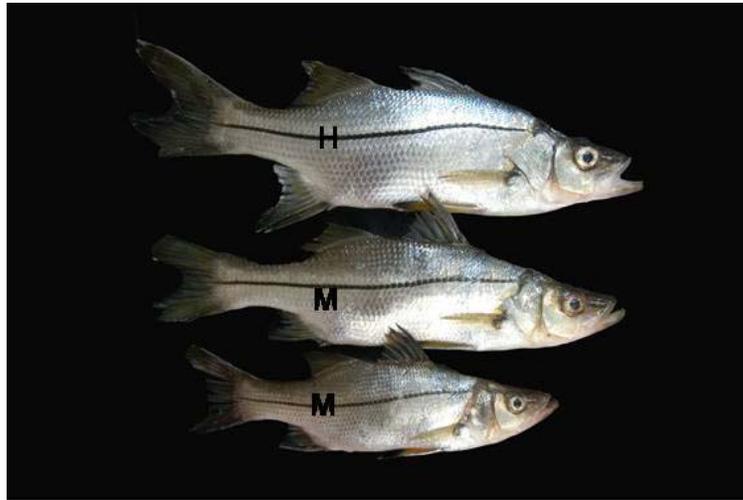


Fig 13. Ejemplares de robalo paleta *C. medius*, H=Hembras; M=Machos

La característica externa más evidente en el periodo reproductivo es el poro genital; la hembra lo presenta más dilatado y el abdomen se observa más prominente y engrosado a diferencia de los machos por el volumen de la gónada (Fig. 14).

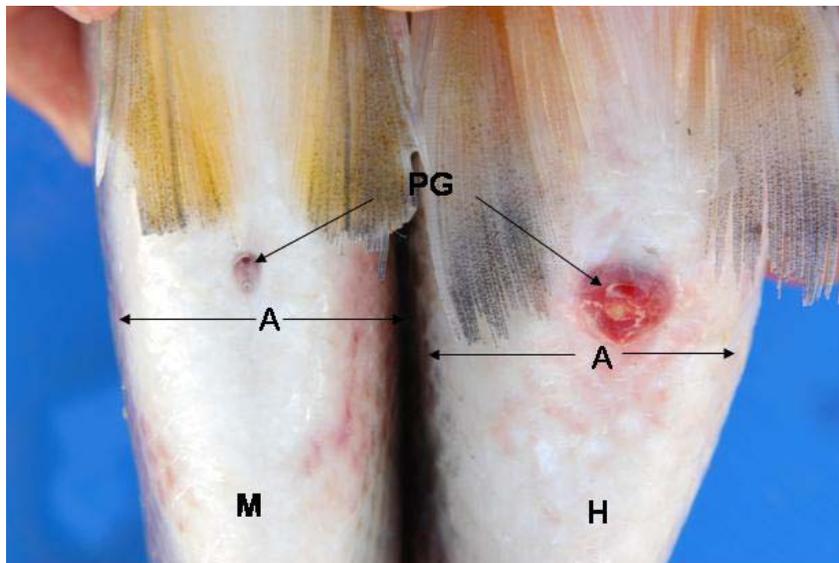


Fig 14. Característica externa de diferenciación de hembras y machos durante el periodo reproductivo del robalo paleta. PG=Poro genital; A= Abdomen; M=Macho; H=Hembra.

El robalo paleta presenta una cavidad visceral en donde se localizan la mayoría de los órganos, hígado, riñón, páncreas, sistema digestivo (esófago, estómago, intestino) gónada, etc. El estómago está bien definido, por ser un pez de hábitos carnívoros.

La grasa perivisceral se hace notar en el periodo de recuperación. El índice de grasa perivisceral es de 1.6 % para las hembras y de 1.4 % para los machos durante el periodo de recuperación (de enero a junio) (Fig. 15). Durante el periodo reproductivo, la presencia de grasa en la cavidad perivisceral es casi nula, ya que esta grasa es empleada como fuente de energía durante el proceso reproductivo (Evans, 1993).

