

**EVALUACIÓN DE LA GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA (HCG) A
DIFERENTES DOSIS, EN LA REPRODUCCIÓN INDUCIDA DE PARGO
LUNAREJO *Lutjanus guttatus* (STENDAICHNER, 1869) EN CONDICIONES DE
CAUTIVERIO, EN LA ESTACIÓN ACUÍCOLA BAHÍA MÁLAGA.**

**LUISA MERCEDES MEJÍA NARVÁEZ
CLAUDIA LORENA RODRÍGUEZ ARAUJO**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
DEPARTAMENTO DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS
INGENIERIA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO, COLOMBIA
2009**

**EVALUACIÓN DE LA GONADOTROPINA CORIÓICA HUMANA (HCG) A
DIFERENTES DOSIS, EN LA REPRODUCCIÓN INDUCIDA DE PARGO
LUNAREJO *Lutjanus guttatus* (STENDAICHNER, 1869) EN CONDICIONES DE
CAUTIVERIO, EN LA ESTACIÓN ACUÍCOLA BAHÍA MÁLAGA.**

**LUISA MERCEDES MEJÍA NARVÁEZ
CLAUDIA LORENA RODRÍGUEZ ARAUJO**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Ingeniero en Producción Acuícola.**

**Presidente
Jorge Nelson López Macías
M.V.Z., Esp., M.Sc., Ph.D (c)
Profesor Titular del Programa de Ingeniería en Producción Acuícola**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
DEPARTAMENTO DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS
INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO, COLOMBIA
2009**

“Las ideas y conclusiones aportadas en este trabajo de grado son responsabilidad exclusiva de sus autores”.

Artículo 1º del Acuerdo No 324 de octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

NOTA DE ACEPTACIÓN

Jorge Nelson López Macías
Presidente de Tesis

Vilma Yolanda Gómez Nieves
Jurado Delegado

Julbrinner Salas Benavides
Jurado

San Juan de Pasto, 1 de abril de 2009

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

JORGE NELSON LÓPEZ MACÍAS	M.V.Z., Esp., M.S.C., Ph.D (C).
JESÚS HERNÁNDO GAMBOA DE CROSS	Biólogo Marino; director de la Estación Acuícola Bahía Málaga
WILMER RENE SANGUINO ORTIZ	Ingeniero en Producción Acuícola
VILMA YOLANDA GÓMEZ NIEVES	Bióloga
JULBRINNER SALAS BENAVIDES	Biólogo
MARCO ANTONIO IMUEZ FIGUEROA	Zoot., Esp.
NANCY PATRICIA DELGADO CARATAR	Ingeniera en Producción Acuícola
PIEDAD MEJIA SANTACRUZ	Secretaria programa de Ingeniería en Producción Acuícola
OSCAR MEJIA SANTACRUZ	Economista, Universidad de Nariño
LUIS ALFONSO SOLARTE PORTILLA	Secretario Académico Facultad de Ciencias Pecuarias

A la Asociación Colombiana de Industriales y Armadores Pesqueros (ACODIARPE), al personal de la Estación Acuícola Bahía Málaga y al programa de Ingeniería en Producción Acuícola de la Universidad de Nariño, como también a todas las personas que en una u otra forma apoyaron el desarrollo de esta investigación.

DEDICATORIA

La etapa que hoy culmino está dedicada a las personas que más quiero; como no tener gratitud con Dios por brindarme fortaleza y fuerza para nunca desfallecer y seguir adelante, con mis padres, Edgar Mejía y Martha Narváez, dos amigos que con una palabra, o un gesto demuestran el inmenso amor que sienten por sus hijos, ellos con sus consejos, esfuerzo, ejemplo, dedicación y protección me han guiado por el mejor camino y me dan la oportunidad de cumplir este sueño; con mi hermano, Edgar Julio Mejía, quien me brinda una voz de aliento para nunca desfallecer; con mi mejor amiga, Claudia Rodríguez, por su amistad y apoyo para romper los obstáculos que nos ha impuesto la vida; gracias a todas aquellas personas que están pendientes de mi, mis demás familiares, amigos y al ángel que desde pequeña me ha acompañado en los triunfos, sé que ya no estas de cuerpo presente pero siento que hoy me cuidas y amparas más que nunca, abuelito esto es para ti.

Tu imaginación puede provocar en tu vida nuevas realidades. Actúa con sensatez y en ves de usar tu imaginación negativamente para destruirte, utilízala positivamente para construirte. Tu puedes superar progresivamente el sufrimiento y enfrentar las situaciones difíciles si te vales de una visión optimista, de tu seguridad, de la ayuda de Dios y la firme confianza en ti mismo; conquista la serenidad de tu espíritu y mejorará la existencia para ti.

Luisa Mejía Narváez

DEDICATORIA

Este logro va dedicado a:

Dios, por ser mi fortaleza

Mi padre, Hugo Rodríguez, por su cariño, comprensión, paciencia, por ser mi ejemplo durante todos los años de mi vida.

Mi madre, Nora Araujo, por su amor, por la aceptación incondicional y el apoyo mutuo que hemos conquistado.

Ustedes me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios..... LOS AMO.

Mis hermanos, Mónica, Yaneth, Sobeida, Verónica, Hugo y Andrés, por compartir conmigo los momentos significativos de la vida y ser mí soporte incondicional.

Mi amiga, Luisa Mejía, por enseñarme y aprender conmigo, "Luisa, lo logramos"

Mis familiares y amigos que tuvieron siempre una palabra de apoyo para mí durante mis estudios.

Claudia Lorena Rodríguez Araujo

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	24
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACION DEL PROBLEMA	26
2. FORMULACION DEL PROBLEMA	27
3. OBJETIVOS	28
3.1 OBJETIVO GENERAL	28
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	28
4. MARCO TEORICO	29
4.1 BIOLOGIA DE LOS LUTJANIDOS.	29
4.1.1 Clasificación taxonómica	31
4.2 INFLUENCIA AMBIENTAL EN LA REPRODUCCIÓN	32
4.3 FISILOGIA REPRODUCTIVA	34
4.3.1 Sistema reproductor en peces	35
4.4 ENDOCRINOLOGIA DE LA REPRODUCCION DE LOS TELEOSTEOS	42
4.5 NEUROENDOCRINOLOGIA DE LA REPRODUCCION	42
4.6 REPRODUCCIÓN INDUCIDA	44
4.6.1 Desoves inducidos con tratamientos no invasivos de estimulación ambiental	44
4.6.2 Desoves inducidos con tratamientos invasivos	45
4.7 PROTOCOLO DE LA REPRODUCCIÓN INDUCIDA	48

	Pág.
4.8 DESOVE	55
4.9 INCUBACION	56
4.9.1 Efecto de factores ambientales en incubación	57
4.9.2 Desarrollo embrionario	59
4.10 LARVICULTURA	61
4.10.1 Desarrollo larval	62
5. DISEÑO METODOLOGICO	65
5.1 LOCALIZACION	65
5.2 ESTACIÓN ACUÍCOLA BAHÍA MÁLAGA	65
5.3 PERIODO DE ESTUDIO	66
5.4 INSTALACIONES	66
5.5 MATERIALES, INSUMOS Y EQUIPOS	67
5.6 PLAN DE MANEJO	68
5.6.1 Adecuación de instalaciones	68
5.6.2 Material biológico	68
5.6.3 Inducción a la maduración sexual	70
5.6.4 Recolección e incubación de los huevos	74
5.7 DETERMINACION DE LAS CARACTERISTICAS FISICO QUIMICAS DEL AGUA	75
5.8 TRATAMIENTOS	76
5.9 DISEÑO EXPERIMENTAL	76

	Pág.
5.10 FORMULACION DE HIPOTESIS	77
5.11 VARIABLES	77
5.11.1 Peso y longitud corporal	77
5.11.2 Diámetro de los oocitos	77
5.11.3 Tiempo de desove	78
5.11.4 Fecundidad	78
5.11.5 Porcentaje de fertilización	78
5.11.6 Porcentaje de eclosión	78
5.11.7 Análisis Parcial de Costos	78
6. PRESENTACION Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	79
6.1 CARACTERISTICAS REPRODUCTIVAS	79
6.1.1 Características morfológicas	79
6.1.2 Indicadores reproductivos	79
6.2 EVALUACION COMPARATIVA DEL EFECTO DE LA HORMONA	84
6.2.1 Índice de ovulación	84
6.2.2 Diámetro después de la inducción	85
6.2.3 Tiempo de desove	86
6.2.4 Fecundidad	88
6.2.5 Porcentaje de fertilización	90
6.2.6 Porcentaje de eclosión	93
6.3 EVALUACION DEL SEMEN	94

	Pág.
6.4 ANALISIS PARCIAL DE COSTOS	96
6.5 DESARROLLO EMBRIONARIO Y LARVAL DE <i>Lutjanus guttatus</i>	97
6.5.1 Fases del período embrionario	97
6.6 PARAMETROS FISICO QUIMICOS	108
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	110
7.1 CONCLUSIONES	110
7.2 RECOMENDACIONES	111
BIBLIOGRAFIA	112
ANEXOS	122

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Tratamientos para la inducción de hembras de <i>L. guttatus</i>	76
Tabla 2. Peso y longitud de hembras de <i>L. guttatus</i> en los diferentes tratamientos.	81
Tabla 3. Diámetro promedio de los oocitos antes y después de la inducción hormonal de <i>L. guttatus</i> .	83
Tabla 4. Respuesta a la inducción con HCG en hembras de <i>Lutjanus guttatus</i>	84
Tabla 5. Promedios por tratamiento de los indicadores de desempeño reproductivo de <i>L. guttatus</i> inducidos con HCG	88
Tabla 6. Características macroscópicas y microscópicas del semen de <i>L. guttatus</i> sometidos o no a inducción hormonal	96
Tabla 7. Costos variables	97
Tabla 8. Desarrollo embrionario y larval de <i>Lutjanus guttatus</i>	107
Tabla 9. Características morfométricas de <i>L. guttatus</i> después de la eclosión	108
Tabla 10. Parámetros fisicoquímicos en el cultivo de <i>L. guttatus</i>	108

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Características morfológicas del pargo lunarejo (<i>Lutjanus guttatus</i>)	31
Figura 2. Desarrollo del espermatozoide.	37
Figura 3. Maduración final de los oocitos	40
Figura 4. Enlaces neuro-endocrinos del eje hipotálamo, hipófisis, gónada.	43
Figura 5. Desove natural.	45
Figura 6. Inyección vía intraperitoneal.	54
Figura 7. Desarrollo embrionario.	59
Figura 8. Estación Acuícola Bahía Málaga.	65
Figura 9. Jaulas flotantes para adaptación a cautiverio de <i>Lutjanus guttatus</i> .	66
Figura 10. Instalaciones para el desove de <i>Lutjanus guttatus</i> .	67
Figura 11. Preparación de línea de anzuelos para la captura de <i>Lutjanus guttatus</i> .	69
Figura 12. <i>E. teres</i> utilizada como carnada y alimentación de <i>L. guttatus</i> .	69
Figura 13. Marcaje de los reproductores de <i>L. guttatus</i> .	70
Figura 14. Sedación de los reproductores con Sulfato de quinaldine.	71
Figura 15. Muestreo intraovárico con catéter (Biopsia ovárica).	71
Figura 16. Muestra de oocitos de <i>L. guttatus</i> .	72
Figura 17. Determinación de peso de <i>Lutjanus guttatus</i> .	72

	Pág.
Figura 18. Determinación de longitud de <i>Lutjanus guttatus</i> .	72
Figura 19. Inyección vía intraperitoneal. a <i>L. guttatus</i>	73
Figura 20. Extracción de esperma en machos de <i>Lutjanus guttatus</i> .	74
Figura 21. Tanques de incubación y larvicultura.	75
Figura 22. Diferenciación de sexos por caracteres anatómicos en <i>L. guttatus</i>	80
Figura 23. Peso promedio por tratamiento en hembras de <i>L. guttatus</i>	81
Figura 24. Longitud promedio por tratamiento en hembras de <i>L. guttatus</i>	82
Figura 25. Diámetro promedio por tratamiento de oocitos de <i>L. guttatus</i> antes y después de la inducción	83
Figura 26. Oocitos de <i>L. guttatus</i> antes de la inducción con HCG (10X)	84
Figura 27. Ovocitos en estadio II y III en el corte histológico de una gónada de <i>Lutjanus guttatus</i>	86
Figura 28. Oocitos de <i>L. guttatus</i> después de la primera dosis de HCG (10X)	86
Figura 29. Promedio por tratamiento de tiempo de desove en hembras de <i>L. guttatus</i>	88
Figura 30. Promedio por tratamiento de fecundidad en hembras de <i>L. guttatus</i>	90
Figura 31. Correlación entre fecundidad y tiempo de desove	91
Figura 32. Promedio por tratamiento de fertilización en <i>L. guttatus</i>	92
Figura 33. Correlación entre porcentaje de fertilización y diámetro de oocito después de la inducción hormonal	93
Figura 34. Promedio por tratamiento de eclosión en <i>L. guttatus</i>	94

	Pág.
Figura 35. Concentración espermática en machos de <i>Lutjanus guttatus</i> (100X)	96
Figura 36. Blastodermo con dos células	98
Figura 37. Mórula	98
Figura 38. Blástula	99
Figura 39. Gástrula temprana	100
Figura 40. Formación escudo embrionario	100
Figura 41. Tubos miomerales	101
Figura 42. Formación de vesículas de kupffer	101
Figura 43. Larva eclosionada	103
Figura 44. Saco vitelino de una larva recién eclosionada	103
Figura 45. Larva de 15 horas de eclosión	104
Figura 46. Larva de 21 horas de eclosión	104
Figura 47. Larva de 38 horas de eclosión	105
Figura 48. Reabsorción del saco vitelino	105
Figura 49. Apertura bucal	106
Figura 50. Valores de parámetros físico químicos manejados en las jaulas de reproductores de <i>L. guttatus</i>	109

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Componentes de la solución Serra	123
Anexo B. Protocolo para la extracción de muestras de ovocitos	124
Anexo C. Metodología para la cuantificación de espermatozoides	126
Anexo D. Escalas numéricas y descriptivas para determinar la motilidad microscópica de células espermáticas.	127
Anexo E. Prueba de Normalidad	128
Anexo F. Análisis de varianza de los parámetros reproductivos.	129
Anexo G. Prueba de Tukey para diámetro de oocitos después de la inducción hormonal.	130
Anexo H. Correlación lineal simple entre diámetro de los oocitos después de la inducción y fertilidad.	131
Anexo I. Correlación lineal simple entre fecundidad y tiempo de desove.	132
Anexo J. Parámetros físico químicos en el cultivo de <i>L. guttatus</i> .	133
Anexo K. Características biométricas de reproductores, según literatura científica	134
Anexo L. Tiempo de desove en algunas especies marinas inducidas con HCG.	135
Anexo M. Porcentajes de fertilización en especies marinas	136

RESUMEN

El presente estudio, evaluó el efecto de la Gonadotropina Coriónica Humana sobre la maduración gonadal y liberación de gametos en la especie íctica marina pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*), en la Estación Acuícola Bahía Málaga, localizada en la región central de la Costa Pacífica Colombiana; Buenaventura, departamento del Valle del Cauca, con coordenadas geográficas: 4° 05' de latitud norte y 77° 21' de longitud oeste, clima ecuatorial cálido húmedo, temperatura ambiente de 30°C, precipitación pluviométrica de 2.650 mm anuales y humedad relativa de 83%.

En el ensayo se estudiaron 160 reproductores, con un peso promedio para las hembras de $0,53 \pm 0,06$ kg con tallas de $30,69 \pm 1,38$ cm y los machos con un peso promedio de $0,55 \pm 0,15$ kg y longitud total promedio de $32,25 \pm 1,84$ cm. Se utilizó un Diseño Completamente al Azar conformado por cuatro tratamientos, distribuidos en la siguiente forma:

T₀ : Sin hormona.

T₁ : 1.000 UI de HCG/kg de peso vivo para hembras y 100 UI/kg peso vivo para machos.

T₂ : 1.500 UI de HCG/kg de peso vivo para hembras y 100 UI/kg peso vivo para machos.

T₃ : 2.000 UI de HCG/kg de peso vivo para hembras y 100 UI/kg peso vivo para machos.

Se analizaron las variables peso, longitud de los reproductores, diámetro de oocitos antes y después de la inducción, tiempo de desove, fecundidad, porcentaje de fertilidad, eclosión, evaluación cualitativa y cuantitativa del semen y desarrollo embrionario y larval.

El tratamiento testigo no presentó respuesta positiva; en contraste los demás tratamientos fueron efectivos en la inducción reproductiva, estimándose el efecto de la hormona en los parámetros estudiados. Los machos recibieron una sola dosis de HCG y presentaron espermiación con una concentración de $2,6 \times 10^9$ espermatozoides/ml y tiempo de motilidad de 119 segundos. Las hembras, registraron promedios de diámetro de oocitos antes y después de la inducción hormonal de $353,14 \pm 12,25$ micras y $429,63 \pm 19,01$ micras respectivamente, tiempo de desove de $12,95 \pm 0,42$ horas, fecundidad de 146.247 ± 14.176

oocitos/kg de peso vivo de la hembra, fertilización de $69,3 \pm 7,98\%$ y eclosión de $51,77 \pm 3,98\%$.

Los oocitos hidratados de *L. guttatus* obtenidos por desove natural se caracterizan por ser esféricos, flotantes, transparentes, no adhesivos, con diámetro promedio de $794,59 \pm 31,67$ micras y un glóbulo de aceite de 100 micras. El desarrollo embrionario registró fases de clivaje, gastrulación, neurulación, eclosión, ocurrida a las 12h:0 minutos postfertilización. La longitud total promedio de las larvas recién eclosionadas fue de 800 micras.

En conclusión, la investigación demostró que la Hormona Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) actúa eficientemente como inductor de la maduración gonadal de hembras y machos de la especie íctica pargo lunarejo (*L. guttatus*), posibilitando la producción de alevinos de manera continua durante el año con el fin de fortalecer el cultivo y explotación acuícola de este organismo hidrobiológico.

ABSTRACT

This study assessed the effect of human chorionic gonadotropin on gonadal maturation and release of gametes in marine species lunarejo snapper (*Lutjanus guttatus*), in Bahia Malaga Aquaculture Station, located in the central region of the Colombian Pacific coast, Buenaventura, department of Valle del Cauca, with geographic coordinates: 4 ° 05 'north latitude and 77 ° 21' west, warm humid equatorial climate, temperature of 30 °C, precipitation of 2,500 mm to 2,800 per year and relative humidity 80 - 85%.

In this essay studied 160 animals, with an average weight for females from 0.53 ± 0.06 kg with a length of 30.69 ± 1.38 cm for males and an average weight of 0.55 ± 0.15 kg with an average total length of 32.25 ± 1.84 cm. We used a completely randomized design comprised of four treatments, distributed as follows:

T₀: No hormone.

T₁: 1,000 IU of HCG / kg live weight for females and 100 IU / kg live weight for males.

T₂: 1,500 IU of HCG / kg live weight for females and 100 IU / kg live weight for males.

T₃: 2,000 IU of HCG / kg live weight for females and 100 IU / kg live weight for males.

We evaluated the variables weight, length of the animals, oocytes diameter before and after the induction of spawning time, on fertility, fertility rate, hatching, qualitative and quantitative sperm and embryonic and larval development.

The treatment T₀ did not present a positive response. The other treatments were effective in inducing reproductive, estimating the effect of the hormone on the parameters studied. The males were given a single dose of HCG and spermiation presented with a 2.6×10^9 concentration of spermatozoa / ml and motility time of 119 seconds. The females, averages recorded for diameter before and after the induction of hormonal 353.14 ± 12.25 and 429.63 ± 19.01 μ respectively, while spawning of 12.95 ± 0.42 hours, relative fertility $146,247 \pm 14,176$ oocytes / kg live weight of the female, fertilization $69.3 \pm 7.98\%$ and hatching of $51.77 \pm 3.98\%$.

Oocytes hydrated *L. guttatus* obtained by natural spawning is characterized by

spherical, floating, transparent, non-adhesive, with an average diameter of $794.59 \pm 31.67 \mu$ and a globule of oil from 100μ . The stages of embryonic development recorded clivaje, gastrulation, neurulación, hatching-embryo, which occurred at 12 h post fertilization 0 minutes. The average length of the newly hatching larvae was 800μ .

In conclusion, the investigation showed that the hormone human chorionic gonadotropin (HCG) acts efficiently as inducer of gonadal maturation of females and males of the species fish lunarejo snapper (*L. guttatus*), enabling the production of fingerlings on a continuous basis during the year in order to strengthen the cultivation and aquaculture of this species hydrobiological.

GLOSARIO

***Lutjanus guttatus*:** Especie íctica de la costa Pacífica Colombiana, conocida comúnmente como pargo lunarejo que se caracteriza por presentar una mancha oscura en el dorso.

Palangre pelágico: Línea de polipropileno de 500 m de largo y media pulgada de espesor, suspendida mediante boyas a 5,0 m de la superficie; de la cual cuelgan líneas secundarias o cadenas separadas, girador provistos cada uno de anzuelo.

Gónada: Glándula productora de los gametos o células sexuales (óvulos y espermatozoides) a partir de epitelios germinativos.

Ovogénesis: Proceso de desarrollo del oocito hasta generar una célula más ápta para la fecundación denominada óvulo.

Espermatogénesis: Proceso de formación y desarrollo de los espermatozoides.

Hormona: Sustancias producidas por la actividad de glándulas endocrinas y vertida a la sangre en mínimas cantidades con el fin de controlar los procesos metabólicos, crecimiento, desarrollo sexual o reproducción.

Inducción hormonal: Proceso artificial de maduración gonadal, mediante la inyección de hormonas o modificación de las condiciones físico químicas del agua.

Gonadotropina Coriónica Humana: Hormona de acción FSH y LH, producida por la placenta y obtenida comercialmente a partir de la orina de mujer embarazada.

Biopsia ovárica: Método para determinar el grado de madurez de la hembra, basado en la extracción de una muestra de oocitos, con una cánula o sonda flexible que se introduce por el poro genital de las hembras.

Inyección intraperitoneal: Aplicación de un químico en la cavidad abdominal del pez.

Desove natural: Liberación espontánea de los oocitos que ocurre cuando el ovario está maduro.

Ovulación: Proceso de liberación o desprendimiento del óvulo de su folículo o membrana hacia la cavidad ovárica o peritoneal.

Fecundación: Unión o singamia de los gametos masculino y femenino después de la liberación de estos por parte de los reproductores.

Tiempo de desove: Período que transcurre entre la maduración de los ovarios y la liberación de los óvulos.

Fecundidad relativa: Número de huevos producidos por unidad de peso en ejemplares maduros.

Fertilidad: Potencial reproductivo de un organismo o población medido por la capacidad de producir descendencia viable.

Eclosión: Momento en el que el embrión rompe y abandona el corion o membrana y sale del huevo.

INTRODUCCION

En Colombia, la acuicultura ha experimentado un gran auge en la última década, debido a los recursos económicos y humanos que se han orientado a la investigación, al desarrollo de tecnologías y a la explotación intensiva de especies ícticas foráneas como la tilapia (*Oreochromis sp.*), cachama (*Colossoma sp.*), trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) y crustáceos como el camarón (*Litopenaeus vannamei*).

Sin embargo, López,⁴ afirma que los peces nativos dulceacuícolas no han registrado en condiciones de cultivo incrementos de pesos similares a las especies exóticas. Por esta razón, es importante evaluar peces marinos como el pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*), el cual según Vasquez,⁵ se ubica dentro del grupo de organismos con mayor potencial de cultivo en latitudes tropicales y subtropicales. Su desarrollo es posible debido a las características de adaptabilidad a condiciones de cautiverio, madurez gonadal temprana, períodos reproductivos largos y alta fecundidad. Igualmente, las condiciones organolépticas, de consistencia, blancura y sabor del filete se refleja en gran aceptación por parte de los consumidores y buen precio en el mercado internacional de cuatro dólares la libra.

El cultivo de esta especie se justifica si se considera la disminución creciente de la tasa de extracción pesquera nacional que disminuyó a 53% en 2006 reportada

⁴ LOPEZ, Jorge. Nutrición acuícola. Colombia: Universidad de Nariño, Facultad de Zootecnia. Pasto, 1997. p. 20.

⁵ VASQUEZ, O. A review of potentially cultivable marine species in Latin American waters. Coquimbo: s.n.e. 1988. p. 33.

por la Corporación Colombiana Internacional (CCI)⁶. Por tanto, es necesario determinar la potencialidad acuícola de este organismo hidrobiológico, estudiando su ciclo de vida e implementando las técnicas para lograr la maduración y reproducción en cautiverio que permita la producción de semilla de excelente calidad con fin de lograr su cultivo en recintos artificiales y la repoblación en cuerpos de agua naturales.

La maduración artificial en condiciones de cautiverio, se puede lograr mediante la aplicación de hormonas como la Gonadotropina Coriónica Humana (HCG). Sin embargo, es necesario evaluar la dosis adecuada desde el punto de vista económico, fisiológico para cada especie y obtener éxito en la maduración evitando gastos innecesarios de hormona que se verán reflejados en los costos de producción. De la misma manera, se pretende analizar parámetros reproductivos y biométricos como peso, longitud total, tamaño del huevo, fecundidad, fertilización, eclosión y características del semen en *L. guttatus* con el propósito de establecer el protocolo óptimo de maduración artificial y reproducción de esta especie en condiciones de cautiverio.

⁶ COORPORACION COLOMBIANA INTERNACIONAL (CCI). Pesca y Acuicultura. Bogotá, 2006.

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

La acuicultura es la industria pecuaria que en términos proporcionales ha presentado el mayor desarrollo en la última década y en Colombia registró crecimientos superiores al 20% anual de tal manera que la producción acuícola durante el 2006 fue de 25.672 toneladas⁷. Esto se explica por la riqueza hídrica, diversidad íctica, variedad de climas, suelos, cultivos y el hecho de ser Colombia un país tropical con costas sobre dos océanos. No obstante, el desarrollo de la piscicultura marina ha sido muy limitado si se compara con otros organismos hidrobiológicos o con la piscicultura de aguas dulces, debido a que el cultivo de estas especies a partir de alevinos capturados del medio natural es incierto y la dificultad de reproducir los peces en condiciones de cautiverio, hacen necesario implementar un sistema artificial de reproducción que garantice a los piscicultores un suministro permanente de larvas. La aplicación de gonadotropinas de mamíferos, especialmente HCG, ha sido efectiva en inducir al desove de organismos tropicales.

Sin embargo, la molécula de HCG es diferente químicamente a la hormona FSH producida por los peces y no ha sido igualmente efectiva en todas las especies ícticas, aplicando dosis muy altas, con márgenes de seguridad estrechos que se reflejan en; hemorragias, desoves parciales, obstrucción del poro genital, etc. y resultados negativos, tanto por la mala calidad de los huevos como por causar daños e incluso mortalidad en los reproductores. Por lo anteriormente expuesto, se debe establecer la dosis óptima de aplicación de HCG en reproductores de *Lutjanus guttatus* que asegure la máxima fertilidad de los oocitos.

⁷ COLOMBIA, MINISTERIO DE AGRICULTURA, DESARROLLO RURAL Y CORPORACION COLOMBIA INTERNACIONAL. Sistema de Información para la estimación de la Oferta Agropecuaria: Documento de resultados de la actividad piscícola en Colombia semestre 2006. 2006. p.10.

2. FORMULACION DEL PROBLEMA

¿Cuál es la respuesta reproductiva del pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) a diferentes dosis de la hormona Gonadotropina Coriónica Humana?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto de la hormona Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) a diferentes dosis, en la maduración inducida del pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*, Stendaichner, 1869) en condiciones de cautiverio, en la Estación Acuícola Bahía Málaga Buenaventura.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los valores promedios de longitud total, estándar y peso de los reproductores susceptibles a inducir.
- Establecer la dosis óptima para lograr la mejor producción de óvulos viables.
- Cuantificar el número promedio de óvulos producidos y el tiempo de desove, registrando el diámetro promedio de los oocitos antes y después de la inducción hormonal.
- Calcular el porcentaje de fertilidad y eclosión de cada tratamiento.
- Realizar la evaluación cualitativa y cuantitativa del semen de pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*).
- Describir el desarrollo embrionario y larval en las primeras horas de incubación.
- Desarrollar, un análisis parcial de costos para definir el mejor tratamiento experimental

4. MARCO TEÓRICO

4.1 BIOLOGIA DE LOS LUTJANIDOS

Según Rubio⁸, el "pargo" como se les denomina a los miembros de esta familia están distribuidos alrededor del mundo y habitan las aguas cálidas tropicales, hoy en día son conocidas mas de 240 especies distribuidas en 25 géneros, la mayoría de las cuales son apreciadas por su excelente carne. En el Pacífico Colombiano se han identificado 10 especies pertenecientes a tres géneros, siendo el género *Lutjanus* el más abundante con ocho especies.

El mismo autor manifiesta que la familia Lutjanidae constituye uno de los grupos más importantes de organismos en los arrecifes de coral. Estos peces viven cerca del fondo, solitarios o en agregaciones de tamaños variables y se pueden encontrar desde aguas superficiales de bahías, zonas estuarinas, sobre fondos arenosos, fangosos, rocosos y coralinos hasta mar abierto.

Para Rubio⁹, el pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) es conocida en el Pacífico Americano desde el Golfo de California hasta Huacho (Perú). En Colombia se ha colectado en Isla Gorgona (Muelle, Horno, Playa Blanca), Ensenada de Tumaco, Bahía Guapi, Punta Coco, Golfo de Tortugas, Yurumanguí, Río Raposo, Bahía de Buenaventura (Punta Limones, Soldado), Bahía Málaga, Boca Charambirá, Cabo Manglares, Ijua, Ensenada de Docampo y Pichima; a profundidades de hasta 30 m. Allen¹⁰ determinó que los pargos son depredadores activos y se alimentan durante la noche de una gran variedad de organismos, principalmente de crustáceos y peces.

⁸ RUBIO, Efraín. Peces de importancia comercial para el Pacífico Colombiano. Cali, Colombia: Universidad del Valle, CIME, 1988. p. 117.

⁹ Ibid., p. 118.

¹⁰ ALLEN, George. Snappers of the World: An annotated and illustrated catalogue of Lutjanid species know to date. USA: FAO Fish Synopsis, 1985. p. 208.

