



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**INDUCCIÓN FOTOTÉRMICA DE LA REPRODUCCIÓN EN
CAUTIVERIO, CONDUCTA REPRODUCTIVA Y CALIDAD
MORFOLÓGICA DE LOS HUEVOS DEL HUACHINANGO
DEL PACÍFICO *Lutjanus peru***

Por:

Carlos Aarón Cetzal Aké

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN EN ACUICULTURA Y MANEJO AMBIENTAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

APROBACIÓN

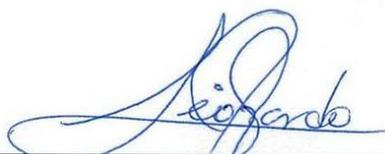
Los miembros de este comité designado para revisar la tesis de Carlos Aarón Cetzal Aké, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



Dr. Juan Manuel Martínez Brown
Director de Tesis



M. en C. Luz Estela Rodríguez Ibarra
Integrante de comité de tesis



Dr. Leonardo Ibarra Castro
Integrante de comité de tesis



Dr. Nicolás Álvarez Pliego
Integrante de comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Inducción Fototérmica de la Reproducción en Cautiverio, Conducta Reproductiva y Calidad Morfológica de los Huevos de Huachinango del Pacífico *Lutjanus peru*” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor Carlos Aarón Cetzal Aké, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del director(a) de tesis.



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.
Coordinación de Programas Académicos



Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgarme la beca para realizar este posgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD) por brindar todas las necesidades y facilidades para concluir el programa de maestría y en mi formación profesional.

Al Dr. Juan Manuel Martínez Brown, director de la presente tesis, por su invaluable guía, dirección y apoyo, no solo en lo académico, si no en todos los aspectos. Gracias por su paciencia, consejos y reflexiones, me ayudaron en gran manera a mi desarrollo profesional y humano. Gracias por su tiempo y amistad.

A los miembros del comité de tesis, la maestra Luz Estela Rodríguez Ibarra, y los doctores Leonardo Ibarra Castro y Nicolás Álvarez Pliego, por su orientación para el desarrollo de esta tesis, siempre procurando apoyar mi desarrollo humano y profesional.

Al equipo de trabajo de la planta de peces marinos del CIAD, Luis Alexis y Jesús Humberto, por el apoyo y por haberme compartido tantos conocimientos y experiencias que me sirvieron de mucho, tanto como en lo académico, como profesional y lo personal.

A los profesores de materia y a todo personal administrativo.

Al Dr. Omar Calvario y Pati por facilitarme equipo para poder realizar mediciones.

A mis compañeros de la maestría Chuchín, Mariana y David por siempre darme su amistad y apoyo.

A mi familia, por apoyarme en todo momento, por haber tenido tanta paciencia y siempre creer en mí.

A mis amigos mazatlecos, que más que amigos son hermanxs, por siempre ser un apoyo en todo momento: Sindy, Tania, León, Juan, Richard, Cristóbal y Chiapas.

A mis hermanos cozumeleños, que a pesar de la distancia siempre hemos mantenido la misma bella amistad de siempre: Adrián, Moasir, Hernán, Damián, Alex y Gabriel.

A mi fiel amiga Mich por siempre, desde hace muchos años, ser una de las mejores amistades que me ha dado la vida.

A mi bella amiga Elo por demostrarme cómo es una amistad fiel, siempre estando feliz por mis logros y por las cientos de pláticas y momentos de risas.

DEDICATORIA

Para mi familia, para cada uno de ustedes, porque ustedes han sido, son y serán lo que me motiva a ser mejor persona y lograr mis objetivos, por querer llenarlos de orgullo y ser un ejemplo, porque siempre me han apoyado y dado fuerzas.

En especial para mi madre, mi madre que toda la vida ha sido la persona que me ha impulsado hacer las cosas, la que me dejó a un lado, la que siempre me apoyó, mi inspiración, mi modelo a seguir. Esto es por ti y para ti madre. Gracias infinitas.

César, Abril, José, Madre, los quiero.

- *T*

- *¿T de Troy?*

- *No, T de "Terminé la tesis".*

CONTENIDO

APROBACIÓN	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	5
CONTENIDO	6
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE CUADROS	9
RESUMEN	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUCCIÓN	12
2. ANTECEDENTES	16
2.1 Generalidades Biológicas.....	16
2.1.1 Clasificación Taxonómica.....	16
2.1.2 Distribución Geográfica y Hábitat.....	16
2.1.3. Morfología.....	17
2.1.4 Hábitos Alimentarios.....	17
2.1.5. Biología Reproductiva en Campo.....	18
2.2 Métodos de Reproducción en Cautiverio.....	18
2.2.1. Maduración Gonádica y Desoves de Peces en Cautiverio.....	18
2.2.2. Uso de Hormonas para Inducción Final y Desove.....	19
2.2.3. Reproducción de Peces en Cautiverio Mediante la Manipulación de las Variables Ambientales.....	22
2.2.4 Calidad de Huevos Obtenidos de Peces en Cautiverio.....	25
2.3. Patrones de Conducta Reproductiva en Lutjanidae.....	27
2.3.1 Conducta Reproductiva en Vida Silvestre.....	27
2.3.2 Conducta Reproductiva en Cautiverio.....	27
3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	30
4. HIPÓTESIS	31
5. OBJETIVOS	32
6. MATERIALES Y MÉTODOS	33
6.1. Sistemas de Soporte de Vida.....	33
6.2. Sistemas de Recolección de Huevos.....	34
6.3. Origen y Manejo de Reproductores.....	35
6.3.1 Obtención de Reproductores.....	35
6.3.2 Rutinas de Alimentación y Limpieza.....	36
6.4. Diseño del Estudio.....	37
6.5 Recolección de Huevos.....	39
6.6. Evaluación Morfológica de la Calidad de Huevos.....	40
6.6.1. Morfometría de los Huevos.....	40
6.6.2. Criterios para Categorizar la Morfología de los Huevos.....	41

CONTENIDO (continuación)

6.7. Registro Directo y Videográfico de la Conducta Reproductiva.....	44
6.8. Patrones de Conducta Reproductiva.....	44
6.9. Análisis Estadístico.....	45
7. RESULTADOS.....	46
7.1. Calidad de Agua.....	46
7.2. Patrones de Conducta Reproductiva.....	46
7.2.1. Horario de Desove.....	46
7.2.2. Conducta Reproductiva.....	48
7.3. Producción de Huevos.....	53
7.3.1. Etapa FN-2020.....	53
7.3.2. Etapa FE-2021.....	54
7.3.3. Etapa FN-2021.....	55
7.3.4. Producción de Huevos entre Tanques.....	56
7.4. Tasas de Fertilización.....	56
7.4.1. Etapa FN-2020.....	56
7.4.2. Etapa FE-2021.....	56
7.4.3. Etapa FN-2021.....	57
7.4.4. Tasas de Fertilización entre Tanques.....	57
7.5. Calidad Morfológica de los Huevos.....	60
7.5.1. Tamaños de los Huevos y los Glóbulos de Aceite.....	60
7.5.1.1. Etapa FN-2020.....	60
7.5.1.2. Etapa FE-2021.....	61
7.5.1.3. Etapa FN-2021.....	61
7.5.1.4. Variación en el tamaño de los huevos y los glóbulos de aceite a lo largo del estudio.....	61
7.5.2. Evaluación de la Calidad Morfológica de los Huevos.....	62
7.5.2.1. Etapa FN-2020.....	62
7.5.2.2. Etapa FE-2021.....	63
7.5.2.3. Etapa FN-2021.....	64
8. DISCUSIÓN.....	66
8.1. Conducta Reproductiva de <i>L. peru</i> en Cautiverio.....	66
8.2. Efecto del Régimen Fototérmico sobre la Reproducción en Cautiverio.....	69
8.3. Producción, Morfometría y Calidad Morfológica de Huevos.....	72
9. CONCLUSIONES.....	76
10. RECOMENDACIONES.....	77
11. BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	78