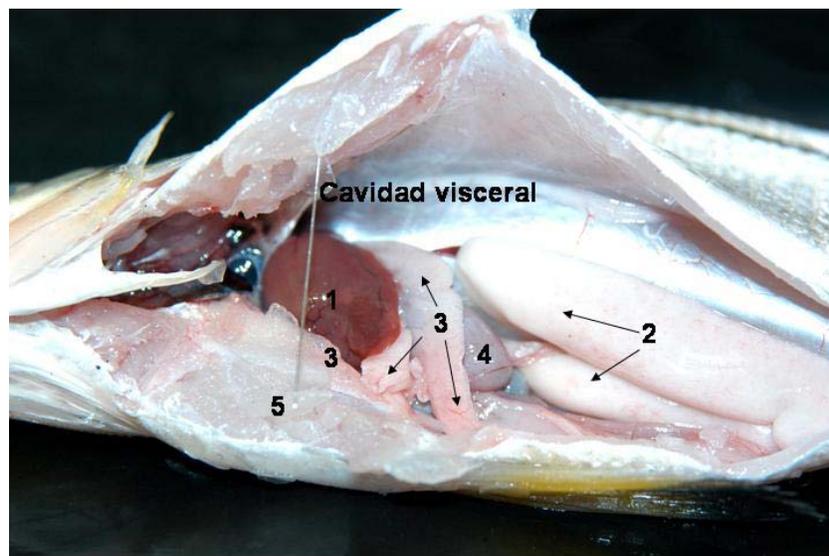


Fig 15. Cavitad abdominal de un reproductor masculino en proceso de maduración. 1=hígado; 2=gónada; 3=grasa; 4=estómago; 5= músculo

Durante el periodo reproductivo, los organismos reproductores se han observado agrupados cerca de una boca del complejo lagunar Bahía Magdalena que conecta la laguna con el mar abierto. También se observan en las raíces de los mangles. Generalmente, se encuentran a profundidades entre 1 y 13 metros. Los

juveniles prefieren zonas más someras, de 1 a 5 metros de profundidad (comunicación personal de los pescadores y observaciones de campo).

El periodo reproductivo coincide con la veda del camarón y con la reproducción de otros peces dentro de los esteros, como el de la lisa, *Mugil curema* y el pargo *Lutjanus argentiventris*, entre otras. Esta observación es importante, porque los reproductores de robalo se alimentan de camarones y peces antes y durante la época reproductiva. Este evento ecológico de coordinar su reproducción con la de otros peces e inclusive con la de los camarones garantizaría la sobrevivencia de las larvas del robalo por la abundancia de alimento dentro del estero.

Durante el periodo reproductivo la característica interna más evidente que distingue a hembras de machos es la morfología y color de las gónadas. Los ovarios de las hembras maduras presentan una coloración naranja, aspecto granuloso y tiene diversos vasos sanguíneos en la superficie y son más grandes que las que apenas están en proceso de maduración (Fig. 16).



Fig 16. Ovarios de robalo paleta maduros (A) y en proceso de maduración (B).

Los testículos de los machos son de color blanco y lisos cuando ha iniciado la espermiación; durante el periodo de reposo son más delgados y la coloración es rosada (Fig. 17).