Rojas¹¹ estableció que los organismos de *L. guttatus* menores de 20,0 cm consumen especialmente camarones; en individuos con tallas comprendidas entre 20,0 y 50,0 cm el espectro alimenticio se diversifica hacia el consumo de peces, moluscos, estomatópodos, poliquetos, equinodermos y cangrejos; finalmente la dieta de los organismos de talla superior a 52,0 cm está compuesta por estomatópodos. Al inicio de la actividad reproductiva se observa un descenso marcado en la intensidad de alimentación.

De acuerdo con Rojas¹², el pargo lunarejo (*L. guttatus*) se caracteriza por su importancia comercial a pesar que solo alcanza una longitud de 80,0 cm. El mismo autor, establece que esta especie posiblemente sea gregaria, con una distribución espacial aleatoria dentro de un área que podría estar definida esencialmente por la distribución y demanda de alimento más que por algún comportamiento social. Se adaptan fácilmente a condiciones de cautiverio y alimento artificial granulado¹³.

Rubio¹⁴ manifiesta que esta especie se caracteriza por la forma triangular y el perfil de su cabeza, sus mandíbulas fuertes y armadas con caninos. En la cabeza posee manchas y líneas discontinuas azuladas, flanco carmín claro, una gran mancha negra en el dorso, aletas a veces rojas, excepto la anal y las pélvicas que son doradas.

Yañez¹⁵ afirma que el cuerpo de *L. guttatus* es alargado y comprimido con la región dorsal moderadamente alargada, hocico puntiagudo; boca grande casi horizontal, la mandíbula inferior ligeramente proyectada, el maxilar pasa levemente el margen anterior de la pupila; dientes en bandas viliformes, cuatro caninos en la parte anterior de la mandíbula superior, los dientes de la lengua y palatinos muy pequeños, los vomerinos sobre un parche relativamente ancho y con una prolongación media muy corta hacia atrás. Además, posee de 47 a 54

¹¹ ROJAS, Mario. Fecundidad y época de reproducción "pargo mancha" *Lutjanus guttatus* (Pisces: Lutjanidae) en el Golfo de Nicaya. En: Revista de biología tropical. Costa Rica: s.n.e., Vol. 3, No. 44 (Julio, 1997). p. 447.

¹² Ibid., p. 447.

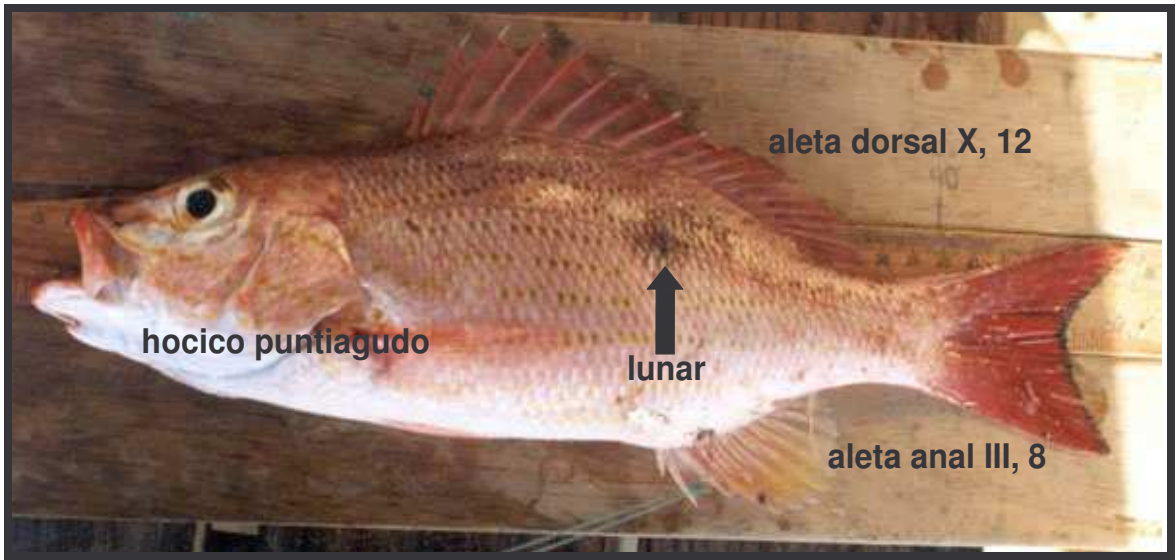
¹³ GARCIA, Guillermo. Reproducción controlada del pargo manchado (*Lutjanus guttatus*) en condiciones de laboratorio. México: s.n.e., 1983. p. 38 (Fotocopias)

¹⁴ RUBIO, Op. cit., p. 118.

¹⁵ YAÑEZ, Alejandro. Taxonomía, ecología y estructura de las comunidades de peces en lagunas costeras con bocas efímeras del Pacífico de México. En: Publicaciones especiales Centro de Ciencias del mar y Limnología. México: Universidad Nacional Autónoma de México, Vol. 5, No. 10 (Octubre, 1977). p. 15.

escamas en una serie longitudinal por sobre la línea lateral, branquiespinas numerosas de 10 a 11 sobre la rama inferior del primer arco. La aleta dorsal tiene 10 espinas con 12 radios y la aleta anal tres espinas y ocho radios (Figura 1).

Figura 1. Características morfológicas del pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*)



4.1.1 Clasificación taxonómica. Guzmán¹⁶ sostiene que el pargo lunarejo (*L. guttatus*) presenta la siguiente clasificación taxonómica.

Reino	Animal
Phylum	Chordata
Subphylum	Vertebrata
Superclase	Pisces
Clase	Osteichthyes
Subclase	Actinopterygii
Orden	Perciformes
Suborden	Percoidae
Familia	Lutjanidae
Genero	Lutjanus
Especie	Guttatus
Nombre vulgar	Pargo manchado Pargo lunarejo

¹⁶ GUZMAN, Edgar. Aspectos generales sobre el cultivo de juveniles de pargo manchado (*Lutjanus guttatus*) utilizando alimento granulado en condiciones naturales. En: Núcleo Náutico Pesquero. Costa Rica: Instituto Nacional de Aprendizaje, Vol. 2, No. 13 (Mayo, 2000). p. 52.

4.2 INFLUENCIA AMBIENTAL EN LA REPRODUCCION

Carrillo, et al citados por Ortega y Rodríguez ¹⁷ comprobaron que las periodicidades medioambientales influyen en diversas actividades biológicas de los peces presentadas en determinados meses del año, que posibilitan el éxito de la adaptación. Los factores ambientales que mayor influencia ejercen en la reproducción son:

➤ **Lluvias.** En el caso de la reproducción en la zona tropical, las lluvias, es uno de los factores que inician los eventos reproductivos, debido a que en esta época el agua y los alimentos variados se encuentran en mayores cantidades, lo que asegura la sobrevivencia de los alevinos. Para Alonso e Ibarra¹⁸, la lluvia está relacionada con cambios en la intensidad lumínica y temperatura.

➤ **Fotoperíodo.** Como afirman Woynarovich y Carolsfeld citados por Alonso e Ibarra¹⁹, la luz actúa sobre la retina o la glándula pineal, produciendo la secreción de melanina que regula la liberación de la GnRH (hormona liberadora). Para Carvajal²⁰, el fotoperíodo es crítico en especies que habitan en altas o bajas latitudes, donde el fotoperíodo es variable a lo largo del año y la ovulación se encuentra sincronizada con estos cambios. En especies que desovan en primavera o a inicios de verano, el desarrollo gonadal es estimulado por largos fotoperíodos generalmente combinados con elevadas temperaturas. Por el contrario, las especies que desovan en otoño o en principios de verano, un

¹⁷ ORTEGA, Alba Lucy y RODRIGUEZ, Carlos Julio. Evaluación comparativa del efecto del extracto pituitario de carpa (EPC) y gonadotropina coriónica humana (HCG) en la reproducción inducida del bagre del patia (*Rhamdia quelen*) en condiciones de cautiverio. Trabajo de grado (Ingeniero en Producción Acuícola). Pasto, Colombia: Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Ingeniería en Producción Acuícola. 2004. p. 27.

¹⁸ ALONSO, Juan e IBARRA, Sandra. Ensayos de reproducción inducida en el mapurito *Callophysus macropterus*, 1819 (Siluriformes, Pimelodidae). Trabajo de grado (Biólogo marino). Bogotá, Colombia: Fundación Universitaria de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Facultad de biología Marina. 1991. p. 21.

¹⁹ Ibid., p. 14.

²⁰ CARVAJAL, Miguel. Inducción a la maduración y desove del róbalo (*Centropomus nigrescens*) en cautiverio mediante la utilización de las hormonas HCG (Gonadotropina Coriónica Humana) y LHRHa (Luteinizing Hormone Releasing Hormone Ethylamide). Trabajo de grado (Acuicultor). Guayaquil, Ecuador: Escuela Superior Politécnica del Litoral, Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar. 1997. p. 10.

fotoperíodo corto a menudo favorece el ciclo reproductivo como en el caso de los salmonidos.

➤ **Sustratos de desove.** Es importante en la regulación de la ovulación principalmente por la especificidad de los requerimientos de sustrato y su distribución espacio-temporal. De tal manera que la presencia de vegetación acuática, estimula la respuesta ovulatoria de peces cuyos huevos son del tipo adhesivos.

➤ **Señales químicas.** Ayudan a que se desarrolle normalmente el ciclo reproductivo de algunas especies. Estas señales se transmiten en el medio a través de sustancias químicas llamadas en general semioquímicos, que interactúan entre individuos de diferente especie, siendo conocidas en este caso como alomonas ó si la interacción ocurre entre individuos de la misma especie son conocidas como ferohormonas.

➤ **Contaminación.** Alonso e Ibarra²¹ manifiestan que la contaminación ambiental tiene funestos efectos sobre los componentes del ecosistema que intervienen en el proceso reproductivo; los principales contaminantes que afectan el sistema acuático son: metales pesados, pesticidas e irradiación.

➤ **Estrés.** Los mismos autores argumentan que el grado de tensión (estrés) puede inhibir o estimular el proceso reproductivo (dependiendo de la especie, grado de maduración y tipo o amplitud del estrés) puesto que los niveles de gonadotropina aumentan bajo ciertas condiciones con el nivel de tensión, produciendo un efecto directo o un desbalance hormonal.

➤ **Nutrición.** Donaldson y Hunter²² sustentan que una buena alimentación desde estadios juveniles, producen un mayor tamaño de los individuos, incrementando el tamaño de las gónadas, obteniéndose así una mayor fecundidad. Una alimentación pobre puede reducir la sensibilidad al crecimiento del oocito y en algunas ocasiones puede iniciar la regresión gonadal.

²¹ ALONSO e IBARRA, Op. cit., p. 14.

²² DONALDSON, E.M. and HUNTER, G.A. Induced final maturation, ovulation, and spermiation in cultured fish. In HOAR, W.S., RANDALL, D.J. & DONALDSON, E.M. USA: Fish Physiology, Vol. 9, No. 7 (July, 1983). p. 10.

➤ **Interacciones de comportamiento.** Alonso e Ibarra²³ afirman que la Interacción comportamental entre el macho y la hembra antes del desove pueden actuar como estímulo social para la maduración gonadal. Se tiene poca información sobre la maduración gonadal al agrupar diferentes densidades de machos y hembras. Un mejor entendimiento de estos factores ecológicos y fisicoquímicos puede mejorar las técnicas de reproducción y reducir el uso de hormonas comerciales.

4.3 FISIOLÓGIA REPRODUCTIVA

A pesar de su importancia comercial poco se sabe acerca de la fisiología reproductiva del pargo lunarejo (*L. guttatus*). La reproducción de los peces tropicales presenta particularidades adaptativas íntimamente relacionadas con las condiciones de su medio (temperatura estable, prolongado fotoperíodo, aguas pobres en nutrientes, baja productividad, etc).²⁴

El mismo autor plantea que muchas especies de peces de arrecifes tropicales sincronizan su reproducción realizando migraciones a aguas más profundas o cercanas al borde de las plataformas insulares continentales; así como a áreas detalladas dentro de los mismos arrecifes para desovar. En el caso del pargo lunarejo migra hacia zonas específicas casi al borde de la plataforma insular en ocasiones formando grandes agregaciones. Estos permanecen en el sitio por varios días, durante los cuales pueden realizar eventos de apareo, los huevos son expulsados al medio directamente en la columna de agua dispersándose positivamente a merced de las corrientes marinas llevando a cabo la fertilización externa, al terminar el proceso reproductivo emprenden el regreso y se dispersan hacia sus respectivas áreas de refugio.

Rojas²⁵ manifiesta que el pargo lunarejo (*L. guttatus*) presenta prolongado período de desove con dos picos reproductivos principales, uno en el mes de abril y otro más en el mes de octubre. Cruz-Romero²⁶ determinó dos picos reproductivos para esta especie, uno durante la época de lluvias que coincide con la presencia de temperaturas altas (julio - noviembre) y otro más corto de febrero a abril.

²³ ALONSO e IBARRA, Op. cit., p. 22

²⁴ GARCIA, Op. cit., p. 38

²⁵ ROJAS, Op. cit., p. 449.

²⁶ CRUZ-ROMERO. Aspectos biológicos y pesqueros de tres especies de Lutjanidos. Colima-México: Reporte técnico del CRIP de Manzanillo, Colima. I.N.P., 1988. p. 1.

Claro²⁷ establece que esta especie es heterosexual y no es posible diferenciar los machos de las hembras por morfología externa ni por coloración. Los sexos solo se pueden diferenciar mediante inspección gonadal, ya que la forma, el tamaño, la textura y el color de las gónadas son distintos.

Rubio²⁸ sostiene que los atributos reproductivos que presenta parecieran indicar que esta especie sigue una estrategia reproductiva que combina una madurez gonadal temprana que inicia a los dos años de edad con periodos reproductivos largos, alta fecundidad y la producción de huevos de pequeño diámetro. Asume una relación de sexos 1:1.

4.3.1 Sistema reproductor en peces. Zanuy y Carrillo²⁹ corroboran que el desarrollo de las gónadas de los vertebrados está ligado al desarrollo del sistema renal. Embriológicamente, el testículo y el ovario tienen un origen distinto, formándose a partir de dos proliferaciones celulares embrionarias diferentes pero estrechamente ligadas. La proliferación más lateral o cortex dará lugar al ovario; la médula o porción medular dará lugar a los testículos. Las gónadas de los teleósteos y de los ciclóstomos derivan de un solo primordio germinal. En estos dos tipos de peces las gónadas se desarrollan a partir del epitelio peritoneal. Este tipo de organización podría ser la responsable de la existencia de un patrón sexual tan diverso entre los teleósteos, principalmente entre los perciformes donde prácticamente se encuentran todos los tipos de sexualidad conocidos.

Los mismos autores manifiestan que *L. guttatus* es una especie con sexos separados (gonocórica) que presenta los tipos de células gonadales y la morfología funcional de las gónadas comunes en los teleósteos, tanto en machos como en hembras las gónadas son pares, lobuladas y de textura granulosa.

²⁷ CLARO, Reinald. Ecología y ciclo de vida de la rabilubia *Ocyurus chrysurus* (Bloch) en la plataforma cubana. Reporte Oceanológico. La Habana: Academia de Ciencias de Cuba, 1983. p. 15.

²⁸ RUBIO, Efraín. Aspectos sobre el crecimiento y ciclo sexual del *Lutjanus guttatus* (Pises: Lutjanidae: Perciformes) en Bahía Málaga, Pacífico de Colombia. Colombia: Congreso Centroamericano y del Caribe en ciencias del mar, 1993. p. 180.

²⁹ ZANUY, Silvia y CARILLO, Manuel. La reproducción de los teleósteos y su aplicación en acuicultura. En: Reproducción en Acuicultura. Madrid: J Espinosa de los Monteros y U laberta, comisión asesora de Investigación Científica y Técnica (CAICYT), 1987. p. 83.

➤ **Gónadas del macho.** Zanuy y Carrillo³⁰ afirman que los testículos son dos sacos de color blanquecino en posición ventral a la columna vertebral y a la vejiga hidrostática, su peso representa aproximadamente el 12% de la masa total de los peces teleósteos. En el interior del testículo existe una gran cantidad de túbulos llamados túbulos seminíferos que se comunican con el conducto deferente en el que termina el poro genital situado dentro de la papila urogenital. Según las especies, la estructura testicular varía, los dos tipos más comunes son el lobular y el tubular. Arellano³¹ sostiene que los machos de pargo lunarejo (*L. guttatus*) son de tipo tubular, la distribución de las espermatogonias es del tipo no restringido y se distinguen cistos en los cuales el desarrollo espermatogénico es sincrónico. Además, presentan en sus gónadas dos zonas, paralelas entre si. En la primera, las células gaméticas se encuentran desde las primeras fases de desarrollo hasta el desove, en la segunda zona, las células gaméticas están en fase de reposo tal vez próximos a madurar.

❖ **Descripción de los estadios del desarrollo gonádico en machos de pargo lunarejo (*L. guttatus*).** Rojas³² propone seis estadios para el desarrollo gonádico en machos de pargo lunarejo

- **Estadio I.** Testes de color blanco, en forma de “v” irregular ya que uno de los lóbulos es mayor que el otro (únicas diferencias con hembras vírgenes). Forman dos comisuras a lo largo de la cavidad corporal y ocupan aproximadamente 1/16 de esta.

• **Estadio II Testes maduros o en reposo.** Son de color blanco, opaco, delgados, es difícil individualizar a simple vista los lóbulos, al oprimirlos no sale semen, los testes son flácidos.

• **Estadio III Testes en desarrollo.** Testes de color blanco, alargados y de igual tamaño, si se oprime fuertemente fluye semen; ocupan 1/3 de la cavidad corporal. Al tacto se sienten fuertes, turgentes.

³⁰ ZANUY Y CARRILLO, Op. cit., p. 84.

³¹ ARELLANO, Marcial. Ciclo reproductivo del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) en la costa de Guerrero. En: Revista de Biología Marina y Oceanografía. México: s.n.e., Vol. 1, No. 36 (Julio, 2001). p. 5.

³² ROJAS, Op. cit., p. 449.

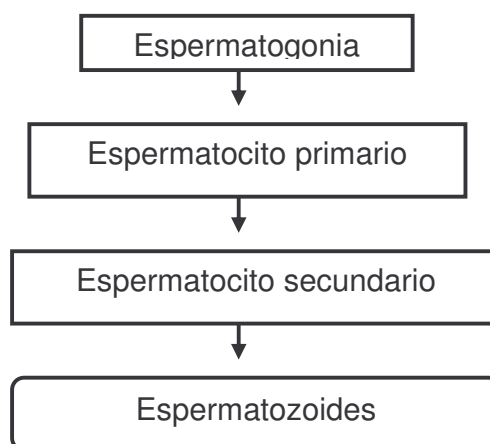
- **Estadio IV y V Testes maduros.** De color blanco, semen con apariencia espesa, son de mayor tamaño y ocupan la mitad de la cavidad corporal, son similares al estado anterior con la diferencia de que son de mayor tamaño, totalmente turgentes. Al presionar el abdomen sale gran cantidad de semen.

- **Estadio VI Testes eyaculados.** Testículos flácidos y grisáceos, al oprimirlos fluye semen en pequeña cantidad, en este estado las gónadas acumulan internamente gran cantidad de grasa y se aplanan.

- ❖ **Desarrollo de los espermatozoides.** El mismo autor señala que el proceso de desarrollo del espermatozoide (Figura 2) es menos complicado que el del huevo.

Las espermatogonias primitivas se propagan activamente por mitosis en la pared de los túbulos del testículo. A partir de las espermatogonias se desarrollan los espermatocitos primarios, cada uno de los cuales produce más tarde espermatocitos secundarios. Cada espermatocito secundario da origen a los espermatozoides. Los espermatozoides se acumulan en las cavidades de los túbulos del testículo y permanecen allí en estado de reposo hasta que las condiciones ambientales sean las adecuadas. En este momento, la hipófisis libera gonadotropina y el macho está listo para la eyaculación. Los espermatozoides que se hallan en el testículo están inmóviles y pueden fertilizar un huevo aunque estén en estado de reposo, pero adquieren motilidad tan pronto entran en contacto con el agua. El período de motilidad del esperma es muy corto y depende de la temperatura del agua. Los espermatozoides de los peces son muy pequeños, se calcula que en 1,0 cm³ de semen hay entre 10.000 y 20.000 millones, según su densidad.

Figura 2. Desarrollo del espermatozoide



➤ **Gónadas en la hembra.** Son dos sacos pareados, que cuando están maduros pueden ocupar hasta el 70% de la cavidad corporal de la hembra, se ubican ventralmente a la vejiga hidrostática y se continúa en el oviducto, en donde forma un solo conducto que sale al poro genital. En este caso, la comunicación directa del poro genital al ovario se conoce como condición cistoaria. El ovario tiene algunos vasos sanguíneos secundarios pero no es rico en capilares, ello significa que son los senos linfáticos los que desempeñan el papel principal del transporte de materias como hormona, lípidos, aminoácidos, oxígeno, dióxido de carbono, etc. entre la pared del ovario y las células huevo. Por lo general, el ovario está formado por septos transversales de tejido conectivo que contienen ovocitos en diferentes estados de desarrollo.³³

Según Zanuy y Carrillo³⁴, la parte interna del epitelio se pliega dando lugar a los pliegues ováricos que prácticamente obliteran a la cavidad ovárica. El epitelio germinal suele variar su grosor (altura epitelial) con la actividad sexual. Este epitelio germinal, parece también estar relacionado con la secreción del fluido ovárico, que a su vez permite que los oocitos ovulados mantengan su viabilidad durante un tiempo determinado y varía según la especie.

❖ **Descripción del estadio del desarrollo gonádico en hembras de pargo lunarejo (*L. guttatus*)** Rojas³⁵ propone seis estadios en el desarrollo gonádico para esta especie.

- **Estadio I.** Desarrollo gonadal incipiente. Ovarios pequeños, delgados, transparentes, muy juntos, de igual tamaño y se asemejan a una pequeña “v”, no hay formación de oocitos ni deposición de vitelo.

- **Estadio II Madurando o desovadas en reposo.** En este estadio comienza la deposición de vitelo. Ovarios de color amarillo, de tamaño similar, ocupan $\frac{1}{4}$ de la cavidad abdominal. Para diferenciar gónadas en estado II de gónadas en estado VI, se debe verificar la presencia de oocitos en reabsorción de diferentes diámetros (250 a 450 micras). Tanto en el estado II como en el VI la gónada se aprecia particularmente flácida.

³³ RODRIGUEZ, Martha. Técnicas de evaluación cuantitativa de la maduración gonádica en peces. México: AGT, s.f. p. 43. (Fotocopias).

³⁴ ZANUY y CARRILLO, Op. cit., p 80.

³⁵ ROJAS, Op. cit., p. 449.

- **Estadio III Ovarios en temprana madurez.** Gónadas de color naranja, cilíndricos, de igual tamaño y ocupan 1/3 de la cavidad abdominal. En hembras que van a desovar por primera vez los lóbulos gonadales se observan turgentes y los oocitos son esféricos, opacos y pueden distinguirse a simple vista, su diámetro promedio es de 380 micras.

- **Estadio IV y V Ovarios maduros y en desove.** Ovarios de color rojizo, fuertemente vascularizados, cilíndricos y compactos. Dependiendo del tamaño del pez, las gónadas en este estado pueden llegar a cubrir la mitad de la cavidad abdominal. Si se oprime el abdomen de la hembra sale una buena cantidad de oocitos hidratados de color rojo y amarillo, con un diámetro promedio de 400 micras.

- **Estadio VI Gónadas desovadas.** Ovarios flácidos, de color anaranjado opaco, en las paredes del lumen se encuentran vasos sanguíneos rotos y restos de oocitos de diferentes diámetros, la pared gonadal se presenta notoriamente vascularizada. Hembras en este estado pasan rápidamente al estado VI – II (desovadas en reposo), en el cual los ovarios se ven ligeramente recuperados, pero continúan flácidos.

❖ **Maduración final de los oocitos.** Durante la maduración final de los oocitos Rodríguez y Garza citados por Rodríguez³⁶ proponen los siguientes estadios básicos (Figura 3).

- **Estadio I.** Las células huevo primitivas (oogonias) son muy pequeñas. Se multiplican por mitosis. El núcleo del oocito es de posición central.

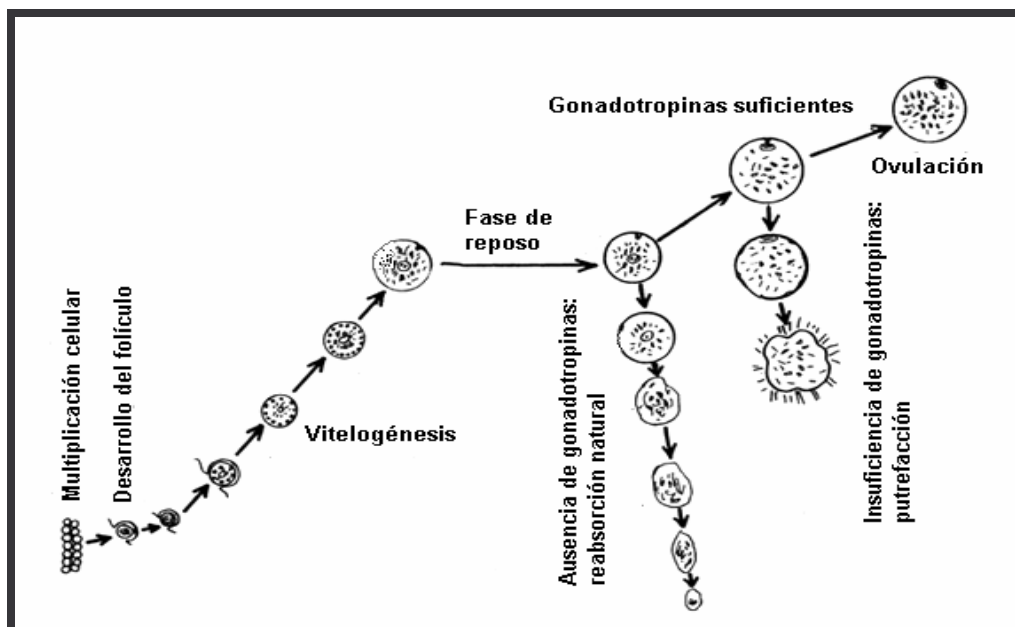
- **Estadio II.** Las células huevo crecen y alrededor de cada una de ellas empieza a formarse un folículo, cuya función es alimentar y proteger el huevo durante su desarrollo. El núcleo adquiere una posición excéntrica.

- **Estadio III.** Durante esta fase la célula huevo aumenta considerablemente de tamaño y queda encerrada en el folículo. El núcleo se encuentra cerca de la membrana celular.

³⁶ RODRIGUEZ, Op. cit., p. 44.

- **Estadio IV.** Durante esta fase comienza la producción y acumulación de vitelo, proceso conocido con el nombre de vitelogénesis. El huevo sigue creciendo y acumula en su protoplasma gotas de sustancias lipídicas. El núcleo está en el polo animal y ha perdido su membrana.
- **Estadio V.** Constituye la segunda parte de la vitelogénesis. El citoplasma está lleno de gotas lipídicas y empieza la producción de vitelo.
- **Estadio VI.** Es la tercera parte de la vitelogénesis, durante las cuales las placas de vitelo empujan las gotas lipídicas hacia los bordes de la célula donde empiezan a formarse dos anillos. Los nucléolos, que intervienen en la síntesis de la proteína y en la acumulación de nutrientes, pueden verse adheridos a la membrana del núcleo.
- **Estadio VII.** Durante este estadio se completa el proceso de vitelogénesis. Cuando termina la acumulación de vitelo, los nucléolos se retiran hacia el centro del núcleo y se desarrolla el micrópilo (pequeña abertura en la membrana del huevo).

Figura 3. Maduración final de los oocitos



RODRIGUEZ, Op. cit., p. 44.

El mismo autor afirma que los estadios IV, V, VI y VII son los estadios de vitelogénesis que comprende la incorporación de vitelo en los oocitos en desarrollo, se cree que este proceso está controlado por la gonadotropina baja en glucoproteínas. El vitelo se deposita en dos formas: vesículas de vitelo y gránulos de vitelo. La formación de vesículas de vitelo que ocurre primero, recientemente ha demostrado ser inducida por estrógenos; se cree que la formación de los gránulos se forma bajo la influencia de la pregnenolona. La síntesis de los precursores del vitelo se efectúa en el hígado y ha probado ser estimulada por los estrógenos.

Carvajal³⁷ sustenta que la vitelogénesis es la incorporación de vitelo a su citoplasma, material con proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos y lípidos, que sirven como fuente de energía durante el desarrollo embrionario. Para llegar a esta fase de desarrollo, los reproductores requieren de una dieta rica en proteína y temperaturas favorables.

❖ **Ovulación.** Zanuy y Carrillo³⁸ aseguran que la ovulación es la expulsión mecánica del oocito fuera del folículo y solamente ocurre después de una fase de desprendimiento entre el oocito y las células foliculares. Durante la ovulación las microvellosidades de las células del folículo y las del oocito se separan de la membrana o corion, este proceso de interrupción entre la membrana ovocitaria y las células foliculares, podrían estar dirigidos por enzimas proteolíticas. En la mayoría de los casos, la ovulación tiene lugar después de la primera división meiótica. Los oocitos ovulados continúan con la meiosis hasta la metafase, estado en el cual es posible la fertilización.

❖ **Procesos de atresia.** Los ovocitos vitelogénéticos se degeneran por un proceso denominado atresia en el inicio del cual el vitelo se contrae irregularmente, comenzando desde el borde de la zona radiata y se extiende hacia el centro, la zona radiata se rompe y el vitelo se fagocita por células de la capa granulosa que se hipertrofian y comienzan a desintegrarse³⁹.

³⁷ CARVAJAL, Op. cit., p. 20.

³⁸ ZANUY y CARRILLO, Op. cit., p. 82.

³⁹ LAJONCHERE, Luís y HERNANDEZ, Olga. Producción de juveniles de peces estuarinos para un Centro en América Latina y el Caribe: Diseño, Operación y Tecnología. México: Universidad Autónoma de Tabasco, 1994. p. 20.

4.4 ENDOCRINOLOGIA DE LA REPRODUCCION DE LOS TELEOSTEOS

Los factores del medio ambiente son los responsables de la inducción inicial del desarrollo gonadal. Las hormonas producidas por el sistema endocrino son las que controlan este proceso⁴⁰.