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Sistema de recirculación de la unidad experimental para inducción a la reproducción de <i>L. peru</i>	33
2. Diagrama del sistema de soporte de vida que detalla la dirección de la secuencia del tratamiento de agua y de la captación de huevos.....	35
3. Grupo de reproductores de <i>L. peru</i>	36
4. Huevos de <i>L. peru</i> de la categoría “sin activación”, “sin fertilización” y “mala calidad”.....	42
5. Huevos de <i>L. peru</i> de la categoría “desarrollo anormal”.....	43
6. Huevos de <i>L. peru</i> de la categoría “desarrollo normal” y “mala calidad”.....	43
7. Hora en que ocurrieron los desoves en A) el FN-2020, y B) en el FE-2021 y FN-2021, en el tanque R5 y R6.....	47
8. Conducta reproductiva de <i>L. peru</i> en cautiverio.....	51
9. Frecuencia relativas de las unidades conductuales observadas antes, durante y después del desove.....	53
10. Valores de las variables ambientales, volúmenes de huevos desovados (en mL) y tasas de fertilización (%) obtenidos durante FN-2020 en el tanque R5 y en los desoves mixtos.....	58
11. Valores de las variables ambientales, volúmenes de huevos desovados (en mL) y tasas de fertilización (%) obtenidos durante FE-2021 y FN-2021 en desoves mixtos, tanque R6 y en R5.....	59
12. Días que transcurren para la ocurrencia de un desove (promedio) en cada mes en FN- 2020 en el tanque R5 durante el FE-2021 y FN-2021; en el tanque R6 durante FE-2021, y en desoves mixtos en el FE-2021 y FN-2021.....	60
13. Diámetro promedio de huevos y los glóbulos de aceite de <i>L. peru</i> durante la etapa FN-2020 y durante la etapa FE-2021 y FN-20.....	62
14. Número de huevos obtenidos por cada categoría en la etapa FN-2021, en los desoves del tanque R5 y mixtos, y durante las etapas FE-2021 y FN-2021 en tanque R5, tanque R6 y desoves mixtos.....	65

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Concentraciones promedio de compuestos nitrogenados y fosfatos en los tanques R5 y R6 durante el estudio.....	46
2. Etograma de la conducta reproductiva de <i>L. peru</i> en cautiverio.....	58

RESUMEN

En la reproducción de los peces, el fotoperiodo y la temperatura, entre otros factores ambientales, influyen sobre la dinámica de la gametogénesis. Ambos factores pueden participar como factores próximos o últimos en la estimulación de la gametogénesis. En *Lutjanus peru*, un estudio previo han mostrado que un intervalo de temperatura de 22-24°C es suficiente para iniciar la vitelogénesis. Sin embargo, a la fecha no se ha probado el efecto del fotoperiodo sobre la reproducción en esta especie. Por lo tanto, el presente estudio abordó el efecto del fotoperiodo extendido (24 horas) y fotoperiodo natural, bajo una temperatura constante de 24 °C, sobre la reproducción de *L. peru*. Para esto, se caracterizó el desempeño reproductivo de dos grupos de reproductores durante dos años. Durante el primer año, ambos grupos se mantuvieron bajo condiciones de fotoperiodo natural, a una temperatura constante de 24°C. El segundo año se mantuvo la temperatura constante de 24°C y fue dividido en dos etapas de fotoperiodo. En la primera etapa, que duró ocho meses, ambos grupos de reproductores fueron expuestos a luz artificial con baja iluminancia durante las noches (0.023 ± 0.001 lx) y a luz natural durante el día. En la segunda etapa, ambos grupos se mantuvieron bajo fotoperiodo natural durante cuatro meses. Se describió la conducta reproductiva y se evaluó el desempeño reproductivo mediante la frecuencia de desove, volúmenes de desoves, tasas de fertilización y calidad morfológica de los huevos. Los resultados indicaron que la exposición de los organismos a un fotoperiodo extendido de baja iluminancia aceleró la maduración sexual, lo cual se evidenció con los organismos llevando a cabo conducta reproductiva y desovando 17 días después del inicio a la exposición. La frecuencia de desove, volúmenes de huevos, tasas de fertilización y cantidad de huevos de buena calidad obtenidos durante la etapa de fotoperiodo extendido, presentaron valores significativamente altos con respecto a los obtenidos en etapas con fotoperiodo natural. Se concluyó que el fotoperiodo extendido actúa como un factor predictivo y de sincronización para el desove, además de que mejora el desempeño reproductivo. El uso del fotoperiodo extendido se presenta como una herramienta para lograr y controlar la reproducción de *L. peru* en cautiverio.

Palabras clave: piscicultura, fotoperiodo, control reproductivo, desempeño reproductivo

ABSTRACT

In fish reproduction, photoperiod and temperature, among other environmental factors, influence the dynamics of gametogenesis. Both factors can participate as proximate or ultimate factors in the stimulation of gametogenesis. In *Lutjanus peru*, a previous study has shown that a temperature range of 22-24°C is sufficient to stimulate vitellogenesis. However, to date, the effect of photoperiod on reproduction in this species has not been tested. Therefore, the present study addressed the effect of the extended photoperiod (24 hours) and natural photoperiod, under a constant temperature of 24°C, on the reproduction of *L. peru*. For this, the reproductive performance of two broodstock groups was characterized for two years. During the first year, both groups were kept under natural photoperiod at a constant temperature of 24°C. In the second year, the temperature of 24°C was maintained and divided into two photoperiod phases. In the first phase, which lasted eight months, both broodstock groups were exposed to artificial light with low illuminance at night (0.023 ± 0.001 lx) and natural light during the day. In the second phase, both groups were kept under natural photoperiod for four months. Breeding behavior was described, and reproductive performance was assessed by spawning frequency, spawning volumes, fertilization rates, and morphological quality of eggs. The results indicated that the exposure of the organisms to an extended photoperiod of low illuminance accelerated sexual maturation, which was evidenced by the organisms carrying out reproductive behavior and spawning 17 days after exposure. The spawning frequency, egg volumes, fertilization rates, and quantity of good quality eggs obtained during the extended photoperiod phase presented significantly high values concerning those obtained in stages with natural photoperiod. It was concluded that the extended photoperiod acts as a predictive and synchronization factor for spawning and improves reproductive performance. The extended photoperiod is presented as a tool to achieve and control the reproduction of *L. peru* in captivity.