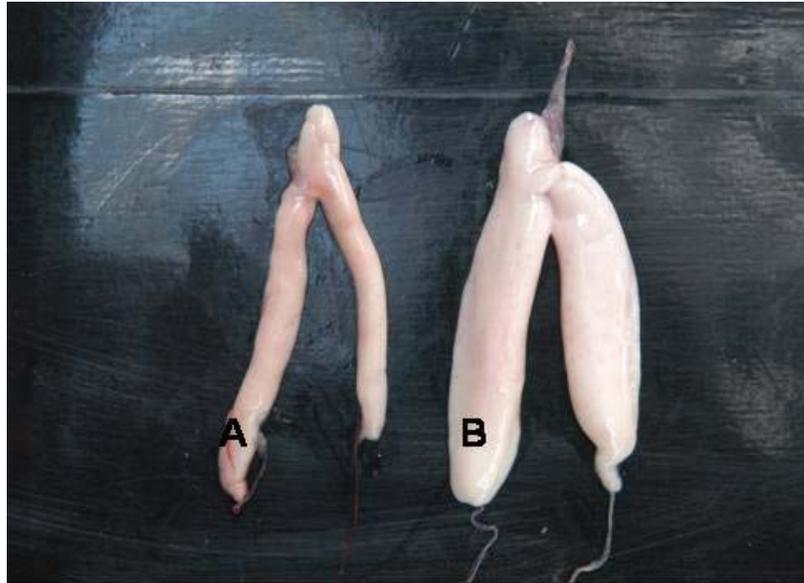


Fig 17. Testículos de robalo paleta en proceso de maduración (A) y maduros (B).

#### *Captura de reproductores*

La captura de reproductores puede realizarse en el complejo lagunar Bahía Magdalena dentro de varios esteros. Los principales son; los troncones, estero la caseta, puerto Cancún, el cuervo y el lodazal (nombres según los pescadores de la localidad de Puerto Chale). No se descarta la existencia de esta especie más al norte, hasta los esteros de Adolfo López Mateos.

Para el proceso de captura, una red agallera o chinchorro de 75 cm de luz de malla y 100 metros de largo, se extiende a lo largo de la orilla donde hay mangle, generalmente en depresiones (pozas) que van de 2 a 13 metros de profundidad. En ocasiones es necesario el uso de dos redes; es preciso que dos personas se introduzcan dentro del agua para asustar a los peces hacia la red. En el momento que los robalos se atorán a la red, uno por uno se desprenden rompiendo la red

con el mayor cuidado posible, llevándolos a la superficie (Fig. 18A y 18B) en donde son colocados en un recipiente de 250 litros lleno con agua del propio estero y con aireación continua (Fig. 19A y 19B).



Fig. 18. Técnicas de colecta de reproductores vivos. A: pescador en el agua sosteniendo un robalo recién capturado. B: el pescador coloca el robalo en la red de cuchara para subirla a la embarcación.

Durante el trayecto en lancha del lugar de colecta al vehículo en donde serán transportados es necesario ir haciendo recambios continuos de agua para mantener adecuados niveles de oxígeno (de 5 a 7 mg/L) y agua limpia.



Fig 19. Recipientes de transportación del lugar de colecta hacia la orilla de la playa. A: tara de transporte en la embarcación. B: robalos en la tara.

### *Transporte*

Una vez que la embarcación llega donde está el vehículo, los reproductores son colocados, uno a uno, con la ayuda de una cubeta de 20 L, en tanques de 750 L de capacidad, llenados con agua del mismo estero. Para ello se coloca una manguera de 20 metros de largo conectada a una bomba sumergible puesta dentro del agua. La bomba sumergible será conectada a una planta de luz. Cada tanque es llenado hasta los 600 L y podrá contener hasta 10 reproductores. El tanque se tapa y se inyecta oxígeno puro con burbujas suaves, para mantener adecuadas concentraciones de oxígeno disuelto. Durante el transporte, la temperatura podría variar  $\pm 2$  °C de la temperatura del agua del estero.

El transporte hasta las instalaciones de acondicionamiento puede durar hasta 3 horas. Durante el trayecto, se realizan observaciones de las condiciones de los reproductores y se verifica el suministro continuo de oxígeno (Fig. 20).



Figura 20. Transporte de reproductores de la playa al laboratorio de aclimatación.

### *Aclimatación*

Los tanques de aclimatación pueden ser de 8 a 16 metros cúbicos de capacidad. Se regula la temperatura de cada uno de los tanques a la del sitio de captura. Durante la primera semana los organismos se mantienen en observación, con un recambio de agua continuo y una limpieza diaria del fondo. Los tanques tienen aireación suplementaria manteniendo los niveles de oxígeno disuelto entre 5 y 6 mg/L. La salinidad es mantenida a 36 ppm.