De acuerdo con Harvey y Carolsfeld⁴¹, cuando el ambiente circundante cambia favorablemente, el pez empieza a recoger, por medio de los órganos de los sentidos, toda información necesaria sobre las condiciones ambientales (por ejemplo temperatura, lugar adecuado para el desove, corriente de agua, presencia de peces de otro sexo, etc). Esta información sensorial se acumula en el hipotálamo del cerebro y al alcanzar un nivel determinado, el hipotálamo, mediante una hormona (hormona liberadora de gonadotropina, GnRH), ordena a la hipófisis que libere hormonas gonadotropicas (GtH) en el sistema sanguíneo. La gonadotropina así liberada llega a las gónadas y pone en movimiento el proceso de preovulación y ovulación final. La cascada fisiológica reproductiva del pargo lunarejo (*L. guttatus*) se presenta por la interacción epífisis, hipotálamo, hipófisis y gónadas para la segregación de hormonas, como lo explican Shepherd y Bromage⁴², en la Figura 4.

4.5 NEUROENDOCRINOLOGIA DE LA REPRODUCCION

De acuerdo con Zanuy y Carrillo⁴³, la reproducción es una actividad que involucra diversos factores fisiológicos, controlados por órganos específicos como son:

➤ **Glándula pineal.** Es una evaginación del diencéfalo ubicada en la superficie dorsal del cerebro, la cual utiliza la información para la sincronización del comportamiento diario y estacional de eventos fisiológicos, ya que actúa como un reloj endocrino y fisiológico que predispone al pez frente a condiciones óptimas de reproducción, tiene función sensitiva y neuroendocrina. Las células fotorreceptoras secretan indoloaminas tales como la serotonina y melatonina que en algunos teleósteos inhibe la reproducción.

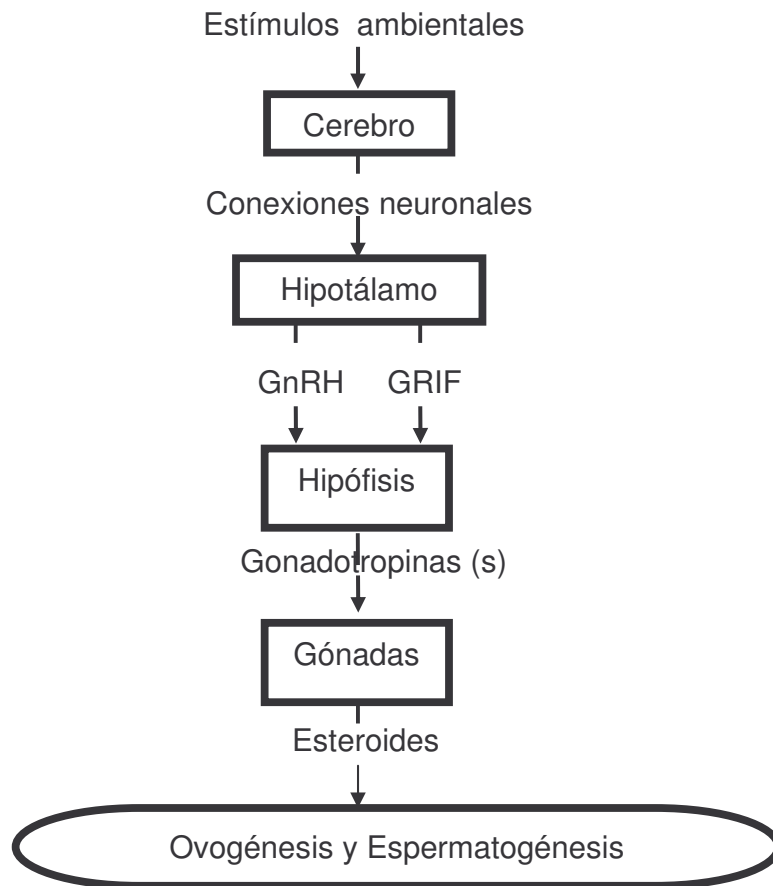
⁴⁰ SHEPHERD, C.J. and BROMAGE, N.R. Intensive fish farming. USA: s.n.e., 1988. p. 200.

⁴¹ HARVEY, B. and CAROLSFELD, J. Induced Breeding in Tropical Fish Culture. Ottawa: International Development Research Centre, 1993. p. 98.

⁴² SHEPHERD and BROMAGE, Op. cit., p. 201.

⁴³ ZANUY y CARRILLO, Op. cit., p. 84.

Figura 4. Enlaces neuro-endocrinos del eje Hipotálamo - Hipófisis-Gónada



SHEPHERD and BROMAGE, Op. cit., p. 201.

➤ **Hipotálamo.** Se encuentra en la región ventral del diencefalo con cuerpos neurales y función neurosecretora, posee receptores para la melatonina, esteroides sexuales y lugares con abundante presencia de inervaciones dopaminérgicas y factor liberador de gonadotropinas (GnRH); los cuales inhiben o estimulan la liberación de gonadotropinas (GtH) que actúan sobre la adenohipófisis. En diversas especies de peces de agua dulce hay evidencias de inhibición de hormonas gonadotropicas (GtH) por la dopamina, una neurohormona que ha sido considerada como el factor inhibidor de la liberación de gonadotropina, sin embargo en otras no se ha detectado efectos de inhibición de carácter práctico, especialmente en especies marinas.⁴⁴

⁴⁴LAJONCHERE y HERNANDEZ, Op. cit., p. 23.

El mismo autor manifiesta que el hipotálamo captura impulsos nerviosos del cerebro y lo transforma en mensajeros químicos, llamados hormonas liberadoras hipotalámicas (RH) o hormonas liberadoras de gonadotropina, las cuales regulan la reproducción, estimulando la liberación de gonadotropinas (GtH I y GtH II en peces).

4.6 REPRODUCCION INDUCIDA

Lajonchere y Berdayes⁴⁵ afirman que numerosas especies de peces de importancia comercial no se reproducen en cautiverio, por lo cual es necesario aplicar diversos métodos para inducir al desove, mientras que otros se someten a tratamientos para ejercer un mayor control del proceso e incrementar la eficiencia en el uso de las instalaciones. Los tratamientos pueden ser a base de las condiciones ambientales (Figura 5), incluyendo la alimentación, los cuales se denominan no invasivos o suaves, o por administración de sustancias para intervenir directamente en el proceso fisiológico de la reproducción, que se considera como invasivo o fuerte.

Los mismos autores sostienen que de acuerdo a la duración de los tratamientos y la obtención de los resultados deseados tanto en los tratamientos no invasivos como sobre todo los invasivos pueden agruparse en rápidos o agudos y en lentos o crónicos.

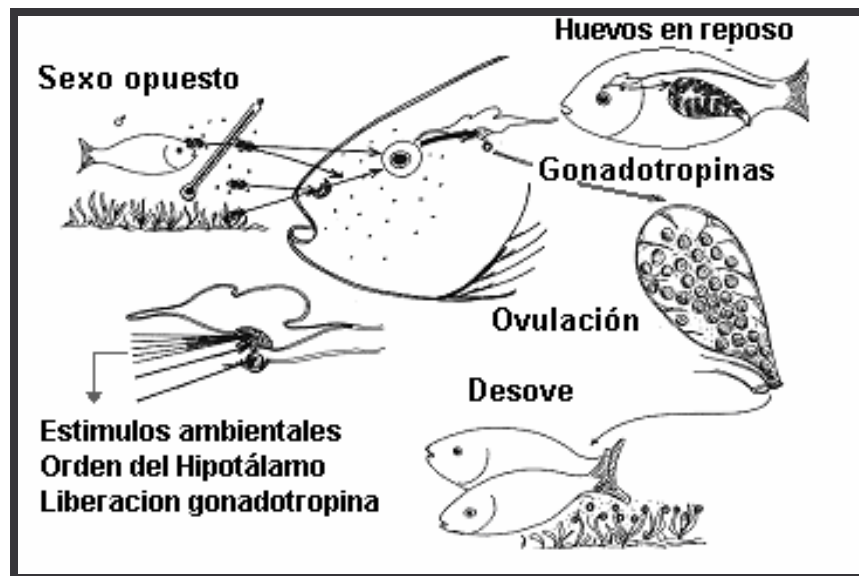
4.6.1 Desoves inducidos con tratamientos no invasivos de estimulación ambiental. Para lograr el desove y la fertilización natural, se requiere propiciar las condiciones ambientales para culminar la maduración de los gametos, la ovulación de las hembras, la espermiación de los machos, así como la expulsión sincronizada de los gametos al agua.

El desove natural es ventajoso en peces en los que la calidad de los huevos se deteriora rápidamente después de la ovulación, como sucede con muchos peces marinos tropicales y subtropicales⁴⁶.

⁴⁵ LAJONCHERE, Luís., BERDAYES, Arritola, Estudio preliminar sobre el desove inducido de lisas (Pisces: Mugilidae). Montería, Colombia: International Foundation for Science, 1981. p. 70.

⁴⁶ CLARO, Reinald. Ecología y ciclo de vida del caballero *Lutjanus griseus* (Linnaeus): Identidad, distribución, hábitat alimenticia y reproducción. La Habana: Academia de Ciencias de Cuba, 193. p. 30.

Figura 5. Desove natural



LAJONCHERE y BERDAYES, Op. cit., p. 70

4.6.2 Desoves inducidos con tratamientos invasivos. Algunas especies sólo pueden desovar con tratamientos invasivos hormonales y otras requieren de tales tratamientos fuera de la época natural de desove⁴⁷.

➤ **Tipo de tratamientos hormonales agudos por inyección.** Entre estos tratamientos se encuentra el uso de pituitarias, hormona Gonadotropina Coriónica Humana, hormonas liberadoras de gonadotropina, entre otras.

❖ **Pituitarias.** la inducción por hormonas exógenas del desove de peces en cautiverio, tuvo sus inicios en los años 30 con el desarrollo del método conocido como hipofisación. Que involucra la utilización de suspensiones o concentrados de glándulas hipófisis por su contenido de gonadotropina⁴⁸.

⁴⁷ LAJONCHERE y HERNÁNDEZ, Op. cit., p. 50.

⁴⁸ PATIÑO, R. Manipulations of the Reproductive System of Fishes by Means of Exogenous Chemical. Texas: Cooperative Fish and Wildlife Research Unit, 1995. p. 25.

Donaldson y Hunter⁴⁹ señalan que hasta mediados de la década de los 70, la inducción estaba limitada a la hipofisación. Sin embargo, la técnica presenta varias desventajas: falta de estandarización de las dosis utilizadas por cuanto las hipófisis son tomadas de peces con grado variable de madurez sexual reflejándose en la variación de la potencialidad de los extractos utilizados; presencia de otras hormonas en la hipófisis, que pueden inhibir o modificar el efecto de las gonadotropinas; requerimiento de una gran cantidad de peces donantes con menor o igual valor comercial que los reproductores a ser inducidos y en el caso de utilizar pituitarias heteroplásticas el pez al que se le suministra genera anticuerpos contra la gonadotropina inicialmente inyectada, lo que reduce considerablemente la efectividad de subsecuentes hipofisaciones, llegando incluso a ser totalmente inactivada la hormona por la reacción inmunizante del pez.

❖ **Hormonas liberadoras de gonadotropina.** Patiño⁵⁰ asegura que la LHRH es un decapeptido en cadena lineal que presenta en su estructura química diez aminoácidos esenciales. Según Donaldson y Hunter⁵¹, ha sido empleada en inyecciones para inducir la ovulación de teleósteos tales como *Plecoglossus altivelis*, *Carassius auratus*, *Ctenopharyngodon idellus*,

Los mismos autores manifiestan que la LHRH sufre degradación enzimática por lo que su vida media es menor a 30 minutos; debido a este problema, se intentó obtener compuestos sintéticos análogos que presenten un tiempo mayor de permanencia en el organismo. Estos nuevos compuestos presentan una actividad biológica 30 a 50 veces mayor que el LHRH por tener una lenta degradación en vivo y por poseer una mayor afinidad con los receptores específicos de la hipófisis.⁵²

❖ **Hormona gonadotropina de mamíferos.** Para Donaldson y Hunter⁵³, este tipo de gonadotropinas son de origen pituitario (hormona luteinizante y hormona folículo estimulante) o placentario (Gonadotropina Coriónica Humana). Harvey y

⁴⁹ DONALDSON and HUNTER, Op. cit., p. 20.

⁵⁰ PATIÑO, Op. cit., p. 27.

⁵¹ DONALDSON and HUNTER, Op. cit., p. 16.

⁵² ZOHAR, Y. Fish reproduction: its physiology and artificial manipulation. Florida, USA: SHILO, M. & Sarig, 1989. p. 65.

⁵³ DONALDSON and HUNTER, Op. cit., p. 18.

Hoar⁵⁴ aseguran que el mecanismo de acción de estas hormonas consiste en dirigirse a las gónadas actuando sinérgicamente con las gonadotropinas propias del pez, para inducir a la producción de esteroides sexuales que son los mediadores directos del desarrollo gonadal.

De las hormonas anteriormente mencionadas la que mejor resultados ha reportado es la hormona Gonadotropina Coriónica Humana (HCG), glicoproteína que se encuentra en grandes cantidades en la orina de la mujer durante los primeros meses del embarazo por el trofoblasto humano y después por la placenta pasando al torrente sanguíneo en cantidades que se incrementan al principio. La acción de la Gonadotropina Coriónica Humana, es mantener el cuerpo lúteo más allá de las dos semanas a las que se limita su existencia⁵⁵. Según Murad y Haynes⁵⁶, la HCG actúa directamente a nivel de las gónadas para inducir la maduración final de los ovocitos y su efecto es rápido, a menudo con una duración de tratamientos hasta la ovulación de menos de 24 horas.

Lajonchere y Hernández⁵⁷ afirman que la aplicación de gonadotropinas de mamíferos, especialmente HCG ha sido efectiva en inducir la maduración final de los ovocitos, así como la ovulación y desove en muchas especies de peces, su uso se comenzó a partir de la década de los 60. Luchini⁵⁸ manifiesta que la HCG presenta la ventaja de ser adquirida fácilmente en laboratorios farmacéuticos como un producto comercial con una cantidad estandarizada de gonadotropina y además tiene una larga vida útil cuando están congelados y se han logrado buenos resultados en muchas especies como: *Pimelodus clarias*, *Prochilodus sp.*, *Prochilodus reticulatus*, *Prochilodus platensis*, *Salminus maxillosus*, *Brycon morei*, *Dormitator latifrons*, *Centropomus undecimalis*, *Centropomus parallelus*, *Lutjanus griseus*, *Lutjanus argentiventris*, *Epinephelus microdon*, *Epinephelus striatus*, entre otros

⁵⁴ HARVEY, B.J. y HOAR, W.S. Teoría y práctica de la reproducción inducida en los peces. México: Centro Internacional de Investigaciones para el desarrollo, 1979. p. 30.

⁵⁵ OROZCO, Nydia; RIVERA, Ricardo. Efecto de la gonadotropina coriónica HCG (primogonyl) en la reproducción inducida de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). Trabajo de grado (Zootecnista). Pasto, Colombia: Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Zootecnia. 1983. p. 12.

⁵⁶ MURAD, F. y HAYNES, R. Hormonas y antagonistas hormonales. Cuba: GILMAN, A. & GOODMAN, 1981. p. 30.

⁵⁷ LAJONCHERE y HERNÁNDEZ, Op. cit., p. 60.

⁵⁸ LUCHINI, Laura. Revisión y compilación sobre técnicas de reproducción inducida. En: Boletín de Red regional de acuicultura. Bogotá, Colombia: s.n.e., Vol. 4, No. 1 (Mayo, 1990). p. 5.

4.7 PROTOCOLO DE LA REPRODUCCION INDUCIDA

Para la reproducción controlada de peces es importante el conocimiento de los aspectos fundamentales de la biología y muy especialmente los relacionados con la maduración sexual (gametogénesis), la ovulación, el desove (ovoposición), edad, tamaño a la madurez sexual y fecundidad; así como las características de las áreas de desove y los que rodean a las larvas de las especies que se traten. Por esta razón, es importante considerar los siguientes aspectos:

➤ **Origen de los reproductores.** Los reproductores que son utilizados para el desove, según la especie de que se trate, tienen dos orígenes posibles: capturados directamente del medio natural y/o procedentes de un banco en cautiverio, criados a tal efecto. Por la experiencia mundial, la vía fundamental debe ser la segunda aunque se requiere disponer de la primera para su utilización en alguna época del año. En general, se debe contemplar una renovación anual de un 25 a 36% del banco con animales de reemplazo que deben crecer en las instalaciones. En algunas especies se prefiere animales salvajes para acondicionarlos al cautiverio por un mínimo de un año, debido a que los criados pueden mostrar desventajas como la consanguinidad e índices reproductivos bajos debido a las condiciones de cría inadecuadas⁵⁹.

➤ **Reproductores del medio natural (salvajes).** Según Moretti, et al⁶⁰, es recomendable que las especies salvajes se condicionen al cautiverio por lo menos con seis meses de antelación al período en que se requieren emplearse como reproductores. El mismo autor, asegura que los reproductores después que se saquen del agua deben colocarse en el tanque de traslado preferiblemente, de tal forma que se disminuya al máximo la manipulación. Desde la captura hasta la llegada al centro, no debe transcurrir más de cuatro horas. Los reproductores deben pasar una selección por posibles heridas y otros daños sufridos durante la captura y manipulación, así como su desarrollo sexual.

⁵⁹ Servizi Tecnici in Maricoltura. Brief Manual for Hatchery Procedures for the Production of Sea bass and Sea Bream Fry. Padova: s.n.e., 1989. p. 18.

⁶⁰ MORETTI, A., FERNANDEZ, M., CITTOLIN, G., GUIDASTRI, R. Manual on Hatchery Production of Seabass and Gilthead Seabream. USA: s.n.e., 1999. p. 52.

➤ **Manipulación de los reproductores.** Mylonas, et al⁶¹ sostienen que entre los aspectos importantes a tener en cuenta en el mantenimiento y manipulación de reproductores están:

- Uso de técnicas de captura eficientes
- Desarrollo de bancos de reproductores con animales más dóciles
- Uso de anestésicos efectivos y seguros
- Aplicar técnicas no invasivas en los tratamientos de inducción
- Buena alimentación
- Utilizar métodos de determinación del sexo y desarrollo sexual no invasivos (suaves) y efectivos, preferiblemente dentro del agua
- Realizar las determinaciones del peso y longitud indispensable

Hawkins⁶² señala la importancia de evitar sonidos fuertes y vibraciones en las proximidades de los tanques, ya que las vibraciones se transmiten al agua a través del suelo y los soportes de los tanques.

Asimismo, Lajonchere y Hernández⁶³ exponen que el estrés de la captura y la manipulación afecta mucho por alterar los parámetros sanguíneos (entre ellos las concentraciones hormonales y disminución de vitelogenina), el hipotálamo y la pituitaria, con las correspondientes afectaciones de los niveles sanguíneos de gonadotropina, esteroides y la hormona del estrés (el cortisol), así como alteraciones de conducta, intervalos de desove irregulares, etc. Para Tamaru⁶⁴, los efectos del estrés pueden presentarse como pérdida de apetito, atresia en los

⁶¹ MYLONAS, C.; TABATA, Y.; LANGER, R.; ZOHAR, Y. Preparation and evaluation of *Polyanhydride microspheres* containing gonadotropin-releasing hormone (GnRH), for inducing ovulation and spermiation in fish. USA: J. Controlled Release, 1995. p. 25.

⁶² HAWKINS, Anthony. Aquarium design. London: Hawkins, 1981. p 30.

⁶³ LAJONCHERE y HERNÁNDEZ, Op. cit., p. 40.

⁶⁴ TAMARU, Carlstrom. Induced final maturation and spawning of the marbled groupers *Epinephelus microdon* captured from spawning aggregations in the Republic of Palau Micronesia. In Journal of the World. USA: Aquaculture Society, Vol. 4, No. 27 (October, 1996). p. 364.

ovocitos, huevos de menor tamaño y pérdida en su calidad que causan disminuciones en porcentajes de individuos maduros, de fertilización, de eclosión y habilidad de las larvas, por lo que se afectan los tratamientos, que pueden ser los adecuados y sin embargo dar los peores resultados

➤ **Diagnóstico del estado de madurez gonadal.** Para llevar a cabo la evaluación de los reproductores Lajonchere y Hernández⁶⁵ proponen realizar en primer lugar una diferenciación del sexo seguida de una determinación del desarrollo gonadal tanto en machos como en hembras.

❖ **Diferenciación del sexo.** La presencia de estructuras externas bien marcadas que diferencien los sexos no es usual en teleósteos. Sin embargo, en los adultos maduros se presentan caracteres sexuales secundarios generalmente de forma no permanente; en tales casos se los utiliza para diferenciar los sexos y separarlos para los trabajos de reproducción controlada.

En diversas especies es posible diferenciar los sexos por observaciones de tamaño, coloración, longitud de aletas, rugosidad de partes duras como opérculos, radios espinosos y por los caracteres anatómicos de la región anal en relación con las aberturas: en los machos se presentan dos aberturas, la anterior es la anal y la posterior la urogenital y se abre en el extremo de la papila urogenital, mientras que las hembras presentan tres aberturas, la situada en la posición más anterior es el ano, seguida del poro genital y la abertura urinaria es la posterior, situada en el extremo de la papila urinaria.

En otras ocasiones también se utiliza el ejercer cierta presión sobre el abdomen de los individuos (desde la región anterior hasta la posterior), para determinar el sexo por la naturaleza de los productos sexuales que son expulsados, sin embargo ello puede ocasionar estrés e incluso daño físico a los reproductores.

❖ **Determinación del desarrollo sexual.** La estimación del desarrollo sexual es el criterio básico de la selección de los reproductores sanos para realizar los trabajos de inducción al desove, especialmente con tratamientos agudos. En la zona tropical la madurez sexual se alcanza usualmente al final del primer o segundo año y más especialmente al tercer año o cuarto año, de acuerdo a la especie de que se trate.

⁶⁵ LAJONCHERE y HERNÁNDEZ, Op. cit., p. 42.

- **En los machos.** Entre las determinaciones que se han realizado en diversos estudios están: color del semen, volumen del semen en relación con la talla de los reproductores, fluidez, hidratación, densidad celular, motilidad, vitalidad, pH, diversas determinaciones cuantitativas del plasma. De las características antes mencionadas, las que mayor aplicación práctica han tenido hasta ahora son la densidad de espermatozoides, la motilidad y la vitalidad.

Sorensen⁶⁶ menciona que la evaluación espermática es un proceso fundamental para determinar la utilidad de un reproductor en particular. Olivares y Urdaneta citados por Ortega y Villota⁶⁷ sostienen que para la evaluación del semen se efectúa dos exámenes, uno macroscópico y otro microscópico.

• **Examen macroscópico.** En la evaluación macroscópica se tiene en cuenta el volumen, color, olor, aspecto y densidad.

✓ **Volumen.** Los mismos autores afirman que el volumen varía considerablemente entre individuos y razas dependiendo de la época del año, régimen alimenticio y grado de excitación sexual.

✓ **Color.** El color del eyaculado constituye un dato importante en la valoración macroscópica del esperma, ya que un cambio de color puede significar contaminación o mezcla con orina. El color depende de la concentración de espermatozoides; cuando el semen es de buena calidad presenta una coloración blanco lechosa o cremosa y cuando es de baja calidad su color es similar al de la leche aguada.

✓ **Olor.** El olor del semen es propio de cada especie, bajo condiciones normales, un olor desagradable o fuerte es indicio de alguna enfermedad en el aparato reproductor.

⁶⁶ SORENSEN, A. Reproducción Animal: Principios y práctica. México: Mc. – Grawl Hill, 1982. p. 37.

⁶⁷ ORTEGA, Jairo y VILLOTA, Carlos. Efecto de la Buserelina en la calidad del semen de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) bajo condiciones de cautiverio. Trabajo de grado (zootecnista). Pasto, Colombia: Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Zootecnia. 1995. p. 19.

✓ **Aspecto.** Se define como la impresión general que objetivamente produce la masa total del eyaculado en el colector de vidrio o probeta respectiva. El aspecto depende de la concentración de espermatozoides y se mide por el mayor o menor grado de opacidad que presenta la muestra del semen.

✓ **Densidad.** La densidad depende y varía con la concentración de células espermáticas.

• **Examen microscópico.** Los mismos autores, afirman que en el examen microscópico se debe tener en cuenta concentración de espermatozoides, motilidad y morfología.

✓ **Concentración.** Es la determinación precisa del número de espermatozoides/ml, para esto Sorensen⁶⁸ describe algunas de las técnicas empleadas para determinar la concentración espermática como son observación visual, densidad óptica, nefelómetro, volumen de células empacadas, conteo con la cámara Neubauer.

✓ **Motilidad.** Se expresa como el porcentaje de células vivas o móviles. Existen varias técnicas para determinar este parámetro, dentro de estas están la evaluación visual y microscópica.

✓ **Morfología.** Para el estudio de la morfología se observan tres regiones del espermatozoide específicamente forma y tamaño de la cabeza, segmento intermedio y dirección de la cola.

- **En las hembras.** La biopsia ovárica, es el método más adecuado y con el que se han obtenido determinaciones muy precisas en muchas especies, por medio de las cuales se desarrollan técnicas de inducción muy eficaces.

De acuerdo con Chaparro⁶⁹, la biopsia ovárica consiste en la extracción de una muestra de oocitos, con una cánula o sonda flexible que se introduce por el poro

⁶⁸ SORENSEN, Op. cit., p. 38.

⁶⁹ CHAPARRO, Nicolás. Reproducción artificial y manipulación genética en peces. Colombia: Mejoras, 1994. p 23.

genital de las hembras. Con esta técnica, se debe obtener una muestra de 30 oocitos para ovario con desarrollo sincrónico o hasta 100 para las que tienen desarrollo asincrónico o sincrónico por grupos. Los oocitos se someten a la acción de solución Serra, para observar al microscopio la posición de la vesícula germinal o núcleo, lo cual indica los estadios de maduración.

➤ **Determinación de la dosis hormonal.** Dupree⁷⁰ recomienda que las inyecciones sean administradas intraperitonealmente (Figura 6), a través de la piel suave desprovista de escamas que se encuentran detrás de las aletas pectorales o ventrales, con agujas cortas, con inserción de la aguja perpendicular al eje longitudinal del cuerpo con un ángulo de 15 a 30 grados respecto a la pared del cuerpo.

El mismo autor afirma que la dosis total se inyecta generalmente en dos o tres dosis paralelas, la última de carácter resolutivo o decisivo y las primeras de carácter preparatorio. Con las dosis preparatorias se debe activar el desarrollo de las gónadas hasta una fase preovulatoria, que en ocasiones incluye hasta la migración nuclear y agrupación de las gotas de aceite, mientras que con la dosis decisiva se termina la maduración y se produce la ovulación y el desove.

La proporción entre las dosis parciales es de 33% - 67% con dos dosis o 25% - 25% y 50% cuando se requiere tres dosis. El intervalo entre las dosis se ajusta de 12 a 24 horas.⁷¹

❖ **Ensayos realizados en peces marinos con Gonadotropina Coriónica Humana (HCG).** Algunos ensayos realizados con Gonadotropina Coriónica Humana en especies marinas son:

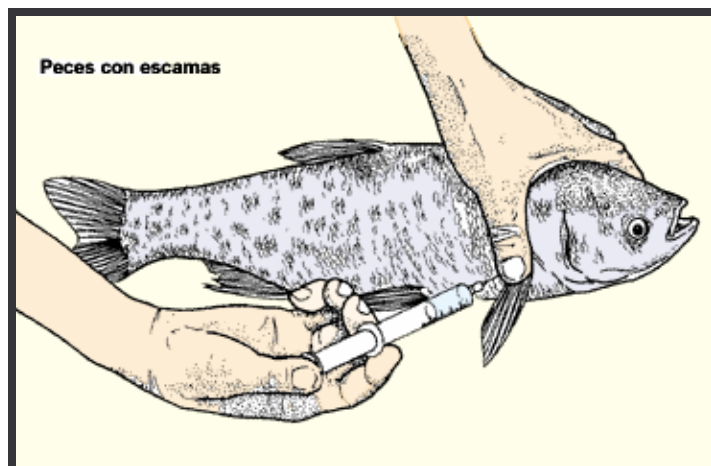
- Chapman, et al⁷² evaluaron dosis hormonales de 1.000 UI HCG/kg de reproductor en *Centropomus undecimalis*, obteniendo ovocitos de 30 a 40 horas después de aplicar la inyección en el 60% de las hembras inducidas.

⁷⁰ DUPREE, H. Hormone spawning techniques. In Journal of the World. USA: Aquaculture Society, Vol. 2, No. 8 (Mayo, 1985). p. 48.

⁷¹ LAJONCHERE y HERNÁNDEZ, Op. cit., p. 62.

⁷² CHAPMAN, P., CROSS, F., FISH, W. y JONES, K. Artificial culture of Snook. Final report for sportfish introductions project. Florida: Game and Fresh Water Fish Commission, 1982. p. 27.

Figura 6. Inyección vía intraperitoneal



DUPREE, Op. cit., p. 48

- Nogueira⁷³ realizó ensayos en *Centropomus undecimalis* aplicando dosis en el rango de 150 a 1.000 UI HCG/kg de reproductor con respuesta satisfactoria cuando la dosis fue de 500 a 1.000 UI HCG/kg y desoves de 24 a 30 horas después de la inducción.
- Cerqueira⁷⁴, en *Centropomus parallelus* utilizó dosis de 1.500 UI HCG/kg de hembra y 500 a 1.500 UI HCG/kg de macho, logrando ovulación 40 horas después de aplicada la inyección en el 70% de las hembras.
- Cuartas, et al⁷⁵ indujeron a *Haemulon bonariense* con dosis de 3.100 y 500 UI HCG/kg de hembra y 1.500, 500 y 250 UI HCG/kg de macho, alcanzando ovulación a las diez horas después de aplicada la inyección.

⁷³ NOGUEIRA, A.. Cultivo de Camorin, *Centropomus undecimalis* Bloch, 1792 (Pisces, Centropomidae) en ambiente aquidulcícola Trabajo de grado (Master en Acuicultura), Brasil: Universidad Federal de Santa Catarina, Programa de pós-graduacao em acuicultura. 1991. p. 18.

⁷⁴ CERQUEIRA, V. Testes de inducao de desova do robalo, *Centropomus parallelus*, do litoral da ilha de Santa Catarina com Gonadotropina Coriónica Humana (HCG). Brasil: s.n.e., 1991. p. 5.