Key words: pisciculture, photoperiod, reproductive control, reproductive performance

1. INTRODUCCIÓN

El huachinango del Pacífico, *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy), es una especie de gran importancia pesquera en la región costera del Pacífico Mexicano debido a su alto valor comercial y a que es un recurso que se extrae durante todo el año (INP, 2001, Díaz-Uribe *et al.*, 2004; Garduño-Dionate *et al.*, 2010). La acelerada explotación de las poblaciones de esta especie, principalmente causada por el esfuerzo pesquero enfocado en la captura de organismos inmaduros, llevó a que las poblaciones fueran explotadas por arriba del rendimiento máximo sostenible, por lo tanto, a la sobreexplotación pesquera de esta especie (Cruz-Romero *et al.*, 1996; Santamaría y Chávez, 1999). Por este motivo y a su importancia económica, en México se han hecho esfuerzos de investigación para establecer tecnologías de cultivo como herramienta para disminuir los impactos sobre las poblaciones naturales y cubrir la demanda de este recurso pesquero. Los primeros trabajos sobre el cultivo de *L. peru* fueron enfocados en la engorda de juveniles silvestres en jaulas flotantes (Avilés-Quevedo y Mazón-Suástegui, 1996). Sin embargo, debido a la dependencia por juveniles silvestres, cuya disponibilidad es altamente variable e impredecible, el avance en esta etapa del ciclo de producción se limitó significativamente.

Debido a esto, a partir de 1996, en el Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del Instituto Politécnico Nacional (CICIMAR-IPN) se iniciaron una serie de investigaciones cuyo objetivo fue la reproducción en cautiverio de *L. peru* (Dumas *et al.*, 1999). En el 2000 se logró por primera vez la maduración gonádica mediante inducción fototérmica, la maduración final mediante terapias hormonales y el desove mediante masaje abdominal (Dumas *et al.*, 2004).

Con el mismo enfoque, a partir del 2010, en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) se iniciaron una serie de estudios que lograron el desove natural, durante la época reproductiva (sin control de los parámetros ambientales), de reproductores mantenidos en estanques supralitorales (Spanopoulos, 2017). Como consecuencia de los resultados de estos trabajos, se abordaron otros problemas relacionados con el manejo reproductivo y producción de huevos de *L. peru*, centrándose principalmente en la evaluación de la calidad de los huevos obtenidos de organismos inducidos hormonalmente (Pintos *et al.*, 2004; Spanopoulos *et al.*, 2016), la determinación de temperaturas óptimas para la incubación de huevos (Peña *et al.*, 2012; Estrada-Godínez *et al.*, 2015) y la determinación de la edad de la primera madurez sexual

de reproductores en cautiverio (Spanopoulos *et al.*, 2016).

Aunque en estos primeros estudios sobre la reproducción en cautiverio de *L. peru* se logró la obtención de huevos, no se alcanzó un desarrollo tecnológico que permitiera controlar la reproducción en cualquier época del año, particularmente fuera de temporada reproductiva en condiciones silvestres.

Durante el 2014 y el 2015, en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Mazatlán (CIAD Mazatlán), se logró obtener huevos fertilizados de desoves naturales de reproductores de *L. peru* en cautiverio; sin embargo la producción de huevos fue limitada en cantidad, variable tanto en cantidad y frecuencia y restringida a la época reproductiva natural (Ibarra-Castro, datos no publicados). A pesar de la información disponible y de los esfuerzos de investigación realizados, hasta ahora los éxitos obtenidos sobre el control de la maduración gonádica y los desoves de reproductores de *L. peru* en cautiverio han sido limitados. Esto condiciona la producción en masa de juveniles de *L. peru* para cubrir las cantidades requeridas en los programas de producción, por lo que se mantiene como un obstáculo para el desarrollo del cultivo intensivo de *L. peru*. No obstante, en la Paz B.C.S., opera una empresa privada que cuenta con la producción de huevos, producción y engorda de juveniles, pero no existe información pública sobre las técnicas que emplean en el proceso de reproducción en cautiverio.

En general, lograr la reproducción de peces marinos en cautiverio sigue siendo un reto debido a la dificultad de brindar a los organismos las condiciones que permiten desencadenar las respuestas neuroendocrinas que inducen su maduración gonadal y desove.

La reproducción de los peces es influenciada por las variaciones ambientales que ocurren en ciclos diarios y anuales, aunque también hay especies en las que su reproducción es influenciada por las fases lunares. Lo anterior se debe a que la reproducción es un proceso cíclico que está integrado de ritmos fisiológicos diarios y anuales que se sincronizan estrechamente con los factores ambientales (Saborido-Rey, 2009). Por lo tanto, es necesario entender cómo las respuestas fisiológicas de los peces (del sistema neuroendocrino, metabólicas y conductuales) se sincronizan con las variaciones ambientales para lograr la reproducción.

Algunos factores ambientales importantes envueltos en la reproducción de los peces son el fotoperiodo, la temperatura, las fases lunares y la disponibilidad del alimento (Carrillo-Estévez

et al., 2009). En algunas especies, el fotoperiodo ha sido utilizado para adelantar o retrasar la maduración sexual y el tiempo de desove y se acepta como el factor externo más importante para inducir su maduración sexual, especialmente en especies de agua subtropicales y templadas (p. ej., Duston y Bromage, 1988; Randall *et al.*, 1998; Bromage *et al.*, 2001; Duston *et al.*, 2003; Imsland *et al.*, 2003). Este factor puede actuar en las especies de distintas maneras dependiendo de los valores que se utilicen y la sensibilidad de los organismos a su exposición. Por ejemplo, en *Oncorhynchus mykiss*, fotoperiodos largos (de 18 a 24 horas luz) tienen un efecto positivo en la maduración sexual (Choi *et al.*, 2010), mientras que Migaud *et al.* (2004) y Abdulfatah *et al.* (2007) observaron que en *Perca fluviatilis*, fotoperiodos de 12 horas luz inducen la oogénesis contrario a lo que sucede con fotoperiodos más largos (17 horas luz). En *Dicentrarchus labrax*, el fotoperiodo corto (9 horas luz) aceleró el tiempo para que ocurriera el desove, mientras que fotoperiodos largos (15 horas luz) lo retrasaron (Prat *et al.*, 1999), similar a lo que ocurre con *Salvelinus fontinalis* pues los fotoperiodos largos (18 horas) detienen el desarrollo gonadal (Lundova *et al.*, 2018).

Por otra parte, en especies como truchas y salmones la temperatura es el factor ambiental que más influye en los desoves (Qiu *et al.*, 2014; Dustan *et al.*, 2003), y al igual que el fotoperiodo, ésta puede influir de distintas maneras dependiendo de su manipulación y de los requerimientos de la especie dada. Asimismo, una amplitud óptima de temperatura es necesario para iniciar el ciclo reproductivo, y para lograr obtener buena calidad de huevos (p. ej., Brown *et al.*, 2006; Migaud *et al.*, 2013). Por ejemplo, en algunas especies de damiselas (Pomacentridae) como *Dascyllus albisella* y *Amblyglyphidodon leucogaster*, y en la carpa *Acheilognathus tabira*, el aumento de la temperatura acelera la ocurrencia del desove (Shimizu y Hanyu, 1982; Danilowicks, 1995; Goulet, 1995), mientras que en otras, como *Carasius auratus* y *Chryseptera cyanea*, el aumento causa impactos negativos en el desarrollo ovárico y cesa la reproducción (Bapary y Takemura, 2010; Sarkar y Upadhyay, 2011). A pesar de que las respuestas fisiológicas, tanto al fotoperiodo como a la temperatura, varían entre grupos de peces, en distintas especies se ha podido encontrar sincronización e interacción entre dichas variables para lograr efectos positivos en la reproducción de los peces (p. ej., *C. cyanea*, Bapary y Takemura, 2010; *Acanthochromis polyacanthus*, Donelson *et al.*, 2010; *Sebasticus tertius*, Lim *et al.*, 2014).