Después de 15 días, se transfieren a tanques con sistema de recirculación de agua. El agua sale de los tanques de los reproductores hacia el tanque de sedimentación en donde se apartaran los sólidos sedimentables y por gravedad el agua pasa a un biofiltro de malla de nylon y posteriormente a un filtro de arena que filtra partículas de 50 micras. Hay una posterior filtración (5 y 1  $\mu\text{m}$ ) y esterilización (UV). La temperatura no presenta variación brusca diaria. En verano, un enfriador ayuda a mantener la temperatura de bajo de los 28 °C.

El robalo paleta, por su tamaño mediano, presenta una ventaja frente a grandes reproductores ya que son más manejables en condiciones de cautiverio; además, se observa que se aclimata bien a las condiciones de confinamiento, sugiriendo que es una especie con posibilidades de mantenerse bajo condiciones de cautiverio.

### *Alimentación*

Uno de los factores más importantes para lograr éxito en la reproducción es contar con lotes de reproductores en buen estado nutricional. Durante la primera semana de aclimatación, los reproductores no presentan consumo de alimento por falta de apetito provocado por el estrés. Se sugiere alimentar a los reproductores

con trozos de pescado fresco “ad libitum” una vez al día. El pescado fresco mojarra del género *Eucinostomus* es una buena alternativa ya que contiene 71 % de proteína, 4.5 % de lípidos, 2.66 % de carbohidratos (Civera *et al.*, 2000).

Actualmente, los requerimientos nutricionales de los reproductores de robalo paleta no son conocidos. En muchas especies se ofrece calamar, sardina, macarela, camarón, langostilla etc. Sin embargo, por sus hábitos alimenticios carnívoros durante el periodo reproductivo, una dieta adecuada para los robalos debería contener un porcentaje alto de proteínas y bajo de lípidos (incluyendo los triglicéridos) para aumentar la viabilidad de los huevos y aumentar la supervivencia de las larvas.

Es importante no alimentar excesivamente con lípidos, ya que se ha observado en *C. nigrescens* que una dieta rica en lípidos inhibe la vitelogénesis (Carvajal, 1997). Es conveniente realizar estudios encaminados a la nutrición de reproductores en cautiverio, ya que el metabolismo puede variar en comparación con los reproductores que se encuentran silvestres.

#### *Inducción al desove*

En el caso de no obtener huevos de manera natural, existe una forma alternativa de obtención que es la inducción hormonal. Para realizar la inducción al desove con el uso de hormonas es necesario asegurarse que las hembras y los machos se encuentren maduros. El signo externo de madurez en las hembras es el abdomen abultado y la dilatación de la papila genital. Las hembras con esas características son muestreadas para examinar la condición de madurez de los ovocitos. Las muestras pueden ser obtenidas a través de biopsias ováricas. La técnica consiste en introducir dentro del oviducto una cánula de material plástico

de aproximadamente de 1 mm de diámetro y succionar los ovocitos a través de la cánula, moviendo lenta y suavemente.

Posteriormente, los ovocitos se colocan en un porta objeto, se les agrega una gota del líquido de Serra (clarificador del citoplasma) y se observa al microscopio si la hembra esta madura. Esto es evidenciado si, de la muestra tomada, una proporción elevada de los ovocitos observados presentan el núcleo en posición migratoria o periférica. Los ejemplares machos son considerados maduros cuando al ser presionados en la región abdominal aparece esperma.

Los ovocitos maduros del robalo paleta tienen un diámetro celular superior a 450 micras, mientras que los ovocitos que son inmaduros presentan restos de tejido conectivo y son mas pequeños que esa medida (Fig 21). Para *C. parallelus*, la inducción puede realizarse con ovocitos maduros de 432 a 440 micras (Cerqueira, 1995) y para *C. undecimalis* mayores de 500 micras (García, 1992).