⁷⁵ CUARTAS, Álvaro; ROSAS, Jesús; VELAZQUEZ, Aidé y CABRERA, Tomas. Inducción al desove, desarrollo embrionario y larval del corocoro rayao *Haemulon bonariense* cuvier, 1930 (Pises: Haemulidae). En: Revista de Biología Marina y Oceanográfica. Venezuela: Instituto de investigaciones científicas, Vol. 38, No 1. (Julio, 2003). p. 10.

- Terán, et al⁷⁶ realizaron la inducción de *Lutjanus peru* utilizando dosis de 1.500 UI HCG/kg de reproductor, con un tiempo de desove de 48 a 56 horas después de la inducción.
- Cabrera, et al⁷⁷ ensayaron dosis de 3.400 y 6.300 UI HCG/kg de hembra en *L. griseus*, reportando desoves a las 51 y 36 horas respectivamente después de haber realizado la aplicación de la hormona.

4.8 DESOVE

Para Woynarovich y Woynarovich⁷⁸, el desove comienza con la ovulación, que es la última fase del desarrollo normal del oocito. La preovulación comienza cuando el núcleo de la célula ovular empieza a desplazarse desde el centro hacia la micrópila y el oocito absorbe fluidos (este proceso se llama hidratación). La ovulación comienza con la desaparición de la membrana celular, la aparición de los cromosomas y termina con la primera división meiótica. Al mismo tiempo, el folículo, que mantiene a los huevos a la pared del ovario se rompe, se disuelve parcialmente y los oocitos caen a la cavidad ovárica. La masa de óvulos puede ya fluir libremente por el orificio o poro genital.

Este proceso final de maduración toma cierto tiempo y depende en buena parte de la temperatura del agua en que vive el pez. En la práctica, es necesario conocer el intervalo de tiempo que transcurre entre la última inyección decisiva hasta la ovulación.

⁷⁶ TERAN, Pablo; ROSALES, Martín; DUMAS, Silvie; PLIEGO, Hugo; ALCANTAR, Pablo. Características reproductivas del Huachinango del Pacífico (*Lutjanus peru*) en cautiverio. En: Panorama Acuícola, Maga Río, Vol. 3, No. 20 (Junio, 2004). p. 20.

⁷⁷ CABRERA, Tomás; ROSAS, Jesús; MILLAN, José. Reproducción y desarrollo larvario del pargo dienton (*Lutjanus griseus* L. 1758) (Pisces: Lutjanidae) cultivado en cautiverio. En: Caribbean Journal of Science. Venezuela: Instituto de Investigaciones Científicas, Vol. 33, No. 3 – 4 (Abril, 1997). p. 240.

⁷⁸ WOYNAROVICH, Andras; WOYNAROVICH, Elek. Reproducción artificial de las especies *Colossoma* y *Piaractus*. Lima, Perú: Fondepes, 1988. p. 13.

4.9 INCUBACION

Según Lajonchere y Hernández⁷⁹, la incubación de los huevos y la cría de larvas son aspectos, que a pesar de estar separados en tiempo respecto a la maduración, desove y fertilización, están íntimamente relacionados con estos procesos. En muchas ocasiones las técnicas aplicadas con los reproductores y los tratamientos de inducción al desove y/o fertilización, determinan en cierto modo las que se aplican en la incubación de los huevos y la cría de las larvas, así como sus resultados.

Peters, et al⁸⁰ manifiestan que la incubación depende de la especie que se trate, donde se aplicará algunas variantes que se deben utilizar como objeto de prueba:

- En incubadores cilíndricos de 1,0 a 3,0 m² con el traslado de los huevos embrionados a los tanques de cría unas tres a cinco horas previas a la eclosión. Esta variante es la recomendada para las especies cuya incubación tenga duración media o menor de 36 a 48 horas como el caso de *Mugil lisa*.
- Directamente en los tanques de cría de larvas. Esta variante es la recomendada para las especies cuya incubación tenga una duración media no mayor a 24 horas y larvas muy pequeñas (2,0 mm) como es el caso de *E. brasiliensis*, los róbalo etc.
- En incubadoras cilíndricas de 2,0 a 3,0 m², realizando la cría de larvas en ellas durante el primer mes de vida. Esta variante es la recomendada para los casos de especies con período larval corto y tolerancia a altas densidades durante el primer mes de vida.

Los mismos autores sostienen que los huevos de los primeros y últimos desoves de la temporada generalmente no son de buena calidad, con bajos porcentajes de eclosión; los mejores serán los de la época de máxima intensidad de desove.

⁷⁹ LAJONCHÈRE, Luís y HERNÁNDEZ, Olga. (b) Curso de reproducción y larvicultura de peces marinos. En: 1er. Congreso Suramericano de Acuicultura. Brasil: Recife-PE, Vol. 2, No. 6 (Noviembre, 1998). p. 58.

⁸⁰ PETERS, K., MATHESON, R., TAYLOR, R. Reproduction and early lifer history of common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch). Florida: Bull. Mar. Sci, 1998. p. 509.

Asimismo, los huevos de individuos de primera maduración y de animales seniles tampoco tendrán buena calidad.

Lajonchere y Hernández⁸¹ mencionan que los huevos fértiles de las principales especies marinas y estuarinas cultivadas para el consumo humano son generalmente pelágicos y flotan a salinidades de 33 a 37 ppm. En general, se debe evitar los daños durante su colecta y manipulación, no se puede permitir los choques térmicos durante la incubación, por lo que cuando se transfieren de un recipiente a otro, se debe utilizar agua de mar de la misma temperatura y salinidad; además se debe evitar su manipulación hasta después de la gastrulación.

De acuerdo con Cruz⁸², en acuicultura es esencial que los muestreos se realicen con una alta exactitud y precisión especialmente aquellos relacionados con la estimación del número de huevos y larvas obtenidas, porcentaje de fertilización y de viabilidad. Por lo anterior se recomienda que se trabaje con muestras integradas. Lajonchere y Hernández⁸³ exponen que las muestras que se toman directamente de los tanques con los organismos sean como mínimo de 250 ml para asegurar 100 individuos.

4.9.1 Efecto de factores ambientales en incubación. La obtención y manipulación de los huevos requieren asegurar la calidad de los mismos y evitar daños, debido a que se afectaría la producción; se debe prevenir los choques bruscos en los parámetros ambientales, por lo que se recomienda mantenerlos en los intervalos en que fueron obtenidos.

➤ **Temperatura.** La temperatura es uno de los factores más importantes en el desarrollo embrionario de forma general Shelbourne⁸⁴ asegura que la temperatura de incubación en el centro de desove debe ser inferior a la óptima en el medio natural, por las condiciones de confinamiento que a mayor temperatura (aún dentro del intervalo adecuado) estimulen el crecimiento de bacterias y aceleran el metabolismo.

⁸¹ LAJONCHERE y HERNÁNDEZ (b), Op. cit., p. 60.

⁸² CRUZ, A. Método de cultivo de rotíferos marinos en volumen de 4.000 litros. En: Revista de Investigación Marina. Costa Rica: s.n.e., Vol. 5, No. 2 (Agosto, 1984). p. 78.

⁸³ LAJONCHERE y HERNÁNDEZ (b), Op. cit., p. 62.

⁸⁴ SHELBOURNE, J. The artificial propagation of marine fish. In Journal of the World. USA: Aquaculture Society, Vol. 2, No. 1 (March, 1964). p. 70.

Tucker⁸⁵ afirma que los intervalos óptimos de temperatura son estrechos, de 4,0 a 6,0 grados de amplitud aproximadamente, tanto en especies subtropicales como tropicales. Dentro de los intervalos óptimos, la temperatura es inversamente proporcional a la duración del período de incubación.

➤ **Salinidad.** Lajonchere y Hernández⁸⁶ sostienen que la salinidad es otro de los factores importantes en la supervivencia, metabolismo y crecimiento de muchos peces. Los efectos de este parámetro sobre los primeros estadios de vida, son: la concentración osmótica total, la incidencia y concentración de iones particulares, la disponibilidad de oxígeno (a mayor salinidad se corresponden menores concentraciones de oxígeno en el agua) y la gravedad específica con su efecto sobre la flotabilidad.

Los huevos fertilizados normalmente flotan a salinidades de 35 a 37 ppm por lo que a salinidades inferiores la flotabilidad disminuye y se requiere de un mayor flujo de aire (mayor a 2,0 L/minuto) para evitar que se sedimenten. El estadio de blástula presenta una baja tolerancia a las bajas salinidades pero después de la gastrulación la tolerancia se incrementa especialmente después del cierre del blastóporo⁸⁷.

Lajonchere y Hernández⁸⁸ consignan que uno de los efectos de la salinidad se relaciona con la flotabilidad desde la fertilización hasta la eclosión. En las especies de huevos pelágicos, los que flotan o están cerca de la superficie en los primeros momentos después del desove en una salinidad similar a la que fueron obtenidos, son los de mayor calidad, mientras que los de baja calidad o no fertilizados se hunden; esta característica se usa para seleccionar los de mayor viabilidad.

➤ **Oxígeno.** Según Lajonchere y Hernández⁸⁹, los efectos de concentración de

⁸⁵ TUCKER, Woodward. Voluntary spawning of captive Nassau groupers *Epinephelus striatus* in a concrete raceway. In Journal of the World. USA: Aquaculture Society, Vol. 4, No. 27 (October, 1996), p. 373.

⁸⁶ LAJONCHERE y HERNÁNDEZ (b), Op. cit., p. 62.

⁸⁷ Servizi Tecnici in Maricultura, Op. cit., p. 20.

⁸⁸ LAJONCHERE y HERNÁNDEZ (b), Op. cit., p. 62.

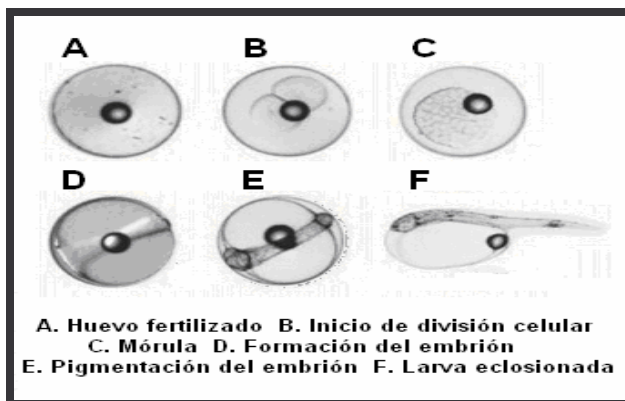
⁸⁹ Ibid., p. 62.

oxígeno han sido menos estudiados, en comparación con los efectos de salinidad y temperatura. En general niveles inferiores al 50% de saturación causan retrasos en el desarrollo y al incrementar el contenido de oxígeno en el agua se acelera la tasa de desarrollo y se amplía la tolerancia a la salinidad y a la temperatura.

Tucker⁹⁰ demostró que muchas especies de huevos pelágicos necesitan niveles de oxígeno disueltos superiores a 5,0 – 6,0 mg/L y destaca la importancia de oxigenación, sobre todo en el período próximo a la eclosión y durante la misma.

4.9.2 Desarrollo embrionario. Para Radonic, et al⁹¹, (Figura 7) cuando termina el proceso de dilatación del huevo, las dos partes de la masa central están ya perfectamente formadas y son fácilmente distinguibles por su forma y su color. El polo animal se alza como un pequeño promontorio sobre la masa vitelina y adquiere una coloración amarilla oscura. Tras un breve intervalo, cuya duración depende de la temperatura del agua, comienza la segmentación del polo animal y el promontorio unicelular se divide sucesivamente en dos, cuatro, ocho, dieciséis y treinta y dos células. En esta fase presenta el aspecto de una mora y por ello este estadio se conoce con el nombre de **mórula**.

Figura 7. Desarrollo embrionario



Ibid., p. 95.

⁹⁰ TUCKER, Op. cit., p. 374.

⁹¹ RADONIC, Mariela; LOPEZ, Andrea; OKA, Masakasu; ARISTIZABAL, Eddie. Efecto de la temperatura de incubación en el desarrollo embrionario y tiempo de eclosión de huevos del besugo *Pagrus pagrus* (Linne, 1758) (Pisces: Sparidae). En: Revista de Biología Marina y Oceanografía. Chile: Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, Vol. 40, No. 2 (diciembre, 2005). p. 95.

Los mismos autores establecen que las subdivisiones sucesivas de esas células producen un blastodermo multicelular, que al principio no tiene más que una capa de células y gradualmente adquiere varias capas. Cada una de esas células se llaman “blastómero”. A medida que el número de blastómeros aumenta, su tamaño disminuye. En el estadio de mórula el embrión es muy sensible a las sacudidas y las células pueden desprenderse de la superficie, causando la muerte del embrión. Más tarde aparecen entre el vitelo y la masa celular un espacio denominado cavidad de segmentación. Se dice entonces que el embrión se halla en estado de **blástula**.

Inicialmente las células del blastodermo se disponen encima del vitelo formando una especie de gorro. A medida que avanza la división celular, las células comienzan a envolver el vitelo hasta rodearlo completamente, dejando solo en el extremo una pequeña abertura, el blastóporo, que más tarde se cierra también. Se llega así al punto de transición entre el estadio germinativo inicial y el estadio de desarrollo embrional⁹².

Barnabé⁹³ menciona que la masa celular adquiere mayor espesor y se dispone en forma de diadema en el lado opuesto del blastóporo. Al mismo tiempo aparece en ambos extremos los brotes de la cabeza y de la cola. Poco después, ambos brotes son claramente definibles y aparecen los primeros segmentos del cuerpo. En la cabeza se desarrollan los ojos (vesículas ópticas) y el brote de la cola empieza a crecer longitudinalmente. A medida del proceso de desarrollo se forma el corazón, al mismo tiempo en la superficie de la masa vitelina se forma un sistema capilar o vaso sanguíneo. El embrión empieza a agitar la cola ocasionalmente y más tarde agita todo el cuerpo. Posteriormente, el embrión comienza a girar dentro del espacio perivitelino. Este movimiento giratorio y los demás movimientos se hacen más enérgicos antes de la eclosión.

El mismo autor demuestra que los metabolitos del embrión contienen algunas enzimas que actúan sobre la membrana del huevo y la disuelven desde adentro, debilitándola y permitiendo al embrión romperla fácilmente y salir. El tiempo que los huevos tardan en desarrollarse varía en general según la especie y depende además de la temperatura, salinidad y oxígeno durante la incubación⁹⁴.

⁹² BARDACH, Lageler. Acuicultura: Crianza y cultivo de peces marinos y de agua dulce. México: A.G.T, 1990. p. 52.

⁹³ BARNABE. Bases biológicas y ecológicas de la acuicultura. Zaragoza, España: Acribia, 1996. p. 12.

⁹⁴ SHEPHERD, C.J. and BROMAGE, Op. cit., p. 200.

Moretti, et al⁹⁵ aseguran que en el período próximo a la eclosión y durante la misma, los huevos incrementan notablemente su ritmo metabólico y con ello su consumo de oxígeno, por lo cual es recomendable establecer una circulación de agua, cuya magnitud puede ser de hasta una o dos renovaciones totales por hora.

De acuerdo con Tamaru⁹⁶, en el momento de la eclosión se debe eliminar los desechos y subproductos de esta, incluyendo las enzimas correspondientes; todo esto es perjudicial para las larvas; por ello una hora después de la eclosión se procede a sifonear el fondo y establecer un intercambio de agua fuerte, se recomienda limpiar la superficie del agua con toallas de papel.

4.10 LARVICULTURA

El período larval comprende el prelarval y el postlarval, este período es el de permanencia en las instalaciones de larvicultura y tiene una duración aproximada de unos tres meses según la especie. Goldan, et al⁹⁷, en los últimos años han dividido el período larval en diversas etapas según su tasa de crecimiento y alimentación:

- Etapa I. Crecimiento inicial acelerado con una rápida utilización del vitelo.

- Etapa II. Crecimiento lento por ser la de transición a la nutrición exógena. Utilizan los restos del vitelo, las gotas de grasa y el nuevo alimento ingerido. Inicio de la locomoción.

- Etapa III. Crecimiento ligeramente más rápido después de establecerse la alimentación exógena a base de rotíferos enriquecidos.

- Etapa IV. Crecimiento rápido ligeramente exponencial, alimentación eficiente y locomoción basada en la alimentación con nauplios de artemia.

⁹⁵ MORETTI; FERNANDEZ; CITTOLIN; GUIDASTRI. Op. cit., p. 52.

⁹⁶ TAMARU, Op. cit., p. 364.

⁹⁷ GOLDAN, O.; POPPER, D.; KARPLUS, I. Management of size variation in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata*): I. Particle size and frequency of feeding dry and live food. USA: s.n.e., 1997. p. 185.

La diferencia de tallas con la edad han sido analizadas por diversos autores entre ellos Hecht y Pienaar⁹⁸ y pueden resumirse en:

- Diferencias genéticas en el potencial de crecimiento entre los individuos.
- Éxito diferente en la primera alimentación, lo que causa un mayor desarrollo desde el inicio en algunas larvas y por tanto incrementan su crecimiento a una tasa más rápida.
- Interacciones competitivas entre individuos en el tanque de cría.
- Ausencia de un nivel uniforme y óptimo de alimentación.
- Falta de un tamaño de partículas alimenticias uniforme y óptimo.

Kinne⁹⁹ manifiesta que después de la eclosión se presenta altas mortalidades que pueden correlacionarse con los tratamientos dados a los reproductores, con el desarrollo de ciertos órganos y con cambios fisiológicos. Esta etapa de mortalidades masivas se denominan períodos críticos, por las múltiples causas que contribuyen a las altas mortalidades súbitas. El mismo autor define como período crítico en la vida, aquel estadio caracterizado por incrementos de mortalidad debido a la nutrición inadecuada, a la interferencia de otros organismos (competidores, depredadores o enfermedades) y estrés ambiental. Usualmente el período más crítico es el que corresponde a la reabsorción del vitelo, la apertura de la boca y comienzo de alimentación exógena.

4.10.1 Desarrollo larval. Al momento de la eclosión en *L. guttatus*, Damas, et al¹⁰⁰ señalan que el saco vitelino y la gota de aceite están proyectados por delante de la región cefálica. Según los mismos autores, la larva se ubica verticalmente

⁹⁸ HECHT, T. and PIENAAR, A. A review of cannibalism and its implications in fish larviculture. In Journal of the World. USA: Aquaculture. Society, Vol. 24, No. 8 (September, 1993). p. 250.

⁹⁹ KINNE, O. Marine Ecology. New York: s.n.e., 1977. p. 30.

¹⁰⁰ DAMAS, T.; BORRERO, M.; MILLARES, N; GONZALES, E. Desarrollo embrionario y prelarval del caballero (*Lutjanus griseus* Linne 1758) En: Revista Cubana de investigaciones pesqueras. Cuba: s.n.e., Vol. 3, No. 4 (Julio, 1978). p. 25.

en el agua de acuerdo con la posición de la gota de aceite, llegando a observar larvas con hasta cuatro gotas oleosas, las larvas recién eclosionadas presentan una distribución de pigmentos, posición del saco vitelino y otra características, como lentes ópticos y ausencia de cavidad bucal. Por lo tanto se puede afirmar que el desarrollo larval de los pargos es típico y similar al de todos los teleósteos pelágicos.

Querales¹⁰¹ corrobora que las larvas recién nacidas son distintas a los peces adultos. No tienen boca, tubo digestivo, ano, branquias, ni vejiga hidrostática. La vesícula vitelina les facilita el material y la energía que necesitan para crecer y desarrollarse. El vitelo es un alimento de reservas de excelente calidad. Mata, et al¹⁰² proponen dos fórmulas para el cálculo del volumen del saco vitelino y gota de aceite:

$$V = 0,1667\pi LH^2$$

donde

V: Volumen del saco vitelino

L: Longitud del saco vitelino

H: altura

$$V = 0,1667\pi D^3$$

donde

V: Volumen de gota de aceite

D: Diámetro de gota de aceite

Los mismos autores manifiestan que la boca y el tubo digestivo se desarrollan a medida que va disminuyendo progresivamente la vesícula vitelina. El tiempo que las larvas tardan en poder utilizar alimento exterior varía según la especie y dependen del tamaño de la vesícula vitelina. Puede ser un solo día, para algunas especies y tres a cuatro días o más para otras.

¹⁰¹ QUERALES, D. Descripción del desarrollo embrionario y larval de *Paralabrax dewegeri* Metzelaar, 1919 (pises: Serranidae). Trabajo de grado (Licenciado). Boca de Río, Venezuela: Universidad de Oriente. 2001. p. 54.

¹⁰² MATA, Ernesto; ROSAS, Jesús; VELASQUEZ, Aidé; CABRERA, Tomás. Inducción hormonal al desove y descripción larval del corocoro *Orthopristis ruber* Cuvier (Pisces: Haemulidae). En: Núcleo de Nueva Esparta. Venezuela: Instituto de Investigaciones Científicas, Vol. 39, No. 1 (Julio, 2004). p. 25.

Lajonchere y Hernández¹⁰³ sostienen que el conducto de cuvier ampliado a un sistema capilar epitelial que recubre la vesícula vitelina sirve de órgano respiratorio. El proceso de respiración, durante el cual el cuerpo de la larva absorbe el oxígeno disuelto del agua se realiza por difusión. Las branquias comienzan a formarse durante el desarrollo larval y van encargándose gradualmente de la función respiratoria.

Los mismos autores aseguran que las larvas de peces no tienen pigmentación o la tienen muy escasa y por lo tanto, no tienen ninguna protección contra los rayos ultravioleta emitidos por el sol. En el momento que la vesícula hidrostática se llena de aire es un instante crucial en la vida de la larva del pez, pues al poco tiempo la larva comienza a buscar alimentos en el exterior, aunque tenga un 20 – 30% de vitelo. La presencia de este en esta fase sirve para asegurar la supervivencia, ya que por algún tiempo, a las larvas le resulta aun difícil encontrar en el exterior alimentos adecuados.

¹⁰³ LAJONCHERE y HERNANDEZ, Op. cit., p. 255.

5. DISEÑO METODOLOGICO

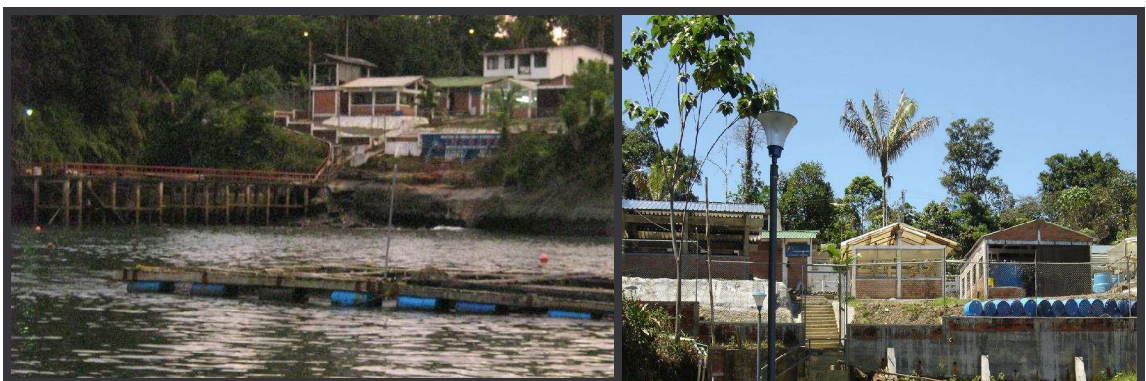
5.1 LOCALIZACION

El ensayo se realizó en la Estación Acuícola Bahía Málaga que se encuentra ubicada en la región central de la Costa Pacífica Colombiana al costado izquierdo de Bahía Málaga – Buenaventura, departamento del Valle del Cauca, con latitud 4°05'N y longitud de 77°21'W, clima ecuatorial cálido húmedo, temperatura ambiente de 30 °C, precipitación pluviométrica de 2.650 mm anuales y humedad relativa de 83%*.

5.2 ESTACION ACUICOLA BAHIA MALAGA

La estación Acuícola Bahía Málaga (Figura 8), es una estación marina perteneciente al Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) con la misión institucional de producir alevinos de excelente calidad. Al mismo tiempo, fomentar y desarrollar la acuicultura marina, la investigación científica, la educación ambiental, protección y vigilancia, para beneficio de las comunidades del Pacífico Colombiano.

Figura 8. Estación Acuícola Bahía Málaga



* INSTITUTO DE HIDROLOGIA, METEOROLOGIA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. Pasto, Colombia, 2006 (Comunicación personal)

5.3 PERIODO DE ESTUDIO

La investigación se realizó en el período comprendido entre noviembre de 2007 y junio de 2008, durante los primeros cuatro meses se realizaron las capturas y adaptación de los reproductores a condiciones de cautiverio y estandarización de los protocolos de inducción. El resto de la temporada se efectuó la inducción al desove con los tratamientos propuestos.

5.4 INSTALACIONES

Se utilizaron cuatro jaulas flotantes (Figura 9) con dimensiones de 2,5 m de largo por 3,0 m de ancho y 2,5 m de profundidad, con un área de 7,5 m², localizadas en mar abierto y adaptadas de tal manera que permitieran el manejo en confinamiento de los reproductores.

Figura 9. Jaulas flotantes para adaptación a cautiverio de *Lutjanus guttatus*



La maduración artificial se desarrolló en cuatro tanques plásticos con una capacidad de 1.000 L conectados por medio de tubería de PVC a cuatro colectores provistos de una malla de 500 micras (Figura 10).

Figura 10. Instalaciones para el desove de *Lutjanus guttatus*



5.5 MATERIALES, INSUMOS Y EQUIPOS

Para el desarrollo de este proyecto se utilizó:

- Palangre pelágico
- Recipientes plásticos de 50 L de capacidad
- Recipientes plásticos de 10 L de capacidad
- Bastidores
- Porta y cubre objetos
- Beaker (500, 1.000 ml)
- Pipeta (5,0 ml)

- Cajas Petri
- Equipo de disección
- Equipo Multiparámetros marca Kasai – schott
- Balanza gramera con aproximación de 5,0 g
- Microscopio Nikon alphaphot
- Estereoscopio Nikon SM2 – 1
- Refractómetro afago
- Cámara Neubauer – boeco – Germany
- Ictiómetro
- Jeringas tipo insulina 1,0 ml
- Jeringas
- Aguja hipodérmica calibre 17
- Solución serra 100 ml (Anexo.A)
- Lugol
- Quinaldine
- Gonadotropina Coriónica Humana presentación en ampollas de 1.000 a 5.000 UI

5.6 PLAN DE MANEJO

Se tuvo en cuenta aspectos como adecuación de instalaciones, obtención, transporte, mantenimiento, determinación del desarrollo sexual y alimentación de los reproductores.

5.6.1 Adecuación de Instalaciones. Las jaulas flotantes adaptadas para el mantenimiento de reproductores fueron limpiadas cada ocho días, diariamente se hacía una remoción de residuos sólidos arrastrados por la corriente marina. Antes del desove los tanques de 1.000 L se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 10% (1,0 ml/L de agua), posteriormente neutralizado con hiposulfito de sodio al 10% (1,0 ml/L de agua). Los tanques se llenaron hasta la mitad (500 L) con agua marina de 32,0 ppm, temperatura de 27,5 °C y un pH de 7.

5.6.2 Material biológico. Se evaluaron 160 ejemplares de pargo lunarejo (*L. guttatus*), los cuales fueron capturados del medio natural con línea de anzuelos # ocho (Figura 11) y pescado troceado *Etrumeus teres* como carnada (Figura 12). La pesca se realizó en horas de la noche a una profundidad de captura de 4,6 a 12,0 metros en distintas zonas estuarinas de Bahía Málaga.

Los problemas asociados al forzado ascenso del pez a la superficie, se compensaron mediante una aguja hipodérmica calibre 17 la cual fue insertada en

la vejiga hidrostática bajo un ángulo de 45 grados con respecto al cuerpo del pez, inmediatamente después de la captura se realizó marcaje (Figura 13) y selección, teniendo en cuenta que los reproductores no registraran lesiones o deformación. Inmediatamente, los reproductores se trasladaron a la Estación Acuícola Bahía Málaga en el vivero de la embarcación con agua de mar, se adaptaron en jaulas flotantes durante un período de cuatro meses en el cual se alimentaron con sardina (*E. teres*) troceada suministrada al 1,0 % de la biomasa.

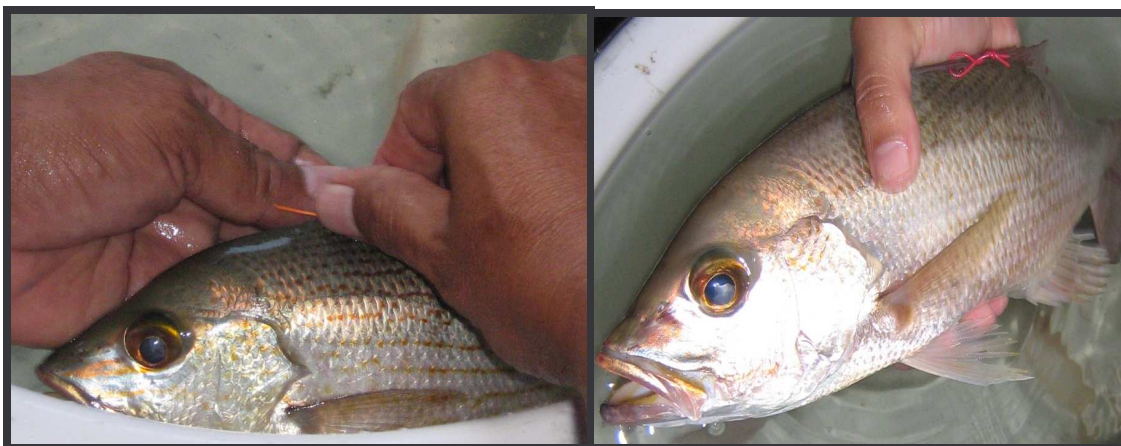
Figura 11. Preparación de línea de anzuelos para la captura de *L. guttatus*



Figura 12. *E. teres* utilizada como carnada y alimentación de *L. guttatus*



Figura 13. Marcaje de los reproductores de *L. guttatus*



5.6.3 Inducción a la maduración sexual. Antes de realizar la inspección gonadal e inducción a la madurez los ejemplares se sedaron con sulfato de quinaldine (Figura 14) disuelto a razón de diez gotas en 30 L de agua y el período de recuperación se realizó en agua marina durante cuatro a seis minutos. El grado de desarrollo gonadal se efectuó mediante biopsia ovárica cada ocho días (Figura 15) con cánula plástica de 2,0 mm de diámetro exterior que se introdujo en el oviducto situado en la papila genital siguiendo el protocolo recomendado por Lajonchere y Hernández¹⁰⁴ (Anexo B). La muestra de oocitos (Figura 16) obtenida, se colocó en solución Serra, con la finalidad de aclarar el citoplasma y poder observar con objetivo de 40X la posición del núcleo y en base a esto, se determinó el grado de madurez de la hembra. Consecutivamente el diámetro de los oocitos se midió con un micrómetro con el fin de establecer el rango de oocitos en estadio III en el cual el huevo aumenta de tamaño y el núcleo se sitúa cerca a la membrana celular. Los reproductores que se encontraron en este estadio fueron pesados en una balanza gramera con aproximación de 5,0 g (Figura 17) y medidos en un ictiómetro dividido en milímetros (Figura 18) con el fin de establecer los valores de peso y longitud para calcular la cantidad de hormona a utilizar según el tratamiento.