Los factores ambientales, además de actuar como factores que desencadenan el desarrollo gonadal, también lo hacen en relación a las actividades de desove (comportamiento

reproductivo) (Lam, 1983). El conocimiento de los patrones de comportamiento de desove y sus características son importantes pues permiten comprender si los factores, tanto ambientales como sociales, proporcionan las condiciones necesarias para el éxito reproductivo.

Como ya se mencionó, tanto la inducción a la maduración sexual de peces en cautiverio mediante la manipulación de variables ambientales, como el uso de tratamientos hormonales pueden ocasionar disfunciones reproductivas, las cuales también se reflejan en la calidad de los huevos. La calidad de los huevos puede ser definida cómo la capacidad de los ovocitos para ser fertilizados y lograr el posterior desarrollo de descendencia viable (Kjørsvik *et al.*, 1990; Bonnet *et al.*, 2007), por lo que, las propiedades del huevo dependen de los genotipos de la hembra y el macho, así como de los eventos fisiológicos que ocurren dentro del huevo. Las características de estos eventos están relacionadas principalmente con las condiciones de desarrollo de los ovocitos durante la oogénesis (Pavlov y Emel'yanova, 2008).

En acuicultura se buscan métodos que permitan establecer parámetros de calidad de los huevos que permitan predecir el rendimiento reproductivo, y así evitar el desperdicio de recursos valiosos en un grupo de bajo rendimiento. Estos métodos deben ser rápidos, fáciles de realizar y sin procedimientos de laboratorio prolongados y sofisticados. Existe una serie de criterios que son utilizados para la evaluación de calidad: tasas de fertilización, de eclosión, mortalidad, entre otros. Dado que el momento de la primera alimentación exógena es cuando comienza la larvicultura, y es cuando ocurren mortalidades masivas (Yúfera y Darías, 2007), los métodos de evaluación de calidad deben utilizar parámetros que permitan predecir la supervivencia de las larvas a la primera alimentación (Martínez-Brown *et al.*, 2018). Por otra parte, la morfología de los embriones en las etapas más temprana del desarrollo (tamaño del huevo, morfología de los blastómeros, glóbulo de aceite fragmentado, entre otros) se presenta como una herramienta que permitiría tener una noción de la consecuente calidad de la descendencia.

El objetivo de este trabajo fue probar el efecto de la temperatura del agua y del fotoperiodo extendido sobre la conducta reproductiva y el desempeño reproductivo de reproductores de *Lutjanus peru*, utilizando como criterios la frecuencia de desove, volúmenes de desoves, fertilización y calidad morfológica de los huevos.

2. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades Biológicas de *Lutjanus peru*

2.1.1. Clasificación Taxonómica

De acuerdo a Nelson (2016), la clasificación taxonómica de *L. peru* es la siguiente:

Filo: Chordata

Subfilo: Craniata

Infrafilo: Vertebrata

Superclase: Gnathostomata

Grado: Teleostomi

Clase: Osteichthyes

Subclase: Actinopterygii

División: Teleostomorpha

Subdivisión: Teleostei

Superorden: Acanthopterygii

Series: Percomorpha

Orden: Perciformes

Familia: Lutjanidae

Subfamilia: Lutjaninae

Género: *Lutjanus*

Especie: *Lutjanus peru*

2.1.2 Distribución Geográfica y Hábitat

L. peru se distribuye desde la costa suroccidental de Baja California Sur y Golfo de California hasta las costas de Perú (Castro-Aguirre *et al.*, 1999), incluyendo las Islas Revillagigedo y Malpelo (Robertson y Allen, 2015). Generalmente habita sobre fondos duros de la plataforma

interna, hasta los 150 m de profundidad. (Castro-Aguirre *et al.*, 1999). Su abundancia es influenciada por la temperatura de la superficie y disminuye durante época de “El Niño” (Madrid y Sánchez, 1997).

2.1.3. Morfología

Esta especie alcanza hasta los 95 cm de longitud total. Posee cuerpo ovalado, con color rojizo a rosado con tintes plateados y aletas rojizas. Presenta dientes cónicos a caniformes, aleta dorsal redondeada, aleta anal puntiaguda, aleta caudal con borde cóncavo, y las bases de las aletas dorsal y anal escamadas. Por encima de la línea lateral presenta una hilera de escamas oblicuas (Robertson y Allen, 2015).

2.1.4. Hábitos Alimentarios

L. peru es una especie carnívora generalista, que tanto en estado adulto como en juvenil, se alimenta principalmente de camarones, cangrejos y ostrácodos, aunque también puede consumir peces (Saucedo-Lozano *et al.*, 1999; Moreno-Sánchez *et al.*, 2016). Sin embargo, tanto la disponibilidad de los tipos de presa de acuerdo a la región en la que se encuentre, el estado ontogénico de los organismos de *L. peru*, y la estación del año, determinan las especies de la que principalmente se alimentan y la proporción de consumo de cada una de ellas (Allen 1985; Rojas-Herrera *et al.*, 2004; Moreno-Sánchez *et al.*, 2016). Su amplia versatilidad de alimentación a lo largo de su historia ontogénica, hacen que esta especie presente efectos directos e indirectos sobre un gran número de grupos tróficos en los ecosistemas que habita, lo cual aumenta su valor ecológico debido a los diferentes roles tróficos que puede presentar (Moreno-Sánchez *et al.*, 2016).

2.1.5. Biología Reproductiva en Campo

Esta es una especie gonocórica que no presenta dimorfismo ni dicromatismo sexual. Presenta maduración ovárica asincrónica. Su primera madurez sexual ocurre a los 29.5 cm de longitud furcal (Rojas-Herrera *et al.*, 2004). En la Bahía de La Paz, B.C.S., México, la época reproductiva comprende los meses de junio, julio, agosto y septiembre, y no presenta actividad reproductiva el resto del año (Reyna-Trujillo, 1993). En las costas de Costa Rica, *L. peru* presenta dos periodos máximos de desove, uno en mayo y otro en septiembre-octubre, siendo el primero más intenso (Gutiérrez, 1990). Mientras que Ruiz *et al.* (1985), reportan que en las costas de Oaxaca, Guerrero y Michoacán, México, los porcentajes más altos de organismos en madurez se presentan en abril, septiembre y diciembre. En las costas de Panamá, la mayor proporción de organismos maduros presenta su época reproductiva de mayo a diciembre, siendo junio el mes con el mayor pico de desove (Pacheco-Rovira *et al.*, 2021).

2.2 Métodos de Reproducción en Cautiverio

2.2.1 Maduración Gonádica y Desove de Peces en Cautiverio

Las razones principales que dificultan la reproducción de algunas especies de peces en cautiverio son: 1) los organismos no logran iniciar el crecimiento secundario de los oocitos o completar la vitelogénesis, 2) pueden completar la vitelogénesis pero no se produce la maduración final y la subsecuente ovulación; y 3) pueden madurar y ovular, pero no ocurre el desove (Zohar y Mylonas, 2001). Como se observa, las disfunciones reproductivas que presentan los peces mantenidos en cautiverio son más serias en las hembras que en los machos. Sin embargo, en los machos los problemas más usuales son la disminución de la cantidad de esperma producida y de su calidad (Billar, 1989; Mylonas, *et al.*, 1998; Zohar y Mylonas, 2001).