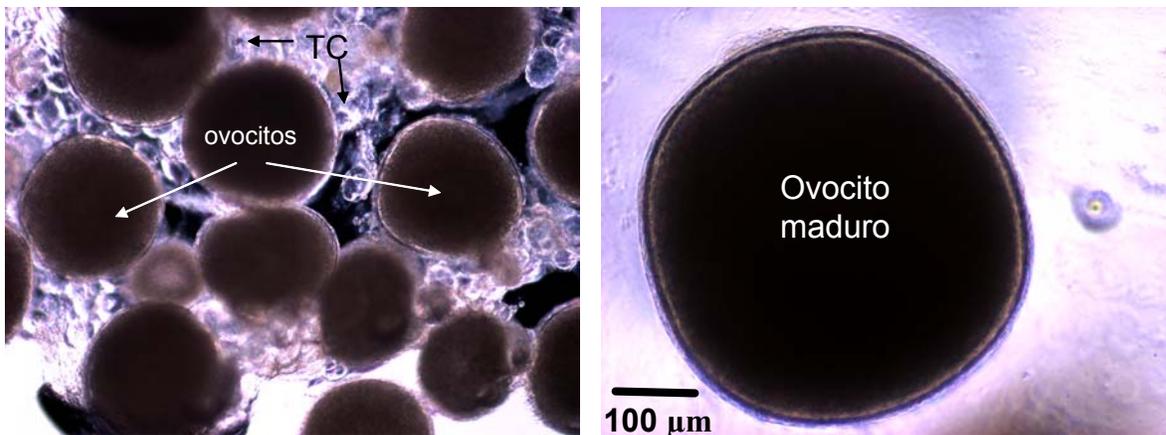


Figura 21. Ovocitos del róbalo paleta tomados a través de una biopsia ovárica. A: ovocitos maduros y tejido conectivo (TC). B: ovocito maduro.

Al conocer el diámetro de los ovocitos maduros sabremos el momento adecuado para realizar la inducción por medio de hormonas.

Para el robalo paleta es posible hacer uso de la hormona Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) inyectada en dos dosis, en un intervalo de 24 horas; la primera de 1000 IU HCG/kg y la segunda de 500 IU HCG/Kg. Después de la segunda inyección, se espera que en un intervalo de 5 a 7 horas la hembra tenga los ovocitos hidratados y puedan obtenerse mediante masaje abdominal (Fig. 22). En los reproductores de *C. nigrescens* con una dosis de 1.000 IU HCG/Kg se obtiene la ovulación y el desove al cabo de 36-40 horas a temperaturas de 26 y 29 °C (Carvajal, 1997).

Una de las ventajas del tipo de ovario sincrónico por grupo es que las hembras puedan desovar 2 o más veces durante un mismo periodo reproductivo por presentar en la misma gónada ovocitos en 2 o 3 estadios de madurez. Al inducir las hembras con hormona, los ovocitos maduros se hidratan y podrán obtenerse. Los ovocitos inmaduros madurarán posteriormente y las hembras podrán ser inducidas de nuevo. Esto mismo se ha observado para el barramundi (Garrett y Connell, 1998). Los peces que presentan el ovario del tipo asincrónico, pueden presentar múltiples desoves, incrementando con esto el número de huevos. Sin embargo, al inducir con hormonas a los peces del tipo asincrónico, puede traer como consecuencia que los ovocitos que no han iniciado la etapa de maduración y que están en estadio II (alvéolos corticales) y III (vitelogénesis), por el estrés ocasionado por la manipulación presenten atresia (Hansen *et al.*, 1995).