La inducción reproductiva en cautiverio, con Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) se suministró con jeringa de embolo plástico y aguja # 22 aplicada en ángulo de 45 grados en la base de la aleta pectoral del pez (Figura 19). La dosis por ejemplar se fraccionó en dos aplicaciones que representaban el 40 y 60% respectivamente, con intervalo de 24 horas monitoreando el desarrollo gonadal a través del estudio de nuevas muestras de oocitos. Después de aplicada la dosis

¹⁰⁴ LAJONCHERE y HERNÁNDEZ, Op. cit., p. 151.

definitiva a las hembras, se colocaron los machos en una proporción de 3:1 en completa oscuridad y con flujo continuo de agua. La obtención de gametos se efectuó en los mismos tanques mediante desove natural.

Figura 14. Sedación de los reproductores con sulfato de quinaldine



Figura 15. Muestreo intraovárico con catéter (Biopsia ovárica)



Figura 16. Muestra de oocitos de *L. guttatus*



Figura 17. Determinación de peso de *Lutjanus guttatus*



Figura 18. Determinación de longitud de *Lutjanus guttatus*



Figura 19. Inyección vía intraperitoneal a *L. guttatus*

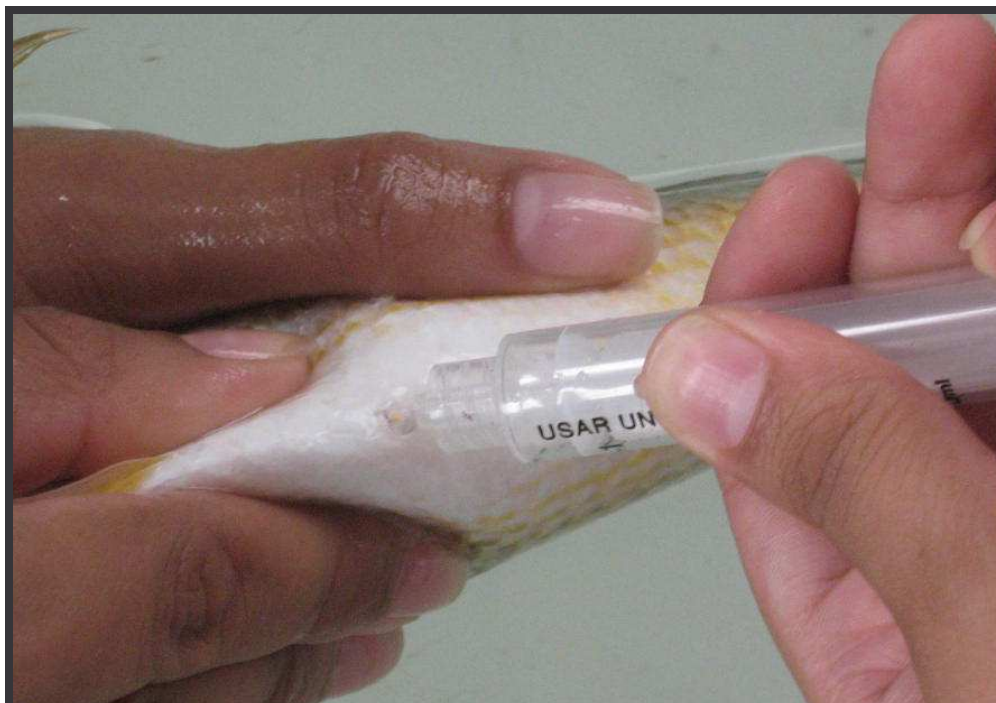


En los machos la evaluación espermática se efectuó a través de muestras obtenidas por masaje abdominal (Figura 20) ejerciendo presión desde la zona cercana de las aletas ventrales hasta la región adyacente a la papila genital siguiendo el protocolo propuesto por Lajonchere y Hernández¹⁰⁵ (Anexo C). Se establecieron características macroscópicas y microscópicas como color, aspecto, concentración, movilidad y tiempo de motilidad. El color y aspecto se determinaron mediante observación visual midiendo el mayor o menor grado de opacidad que presentó la muestra; el número de espermatozoides por mililitro (concentración) se cuantificó a través de la cámara de Neubauer; la movilidad se clasificó por observación microscópica de acuerdo con el arremolinamiento del semen y la tabla expuesta por Sorensen¹⁰⁶ (Anexo D) y el período de movimiento masivo del esperma se calculó observando el tiempo de activación del esperma con agua de mar.

¹⁰⁵ LAJONCHERE y HERNÁNDEZ, Op. cit., p. 152.

¹⁰⁶ SORENSEN, Op. cit., p. 38

Figura 20. Extracción de esperma en machos de *Lutjanus guttatus*



5.6.4 Recolección e incubación de los huevos. Al momento de realizar la cosecha de los huevos, en horas de la mañana, se suspendió la aireación para que estos se mantuvieran en la superficie y pasaran a través de la tubería de PVC, hacia el colector donde fueron almacenados. Se tomó una muestra de 100 huevos para establecer el porcentaje de fertilidad y monitorear el desarrollo ontogénico.

Los huevos se recolectaron y se lavaron en un bastidor para luego ser transferidos a un balde de 10 L provisto de aireadores para mantener una distribución homogénea de los mismos en el cuerpo de agua, después se procedió a determinar la cantidad total de huevos a través de tres alícuotas de 5,0 ml que fueron tomadas por medio de una pipeta y colocadas en una caja petri, al cual se le adicionó 0,5 ml de lugol con la finalidad de teñir los huevos y facilitar su conteo en el estereoscopio. Una vez realizado este procedimiento se suspendió la aireación y se dejó reposar el agua por diez minutos para decantar los huevos muertos, los cuales fueron retirados por sifoneo.

Posteriormente, se tomó una muestra de 500 ml para determinar a las 12 horas el porcentaje de eclosión de los huevos fertilizados, estableciendo la cantidad de

larvas presentes en el cuerpo de agua, siguiendo el mismo procedimiento al efectuado para el conteo de huevos. Finalmente los huevos se trasladaron a tanques con una capacidad de 4,0 toneladas (Figura 21) para controlar el proceso de embrionamiento y eclosión. El desarrollo embrionario se verificó cada 10 minutos en las primeras etapas y cada hora en el desarrollo larval, midiendo longitud, ancho del cuerpo, largo del saco vitelino y diámetro de la gota de aceite; aplicando las formulas propuestas por Mata, et al¹⁰⁷ para el calculo del volumen de la reserva vitelina.

Figura 21. Tanques de incubación y larvicultura



5.7 DETERMINACION DE LAS CARACTERISTICAS FISICOQUÍMICAS DEL AGUA

Se realizó monitores diarios de los parámetros fisicoquímicos como temperatura, oxígeno disuelto, salinidad, pH, durante el mantenimiento de los reproductores, desove e incubación de los huevos con un equipo comercial multiparamétrico.

¹⁰⁷ MATA; ROSAS; VELASQUEZ, CABRERA, Op. cit., p. 25.

5.8 TRATAMIENTOS

Se evaluaron cuatro tratamientos con 10 réplicas (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos para la inducción de hembras de *L. guttatus*

Tratamiento	Dosis Total por kg de peso vivo	Protocolo (% de la dosis total)		
		Aplicación inicial (%)	Intervalo (horas)	Aplicación final (%)
T ₀	Sin hormona			
T ₁ HCG	1000UI	40	24	60
T ₂ HCG	1500UI	40	24	60
T ₃ HCG	2000UI	40	24	60

5.9 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar conformado por cuatro tratamientos y 10 réplicas, considerando a cada animal como unidad experimental. El modelo estadístico de evaluación es de tipo lineal representado de la siguiente manera:

$$Y_{ij} = \mu + \bar{I}_j + \xi_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = respuesta de la *i*-ésima unidad experimental que recibe al *j*-ésimo tratamiento.

μ = media poblacional.

\bar{I}_j = efecto del *j*-ésimo tratamiento.

ξ_{ij} = error experimental asociado a la *i*-ésima unidad sometido al *j*-ésimo tratamiento.

La distribución normal de los datos se verificó con la prueba de Shapiro Wilk para realizar análisis de varianza con pruebas paramétricas, determinando si existen o no diferencias significativas entre los promedios de los parámetros reproductivos y biométricos (peso, longitud total, diámetro de oocitos, tiempo de desove, fecundidad relativa, porcentajes de fertilización y eclosión) con un análisis de varianza ANOVA y prueba de Tukey para establecer el mejor tratamiento. La

relación entre las variables se analizó mediante la correlación simple lineal de Pearson.

5.10 FORMULACION DE HIPOTESIS

Para la ejecución del proyecto se planteó las siguientes hipótesis.

H₀: $\mu_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$

La aplicación de Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) en diferentes dosis en la inducción de pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) no produce efectos diferentes sobre las variables evaluadas.

H₁: $\mu_0 \neq \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$

Por lo menos una de las dosis de Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) en la inducción de pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) produce efectos diferentes sobre las variables evaluadas.

5.11 VARIABLES

Se analizaron las variables, peso, longitud, diámetro de oocitos antes y después de la inducción hormonal, tiempo de desove, fecundidad relativa, fertilidad y eclosión.

5.11.1 Peso y longitud corporal. Se determinó el peso, longitud total y longitud estándar de cada uno de los reproductores.

5.11.2 Diámetro de los oocitos. Se midió el diámetro de los oocitos antes y después de la inducción con un micrómetro de escala 1:100 y un microscopio óptico.

$$D = M \times F$$

donde

D: Diámetro del oocito (micras)

M: Diámetro del oocito (micras)

F: Factor del ocular graduado

5.11.3 Tiempo de desove. Período empleado por las hembras para lograr la ovoposición después de la aplicación de la segunda dosis hasta la expulsión de óvulos maduros.

$$TD = T_2 - T_1$$

donde

TD: Tiempo de desove

T1: Hora de la última aplicación hormonal

T2: Hora del desove natural

5.11.4 Fecundidad. La fecundidad se define como el número de huevos por unidad corporal del pez. Al realizar prueba de Shapiro Wilk (Anexo E) no existió distribución normal de estos datos por lo que se transformaron a logaritmo natural.

$$F = FT/P$$

donde

F: Fecundidad

FT: Fecundidad total (Nº de huevos)

P : Peso de la hembra (kg)

5.11.5 Porcentaje de fertilización. Se realizó el conteo de ovas embrionadas y se convirtió a arcoseno los porcentajes calculados para cumplir el supuesto de normalidad (Anexo E).

$$F = \text{No. de ovas vivas} \times 100 / \text{No. de ovas totales}$$

donde:

F: Porcentaje de fertilización

5.11.6 Porcentaje de eclosión. Se realizó el conteo de larvas con respecto al número de oocitos fertilizados.

5.11.7 Análisis parcial de costos. Se desarrolló un análisis parcial de costos, tomando como costo variable la cantidad de hormona suministrada por tratamiento.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS

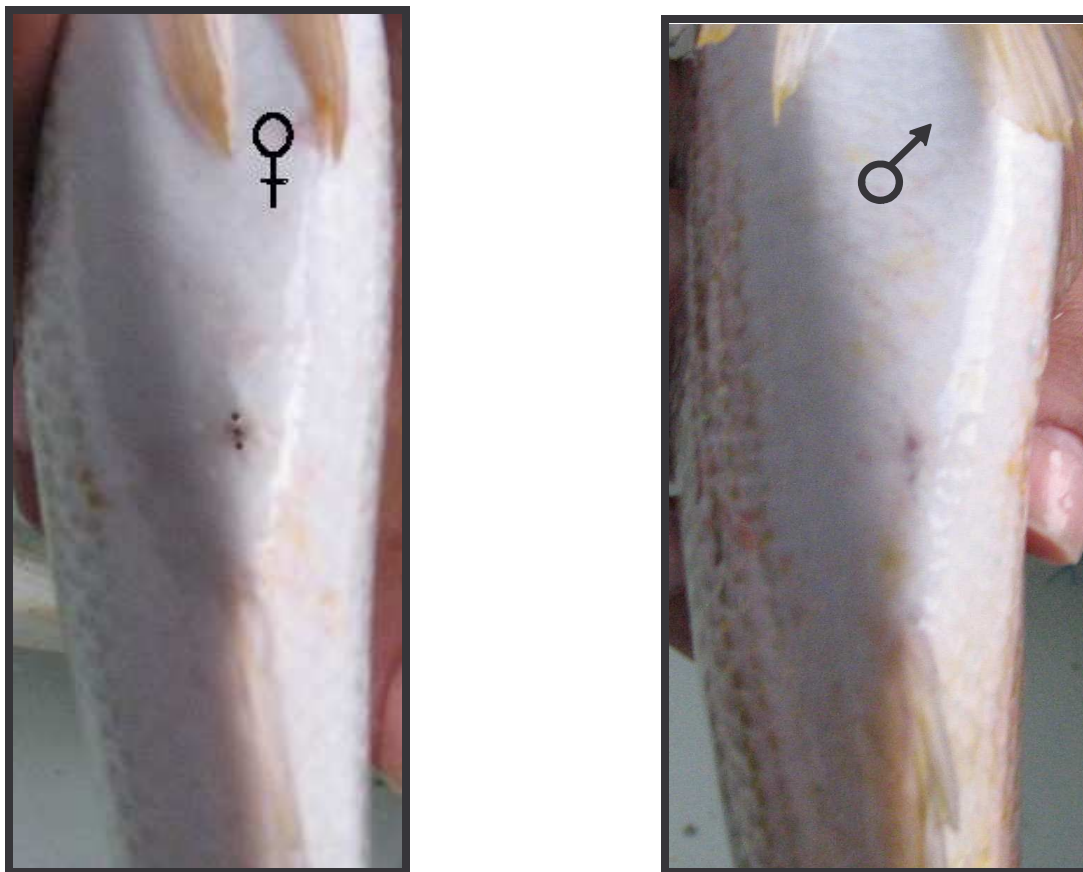
El conocimiento previo de los aspectos fundamentales de la biología y esencialmente los relacionados con la maduración sexual fueron fundamentales para implementar la reproducción controlada de peces.

6.1.1 Características morfológicas. El pargo lunarejo (*L. guttatus*) es una especie heterossexual, con crecimiento similar en machos y hembras, sin diferenciación fenotípica entre ambos sexos. En este estudio los ejemplares se identificaron por caracteres anatómicos de la región anal (Figura 22). Los machos, poseen gonadas alargadas, pares, de igual tamaño que ocupan la mitad de la cavidad corporal, al tacto se sienten duras, turgentes y se relacionan dorsalmente en los riñones y la vejiga hidrostática, presentan dos orificios en la parte extrema terminal (anal y urogenital), con una leve presión antero-posterior, se obtiene semen en el caso de los machos maduros. Las hembras, poseen tres orificios (anal, poro genital y abertura urinaria), las gónadas son un par de ovarios independientes en forma de sacos redondeados en su parte anterior disminuyendo en forma cónica hacia la papila genital, ocupan la cavidad abdominal y son ventrales a los riñones y a la vejiga hidrostática.

6.1.2 Indicadores reproductivos. Los parámetros reproductivos que se tuvieron en cuenta en esta investigación fueron:

➤ **Peso y longitud.** Según el análisis estadístico (Anexo F), las hembras capturadas para el estudio de los diferentes tratamientos, no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en cuanto a peso y longitud, asegurando uniformidad de los peces y eliminando posibles fuentes de variación con relación a estos parámetros (Tabla 2, Figura 23 y 24). Para la reproducción inducida con hormona se utilizaron 160 animales, de los cuales 40 fueron hembras con un peso promedio de $0,53 \pm 0,06$ kg y una longitud total promedio de $30,69 \pm 1,38$ cm. Los machos con un peso promedio de $0,55 \pm 0,15$ kg y longitud total promedio de $32,25 \pm 1,84$ cm.

Figura 22. Diferenciación de sexo por caracteres anatómicos en *L. guttatus*



Mojica¹⁰⁸ demostró que hembras de *L. guttatus* de 30,0 cm de longitud total y 0,5 kg registran madurez en estadios III y IV y se encuentran en estado óptimo para la inducción.

El estudio presentó talla mínima para la inducción de 27,0 cm para hembras y 29,0 cm para machos, valores cercanos al intervalo determinado por Rojas,¹⁰⁹ en *L. guttatus* y *L. peru* con talla mínima de 30,0 cm. Asimismo, Thompson y Munro¹¹⁰,

¹⁰⁸ MOJICA, Hermes. Informe de comisión. Colombia: s.n.e., 2002. p.2. (Fotocopias).

¹⁰⁹ ROJAS, Op. cit., p. 440.

¹¹⁰ THOMPSON, R. and MUNRO, L. The biology, ecology and bioeconomics of the snapper Lutjanidae in caribbean coral reef fisheries resources. In International Workshop of tropical groupers and snappers. México: ICLARM PESCA, Vol. 6, No. 6 (March, 1993). p. 101.

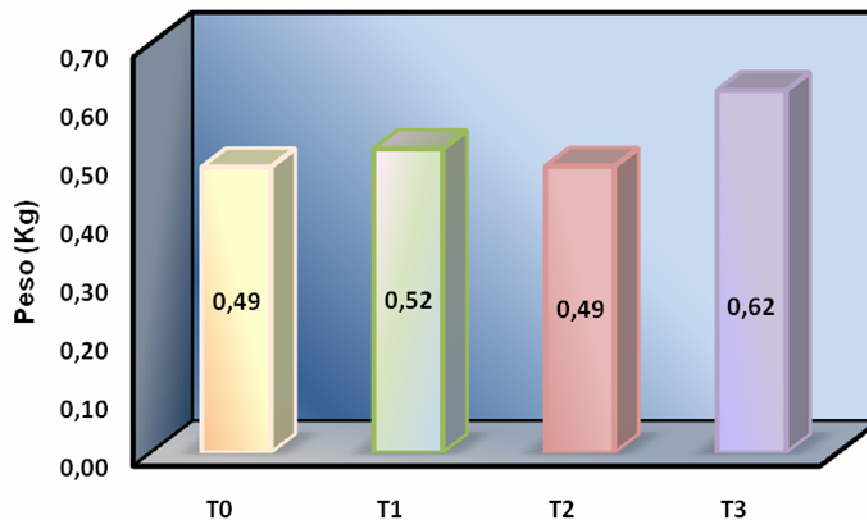
Aviles, et al¹¹¹, Watanabe, et al,¹¹² establecieron las tallas mínimas de madurez de 27 cm en machos y hembras para *L. bucanella*, *L. argentiventris* y *L. analis*.

Tabla 2. Peso y longitud de hembras de *L. guttatus* en los diferentes tratamientos

	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	Promedio	C.V
Peso (kg)	0,49 ± 0,08	0,52 ± 0,11	0,49 ± 0,14	0,62 ± 0,19	0,53 ± 0,06	11,32
Longitud total (cm)	32,0 ± 1,5	29,6 ± 2,72	29,4 ± 3,24	31,78 ± 2,44	30,69 ± 1,38	4,50
L. estándar (cm)	26,9 ± 2,02	24,8 ± 2,10	24,2 ± 2,30	26,5 ± 2,68	25,6 ± 1,30	5,08

C.V: Coeficiente de variación

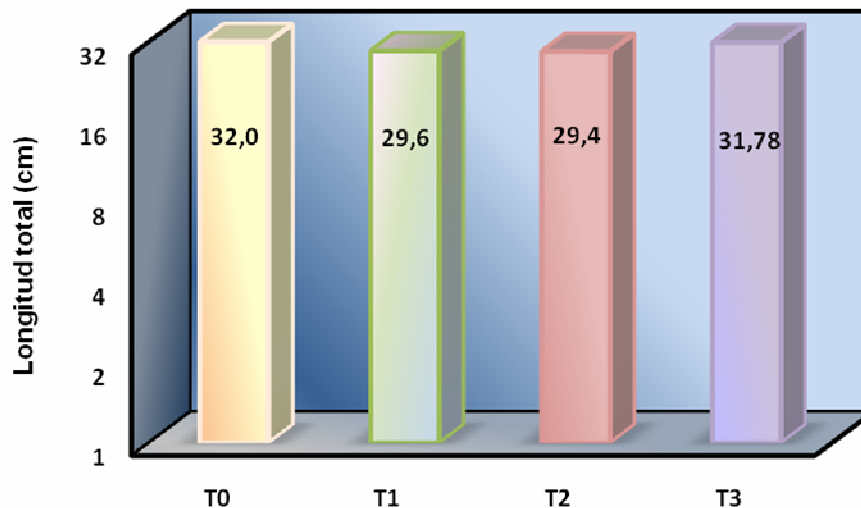
Figura 23. Peso promedio por tratamiento en hembras de *L. guttatus*



¹¹¹ AVILES, A.; REYES, L.; VALDES, S.; HIRALES, O.; RODRIGUEZ, R.; PARDO, U.; LIZAWA, M. Acuicultura en Latinoamérica. Chile: Universidad Católica del Norte, Silva & Merino, 1996. p. 280.

¹¹² WATANABE, Wade; ELLIS, Eileen; ELLIS, Simon; CHAVES, Juan; MANFREDI, Christini. Artificial Propagation of Mutton Snapper *Lutjanus analis*, A New Candidate Marine Fish Species for Aquaculture. In Journal of the World. USA: Aquaculture Society, Vol. 29, No. 2 (June, 1998). p. 177.

Figura 24. Longitud promedio por tratamiento en hembras de *L. guttatus*



➤ **Diámetro antes de la inducción.** El análisis de varianza (Anexo F) demostró que el diámetro de los oocitos antes de la inducción no presentaron diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$) (Tabla 3 y Figura 25) estableciendo un diámetro promedio de $353,14 \pm 12,25$ micras (con un rango de 300,59 – 393,5 micras) en estadio III de maduración, es decir próximos a la madurez, según lo descrito por Gonzales y Regis¹¹³, para especies de la familia Lutjanidae, indicando uniformidad en el diámetro antes de la aplicación hormonal. Los oocitos extraídos por canulación de los distintos tratamientos, son de color claro y se encuentran agrupados, al ser observados al microscopio (Figura 26) se determinó un promedio de 65% de núcleos en fase de migración.

Minton, et al¹¹⁴, Emata, et al¹¹⁵ y Watanabe, et al¹¹⁶ indujeron hembras de

¹¹³ GONZALES y REGIS, Op. cit., p. 131.

¹¹⁴ MINTON, Veron.; HAWKE, John.; TATUM, Walter. Hormone induced spawning of the red snapper, *Lutjanus campechanus*. In Journal of the World. USA: Aquaculture Society, Vol. 3, No. 30 (February, 1983). p. 362.

¹¹⁵ EMATA, A.; EULLARAN, B.; BAGARINAO, U. Induced spawning and early life description of the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. In Journal of the World. USA: Aquaculture Society, Vol. 8, No. 121 (September, 1994). p. 385.

¹¹⁶ WATANABE; ELLIS; ELLIS; CHAVEZ; MANFREDI, Op. cit., p. 180.

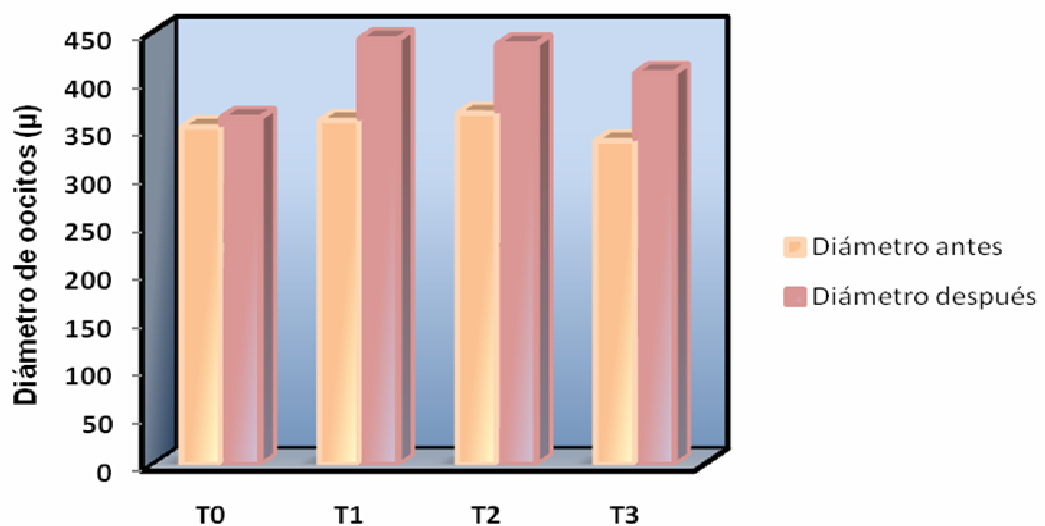
L. campechanus, *L. argentimaculatus* y *L. analis* con HCG en estadio III y un diámetro promedio de 370 micras (rango de 225 – 475 micras). Teran, et al¹¹⁷ indican un proceso de vitelogénesis final y requieren gonadotropina exógena para la ovulación como se evidenció en trabajos realizados por el mismo autor en *L. peru* y por Lim, et al¹¹⁸, en *L. johni*.

Tabla 3. Diámetro promedio de los oocitos antes y después de la inducción hormonal de *L. guttatus*.

	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	Promedio	C.V
Diámetro antes de la inducción (micras)	351,56 ± 18,68	358,11 ± 14,13	365,90 ± 43,99	337,00 ± 31,56	353,14 ± 12,25	3,47
Diámetro después de la inducción (micras)	361,22* ± 22,75	443,20 ± 106,18	437,80 ± 56,20	407,90 ± 48,64		
Incremento (%)	2,67	16,22	16,42	17,38		

* indica una diferencia significativa

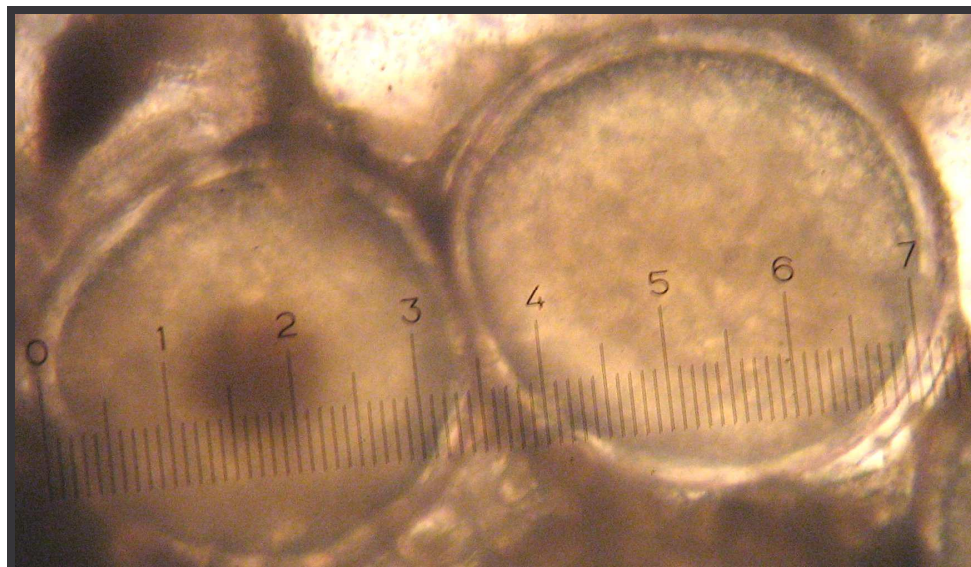
Figura 25. Diámetro promedio por tratamiento de oocitos de *L. guttatus* antes y después de la inducción.



¹¹⁷ TERAN; ROSALES; DUMAS; PLIEGO; ALCANTAR, Op. cit., p. 20.

¹¹⁸ LIM, L.; CHEONG, I.; LEE, B.; HENG, H. Induced breeding studies of the John's snapper *Lutjanus johni* (Bloch), in Singapore. In Singapore Journal. Singapore: primary Industries, Vol. 5, No. 13 (April, 1985). p. 75.

Figura 26. Oocitos de *L. guttatus* antes de la inducción con HCG (10X)



Escala micrómetro 1:100

6.2 EVALUACION COMPARATIVA DEL EFECTO DE LA HORMONA

6.2.1 Índice de ovulación. El 97% de los ejemplares de los tratamientos T₁, T₂ y T₃ presentaron maduración inducida, a diferencia de T₀ que no presentó desove natural (Tabla 4).

Tabla 4. Respuesta a la inducción con HCG en hembras de *Lutjanus guttatus*

Tratamiento	No Hembras ovuladas/ No Hembras tratadas	Resultado	Porcentaje
0	0/10	0	0
1	10/10	1	100
2	10/10	1	100
3	9/10	0.9	90

Los índices de ovulación obtenidos se deben a que las cantidades aplicadas de hormona fueron adecuadas para finalizar la cascada fisiológica: Epífisis, hipotálamo, hipófisis, gónada. La efectividad de la hormona en esta investigación

fue superior a los ensayos reportados por Teran, et al¹¹⁹ y Mojica¹²⁰, en *L. peru* (70%), *L. guttatus* (0%) y *L. argentiventris* (50%)

Los resultados del presente estudio, se explican por la práctica de reproducción implementada para reducir el estrés de los ejemplares, debido a que el desove y fecundación tubieron lugar en forma natural y en el momento óptimo. Igualmente, el fraccionamiento de la hormona en dos dosis estimuló la maduración y ovulación de los oocitos que todavía no sufrían vitelogénesis.