Para desarrollar y establecer una acuicultura sostenible se requiere, en gran medida, de la capacidad de controlar la reproducción de los peces en cautiverio y obtener gametos de alta calidad. Sin embargo, el limitado conocimiento sobre la biología reproductiva de las especies

no permite simular las condiciones necesarias para lograr la madurez sexual y el desove de peces en cautiverio. Aunque actualmente se han logrado controlar la reproducción en cautiverio de algunas especies marinas de importancia comercial (p. ej., *O. mykiss*, *Salmo salar*, *Sparus aurata*, y *Rachycentron canadum*; Benetti *et al.*, 2021), ya sea por medio del uso de hormonas exógenas o mediante manipulación de las variables ambientales, aún existen prácticas de producción que dependen casi exclusivamente de juveniles o adultos tomados de medio silvestre. Sin embargo, la disponibilidad de estos organismos es impredecible, debido a que la disponibilidad depende de la variabilidad natural de las poblaciones, lo cual no permite asegurar ni la cantidad ni la calidad de juveniles o de gametos requeridos para un momento específico. Lograr la reproducción en cautiverio fuera de las temporadas naturales de desove de los organismos, es una estrategia que permite asegurar el suministro constante y confiable de juveniles (Bromage y Roberts, 1995).

2.2.2 Uso de Hormonas para Inducción Final y Desove

Al principio, se hipotetizó que las disfunciones reproductivas en peces cautivos se debían a fallas hormonales, esto llevó a concentrar los estudios en la gametogénesis y en el desarrollo de ensayos de hormonas que trabajaran a lo largo del eje Cerebro-Pituitaria-Gónada (Zohar, 2020). La evidencia arrojó que la razón por la cual algunas especies de peces mantenidas en cautiverio no logran la maduración final, la espermatogénesis y el desove se debe a que la hipófisis disminuye la liberación de la hormona luteinizante (LH) (Mañanos *et al.*, 2002; Mylonas y Zohar, 2001a; Mylonas *et al.* 2010). Debido a esto, los primeros éxitos para corregir estas disfunciones reproductivas se centraron en utilizar fuentes exógenas de LH. La inyección de extractos obtenidos de pituitarias de peces maduros tomados de medio silvestre (“hipofización”), fueron los primeros tratamientos hormonales utilizados para inducir la ovulación y desove de hembras cautivas.

Inicialmente se seguían ciertos criterios de relación de peso entre los peces donantes y los tratados. Sin embargo, las relaciones aplicadas no siempre eran efectivas ya que existían variaciones en el tamaño y el contenido hormonal de las pituitarias. Asimismo, el uso de extractos de pituitaria se asoció con varias desventajas: 1) la alta variabilidad en el contenido de LH; 2) la presencia de hormonas adicionales presentes en la pituitaria que pueden afectar la

fisiología de los peces tratados; y 3) la potencial transmisión de enfermedades del pez donador al pez tratado (Zohar y Mylonas, 2001). Esto debido en parte a que el contenido hormonal de la pituitaria varía de acuerdo a la edad, peso y sexo del pez donador, la estación del año en la que fue extraído y el tiempo que transcurrió desde la muerte del organismos hasta la recolección y conservación de la pituitaria (Yaron, 1995). Debido al éxito que presentaba el uso de extractos de pituitaria para la reproducción de peces en cautiverio, y teniendo en cuenta las desventajas que se mencionaron, se realizaron esfuerzos para estandarizar métodos para poder obtener preparaciones de LH purificadas o parcialmente purificadas.

La purificación de extractos de LH obtenidos de la pituitaria de peces maduros resolvió el problema de la estandarización de las preparaciones. Sin embargo, su indisponibilidad y altos costos llevaron a iniciar el uso de gonadotropinas de mamíferos para la reproducción de peces en cautiverio. Los trabajos se concentraron en la gonadotropina coriónica humana (hCG), la cual se obtenía de la orina de mujeres embarazadas. Sin embargo, uno de los mayores inconvenientes que se presentaron con el uso de hCG es la de la refractariedad secundaria al tratamiento en las temporadas de desoves posteriores (Zohar y Mylonas, 2001). Cuando el mismo tratamiento con hCG es aplicado tiempo después, los peces desarrollan respuesta inmunitaria y la gonadotropina inyectada se inmunoneutraliza. Como consecuencia del uso subsecuente de hCG se requieren dosis cada vez más altas para inducir el desove hasta que el tratamiento se vuelve ineficaz, lo que recorta el tiempo útil de los reproductores (Zohar y Mylonas, 2001).

Poco tiempo después se descubrió una hormona hipotalámica en los mamíferos que controlaba la liberación de LH (GnRH, hormona liberadora de gonadotropina), y en seguida se iniciaron los estudios para la aplicación de esta hormona en la reproducción de peces en cautiverio. Los primeros estudios para la inducción de hembras cautivas indicaron que la GnRH y su agonista (GnRHa) eran más efectivas para inducir el desarrollo ovárico, la maduración final y la ovulación. Su eficacia confirmó la hipótesis que en las disfunciones reproductivas de los peces, la pituitaria mantiene la capacidad de sintetizar y liberar las gonadotropinas endógenas, aplicando el tratamiento y la dosis adecuadas (Zohar y Mylonas, 2001).

El uso de GnRH tiene importantes ventajas. Tanto GnRH, como GnRHa no crean respuesta inmune y pueden ser usados en subsecuentes temporadas de desoves sin reducir su eficacia; al inducir la liberación de LH endógeno con tratamientos de GnRH se “reparan” las disfunciones

endócrinas responsable de que los peces cautivos no logren la maduración final, la ovulación y el desove (Zohar y Mylonas, 2001). Los tratamientos con GnRh, pueden proveer una estimulación más balanceada de los eventos reproductivos, y una mejor integración de estos eventos con otras funciones fisiológicas que afectan la liberación de hormonas, y que son necesarias para lograr la maduración final, ovulación, espermiación y desove (Zohar y Mylonas, 2001). Otra ventaja es que la GnRH puede ser sintetizada y obtenerse en su forma pura, lo cual no genera preocupación sobre las enfermedades que puedan ser transmitidas (Zohar y Mylonas, 2001). Finalmente, debido muchas especies de peces presentan una estructura similar de GnRHs (Sherwood *et al.*, 1994), el uso de estas es genérico y puede aplicarse exitosamente entre un amplio número de especies (Zohar y Mylonas, 2001).

Un punto sensible relacionado con el uso de las terapias hormonales es el efecto que estas pueden tener sobre la calidad de los huevos, ya sea por la naturaleza de las hormonas, los métodos de administración, el estado de maduración de los reproductores en el momento de suministrar las hormonas o por el estrés ocasionado por la manipulación (Miranda *et al.*, 2005; Mylonas *et al.*, 2010). Un alto nivel de hormonas puede afectar la calidad de los huevos (Gardes *et al.*, 2000; Mylonas *et al.*, 1992), especialmente cuando se suministra en forma de una sola inyección, mientras que el uso de un sistema de liberación sostenida da mejores resultados (Mylonas y Zohar, 2001b). El uso de sistemas de liberación sostenida tiene mayores ventajas que las inyecciones pues aplicarlas ocasiona estrés, mientras que el uso de sistemas de liberación sostenida se hace efectivo después de una sola administración. De esta manera se disminuye tanto la manipulación como el uso de anestesia (Agulleiro *et al.*, 2006; Harvey *et al.*, 1988; Mugnier *et al.*, 1998; Mylonas *et al.*, 2007).