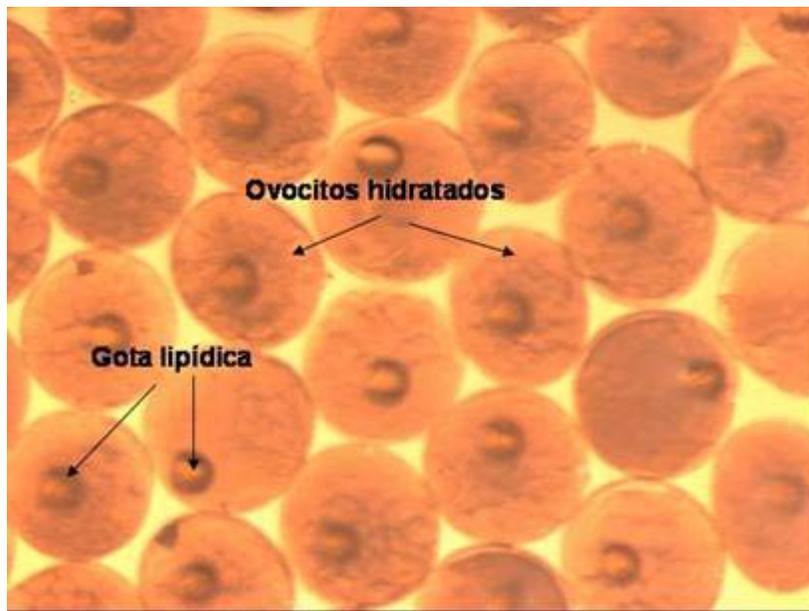


Figura. 22. Ovocitos hidratados del robalo paleta con presencia de la gota lipídica

Por los resultados obtenidos conocemos que el fotoperiodo de 14 horas luz/10 oscuridad es el indicador para iniciar su periodo reproductivo con una temperatura de 26 a 28 °C. Esto nos permite usar esa información para acelerar o retrasar la maduración durante un ciclo anual, con el fin de optimizar y sincronizar la producción de gametos de machos y hembras. Además podemos adelantar o desfasar el desarrollo embrionario y la producción de juveniles.

Es importante mencionar que la estimulación ambiental funciona cuando se tiene una dieta nutricional adecuada para los reproductores, por lo que se hace necesario el establecer una dieta específica para esta especie que podría diferir en sus periodos de maduración y reposo.

### *Fecundidad*

La fecundidad determina el potencial reproductivo de una población así como la subsecuente sobrevivencia del huevo al adulto. En el robalo paleta la fecundidad puede determinarse por el método gravimétrico a través de la fecundidad parcial considerando el número de ovocitos maduros por unidad de peso corporal presentes en el ovario antes del desove, según la fórmula de Oda *et al.* (1993).

Para el robalo paleta la fecundidad fue determinada en 16 hembras. En una hembra de 48.5 cm de longitud total y 890 gr de peso, la fecundidad parcial es de 1,000,500 ovocitos maduros e hidratados. La observada por métodos volumétricos en *C. undecimalis* es de 1,440,000 huevos en una hembra de 58.4 cm (Volpe, 1959) y en una hembra de 110 cm y 12 kg se encontró 2, 678,000 huevos (Chávez, 1963).

Esta información nos da una idea de la alta fecundidad que presenta el robalo paleta y es parecida a otros peces que se cultivan comercialmente como la dorada (*S. aurata*) y la lubina (*D. labrax*).

En relación a la temperatura y salinidad de incubación y crecimiento larval, hay estudios realizados por Cerqueira (2002) para *C. Parallelus*, y por Palmer *et al* (1998) para el barramundi (*Lates calcarifer*). En el caso del robalo paleta, no se cuentan con estudios relacionados al crecimiento larval; sin embargo podemos decir que las temperaturas de septiembre a noviembre-diciembre registradas de 28 a 22 °C, son las que se pueden sugerir para el crecimiento larval.

### *Maduración precoz*

Una de las características biológicas del robalo paleta que podría considerarse como ventaja en la acuicultura es el presentarse como un hermafrodita protándrico; esto significa que primero nacen como machos hasta alcanzar la madurez sexual, se reproducen como machos y después una parte de la población se convierte a hembras.

Este comportamiento reproductivo indica que los machos en lugar de emplear sus reservas para el crecimiento y engorda, presenten un desgaste energético para realizar la reproducción y consecuentemente obligar al productor a cosechar el producto antes de que haya logrado el peso de venta.

Actualmente existen investigaciones dirigidas hacia técnicas genéticas, hormonales y ambientales del control del sexo que permiten retrasar esta maduración precoz, por ejemplo:

- Modulación del ciclo de puesta por manipulación del fotoperiodo y temperatura para atrasar la maduración precoz.
- El uso de compuestos androgenitos o estrogenitos en el momento apropiado durante las primeras etapas de desarrollo gonadal, permite dirigir la diferenciación sexual de los peces hacia el sexo deseado (Hastings, 1989).