6.2.2 Diámetro después de la inducción. De acuerdo al análisis de varianza (Anexo F) el diámetro después de la inducción presentó diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos, al realizar prueba de Tukey (Anexo G) se evidenció que T_1 , T_2 y T_3 presentaron un crecimiento homogéneo 16,7% después de aplicar la dosis hormonal a diferencia del tratamiento testigo que solo incrementó en 2,67% (Tabla 3 y Figura 25), por lo que se establece un promedio de $429,63 \pm 19,01$ micras para T_1 , T_2 , T_3 (con un rango de 346,0 – 554,67 micras) y $361,22 \pm 22,75$ micras para T_0 verificando mediante cortes histológicos (Figura 27) que para este tratamiento los oocitos continuaron en estadio II y III, debido a que la gonadotropina, que estimula la maduración del oocito no fue liberada a la circulación, Zohar¹²¹ demostró que la inhibición de este proceso ocurre frecuentemente en desove de peces en cautiverio por lo que se requiere de hormona exógena para que ocurra el proceso de vitelogénesis final.

Watanabe, et al¹²² indujeron hembras de *L. analis* con dosis de 1.500 UI/kg registrando diámetro de oocitos de 450 micras (rango de 275 – 575 micras) valor similar al promedio de los tratamientos T_1 , T_2 , T_3 del presente estudio (Figura 28) ubicando a los oocitos en estadio IV, hidratados, listos para el desove, con aumento y fusión de gránulos de vitelo que desplazan el núcleo a una posición excéntrica.

¹¹⁹ TERAN; ROSALES; DUMAS; PLIEGO; ALCANTAR, Op. cit., p. 25.

¹²⁰ MOJICA, Op. cit., p. 5.

¹²¹ ZOHAR, Op. cit., p. 100.

¹²² WATANABE; ELLIS; ELLIS; CHAVEZ; MANFREDI, Op. cit., p. 183.

Figura 27. Ovocitos en estadios II y III en el corte histológico de una gónada de *Lutjanus guttatus*

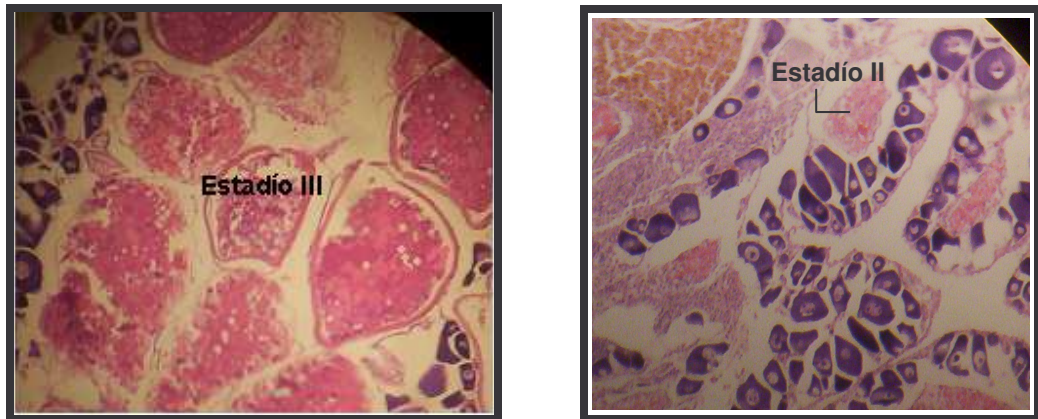
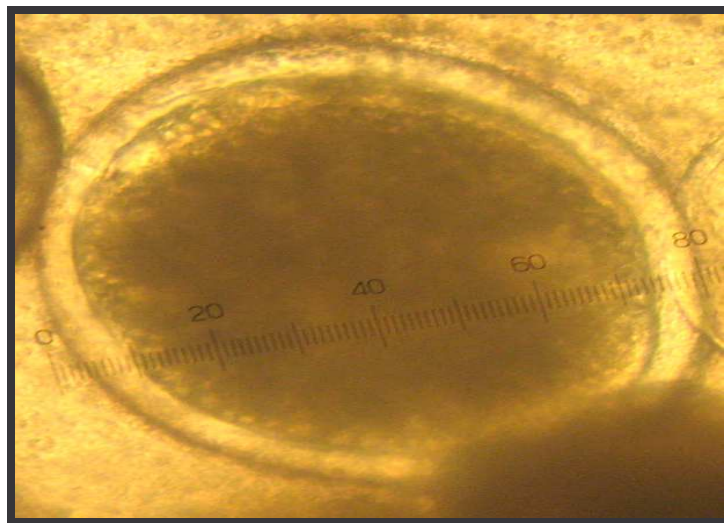


Figura 28. Oocito de *L. guttatus* después de la primera dosis de HCG (10X)



Escala micrómetro 1:100

6.2.3 Tiempo de desove. Según el análisis estadístico (Anexo F) el tiempo de desove no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos T_1 , T_2 , T_3 (Tabla 5, Figura 29) con un promedio de $12,95 \pm 0,42$ horas a temperatura de $27\text{ }^\circ\text{C}$. Lajonchere y Hernández¹²³ determinaron que este período es relativamente corto en especies tropicales lo cual se debe a la rápida acción

¹²³ LAJONCHERE y HERNANDEZ, Op. cit., p. 50.

fisiológica de la hormona a altas temperaturas ambientales. Minton, et al¹²⁴ y Terán, et al¹²⁵ registraron un tiempo de 13 y 24 horas en *L. campechanus* y *L. peru* respectivamente utilizando 1.500 UI de HCG fraccionada en dos dosis a temperatura de 27 °C. Soletchinik, et al¹²⁶ reportaron que al incluir una sola inyección, la ovulación dura 18 horas en *L. argentiventris* a la misma temperatura.

Yaron¹²⁷ refiere que cada especie posee un rango de tiempo para el desove que depende de la hora del suministro de la dosis, de las condiciones de estrés y grado de madurez sexual de los reproductores. De igual manera, Watanabe, et al¹²⁸ manifestaron que el período de latencia varía con diversos factores, como edad, estado de desarrollo del ovario (diámetro de los oocitos), temperatura y tamaño del tanque de desove. Carvajal¹²⁹ establece que en la mayoría de los Lutjanidos el desove parece estar relacionado con el fotoperiodo y la temperatura del agua, indicando que para una dosis similar utilizada, el tiempo de desove, disminuye a medida que existe un aumento de temperatura, debido a la condición poiquilotérmica de la especie.

¹²⁴ MINTON; HAWKE; TATUM, Op. cit., p. 363.

¹²⁵ TERAN; ROSALES, DUMAS; PLIEGO; ALCANTAR, Op. cit., p. 20.

¹²⁶ SOLETCINIK, P.; SUQUET, M.; THOUARD, E.; MESDOUZE, J. Spawning of yellowtail snapper (*Ocyurus chrysurus* Block 1791) in captivity. In Journal of the World. USA: Aquaculture Society, Vol. 5, No. 77 (June, 1989). p. 288

¹²⁷ YARON, Z. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. In Journal of the World. USA: Aquaculture Society, Vol. 12, No. 129 (May, 1995). p. 50.

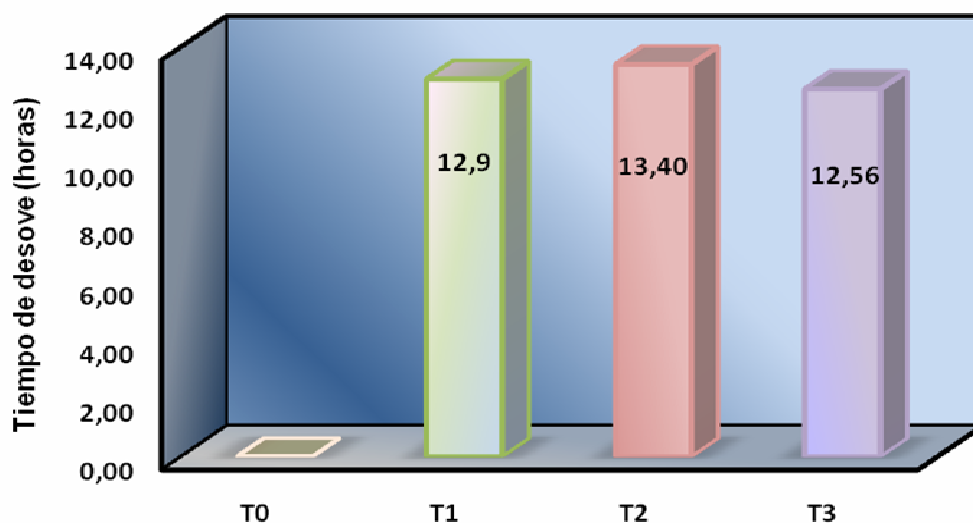
¹²⁸ WATANABE; ELLIS; ELLIS; CHAVEZ; MANFREDI, Op. cit., p. 183

¹²⁹ CARVAJAL, Op. cit., p. 53.

Tabla 5. Promedios por tratamiento de los indicadores de desempeño reproductivo de *L. guttatus* inducidos con HCG

	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	Promedio	C.V
Tiempo de desove (horas)	0	12,9 ± 0,74	13,4 ± 1,35	12,56 ± 0,73	12,95 ± 0,42	3,24
Fecundidad	0	160.611 ± 86.946	132.267 ± 70.104	145.862 ± 89.836	146.247 ± 14.176	9,69
Fertilidad (%)	0	63,5 ± 20,66	78,4 ± 16,36	66,0 ± 21,07	69,3 ± 7,98	11,51
Eclosión (%)	0	56,0 ± 33,03	51,2 ± 19,02	48,11 ± 25,17	51,77 ± 3,98	7,69

Figura 29. Promedio por tratamiento de Tiempo de desove en hembras de *L.guttatus*



6.2.4 Fecundidad. El análisis de varianza (Anexo F) demostró que la fecundidad no presentó diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos T₁, T₂, T₃, estableciendo un promedio de 146.247 ± 14.176 oocitos/kg

de hembra (Tabla 5 y Figura 30). Arnold, et al¹³⁰ analizaron en *L. campechanus*, una fecundidad de 100.000 oocitos/kg de hembra, Cabrera, et al¹³¹ en la especie *L. griseus* reportaron 162.475 oocitos por kilogramo de hembra, Asimismo, Mojica¹³², Torres, et al¹³³ y Teran, et al¹³⁴ cuantificaron 142.500 oocitos/kg de hembra para *L. argentiventris* y *L. synagris* y 28.629 oocitos/kg de hembra en *L. peru* utilizando la hormona Gonadotropina Coriónica Humana.

De acuerdo con Junca, et al citados por Rodríguez y Ortega¹³⁵, la fecundidad puede alterarse por el tipo de desove, duración de la época reproductiva, reabsorción de los óvulos y demás agentes extrínsecos (ambientales) e intrínsecos (metabólicos); por lo cual la fecundidad es el reflejo del efecto de varios factores sobre cada organismo, dentro de los cuales se encuentran: temperatura, fotoperiodo, densidad de poblaciones y el estado de nutrición. Lajonchere y Hernández¹³⁶ comprobaron que las especies carnívoras y levantadas con alimentos naturales responden mejor que los alimentados con concentrados artificiales. Cushing¹³⁷ sostiene que en zonas tropicales y subtropicales, la reproducción de los peces se caracteriza por desoves parciales o ciclos abiertos, los Lutjanidos en confinamiento presentan, dos a tres ovoposiciones por año.

El presente estudio demostró relación inversa de este parámetro con el tiempo de desove (Pearson $r = -0,34$) (Anexo H) (Figura 31), similar a lo expuesto por Lajonchere y Hernández¹³⁸, quienes manifiestan que tiempo de desove, fecundidad, fertilidad y eclosión son condiciones fisiológicas que están

¹³⁰ ARNOLD, C.; WAKEMAN, M.; WILLIAMS, D.; TREECE, D. Spawning of red snapper (*Lutjanus campechanus*) in captivity. In Journal of the World. USA: Aquaculture Society, Vol. 10, No. 15 (May, 1978). p. 301.

¹³¹ CABRERA; ROSAS; MILLAN, Op. cit., p. 240.

¹³² MOJICA, Op. cit., p. 2.

¹³³ TORRES, Ricardo; AYALA, Luís; SALAS, Silvia. Determinación de algunos parámetros de la reproducción de la rubia *Lutjanus synagris* en las costas de Veracruz. En: Revista de Investigación marina. México: Instituto de Ciencias del mar y Limnología, Vol. 8, No. 20 (Octubre, 1990). p. 23.

¹³⁴ TERAN; ROSALES, DUMAS; PLIEGO; ALCANTAR, Op. cit., p. 20.

¹³⁵ RODRIGUEZ y ORTEGA, Op. cit., p. 105.

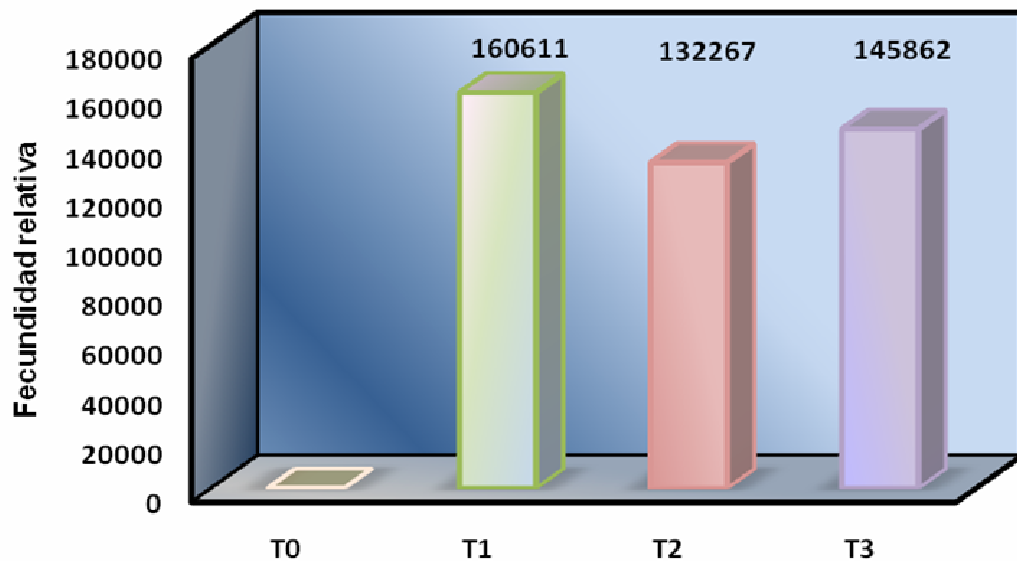
¹³⁶ LAJONCHERE y HERNANDEZ, Op. cit., p. 72.

¹³⁷ CUSHING, D. Ecología marina y pesquería. España: Acribia, 1975. p. 180.

¹³⁸ LAJONCHERE y HERNANDEZ, Op. cit., p. 60.

íntimamente relacionados. Estay, et al¹³⁹ aseguran que a mayor período de ovoposición las hembras disponen de mayor tiempo para reabsorber los oocitos, los cuales sufren atresia, disminuyendo la probabilidad de obtener mayor cantidad de huevos.

Figura 30. Promedio por tratamiento de fecundidad en hembras de *L. guttatus*.



6.2.5 Porcentaje de fertilización. De acuerdo a la cantidad de huevos fertilizados se efectuó un análisis de varianza (Anexo F) el cual indicó que no existen diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos T₁, T₂, T₃, por lo que se establece un promedio de $69,3 \pm 7,98$ % de fertilidad para *L. guttatus* (Tabla 5 y Figura 32), valor semejante al reportado por Watanabe, et al¹⁴⁰, Minton, et al¹⁴¹ y Wudthisin¹⁴² en *L. analis*, *L. campechanus*, *L. argentimaculatus* con 72 % de fertilización.

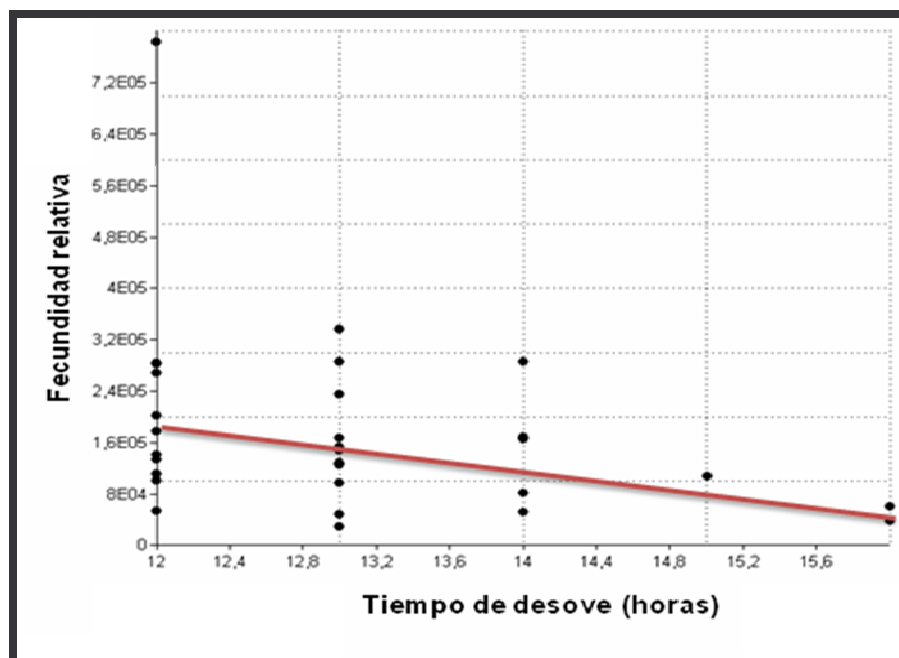
¹³⁹ ESTAY, F.; CENSOLA, H.; TELLES, V. Biología del desarrollo y reproducción artificial en trucha arcoíris. Chile: Conicyt, 1994. p. 15.

¹⁴⁰ WATANABE; ELLIS; ELLIS; CHAVEZ; MANFREDI, Op. cit., p. 184.

¹⁴¹ MINTON; HAWKE; TATUM, Op. cit., p. 363.

¹⁴² WUDTHISIN, P. Propagation on the red snapper, *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskal). Thailand: Marine Fisheries Division, 1984. p. 50

Figura 31. Correlación entre fecundidad y tiempo de desove



La investigación registró mayores porcentajes a los reportados por Cabrera, et al¹⁴³ en *L.griseus* (36%), quienes manejaron un macho por cada hembra en los tanques de desove. El resultado se debe a la proporción de reproductores 1:3 utilizada en el presente estudio; Matsuyama, et al¹⁴⁴ y Cerqueira¹⁴⁵ comprobaron que este aspecto influye de manera directa sobre la fertilización teniendo en cuenta que al comparar relaciones macho hembra de 1:1 y 1:3 registraron fertilización de 34,45 y 70,0 % respectivamente. Asimismo, Tamaru¹⁴⁶ determinó que en desoves inducidos con hormona, los rangos de fertilización son amplios y pueden variar entre 32,6 y 99,9 %, considerando buena la fertilización de este ensayo para fines productivos.

¹⁴³ CABRERA; ROSAS; MILLAN, Op. cit., p. 240.

¹⁴⁴ MATSUYAMA, M.; TAKEUCHI, H.; KASHIWAGI, M.; HIROSE, K.; KAGAWA, H. Induced gonadal development and spawning in immature red sea bream *Pagrus major* with LHRH-a administration in different ways during winter season. In Journal of the World. USA: Fisheries Science, Vol. 61, No. 3 (January, 1995). p. 475.

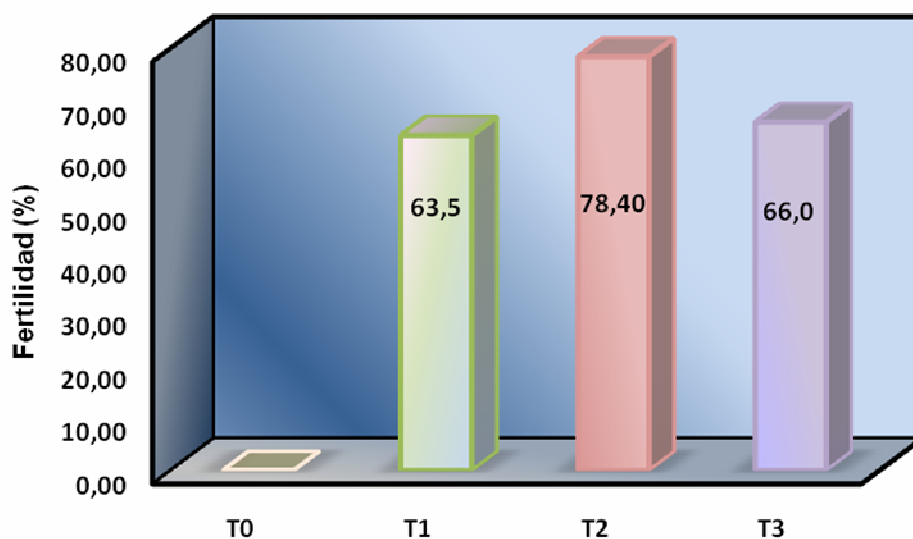
¹⁴⁵ CERQUEIRA, Op. cit., p. 5.

¹⁴⁶ TAMARU, Op. cit., p. 365

Los resultados obtenidos en los tres tratamientos establecen correlación positiva (Figura 33) entre el diámetro del oocito después de aplicada la hormona con porcentaje de fertilización (Pearson $r = 0,5$) (Anexo I) relación también expuesta por Barnes, et al¹⁴⁷ en *L. synagris* quienes concluyen que huevos grandes exhiben menor porcentaje de mortalidad.

En los peces con desove parcial, la producción anual de huevos es afectada por su tamaño. Fuiman y Werner¹⁴⁸ afirman que diferencias de tamaño de oocito inicial aun pequeñas pueden traducirse en cambios substanciales en la fertilización debido a que la variabilidad del mismo es un factor importante para el desarrollo embrionario. De igual manera, López¹⁴⁹ manifiesta que oocitos de gran volumen poseen amplias cantidades de vitelo que proveen más energía para el crecimiento y la ontogenia antes de que las larvas requieran nutrición exógena.

Figura 32. Promedio por tratamiento de porcentaje de fertilización en *L. guttatus*.

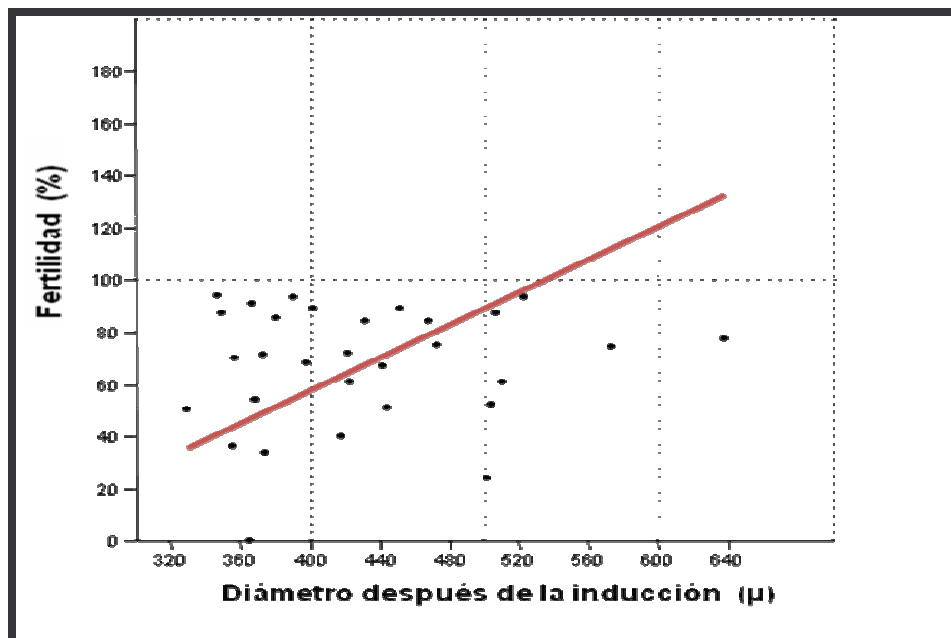


¹⁴⁷ BARNES, M.; HANTEN, R.; CORDES, R.; SAYLER, W.; CARREIRA, J. Reproductive performance of Inland fall *Chinook salmon*. In Journal of the world. USA: Aquaculture Society, Vol. 3, No. 62 (August, 2000). p. 207.

¹⁴⁸ FUIMAN, L. and WERNER, R. Fishery Science: The Unique Contribution of Early Life. USA: Backwell Science Ltd. 2002. p. 102.

¹⁴⁹ LOPEZ, Op. cit., p. 20.

Figura 33. Correlación entre porcentaje de fertilización y diámetro de oocito después de la inducción hormonal.



6.2.6 Porcentaje de eclosión. Al realizar un análisis de varianza (Anexo F) la cantidad de huevos eclosionados por tratamiento no presentaron diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$) entre T_1 , T_2 , T_3 , indicando un promedio de $51,77 \pm 3,98$ % para esta variable que es un porcentaje aceptable en condiciones de cautiverio (Tabla 5 y Figura 34), Lajonchere y Hernández¹⁵⁰ exponen que no son económicamente viables valores menores al 30% de eclosión. Minton, et al¹⁵¹ y Cabrera, et al¹⁵² registraron eclosiones de 60 y 68% en *L. campechanus* y *L. griseus* respectivamente.

La presente investigación, estableció mayores porcentajes de eclosión a los reportados por Del Rio, et al¹⁵³ para la especie *Xenomelaniris brasiliensis* (36%),

¹⁵⁰ LAJONCHERE y HERNANDEZ, Op. cit., p. 55.

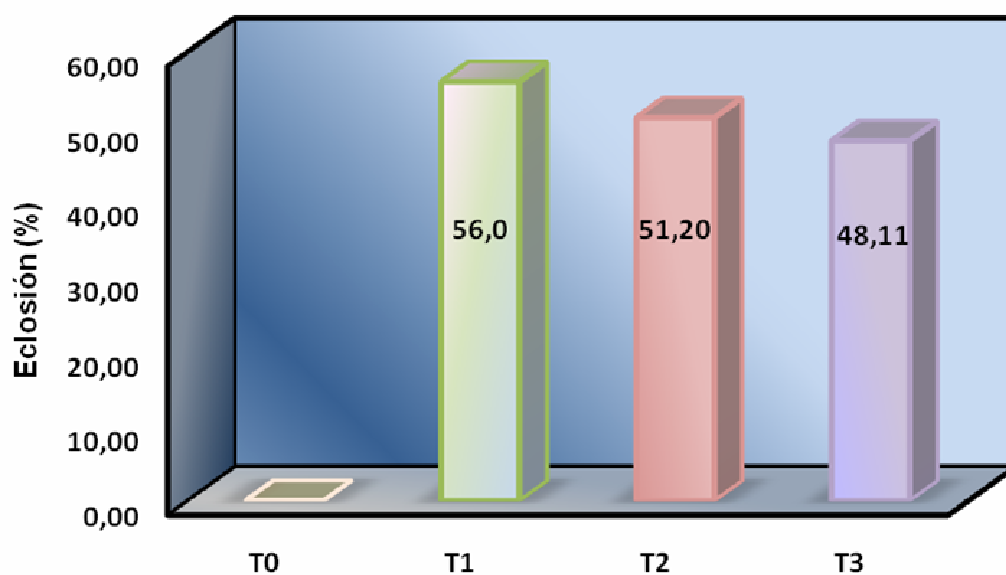
¹⁵¹ MINTON; HAWKE; TATUM, Op. cit., p. 364.

¹⁵² CABRERA; ROSAS; MILLAN, Op. cit., p. 240.

¹⁵³ DEL RIO, Verónica; ROSAS, Jesús; VELASQUEZ, Aidé; CABRERA, Tomás. Desarrollo embrionario, larval y tiempo de metamorfosis del pez tropical *Xenomelaniris brasiliensis* (Pisces: Atherinidae). En: Núcleo de Nueva Esparta. Venezuela: Instituto de Investigaciones Científicas, Vol. 3, No. 5 (Marzo, 2005). p. 68.

debido a las técnicas de incubación implementadas como fueron sistema de recirculación y filtración que disminuyen la turbidez del agua, factor que afecta la etapa de eclosión, asimismo, Lajonchere y Hernández¹⁵⁴ comprobaron que la supervivencia de los huevos varía con la especie y edad de los reproductores.

Figura 34. Promedio por tratamiento de porcentaje de eclosión en *L. guttatus*



6.3 EVALUACIÓN DEL SEMEN

Todos los ejemplares machos capturados independientemente de la longitud total presentaron espermiación con 100 UI de HCG/kg de peso vivo, lo cual se verificó por la presencia de semen al presionar el abdomen cerca de la papila urogenital, lo que indica que se presentan animales maduros a una talla pequeña y a lo largo del año.

¹⁵⁴ LAJONCHERE y HERNANDEZ, Op. cit., p. 55.

Lajonchere y Hernández¹⁵⁵ manifiestan que la HCG es una hormona análoga a la gonadotropina hipofisiaria propia del pez, debido a que ejerce su función directamente sobre las células de Leyding, estimulando la producción de esteroides, involucrados en la maduración y espermiación. Dicha hormona puede actuar sinérgicamente con las gonadotropinas del reproductor, incrementando el efecto de estas últimas. Watanabe, et al¹⁵⁶ comprobaron que la HCG es efectiva para estimular Lutjanidos como *L. analis*, registrando comportamiento de cortejo vigoroso y buena fertilización. Lim, et al¹⁵⁷, Doi y Singhagraiwan¹⁵⁸, Emata, et al¹⁵⁹ practicaron con éxito inducciones voluntarias en *L. johni*, *L. argentimaculatus* y *L. campechanus* determinando que el comportamiento del cortejo de machos puede ser un importante prelude para sincronizar la expulsión de gametos y para un desove natural.

La inyección de gonadotropina provocó un aumento del tiempo de motilidad en el presente ensayo (75 s a 119 s) casi sin alterar la concentración espermática (2,0 espermatozoides*10⁹ a 2,6 espermatozoides*10⁹) (Figura 35) lo cual es importante para regularizar la puesta y mejorar la fertilización. Según Terán, et al¹⁶⁰, el aumento de motilidad, se asocia con el incremento del esteroide 17alfa-20beta-progesterona del testículo y del cAMP (adenosin monofosfato 3' 5 cíclico) espermático, provocando pH alcalino del conducto. (Tabla 6)

Según Luchini y Cruz¹⁶¹, los experimentos que se han llevado a cabo para determinar la calidad del semen han mostrado que los machos en cautiverio presentan una motilidad de 80 a 100% similar al rango que se estableció para *L. guttatus* en el presente ensayo evidenciando una motilidad de arremolinamiento rápido de los espermatozoides en el momento que fueron activados con agua marina.