El uso de hormonas para el control de reproducción de peces en cautiverio ha contribuido significativamente al desarrollo de métodos más confiables y menos específicos para el control de la reproducción en cautiverio (Zohar y Mylonas, 2001). Sin embargo, el mal uso de estas puede causar la supresión de la maduración sexual de los peces en cautiverio, o puede afectar negativamente la calidad de los huevos. Por otra parte, las terapias hormonales solo son útiles cuando los peces han alcanzado un estado de vitelogénesis completa; es decir, solo estimulan la maduración final y el desove. La acuicultura industrializada requiere de métodos de producción de huevos de alta calidad a bajos costos, y debido a que el uso de hormonas es un proceso con costos elevados, y su uso puede tener efectos negativos en la calidad de los huevos, el control de la reproducción y la calidad de los huevos mediante la manipulación de las

variables ambientales se presenta como la alternativa de mayor interés para el desarrollo de la industria de la acuicultura.

2.2.3 Reproducción de Peces en Cautiverio Mediante la Manipulación de las Variables Ambientales.

La reproducción en cautiverio y la obtención de gametos de alta calidad puede ser lograda mediante la manipulación de las variables ambientales (fotoperiodo, temperatura, entre otros). Sin embargo, la falta de conocimiento sobre la ecología y biología de las especies de interés y por lo tanto, de sus requerimientos para lograr la reproducción, puede hacer imposible brindar las condiciones que son requeridas para inducir el desove natural en cautiverio (Mylonas *et al.*, 2010).

Los factores ambientales pueden actuar tanto como factores que desencadenan el desarrollo gonadal y el desove, como moduladores de los ritmos endógenos (Lam, 1983). Por lo tanto, cada factor tiene una importancia y un efecto distinto en la maduración sexual de los peces, y la importancia de cada uno de estos, sus efectos y sus interacciones son dependientes de la especie, temporada, estado gametogénico y sexo (Lam, 1983).

Dado que el ciclo reproductivo se compone de distintos estados, y cada uno tiene distinta duración, estos pueden actuar, ya sea como señales para el inicio y continuación del desarrollo gonadal, para señalar el momento en el cual las condiciones son adecuadas para el desove, otros como indicadores del fin de la temporada desove, y otros como señales secundarias que aceleran o retardan la velocidad de los procesos desencadenados por el resto de las señales. Munro (1990) denomina a estos como factores predictivos, factores de sincronización, factores terminales y factores modificantes. Sin embargo, este autor también menciona que esta clasificación no debe ser tomada como una regla absoluta pues presenta ambigüedades debido a que algunos factores pueden fungir como más de un tipo de factor, debido a que estos pueden actuar en distintos estados.

Uno de los factores que puede influir en la reproducción de organismos en cautiverio es la densidad y proporciones sexuales de los organismos en el sistema (Tahoun *et al.*, 2008), ya que, se ha visto, que el seleccionar una apropiada proporción sexual en el grupo de reproductores,

puede ayudar a mejorar la producción de larvas (Siddiqui *et al.*, 1997; Khalfalla *et al.*, 2008). En *L. peru* y en otros lutjánidos, se establecieron lotes de reproductores con proporciones sexuales iguales (1M: 1H), o mayor cantidad de machos (Estrada-Godínez *et al.* 2015, Spanopoulos *et al.*, 2016, 2021; Emata, 2003; Martínez-Lagos, 2003; Ibarra-Castro y Álvarez-Lajonchère, 2011). Sin embargo, estudios sobre proporción sexual de reproductores han mostrado un efecto especie-específico. En la especie marina *Dentex dentex*, la proporción 1M: 1M produjo mayor producción y calidad de huevos que las proporciones 4M: 1H y 1M: 4H (Pavlidis *et al.*, 2004). En especies dulceacuícolas, como la tilapia *O. niloticus*, la proporción 1M: 2H es la mejor (Akar, 2012; Amadou Ly *et al.*, 2021), mientras que para el ciprínido *Plagopterus argentissimus* las proporciones de 1M: 1H, 1M: 3H y 1M: 5H mejoran el éxito de fertilización (Maskill *et al.*, 2017).

Dado que los peces son poiquiloterms, la temperatura del agua influye directamente en la dinámica de su ciclo de reproducción y la edad de pubertad (Bobe, 2015). En algunas especies, la ocurrencia de fases específicas del ciclo reproductivo se presentan dentro de una específica amplitud de temperaturas que son necesarias para su inicio o para lograr la calidad óptima de huevos y la posterior producción de juveniles (Brown *et al.*, 2006; Migaud *et al.*, 2013). En otras especies, el fotoperiodo es el principal factor desencadenante de la maduración sexual, aunque también se ha visto su efecto en combinación con la temperatura (Bromage *et al.*, 2001; Bessa *et al.*, 2007; Maitra y Chatteraj, 2007). La acción del fotoperiodo sobre la reproducción de los peces puede ser resultado en un cambio en los ritmos endógenos provocados por cambios en las horas de luz a los que se exponen los organismos, y en los ritmos de producción de la melatonina, la cual está envuelta en procesos reproductivos, debido a su función en el eje Hipotálamo-Pituitaria-Gónada (HPG). La melatonina es una hormona secretada por la glándula pineal, su secreción fluctúa en función de la luz presente, por lo que, la melatonina actúa como un transductor de la información de la luz que se encuentra en el entorno (Bromage *et al.*, 2001). En todos los vertebrados, incluidos los peces los niveles de melatonina son elevados durante la noche, y llega a sus niveles basales durante el día (Bromage *et al.*, 2001).

Con lo anterior, se puede concluir, que ambas variables ambientales, pueden actuar por sí solas, así como en combinación. La discusión sobre cuál es el factor ambiental que influye en mayor grado sobre el ciclo reproductivo se centra principalmente en el estudio de las interacciones del fotoperiodo y la temperatura.

Para ejemplificar lo anterior, en *Sebastiscus tertius* se observó que el fotoperiodo influye más que la temperatura en el desarrollo gonadal, pues organismos mantenidos con temperaturas

similares a las de su hábitat natural (13.5–14°C), pero con fotoperiodos distintos a los naturales (12 horas luz) presentan maduración gonádica (Lim *et al.*, 2014). Sin embargo, con temperaturas distintas los resultados positivos son menores, por lo que, para beneficiar el desarrollo gonadal, se necesita una combinación entre valores óptimos de ambas variables. En *C. cyanea* se observó que tanto el fotoperiodo como la temperatura están envueltas en su desarrollo gonadal. Un fotoperiodo largo (14 horas luz) junto con un óptimo intervalo de temperaturas (25–31°C) son requeridas para la maduración gonadal (Bapary y Takemura, 2010). En *Oncorhynchus mykiss* se observó que altas temperaturas (mayores a 17°C) afectan la maduración gonadal, mientras que un fotoperiodo corto (8 y 14 horas luz) benefician el desarrollo gonadal. Sin embargo, los autores mencionan que el fotoperiodo es el factor más importante para el desarrollo gonadal de esta especie (Choi *et al.*, 2010). Dey *et al.* (2005) observaron la importancia del fotoperiodo en el desarrollo gonadal de *Catla catla*. Sin embargo, su influencia sobre el desarrollo depende directamente de la época del año en el que se someten, ya sea a fotoperiodos largos o cortos. Por otra parte, Qiu *et al.* (2014), estudiando los efectos de distintos factores de la luz (composición espectral, horas luz e intensidad) envueltos en el desarrollo gonadal de *S. salar* determinaron que las horas luz (fotoperiodo) es el factor que más influye en la maduración de organismos de esta especie en cautiverio.