Piferrer (2001) menciona que entender las interacciones genotipo-ambiente son de gran interés no solo para la biología sino también para la aplicación a la acuicultura. Si una empresa mantiene los reproductores, producen los huevos y crían las larvas hasta unos 10 g. Otro grupo de empresas compra estas crías y las engordan hasta el peso de venta, alrededor de los 400 g. Una estrategia que usa el

primer grupo de empresas para optimizar los ciclos de producción y vender antes a las segundas, es aumentar la temperatura del agua. Así, las crías comen más y llegan antes a los 10 g. El problema es que la empresa que se dedica al engorde se encuentra con que prácticamente todos los peces son machos. Comercialmente, los machos no son rentables porque crecen un 35% menos que las hembras. Por lo tanto, no forzar el proceso natural y volver a temperaturas más habituales para las lubinas puede equilibrar la proporción machos-hembras, así como evitar el gasto que representa aumentar la temperatura del agua.

#### *Uso del robalo para policultivos.*

El policultivo es un sistema acuícola en donde más de una especie es cultivada simultáneamente con diferentes hábitos alimenticios. El principio se basa en que la producción de peces en estanques puede ser maximizada a través del cultivo de una combinación adecuada de especies de peces con diferentes hábitos alimenticios, lo cual permite una mejor utilización del alimento natural disponible en el estanque. (Nion,1977; Bocek, 1992).

El robalo paleta presenta características biológicas adecuadas para ser considerado como una especie potencial para el policultivo. Las características biológicas principales son: habitar en aguas someras poco profundas, talla de reproducción a partir de los 350 mm y buena condición depredadora (carnívoro).

Considerando su naturaleza predadora, es posible realizar cultivos de robalo con especies prolíficas tales como carpa, *Ciprinus carpio* (Nogueira, 1991), lisa *Mugil brasiliensis* (Rocha y Okada, 1980), tilapia *Oreochromis mossambicus* (Chapman *et al.*, 1982) en donde cumplen la función de controladores biológicos al alimentarse de los alevines que se originan durante el ciclo de cultivo evitando la producción

excesiva, permitiendo tener individuos de un mismo peso al momento de la cosecha. (Carvajal, 1997).

#### *Cultivo larval*

El cultivo larval no ha sido estudiado para *C. Medius*; sin embargo, se conoce para *Lates calcarifer*, *C. parallelus* y *C. undecimalis*. La incubación de huevos es en tanques cilindro cónico con tela de 300  $\mu\text{m}$ , con capacidad para 35 L y una renovación de agua constante de 10 a 20 %/hora. Las densidades normales son 500 a 2,000 huevos por litro.

De manera general, los huevos son incubados a la temperatura de 26 a 28 °C, y a una salinidad de 28 a 35 ppm. El agua de incubación es filtrada y tratada con luz ultravioleta y poseé de 5 a 7 mg/L de oxígeno disuelto. Después de 2 días de eclosionados, los robalos son alimentados conforme crecen con alimento de varias tallas como rotíferos, copépodos pequeños, artemia y copépodos adultos. Hasta llegar a trozos de almeja, pedazos de pescado y después de los 35 días alimento peletizado (Tucker, 1987). El fotoperiodo inicial es de 1, 000 a 3,000 lux, hasta los 25 días que se reduce a 500 lux. El pH se recomienda de 7.8 a 8.2, que es el más adecuado para las larvas.

#### *Engorde de juveniles*

El engorde de juveniles de robalo se lleva en densidades de 2-4 juveniles/L en los tanques de precría a los 45 días de eclosionar. La precría se determina cuando alcanza los 2 g, lo cual ocurre al cabo de un mes y medio. El alimento artificial se sugiere que contenga 60% de proteína y el 15 % de lípidos, principalmente los PUFA (n-3). El alimento es suministrado 9 veces al día en pequeñas cantidades durante las 2 primeras semanas. Los juveniles son separados en tallas durante su crecimiento, hasta llegar a los 150 g de peso después de los 4 meses (Álvarez-Lajonchere, 2001; Cerqueira, 2002).