¹⁵⁵ LAJONCHERE y HERNÁNDEZ (b), Op. cit., p. 60.

¹⁵⁶ WATANABE; ELLIS; ELLIS; CHAVES; MANFREDI, Op. cit., p. 180.

¹⁵⁷ LIM, CHEONG, LEE, HENG, Op. cit., p. 83.

¹⁵⁸ DOI, M. and SINGHAGRAIWAN, T. Biology and culture of the red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. Tailand: EMDEC y JICA. 1993. p. 20.

¹⁵⁹ EMATA, A.; EULLARAN, B.; BAGARINAO, U. Op. cit., p. 385.

¹⁶⁰ TERAN; ROSALES; DUMAS; PLIEGO; ALCANTAR, Op. cit., p. 26.

¹⁶¹ LUCHINI, Laura y CRUZ, Cesar. Uso de Gonadotropina Coriónica Humana en la reproducción artificial de *Rhamdia sapo*. En: Revista de la Asociación de Ciencias Naturales del Litoral. México: s.n.e., Vol. 4, No. 1 (Septiembre, 1983). p. 88.

Figura 35. Concentración espermática en machos de *Lutjanus guttatus* (100X)

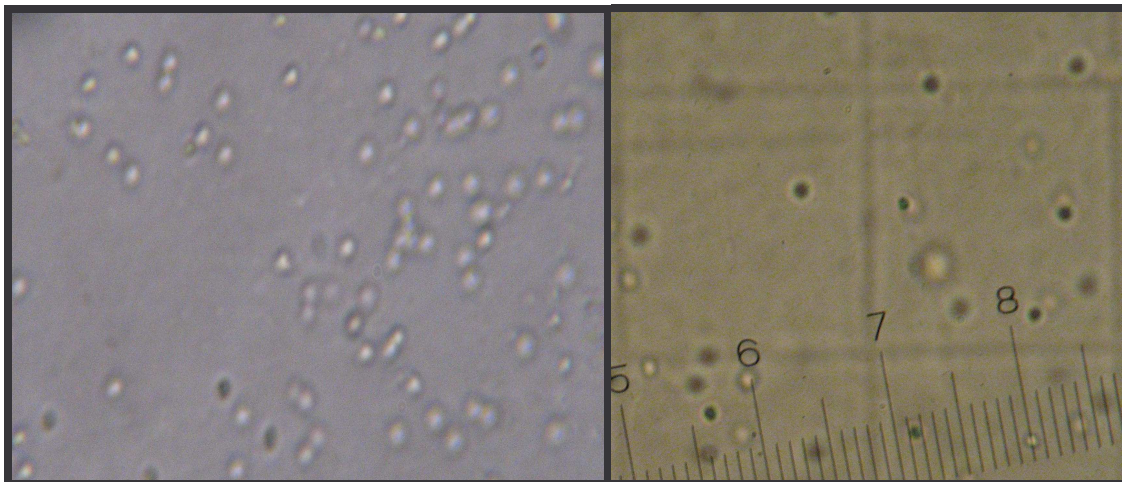


Tabla 6. Características macroscópicas y microscópicas del semen de *L. guttatus* sometidos en los distintos tratamientos

	Animales sin inducir	Animales inducidos
Color	Blanco	Blanco
Aspecto	Espeso	Espeso
Movilidad (%)	80-100	80-100
Tiempo de motilidad (s)	75	119
Concentración (espermatozoides/10⁹)/ml	2,0	2,6

6.5 ANALISIS PARCIAL DE COSTOS

De acuerdo a la cantidad de hormona aplicada por hembra en cada tratamiento se realizó un análisis parcial de costos (Tabla 7) en el que se evidenció que T₁ con 100% de respuesta al inductor fue el de menor costo, en contraste, el tratamiento en el que más se invirtió, fue el tratamiento T₃ (\$156.110) con 90% de respuesta a la hormona.

Tabla 7. Costos variables

Tratamiento	Costo parcial de hormona por tratamiento	Costo parcial de la hormona por hembra
T1	89.110	6.700
T2	122.110	10.000
T3	156.110	13.400

6.6 DESARROLLO EMBRIONARIO Y LARVAL DE *Lutjanus guttatus*

Los huevos fértiles de *L. guttatus*, son transparentes, esféricos, pelágicos, adhesivos con un diámetro de $795 \pm 31,7$ micras y espacio perivitelino, similar a lo reportado por Silva y Merino¹⁶², Wudthisin¹⁶³, para *L. argentiventris* (758 micras) y *L. campechanus* (795 micras); concordando con la descripción de huevos de especies marinas realizado por Blaxter¹⁶⁴.

6.6.1 Fases del período embrionario. (Tabla 8) El patrón de desarrollo embrionario de *L. guttatus* presenta las siguientes fases:

➤ **Clivaje.** La ovocélula se observa a los 10 minutos postfertilización (mpf), ovocito en proceso de hidratación con espacio perivitelino, citoplasma diferenciado y corion. Durante la ovocélula, el oocito presenta membrana celular y dentro de ella aparecen gránulos de vitelo.

El blastodermo con dos células diferenciadas se presenta a las 20 mpf (Figura 36) observando elevación de la masa vitelina, polo animal, vegetal y diámetro de 830 micras. La célula adquiere el aspecto característico de una mora a la 1h:03 mpf (MORULA) (Figura 37).

¹⁶² SILVA, A. y MERINO, G. Descripción del huevo y larva temprana del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris* (PETERS, 1869). Chile: s.n.e., 1996. p. 250.

¹⁶³ WUDTHISIN, Op. cit., p. 53.

¹⁶⁴ BLAXTER, J. Pattern and variety in development. New York: Hoar W & D Randall, 1988. p. 30.

El reordenamiento de la célula se aprecia a 1h:40 mpf, se dispone una capa, y se origina una cavidad denominada blastocele dispuesta internamente entre la capa germinal y el vitelo. A medida que la segmentación progresa, la capa epitelial engloba el blastocele, y el embrión se convierte en una esfera hueca, formándose la BLASTULA (Figura 38).

Figura 36. Blastodermo con dos células

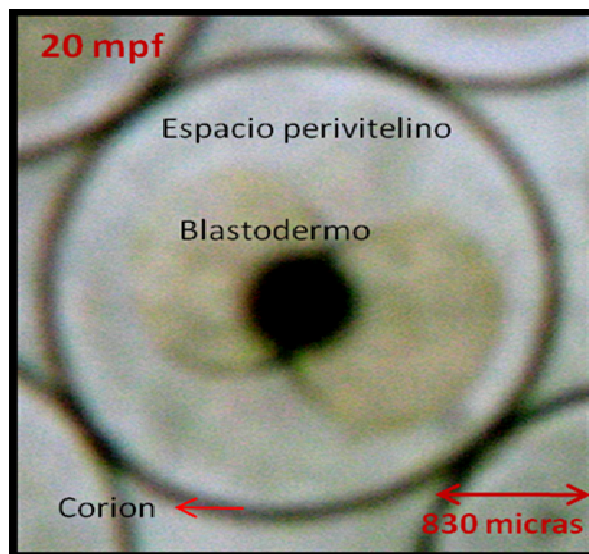
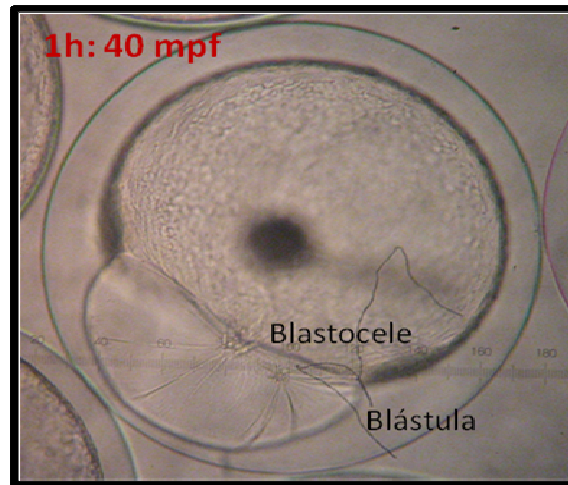


Figura 37. Mórula



Figura 38. Blástula



➤ **Gastrulación y Neurulación.** El estadio de gástrula (Figura 39), se caracteriza inicialmente por movimientos celulares de involución, convergencia y extensión del blastodermo, comenzando a migrar hacia el polo vegetal. A las 7h:8 mpf se observa un ordenamiento en la formación de tejidos, órganos y sistemas que demarcan la formación del escudo embrionario (Figura 40), como una delgada línea segmentada en el blastodermo, se reconoce la formación de la cabeza, cuerpo y aparece el esbozo de la vesícula óptica. A las 9h:51 mpf se distingue el corazón, un glóbulo de aceite de 150 micras, región cefálica de 130 micras y la zona troncal registra 15 tubos miomerales (Figura 41), la zona caudal se envuelve alrededor del vitelo e inicia su desplazamiento, siendo evidente el canal nervioso, vesícula óptica, placa óptica, vesículas de kupffer, notocordio y márgenes del corazón (Figura 42).

La activación del corazón se da a las 10h:20 mpf al igual que el movimiento del embrión, fortaleciendo los somitos a nivel caudal y troncal, vesícula óptica visible, pigmentación del embrión y desprendimiento total de la zona caudal con el vitelo.

Figura 39. Gástrula temprana

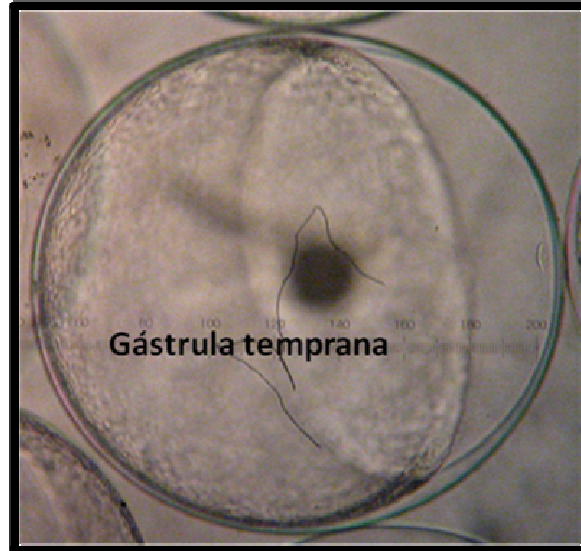


Figura 40. Formación escudo embrionario

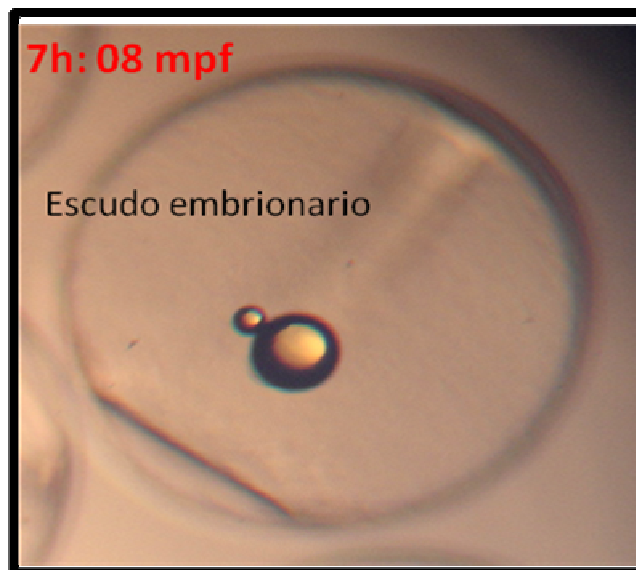


Figura 41. Tubos miomerales

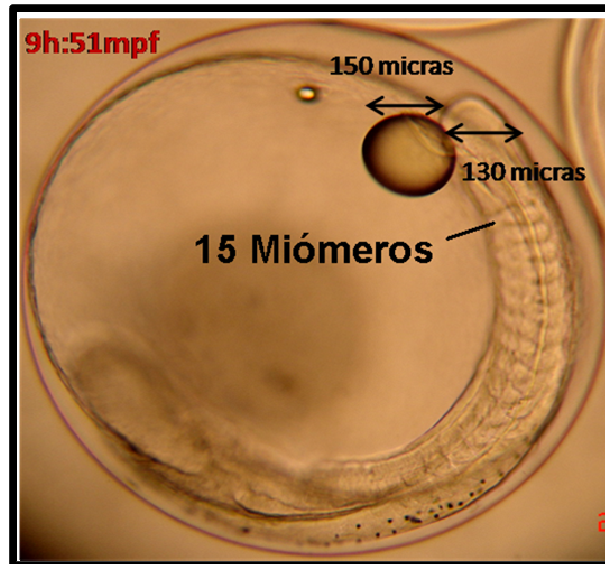
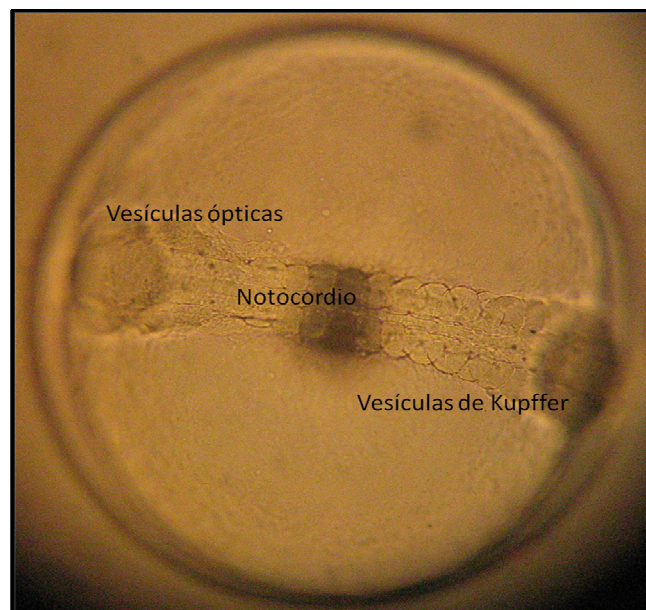


Figura 42. Formación de vesículas de Kupffer



➤ **Embrión.** La eclosión se presenta a 12 h: 0 mpf (Figura 43). Las larvas poseen movimientos rápidos, definidos e intermitentes, un cuerpo moderadamente alargado sin pigmentación, cabeza semiovalada, saco vitelino de forma elíptica (Figura 44), longitud total de 800 micras, ancho del cuerpo (medida

en su parte más ancha) de 50 micras, el saco vitelino ocupa el 62,5% de la talla total de la larva con un volumen de $1,6 \times 10^7$ micras cúbicas.

Las larvas recién eclosionadas de *L. guttatus* muestran esbozos de la aleta caudal, ojos desarrollados, vesícula ótica, otolitos, placa olfatoria, cavidad pericardiaca, aorta ventral, corazón funcional con ventrículo. A las 15 h post eclosión (hpe) (Figura 45) miden $871,36 \pm 161,67$ micras, ancho del cuerpo de $84,17 \pm 17,56$ micras, saco vitelino reducido a $3,2 \times 10^6$ micras cúbicas (que representa el 42,17% de la longitud de la larva), melanóforos distribuidos irregularmente a lo largo del cuerpo, formación del intestino anterior conectado a la cavidad bucal, corazón definido, ojos con coloración homogénea iridiscentes a la luz, formación de la aleta dorsal, movimientos ondulatorios de la cola, gota de aceite situada por debajo de la cabeza a nivel del corazón.

El primordio del estómago y el intestino se distinguen a las 21 hpe (Figura 46) cuando las larvas se agrupan nadando horizontalmente y miden $976,14 \pm 138,92$ micras, ancho del cuerpo de 100 ± 10 micras, saco vitelino de $1,5 \times 10^6$ micras cúbicas equivalente a 32,57% de la longitud total de la larva, la gota de aceite se ubica por debajo de la cabeza cerca a la boca.

La formación de la boca y aletas pectorales se detectó a las 38 hpe (Figura 47). A las 60 hpe (Figura 48) las larvas de *L. guttatus* presentan un decrecimiento en la longitud total (Tabla 9), fenómeno mencionado por Querales¹⁶⁵, Balza, et al¹⁶⁶, López¹⁶⁷, en *Paralabrax dewegeri*, *Sardinella aurita* y *Diplectrum radiale*, el cual se atribuye al proceso de movilización de reservas para la formación de estructuras duras (huesos y cartílagos) que conforman la boca y el aparato oromandibular, se reabsorbe el saco vitelino y las mandíbulas se forman completamente. A las 63 hpe (Figura 49) se da la apertura bucal, mayor capacidad de natación y se observan cerca a la superficie.

¹⁶⁵ QUERALES, Op. cit., p. 59.

¹⁶⁶ BALZA, M.; GUTIERREZ, M.; MARIN, B. Descripción morfológica y crecimiento en los primeros estadios larvarios de la sardina *Sardinella aurita* (Valenciennes, 1847) (Pisces: Clupeidae). En: Boletín del Instituto Oceanográfico. Venezuela: s.n.e., Vol. 40, No. 2 (Febrero , 2001). p. 98.

¹⁶⁷ LOPEZ, P. Desarrollo embrionario y prelarval del bolo *Diplectrum radiale* (Gouy y Gainmard, 1824) (Pisces: Serranidae) a partir de la inducción a la autofecundación. Trabajo de grado (Licenciado). Boca del Río, Venezuela: Universidad de Oriente. 2002. p. 32.

Figura 43. Larva eclosionada



Figura 44. Saco vitelino de una larva recién eclosionada

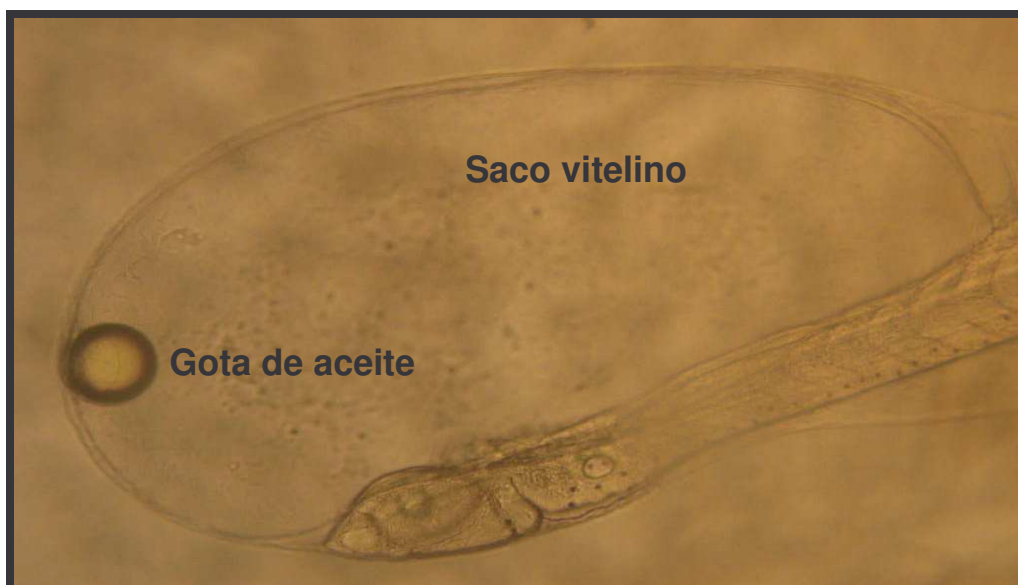


Figura 45. Larva de 15 horas de eclosión

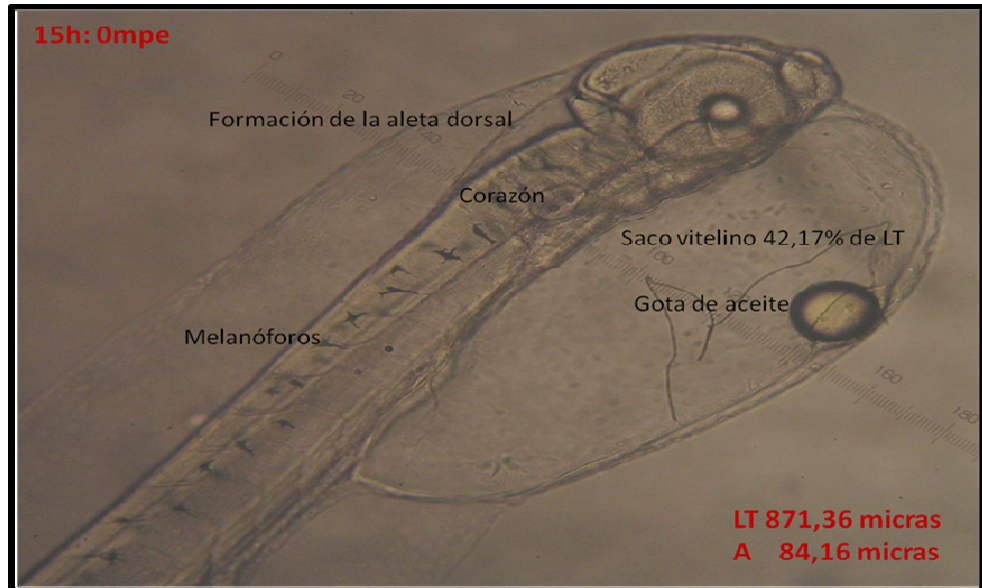


Figura 46. Larva de 21 horas de eclosión



Figura 47. Larva de 38 horas de eclosión



Figura 48. Reabsorción del saco vitelino

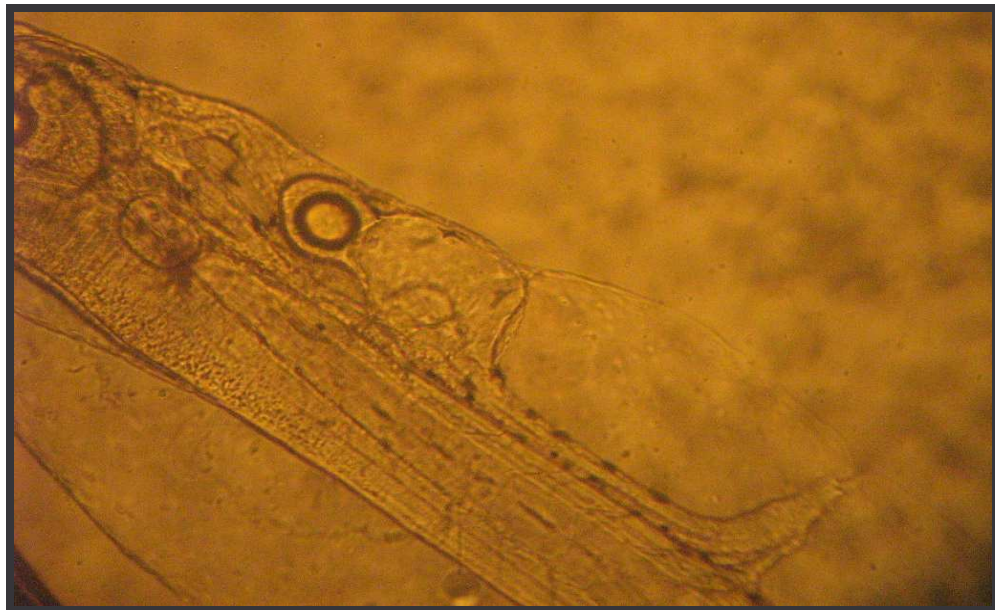


Figura 49. Apertura bucal



Tabla 8. Desarrollo embrionario y larval de *Lutjanus guttatus*

h : min	Etapa de desarrollo desde la fecundación
00 : 10	Primera división
00 : 20	Segunda división
00 : 45	Formación de 24 blastómeros
01 : 03	Mórula
01 : 40	Blástula
07 : 08	Inicio de la neurulación
09 : 51	Neurulación con vesículas de Kupffer
10 : 20	Pigmentación del embrión
12 : 00	Eclosión
27 : 00	Presencia de melanóforos a lo largo del cuerpo, ojos pigmentados, esbozos de aleta dorsal
33 : 00	Formación de la espina dorsal y primordio del estómago e intestino.
50 : 00	Inicia la formación de la boca y aletas pectorales
54 : 00	Inicio de la formación de la mandíbula inferior, estómago, intestino y espina dorsal completamente formados, saco vitelino disminuido en 96,63%
60 : 00	Reabsorción completa del saco vitelino, larvas resistentes a la manipulación
63 : 00	Apertura de la boca

Tabla 9. Características morfométricas de *L. guttatus* después de la eclosión

Tiempo (horas)	Lt larva (micras)	Vsv (micras cúbicas)	Vga (micras cúbicas)
0	800	$1,6 \times 10^7$	$5,2 \times 10^5$
15	$871,36 \pm 161,67$	$3,2 \times 10^6$	$5,2 \times 10^5$
21	$976,14 \pm 138,92$	$1,5 \times 10^6$	$1,7 \times 10^5$
38	$941,09 \pm 114,25$	$5,4 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$
42	$1015 \pm 74,11$	$5,4 \times 10^5$	$8,9 \times 10^3$
60	$937,55 \pm 57,26$		523
63	$941,88 \pm 42,55$		

Lt longitud de la larva ; Vsv volumen del saco vitelino ; Vga volumen de la gota de aceite

6.7 PARAMETROS FISICOQUIMICOS

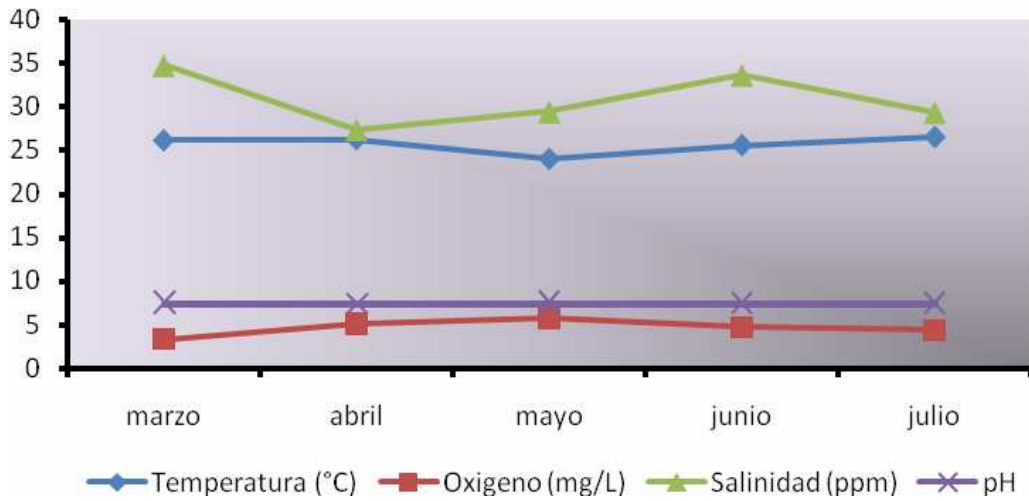
La investigación monitoreó temperatura de 25 – 28 °C, salinidad de 31 – 32 ppm, oxígeno de 4,0 a 6,0 mg/L, pH de 7,5 durante seis meses, estableciendo valores adecuados para esta especie en condiciones de cautiverio (Tabla 10, Figura 50) según los establecido por Mosquera¹⁶⁸ (Anexo J).

Tabla 10. Parámetros fisicoquímicos en el cultivo de *L. guttatus*.

Fase	Temperatura (°C)	Salinidad (ppm)	Oxígeno (mg/L)	pH
Incubación	$25,41 \pm 1,62$	$31,2 \pm 3,76$	$4,78 \pm 0,94$	$7,65 \pm 0,22$
Reproductores	$28,00 \pm 1,0$	$32,9 \pm 2,8$	$6,9 \pm 1,5$	$7,5 \pm 0,62$

¹⁶⁸ MOSQUERA, Wenceslao. Cultivo experimental de pargos (Pisces: Lutjanidae) en jaulas flotantes en un sistema de encierro natural en el Golfo de Tortugas, Pacífico Colombiano. Tesis de grado (Biólogo énfasis en Marino). Cali, Colombia: Universidad del Valle, Facultad de Ciencias. 1999. p. 80.

Figura 50. Valores de parámetros fisicoquímicos manejados en las Jaulas de reproductores de *L. guttatus*



7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

- El peso y longitud ideal para inducir la maduración es de 0,53 kg y 30,69 cm, para hembras y 0,55 kg y 32,25 cm para machos.
- Los reproductores de *Lutjanus guttatus* presentaron oocitos en estadio III con diámetro de 353,14 micras antes de la inducción hormonal y después de la maduración los oocitos presentaron un diámetro promedio de 429,63 micras en estadio IV.
- *Lutjanus guttatus* registró un tiempo de desove de 12,95 h a una temperatura de 27°C.
- La Hormona Coriónica Humana (HCG) puede ser utilizada para inducción al desove en reproductores que se encuentren inicialmente con oocitos en fase anteriores al de madurez, estableciendo la dosis óptima de 1.000 UI/kg de peso vivo para hembras y 100 UI/Kg para machos.
- La fecundidad para *Lutjanus guttatus* fue 146.247 huevos/kg de hembra.
- El porcentaje de fertilización y eclosión promedio fue 69,3 % y 51,77 % respectivamente.
- Se presentó correlación positiva entre el diámetro después de 24 h de aplicada la primera dosis con porcentaje de fertilización y correlación negativa entre tiempo de desove y fecundidad.

7.2 RECOMENDACIONES

- Utilizar la dosis de 1.000 UI/kg de peso de HCG para inducir a hembras de *Lutjanus guttatus*.

- Realizar inducción hormonal en hembras de *Lutjanus guttatus* con diámetros de oocitos mayores o iguales a 400 μ .

- Realizar un estudio de desarrollo gonadal, hepatosómico y de reclutamiento en los lotes de ejemplares, susceptibles de inducir

- Evaluar el efecto de otros inductores hormonales como GnRH en la maduración inducida de *Lutjanus guttatus*.

BIBLIOGRAFIA

ACEVEDO, Carlos; ANGEL, Fabián. Reproducción inducida e incubación del bagre pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum*) (Linnaeus, 1786) y barbudo (*Pimelodus grosskopfii*) (Steindachner, 1880) bajo condiciones del Valle del Cauca. Palmira, 1999, (12) 123 p. Trabajo de grado (Zootecnista). Universidad Nacional. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

ALLEN, George. Snappers of the world: An annotated and illustrated catalogue of Lutjanid species know to date. USA: FAO Fish Synopsis, 1985. 300 p.