La manipulación de estas variables para lograr el desarrollo gonadal puede también desencadenar problemas en la calidad de los huevos. Estos daños varían según la especie, el tipo de régimen fototérmico artificial y el estado fisiológico de los reproductores cuando se aplica el tratamiento (Bromage *et al.*, 1992; Bobe y Labbé, 2010; Migaud *et al.*, 2013).

Respecto a lo realizado con *L. peru* para lograr su maduración gonádica mediante la manipulación de variables ambientales, en el año 2019, en el CIAD-Unidad Mazatlán se inició con un programa de manipulación térmica para determinar un gradiente de temperatura óptimo para el bienestar de los organismos y su inducción a la maduración (Martínez-Brown, datos no publicados). Mediante una revisión bibliográfica sobre la biología de la especie y las condiciones ambientales que imperan en donde esta se distribuye, se probaron distintas temperaturas. Las revisiones intraováricas para observar el estado de desarrollo gonádico de los organismos evidenciaron que un gradiente de entre 22°C y 24°C es el óptimo para el bienestar de estos, pero a 24°C los organismos alcanzan un estado de maduración avanzado (Martínez-Brown, datos no publicados).

2.2.4 Calidad de Huevos Obtenidos de Peces en Cautiverio

Una de las limitaciones más importantes que existe para el crecimiento de la producción acuícola es la disponibilidad de huevos de buena calidad necesarios para cubrir los programas de cultivo, cada vez más ambiciosos, requeridos para satisfacer la creciente demanda de pescado (Kjørsvik *et al.*, 1990; Bromage *et al.*, 1991). Aunado a lo anterior, el manejo de los reproductores es uno de los mayores problemas en la piscicultura que provoca importantes cuellos de botella en el ciclo productivo de nuevas especies acuícolas (Bobe, 2015).

La calidad de los huevos puede ser definida como la capacidad de los huevos para ser fertilizados y subsecuentemente desarrollar un embrión normal (Bonnet *et al.*, 2007), así como aquellos huevos que exhiben bajos niveles de mortalidad en la fertilización, eclosión y en la primera alimentación (Bromage *et al.* 1994). Por consiguiente, se espera que se desarrollen en larvas sanas y con crecimiento acelerado. De acuerdo con lo anterior, las propiedades de los huevos dependen de las propiedades genotípicas de la hembra y del macho, pero también de los eventos fisiológicos que ocurren en el huevo. Las características de estos eventos están conectados principalmente con las condiciones del desarrollo del oocito durante la oogénesis (Pavlov y Emel'yanova, 2008).

La determinación y categorización de la calidad de los huevos dependen de sus propiedades intrínsecas de los huevos y del ambiente en el que se desarrollan (ej. Bromage *et al.* 1994; Pavlov y Emel'yanova, 2008), por lo que los métodos para evaluar su calidad de los huevos y proporcionar una indicación temprana de las características de supervivencia y rendimiento de los lotes, están sujetos a discusión para determinar cuál o cuáles brindan mayor confiabilidad respecto a los resultados que arrojan (Bromage *et al.* 1994). Es por esto que establecer parámetros de calidad para el estudio de los huevos es uno de los mayores retos.

Los parámetros de calidad de huevos deben seleccionarse con base en los siguientes criterios: preferiblemente deben ser altamente funcionales, confiables, rápidos y simples y que no se requieran largos procedimientos de laboratorio. Muchos criaderos de peces marinos distinguen “buena” o “mala” calidad de huevos mediante la virtud para flotar o hundirse en agua marina (McEvoy 1984; Carrillo *et al.*, 1989; Kjørsvik *et al.*, 1990). Sin embargo, hay que considerar que la porción de huevos flotantes no siempre está compuesta solamente de huevos fertilizados. Por otra parte, los huevos que sí están fertilizados pueden presentar mala calidad y un desarrollo asincrónico. Si bien la tasa de fertilización puede ser utilizada como un índice de la calidad de

huevos de peces marinos, se ha reportado que no hay correlación con los patrones posteriores de supervivencia (Kjørsvik *et al.*, 1990). También se ha sugerido utilizar la forma del huevo, su transparencia y la distribución de los glóbulos de aceite como características relacionadas con la calidad. Sin embargo, para algunas especies, no se ha observado correlación entre estas características morfológicas y su calidad (Bromage *et al.*, 1994).

La morfología de los blastómeros en la segmentación del blastodisco es un indicador que generalmente se usa para evaluar la calidad. Para muchas especies hay una correlación positiva entre la proporción de huevos que exhiben segmentación simétrica y el éxito de eclosión y supervivencia de larvas (Pavlov y Emel'yanova, 2008) y una correlación negativa entre la proporción con anomalías y asimetría en los blastómeros con el porcentaje de eclosión y la supervivencia de embriones y larvas (Shields *et al.*, 1997; Rideout *et al.*, 2004; Rani, 2005). Sin embargo, Vallin y Nissling (1998) y Thorsen *et al.* (2003) estudiando la calidad de huevos de *Gadus morhua* concluyeron que, aunque los blastómeros presenten asimetría, los embriones pueden desarrollarse normalmente. Estos resultados contradicen lo mencionado por otros autores que estudiaron el mismo problema con la misma especie y crea una discusión con respecto al uso de esta característica en la evaluación de la calidad de los huevos en general. Por otra parte, el tamaño del huevo no es un indicador confiable de su calidad, pero una baja variabilidad en el tamaño de los huevos sugiere que la probabilidad de su desarrollo normal aumenta (Pavlov y Emel'yanova, 2008).

Dado que actualmente existe un alto número de especies que son candidatas para su producción acuícola, estudiar e identificar mecanismos genéticos compartidos por especies evolutivamente distantes, e investigar a fondo estos mecanismos en una sola especie, podría conducir a conocimientos aplicables a un gran número de especies (Bobe, 2015).

2.3. Patrones de conducta reproductiva en Lutjanidae

2.3.1 Conducta Reproductiva en Vida Silvestre

En la mayoría de los lutjánidos tropicales se ha visto que el desove ocurre en gran parte del año y puede tener lugar año tras año para muchas especies. Sin embargo, los picos de desove tienden

a ocurrir solo cuando se presentan las temperaturas más altas (Thresher, 1984). Por otra parte, los datos sugieren una influencia de las fases lunares en la sincronización de la reproducción en lutjanidos. Por ejemplo, se observó que *Symphoerichthys spilurus* inicia sus agregaciones reproductivas cuando hay luna llena y empiezan su desove cada luna menguante, entre la luna llena y la nueva, mientras que *Lutjanus bohar* inicia agregaciones cuatro días antes de luna llena y desovan cada vez que se presenta dicho evento (Sakaue *et al.*, 2016). En *Lutjanus cyanopterus*, los desoves ocurren en noches con luna llena y después del cuarto menguante, iniciando su comportamiento reproductivo al atardecer y desovando por las noches (Heyman *et al.*, 2001, Kadison *et al.*, 2006). Con respecto al comportamiento reproductivo *L. cyanopterus*, Heyman *et al.* (2001) observaron comportamientos como “nuzzling” (pequeños golpes con el hocico) y la orientación vertical de los peces con la cabeza apuntando hacia el sustrato y en grupos pequeños cerca del arrecife. No observaron algún tipo de patrón de coloración para dichos comportamientos, ni peces realizando espirales en la columna del agua.