ALONSO, Juan e IBARRA, Sandra. Ensayos de reproducción inducida en el mapurito *Callophysus macropterus*, 1819 (Siluriformes, Pimelodidae). Bogotá, 1991. 122 p. (21, 14) Trabajo de grado (Biología marina) Fundación universitaria de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Facultad de biología Marina.

ARELLANO, Marcial. Ciclo reproductivo del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) en la costa de Guerrero. En: Revista de Biología Marina y Oceanografía. México: s.n.e, Vol, 1, No. 36 (Julio, 2001). pp. 1 – 8.

ARNOLD, C.; WAKEMAN, M.; WILLIAMS, D.; TREECE, D. Spawning of red snapper (*Lutjanus campechanus*) in captivity. In Journal of the world. USA: Aquaculture Society, Vol. 10, No. 15 (May, 1978). pp. 301 - 302.

AVILES, A.; REYES, L.; VALDES, S.; HIRALES, O.; RODRIGUEZ, R.; PARDO, U.; LIZAWA, M. Acuicultura en Latinoamérica. Chile: Universidad Católica del Norte, Silva & Merino, 1996. 373 p.

BALZA, M.; GUTIERREZ, M.; MARIN, B. Descripción morfológica y crecimiento en los primeros estadíos larvarios de la sardina *Sardinella aurita* (Valenciennes, 1847) (Pisces: Clupeidae). En: Boletín del Instituto Oceanográfico. Venezuela: s.n.e., Vol. 40, No. 2 (Febrero, 2001). pp. 91 – 101.

BARDACH, Lageler. Acuicultura: Crianza y cultivo de peces marinos y de agua dulce. México: A.G.T, 1990. 148 p.

BARNABE. Bases biológicas y ecológicas de la acuicultura. Zaragoza, España: Acibia, 1996. 519 p.

BLAXTER, J. Pattern and variety in development. Nueva York: Hoar W & D Randall, 1988. 58 p.

CABRERA, Tomás; ROSAS, Jesús; MILLAN, José. Reproducción y desarrollo larvario del pargo dienton (*Lutjanus griseus* L. 1758) (Pises: Lutjanidae) cultivado en cautiverio. En: Caribbean Journal of Science. Venezuela: Instituto de Investigaciones Científicas, Vol. 33, No. 3 – 4 (Abril, 1997). pp. 239 - 245.

CARVAJAL, Miguel. Inducción a la maduración y desove del róbalo (*Centropomus nigrescens*) en cautiverio mediante la utilización de las hormonas HCG (Gonadotropina Coriónica Humana) y LHRHa (Luteinizing Hormone Releasing Hormone Ethylamide). Trabajo de grado (Acuicultor). Guayaquil, Ecuador: Escuela Superior Politécnica del Litoral, Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar. 1997. 90 p.

CERQUEIRA, V. Testes de inducao de desova do robalo, *Centroopomus parallelus*, do litoral da ihla de Santa Catarina com Gonadotropina Coriónica Humana (HCG). Brasil: s.n.e., 1991. 8 p.

CHAPARRO, Nicolás. Reproducción artificial y manipulación genética en peces. Colombia: Mejoras. 1994. 137 p.

CHAPMAN, P., CROSS, F., FISH, W. y JONES, K. Artificial culture of Snook. Final report for sportfish introductions project. Florida: Game and Fresh Water Fish Commission, 1982. 36 p.

CLARO, Reinald. Ecología y ciclo de vida de la rabilubia *Ocyurus chrysurus* (Bloch) en la plataforma cubana. Reporte Oceanológico. La Habana: Academia de Ciencias de Cuba, 1983. 33 p.

CLARO, Reinald. Ecología y ciclo de vida del caballero *Lutjanus griseus* (Linnaeus): Identidad, distribución, hábitat alimenticia y reproducción. Reporte Oceanológico. La Habana: Academia de Ciencias de Cuba, 1993. 109 p.

COORPORACION COLOMBIANA INTERNACIONAL (CCI). Pesca y Acuicultura 2006. Bogotá.

CRUZ, A. Método de cultivo de rotíferos marinos en volumen de 4,000 litros. En: Revista de Investigación Marina. Costa Rica: s.n.e, Vol.5, No. 2 (Agosto, 1984). pp. 69 - 80.

CRUZ-ROMERO. Aspectos biológicos y pesqueros de tres especies de Lutjanidos. Colima-México: Reporte técnico del CRIP de Manzanillo, Colima. I.N.P., 1988. 31 p.

CUARTAS, Álvaro; ROSAS, Jesús; VELAZQUEZ, Aidé y CABRERA, Tomas. Inducción al desove, desarrollo embrionario y larval del corocoro rayao *Haemulon bonariense* cuvier, 1930 (Pises: Haemulidae). En: Revista de Biología Marina y Oceanográfica. Venezuela: Instituto de Investigaciones Científicas, Vol. 38, No 1. (Julio, 2003). pp. 27 – 37.

CUSHING, D. Ecología marina y pesquería. España: Acribia, 1975. 252 p.

DAMAS, T., BORRERO, M., MILLARES, N. y GONZALES, E. Desarrollo embrionario y prelarval del caballero (*Lutjanus griseus* Linne 1758) En: Revista Cubana de investigaciones pesquera. Cuba: s.n.e, Vol. 3, No 4 (Julio, 1978). pp. 11–37.

DEL RIO, Verónica; ROSAS, Jesús; VELASQUEZ, Aidé; CABRERA, Tomás. Desarrollo embrionario, larval y tiempo de metamorfosis del pez tropical *Xenomelaniris brasiliensis* (Pises: Atherinidae). En: Núcleo de Nueva Esparta. Venezuela: Instituto de Investigaciones Científicas, Vol. 3, No. 5 (Marzo, 2005). pp. 32 - 72.

DOI, M. and SINGHAGRAIWAN, T. Biology and culture of the red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. Tailand: EMDEC y JICA. 1993. 51 p.

DONALDSON, E.M. and HUNTER, G.A. Induced final maturation, ovulation, and spermiation in cultured fish. In HOAR, W.S., RANDALL, D.J. & DONALDSON, E.M. USA: Fish Physiology, Vol. 9, No. 7 (July, 1983). pp. 8 - 23.

DUPREE, H. Hormone spawning techniques. In Journal of the world. USA: Aquaculture Society, Vol. 2, No. 8 (May, 1985). pp. 46 – 49.

EMATA, A.; EULLARAN, B.; BAGARINAO, U. Induced spawning and early life description of the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. In Journal of the world. USA: Aquaculture Society, Vol. 8, No. 121 (September, 1994). pp. 381 - 387.

GARCIA, Guillermo. Reproducción controlada del pargo manchado (*Lutjanus guttatus*) en condiciones de laboratorio. México: s.n.e, 1983. 45 p. (Fotocopias)

GOLDAN, O., POPPER, D., KARPLUS, I. Management of size variation in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata*): I. Particle size and frequency of feeding dry and live food. USA: s.n.e, 1997. pp. 181 - 190.

GOMEZ, G.; GUZMAN, R.; MARCANO, L. Aspectos biométricos y de reproducción del pargo amarillo *L. vivanus* (Cuvier, 1828). En: Zootecnia Trop. Venezuela: Centro de Investigaciones Agropecuarias, Vol. 12, No. 2 (Mayo, 1994). pp. 259 - 280.

GONZALES, María y REGIS, Cristina. Aspectos de la reproducción de *Lutjanus campechanus* en Campeche, México. En: Centro de Investigaciones Pesqueras. México: SAGARPA, Ciencias Pesqueras, Vol. 3, No. 15 (Marzo, 2001). pp. 122 - 138.

GRIMES, C. Reproductive Biology of the Lutjanidae. USA: Polovia, J. and S. Ralston. 1987. 35 p.

GUZMAN, Edgar. Aspectos generales sobre el cultivo de juveniles de pargo manchado (*Lutjanus guttatus*) utilizando alimento granulado en condiciones naturales. En: Núcleo Náutico Pesquero. Costa Rica: Instituto Nacional de Aprendizaje, Vol: 2, No. 13 (Mayo, 2000). pp. 50 - 78.

HADDY, J. and PANKHURST, A. The efficacy of exogenous hormones in stimulating changes in plasma steroids and ovulation in wild black bream *Acanthopagrus butcheri* is improved by treatment al capture. In Journal of the world. USA: Aquaculture Society, Vol. 20, No. 191 (January, 2000). pp. 351 - 366.

HARVEY, Brian. and CAROLSFELD, Jhon. Induced Breeding in Tropical Fish Culture. Ottawa: International Development Research Centre, 1993. 144 p.

HARVEY, Brian. y HOAR, William. Teoría y práctica de la reproducción inducida en los peces. México: Centro Internacional de Investigaciones para el desarrollo, 1979. 48 p.

HAWKINS, Anthony. Aquarium design. London: Hawkins, 1981. 47 p.

HECHT, T. and PIENAAR, A. A review of cannibalism and its implications in fish larviculture. In *Jornal of the World. USA: Aquaculture. Society*, Vol. 24, No. 8 (September, 1993). pp. 246 – 261.

KINNE, O. Marine Ecology. New York: s.n.e, 1977. 60 p.

LAJONCHERE, Luis. y BERDAYES, Arritola. Estudio preliminar sobre el desove inducido de lisas (Pisces: Mugilidae). Montería, Colombia: International Foundation for Science, 1981. 103 p.

LAJONCHERE, Luis y HERNANDEZ, Olga. Producción de juveniles de peces estuarinos para un Centro en América Latina y el Caribe: Diseño, Operación y Tecnología. México: Universidad Autónoma de Tabasco, 1994. 424 p.

-----.(b) Curso de reproducción y larvicultura de peces marinos. En: 1er. Congreso Suramericano de Acuicultura. Brasil: Recife-PE, Vol. 2, No. 6 (Noviembre, 1998), pp. 52 - 109.

LIM, L.; CHEONG, L.; LEE, B.; HENG, H. Induced breeding studies of the John's snapper *Lutjanus johni* (Bloch), in Singapore. In *Singapore Journal*. Singapore: Primary Industries, Vol. 5, No. 13 (April, 1985). pp. 70 - 83.

LOPEZ, P. Desarrollo embrionario y prelarval del bolo *Diplectrum radiale* (Quoy y Gaimard, 1824) (Pises: Serranidae) a partir de la inducción a la autofecundación. Trabajo de grado (Licenciado). Boca de Río, Venezuela: Universidad de Oriente. 2002. 53 p.

LOPEZ, Jorge. Nutrición acuícola. Colombia: Universidad de Nariño, Facultad de Zootecnia. Pasto, 1997. 210 p.

LUCHINI, Laura. Revisión y compilación sobre técnicas de reproducción inducida. En: Boletín de Red regional de acuicultura. Bogotá, Colombia: s.n.e., Vol. 4, No. 1 (Mayo, 1990). pp. 1 - 8.

LUCHINI, Laura y CRUZ, Cesar. Uso de gonadotropina coriónica humana en la reproducción artificial de *Rhamdia sapo*. En: Revista de la Asociación de Ciencias Naturales del Litoral. México: s.n.e., Vol. 4, No. 1 (Septiembre, 1983). pp. 88 - 92.

MATA, Ernesto; ROSAS, Jesús; VELASQUEZ, Aidé; CABRERA, Tomás. Inducción hormonal al desove y descripción larval del corocoro *Orthopristis ruber* Cuvier (Pisces: Haemulidae). En: Núcleo de Nueva Esparta. Venezuela: Instituto de Investigaciones Científicas, Vol. 39, No. 1 (Julio, 2004). pp. 21 – 29.

MATSUYAMA, M.; TAKEUCHI, H.; KASHIWAGI, M.; HIROSE, K.; KAGAWA, H. Induced gonadal development and spawning in immature red sea bream *Pagrus major* with LHRH-a administration in different ways during winter season. In Journal of the world. USA: Fisheries Science, Vol. 61, No. 3 (January, 1995). pp. 47 - 477.

MINTON, Veron.; HAWKE, John.; TATUM, Walter. Hormone induced spawning of the red snapper, *Lutjanus campechanus*. In Journal of the world. USA: Aquaculture Society, Vol. 3, No. 30 (February, 1983). pp. 350 - 368.

MOJICA, Hermes. Informe de comisión. Colombia: s.n.e., 2002. 10 p. (Fotocopias).

MORETTI, A., FERNANDEZ, M., CITTOLIN, G., GUIDASTRI, R. Manual on Hatchery Production of Seabass and Gilthead Seabream. USA: s.n.e, 1999. 194 p.

MOSQUERA, Wenceslao. Cultivo experimental de pargos (Pisces: Lutjanidae) en jaulas flotantes en un sistema de encierro natural en el Golfo de Tortugas, Pacífico Colombiano. Tesis de grado (Biólogo énfasis en Marino). Cali, Colombia: Universidad del Valle, Facultad de Ciencias. 1999. 100 p.

MURAD, F. y HAYNES, R. Hormonas y antagonistas hormonales. Cuba: GILMAN, A. & GOODMAN, 1981. 45 p.

MYLONAS, C., TABATA, Y., LANGER, R., ZOHAR, Y.. Preparation and evaluation of *polyanhydride microspheres* containing gonadotropin-releasing hormone (GnRH), for inducing ovulation and spermiation in fish. USA: J. Controlled Release, 1995. 34 p.

NOGUEIRA, A.. Cultivo de Camorin, *Centropomus undecimalis* Bloch, 1792 (Pisces, Centropomidae) en ambiente aquidulcícola Trabajo de grado (Master en Acuicultura), Brasil: Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de pós-graduacao em acuicultura. 1991. 36 p.

OROZCO, Nydia y RIVERA, Ricardo. Efecto de la gonadotropina coriónica HCG (primogonyl) en la reproducción inducida de trucha arcoiris (*Salmo gairdneri*). Trabajo de grado (Zootecnista). Pasto, Colombia: Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Zootecnia. 1983. 12 p.

ORTEGA, Jairo y VILLOTA, Carlos. Efecto de la Buserelina en la calidad del semen de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) bajo condiciones de cautiverio. Trabajo de grado (zootecnista). Pasto, Colombia: Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Zootecnia. 1995. 89 p.

ORTEGA, Alba Lucy y RODRIGUEZ, Carlos Julio. Evaluación comparativa del efecto del extracto pituitario de carpa (EPC) y gonadotropina coriónica humana (HCG) en la reproducción inducida del bagre del patia (*Rhamdia quelen*) en condiciones de cautiverio. Trabajo de grado. Ingeniería en Producción Acuícola. Pasto, Colombia: Universidad de Nariño., Facultad de Ciencias Pecuarias; Programa de Ingeniería en Producción Acuícola, 2004. p. (27) 123.

PATIÑO, R. Manipulations of the Reproductive System of Fishes by Means of Exogenous Chemical. Texas: Cooperative Fish and Wildlife Research Unit, 1995. 30 p.

PETERS, K., MATHESON, R., TAYLOR, R. Reproduction and early lifer history of common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch). Florida: Bull. Mar. Sci, 1998. 529 p.

QUERALES, D. Descripción del desarrollo embrionario y larval de *Paralabrax dewegeri* Metzelaar, 1919 (pises: Serranidae). Trabajo de grado (Licenciado). Boca de Río, Venezuela: Universidad de Oriente. 2001. 71 p.

RADONIC, Mariela; LOPEZ, Andrea; OKA, Masakasu; ARISTIZABAL, Eddie. Efecto de la temperatura de incubación en el desarrollo embrionario y tiempo de eclosión de huevos del besugo *Pagrus pagrus* (Linne, 1758) (Pisces: Sparidae). En: Revista de Biología Marina y Oceanografía. Chile: Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, Vol. 40, No. 2 (diciembre, 2005). 91 – 99 pp.

RODRIGUEZ, Martha. Técnicas de evaluación cuantitativa de la maduración gonádica en peces. México: AGT, s.f. 50 p. (Fotocopias).

ROJAS, Mario. Fecundidad y época de reproducción “pargo mancha” *Lutjanus guttatus* (Pises: Lutjanidae) en el Golfo de Nicaya. En: Revista de biología tropical. Costa Rica: s.n.e, Vol. 3, No. 44 (Julio, 1997). pp. 440 - 478.

RUBIO, Efraín. Peces de importancia comercial para el Pacífico Colombiano. Cali, Colombia: Universidad del Valle, CIME, 1988. 483 p.

----- . Aspectos sobre el crecimiento y ciclo sexual del *Lutjanus guttatus* (Pises: Lutjanidae: Perciformes) en Bahía Málaga, Pacífico de Colombia. Colombia: Congreso Centroamericano y del Caribe en ciencias del mar, 1993. p. 180.

Servizi Tecnici in Maricoltura. Brief Manual for Hatchery Procedures for the Production of Sea bass and Sea Bream Fry. Padova: s.n.e, 1989. 91 p.

SHELBOURNE, J. The artificial propagation of marine fish. In Journal of the world. USA: Aquaculture Society, Vol. 2, No. 1 (March 1964). pp. 1 – 83.

SHEPHERD, C.J. and BROMAGE, N.R. Intensive fish farming. USA: s.n.e, 1988. 404 p.

SILVA, A. y MERINO, G. Descripción del huevo y larva temprana del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris* (PETERS, 1869). Chile: s.n.e. 1996. 373 p..

SOLETSCHNIK, P.; SUQUET, M.; THOUARD, E.; MESDOUZE, J. Spawning of yellowtail snapper (*Ocyurus chrysurus* Block 1791) in captivity. In Journal of the world. USA: Aquaculture Society, Vol. 5, No. 77 (June, 1989). pp. 287 - 289.

SORENSEN, A. Reproducción Animal: Principios y práctica. México: Mc. – Grawl Hill, 1982. 61 p.

TAMARU, Carlstrom. Induced final maturation and spawning of the marbled groupers *Epinephelus microdon* captured from spawning aggregations in the Republic of Palau Micronesia. In Journal of the world. USA: Aquaculture Society, Vol. 4, No. 27 (October, 1996). pp. 363 - 372.

TERAN, Pablo; ROSALES, Martín; DUMAS, Silvie; PLIEGO, Hugo; ALCANTAR, Pablo. Características reproductivas del Huachinango del Pacífico (*Lutjanus peru*) en cautiverio. En: Panorama Acuícola, Maga Río, Vol. 3, No. 20 (Junio, 2004). pp. 3 – 29.

THOMPSON, R. and MUNRO, L. The biology, ecology and bioeconomics of the snapper Lutjanidae in caribbean coral reef fisheries resources. In International Workshop of tropical groupers and snappers. México: ICLARM PESCA, Vol. 6, No. 6 (March, 1993). pp. 94 - 109.

TORRES, Ricardo; AYALA, Luis; SALAS, Silvia. Determinación de algunos parámetros de la reproducción de la rubia *Lutjanus synagris* en las costas de Veracruz. En: Revista de Investigación Marina. México: Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Vol. 8, No. 20 (Octubre, 1990). pp. 10 - 30.

TUCKER, Woodward. Voluntary spawning of captive Nassau groupers *Epinephelus striatus* in a concrete raceway. In Journal of the world. USA: Aquaculture Society, Vol. 4, No. 27 (October, 1996). pp. 373 - 383.

VASQUEZ, O. A review of potentially cultivable marine species in Latin American waters. Coquimbo: s.n.e. 1988. 37 p.

WATANABE, Wade; ELLIS, Eileen; ELLIS, Simon; CHAVES, Juan; MANFREDI, Christini. Artificial Propagation of Mutton Snapper *Lutjanus analis*, A New Candidate Marine Fish Species for Aquaculture. In Journal of the World. USA: Aquaculture Society, Vol. 29, No. 2 (June, 1998). pp. 176 - 187.

WOYNAROVICH, Andras; WOYNAROVICH, Elek. Reproducción artificial de las especies *Colossoma* y *Piaractus*. Lima, Perú: Fondepes, 1988. 40 p. (13)

WUDTHISIN, P. Propagation on the red snapper, *Lutjanus argentimaculatus* (Forsskal). Thailand: Marine Fisheries Division, 1984. 58 p.

YAÑEZ, Alejandro. Taxonomía, ecología y estructura de las comunidades de peces en lagunas costeras con bocas efímeras del Pacífico de México. En: Publicaciones especiales Centro de Ciencias del mar y Limnología. México: Universidad Nacional Autónoma de México, (Octubre, 1977). pp. 12 - 22.

YARON, Z. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. In Journal of the world. USA: Aquaculture Society, Vol. 12, No. 129 (May, 1995). pp. 49 – 73..

ZANUY, Silvia y CARILLO, Manuel. La reproducción de los teleósteos y su aplicación en acuicultura. En: Reproducción en Acuicultura. Madrid: J Espinosa de los Monteros y U laberta, comisión asesora de Investigación Científica y Técnica (CAICYT), 1987. pp. 1 – 102.

ZOHAR, Y. Fish reproduction: its physiology and artificial manipulation. Florida, USA: :SHILO, M. & Sarig, 1989. 119 p.

ANEXOS

Anexo A. Componentes de la solución Serra

Componente	Cantidad (%)
Alcohol	60
Formol	30
Ácido acético glacial	10

Anexo B. Protocolo para la extracción de muestras de ovocitos

Protocolo Nº 2: Descripción del método de muestreo *in vivo* de ovocitos intraováricos con catéter.

1. Preparar con anticipación todos los recursos materiales necesarios para el muestreo y el procesamiento de las muestras.
2. Una vez capturados y narcotizados los reproductores, se procede a obtener la muestra de ovocitos intraováricos. En el caso de reproductores criados las operaciones se realizan en la cámara de captura de los estanques, o en los tanques y jaulas en que han estado hasta ese momento. En el caso de los reproductores salvajes procedentes del medio natural, las operaciones se realizarán en los tanques de recepción.
3. Es preferible que, si los reproductores toleran bien la manipulación, no se anestesien.
4. Las operaciones deben realizarse con una hembra de cada vez, la cual es introducida dentro de la red de mano con marco rectangular de PVC (20 mm de diámetro), que al flotar permite mantener controlado al reproductor en un espacio reducido y accesible en la superficie del agua junto al operador, el cual debe emplear guantes tejidos de algodón o quirúrgicos.
5. Para mantener más calmados a los reproductores, se recomienda utilizar capuchones de tela negra y suave con un aro rígido en el extremo para mantenerlo abierto, con vistas a cubrir la cabeza, o simplemente con las manos enguataadas se cubre la región de los ojos.
6. Se sujeta al pez suavemente, se coloca en posición invertida con el vientre hacia arriba y se localiza la abertura genital o gonoporo por donde se introducirá el catéter, situada inmediatamente detrás del ano.
7. Se introduce uno de los extremos del catéter sintético por el gonoporo a través del oviducto, cuya longitud estimada, de acuerdo a la especie de que se trate, para alcanzar la región central de la gónada, es generalmente de unos 5 - 10 cm. El otro extremo queda introducido en la boca del operador para succionar.
8. Se comienza a extraer el catéter lentamente a la vez que se hace succión bucal para que una muestra del tejido ovárico penetre dentro del mismo.
9. Una vez extraído el catéter se observa por transparencia si la muestra efectivamente fue tomada, así como su aspecto y posteriormente se sopla la muestra con el otro extremo introducido en un frasco pequeño (10 - 15 ml) con solución de formalina al 1% en 0.9% de NaCl como solución de preservación, debidamente etiquetado con la referencia cruzada correspondiente, para ser examinados posteriormente.
10. El catéter utilizado se sumerge lleno en etanol, en donde permanece unos minutos, mientras se utiliza otro para tomar la muestra de otra hembra.
11. En el laboratorio seco, se procede a analizar las muestras bajo el microscopio estereoscópico con micrómetro ocular con precisión de 10 μ .

12. Las muestras se analizan en una cámara de cuantificación o conteo, de las cuales se recomienda la Sedgewick Rafter, en la que se colocan primero junto con la solución de preservación. La observación de toda la muestra se realiza con luz transmitida por debajo y se mide el diámetro de los ovocitos vitelogénicos opacos. Dada su profundidad de 1 mm, se asegura que los ovocitos se distribuyan en un solo estrato y se evita el presionar un cubreobjetos sobre una muestra, que resulta un procedimiento engorroso, poco preciso y que introduce cambios morfológicos en los ovocitos.

13. Se introducen unas gotas de la solución Serra compuesta por etanol, formalina y ácido acético glacial (6:3:1 en proporción de volumen) y después de unos minutos se analizan los ovocitos respecto al grosor de su membrana, localización del núcleo, presencia de gotas de aceite, tamaño y número de las gotas de aceite, aspecto del vitelo y otras características morfológicas que permitan precisar el estadio de desarrollo en que se encuentran.

14. Todos los datos obtenidos se registran en el formulario N^o 6 confeccionado a tales efectos y posteriormente se introducen en la correspondiente hoja de cálculo computarizada.

Anexo C. Metodología para la cuantificación de espermatozoides.

Protocolo N° 4: Método para la cuantificación de espermatozoides.

La cuantificación de espermatozoides puede hacerse con cámara de Neubauer mejorada de la siguiente forma:

- 1.** Dilución de 1/100 – 1/1,000 del semen en solución espermaticida por ejemplo 5 g de NaHCO₃ y 1 - 2 ml de formalina pura al 37 - 38% llevados a 100 ml con solución salina 0.7%.
 - 2.** Se mezclan bien y se carga la cámara de Neubauer.
 - 3.** Se deja que los espermatozoides se sedimenten durante una hora en una cámara húmeda (esponja húmeda en una desecadora cerrada).
 - 4.** Se cuenta bajo el microscopio biológico con aumento de 400X y se expresan en el número de espermatozoides por ml.
-

Anexo D. Escalas numéricas y descriptivas para determinar la motilidad microscópica de células espermáticas

Células móviles (%)	Clasificación	Motilidad de masas	Valor numérico
80 - 100	Muy bueno	Arremolinamiento rápido	5
60 - 80	Bueno	Arremolinamiento lento	4
40 - 60	Regular	Oscilante	3
20 - 40	Pobre	Vibración	2
0 - 20	Muy pobre		1

SORENSEN, Op. cit., p. 38.

Anexo E. Prueba de Normalidad

Variable	Shapiro Wilk	p (valor)
Peso	0,7397	0,0782
Longitud total	0,9457	0,1297
Diámetro antes	0,9748	0,5032
Diámetro después	0,9391	0,09481
Tiempo de desove	0,814	0,0641
Fecundidad	0,7374	0,00000573
Fecundidad transformada (logaritmo natural)	0,9748	0,6775
Fertilidad	0,9077	0,013
Fertilidad transformada (Arcoseno)	0,9569	0,2571
Eclosión	0,9619	0,346

Anexo F. Análisis de varianza de los parámetros reproductivos

Variable	df1	df2	F	P- Valor
Peso	3	35	2,032	0,1273
Longitud total	3	34	2,728	0,05918
Diámetro antes	3	34	1,65	0,1962
Diámetro después	3	35	2,977	0,0447*
Tiempo de desove	2	25	0,583	0,566
Fecundidad	2	27	0,4246	0,6583
Fertilidad	2	27	2,058	0,1473
Eclosión	2	25	1,814	0,184

*Indica una diferencia significativa

Anexo G. Prueba de Tukey para diámetro de oocito después de la inducción hormonal

	T₀	T₁	T₂	T₃
T₀	0	*0,04817	*0,04179	*0,04923
T₁	3,839	0	0,998	0,6502
T₂	3,586	0,2529	0	0,7561
T₃	2,186	1,653	1,4	0

*Indica diferencia significativa

Anexo H. Correlación lineal simple entre diámetro de los oocitos después de la inducción y fertilidad

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Coficiente-F	P-valor
Modelo	0,35278	1	0,35278	3,29	0,0774
Residuo	4,06906	29	0,107081		
Total (Corr.)	4,42184	30			

Fertilidad = $-0,0567011 + 0,0014087 \cdot \text{Diámetro después}$

Dado que el p-valor en la tabla ANOVA es inferior a 0.10, existe relación estadísticamente significativa entre Fertilidad y Diámetro después para un nivel de confianza del 90%.

Anexo I. Correlación lineal simple entre fecundidad y tiempo de desove

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Coefficiente-F	P-valor
Modelo	6,96464E10	1	6,96464E10	3,71	0,0643
Residuo	5,25511E11	29	1,87682E10		
Total (Corr.)	5,95157E11	30			

$$\text{Fecundidad} = 734179,0 - 42886,5 * \text{Tiempo de desove}$$

Dado que el p-valor en la tabla ANOVA es inferior a 0.10, existe relación estadísticamente significativa entre Fecundidad y Tiempo de desove para un nivel de confianza del 90%.

Anexo J. Parámetros físico químicos en el cultivo de *L. guttatus*

Parámetros	Rangos óptimos
Temperatura	25 – 28 °C
Oxígeno disuelto	3,4 – 6,5 mg/L
pH	6,0 – 8,0
Salinidad	24,9 – 37 ppm

MOSQUERA, Op. cit., p. 80.

Anexo K. Características biométricas de reproductores, según Literatura científica

Autor	Especie	Hormona	Peso (kg)		Longitud (cm)
			H	M	H
Cuartas, Alvaro; et al.	<i>H. bonariense</i>	HCG	0,45	0,35	28,0
Carvajal	<i>C. undecimalis</i>	LHRHa y HCG	11,0	2,9	
Luchini, Laura	<i>Rhamdia sapo</i>	HCG	1,15	0,9	
Hoff, F. ; et al	<i>Trachinotus sp.</i>	HCG	1,25		
Aristizabal Eddie	<i>Pagrus pagrus</i>	Sin hormona	2,35		
Cabrera Tomas; et al	<i>L. griseus</i>	HCG	0,45		
Apolinar Santamaría	<i>L. peru</i>				38,0

Anexo L. Tiempo de desove en algunas especies marinas inducidas con HCG

Autor	Especie	Dosis UI/ kg	T. desove (horas)	Temperatura (°C)
Cuartas et al.,	<i>H. bonariense</i>	500 - 3000	10	27
Hoff et al.,	<i>Trachinotus sp.</i>	1100	42	27
Carvajal	<i>C. undecimalis</i>	1000	36	26
Costa	<i>C. undecimalis</i>	1000	24	28

Anexo M. Porcentajes de fertilización en especies marinas

Autor	Especie	Fertilización (%)
Alvarez Lajonchere	<i>O. chrysurus</i>	39
Hoff et al.,	<i>Trachinotus sp.</i>	70
Carvajal	<i>C. undecimalis</i>	0,58 – 2,8
Cerqueira	<i>C. parallelus</i>	70