En *Lutjanus jocu* se reporta la densidad máxima de organismos en agregación cuando hay luna llena o tres cuartos de luna (Kadison *et al.*, 2006). En las agregaciones de esta especie, se han podido observar hasta más más 2000 peces, los cuales desovan repetitivamente en grupos muy apretados, ocupando 20 m en la columna del agua (Heyman *et al.* 2001). Los desoves en esta especie ocurren al atardecer (Heyman *et al.*, 2001). En el caso de *Lutjanus synagris*, forman grupos e inician su cortejo con un nado muy acelerado, posteriormente, aumentan su tasa de “milling” (todos de los miembros del grupo están paseando sin destino ni rapidez) alrededor de una hora y media antes del desove. Posteriormente, grupos de 5 a 10 individuos se separan del grupo principal (grupo de agregación). Cada grupo se enfoca y persigue a una individuo con coloración más clara (presumiblemente una hembra), realizando ocasionalmente breves emparejamientos (nadan juntos) y varios machos frecuentemente rozan (en inglés nuzzled) la región anal de la hembra. Conforme la actividad “milling” se vuelve más intensa, los grupos empiezan a ascender lentamente en la columna de agua. Cuando suben alrededor de 2.2 m, cada grupo se une y se vuelven muy activos. Luego dejan detrás una nube lechosa (gametos). La actividad de desove finaliza justo antes del anochecer, cuando los peces se dispersan para alimentarse (Wicklound, 1969).

Para *L. synagris*, *L. utjanus griseus*, *Lutjanus vaigiensis* y muchas especies de *Symphorus*, sus picos de desoves más altos se presentan en fechas cercanas a luna llena o con luna llena (Reshetvinok y Claro, 1976; Starck y Schroeder, 1970; Randall y Brock, 1960; Johannes, 1978).

Una característica de la reproducción de los lutjánidos que habitan cerca a la costa es que previo a la luna llena realizan una extensiva migración de desove para seleccionar áreas a lo largo de la zona externas al arrecife (Thresher, 1984).

Debido a la evidencia con la que se cuenta para la familia Lutjanidae, se puede conjeturar que en general para esta familia los ritmos de desoves se sincronizan con los ciclos lunares, y que ocurren en noches próximas o con luna llena. Sin embargo, se han documentado excepciones, como en el caso de *Aprion virescens*, especie de lutjánido que desova después de luna nueva (Johannes, 1981).

2.3.2 Conducta Reproductiva en Cautiverio

Para lutjánidos en cautiverio se han documentado comportamientos reproductivos similares a los observados en campo. Suzuki y Hioki (1979) describen que el comportamiento reproductivo de *Lutjanus kasmira* cautivos en el tanque de un acuario. En esta especie el desove ocurre alrededor de dos horas antes del atardecer. Hay un breve emparejamiento, el macho roza la región anal de la hembra y posteriormente ascienden lentamente para formar los grupos de desove. En el caso de esta especie, el macho sale en espiral desde el fondo para después ascender, y en los grupos de reproducción participan varias hembras y no solo una.

En reproductores de *Lutjanus stellatus* mantenidos en un tanque de 242 m³ (Hamamoto *et al.*, 1992), el comportamiento reproductivo se presentó desde las 20:00 h hasta las 23:00 h, con una gran agregación de peces (100 peces aproximadamente) que se mantienen sobre el fondo. Justo antes de desovar, las hembras, que presentan cuerpo de color amarillo blanquecino o poco más claro, se mantienen en la parte inferior del grupo. Los machos buscan una hembra de color más claro para reunirse a su alrededor. Después, un solo macho inicia el comportamiento reproductivo golpeando y empujando con su hocico el abdomen de la hembra. Posteriormente se unen más machos al cortejo. Varios machos empujan a la hembra hacia la parte superior de la columna de agua. Lentamente todo el grupo asciende en espiral hacia la parte media del tanque antes de que cada uno de estos regrese al fondo. Con el paso del tiempo, los movimientos ascendentes son más rápidos y más altos en la columna del agua. De cinco a diez machos participan en los movimientos en espiral y ascendentes. Eventualmente todos los machos

ascienden rápidamente hasta justo debajo de la superficie del agua. Durante estos movimientos ocurre la liberación de los gametos. Sin embargo, en algunas ocasiones las hembras ascienden en espiral sin compañía de algún macho. En estos casos, de cinco a diez machos se apresuran para alcanzar a la hembra y desovar. Después del desove, los peces regresan al fondo del tanque. Sin embargo, se observaron varias hembras uniéndose a otros grupos de desove.

3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son los efectos del fotoperiodo extendido bajo un régimen de temperatura constante de 24 °C sobre la conducta reproductiva, el desempeño reproductivo y la calidad morfológica de los huevos de organismos de *L. peru* en cautiverio?

4. HIPÓTESIS

Debido a que la luz es un factor que modula la reproducción de los peces a partir de la inhibición de la producción de melatonina, entonces al mantener reproductores de *L. peru* en una temperatura constante de 24°C y un fotoperiodo extendido de 24 horas bajo una iluminancia de 0.022 y 0.024 lx, la producción de melatonina se mantendrá en niveles basales que no inhiben los procesos endócrinos asociados al eje Hipotálamo-Pituitaria-Gónada. Como consecuencia, se adelantará el proceso de maduración gonadal y los organismos se mantendrán en un ritmo reproductivo constante. Lo anterior se confirmará con la ocurrencia de la conducta reproductiva, el aumento en la frecuencia de desoves y de la tasa de fertilización, así como la mejora la calidad morfológica de los huevos.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

Comparar el desempeño reproductivo, calidad morfológica de huevos y conducta reproductiva de *Lutjanus peru* bajo regímenes fototérmicos con fotoperiodo extendido y natural.

5.2. Objetivos Específicos

- a) Describir la conducta reproductiva de *L. peru* en cautiverio.
- b) Comparar el desempeño reproductivo de reproductores de *L. peru* sometidos a dos diferentes regímenes fototérmicos.
- c) Comparar la calidad morfológica de los huevos de reproductores de *L. peru* sometidos a dos diferentes regímenes fototérmicos.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Sistemas de Soporte de Vida.

La unidad experimental para la reproducción en cautiverio está conformada por dos tanques cilíndricos de fibra de vidrio (R5 y R6) de 14,000 L, conectados a un sistema de recirculación (fig.1). Cada tanque cuenta con un drenaje de fondo de 4", ubicado en el centro. El agua de drenaje fluye, por gravedad, a través de un tubo de PVC de 4" hacia un tanque cilindro-cónico de 1,300 L, que funciona como hidrociclón (sedimentador). Posteriormente, el agua pasa a un tanque reservorio de 750 L. En el reservorio el agua es bombeada con una bomba centrífuga (2 HP, Pentair) hacia un filtro mecánico de gránulos flotantes. Después del filtro mecánico, aproximadamente el 30% del flujo es dirigido en secuencia hacia un espumador, un filtro biológico de lecho en movimiento y regresa al reservorio. El 60% del flujo restante es dirigido en secuencia hacia una bomba de calor (Aqualogic® HP53) y una unidad UV (2 lámparas de W Emperor Aquatics), para posteriormente dividirse en dos flujos de 30% cada uno, que se dirigen a los desgasificadores y desembocan en los tanques. En el centro de cada tanque y a 70 cm de profundidad se ubica un difusor de aire.



Figura 1. Sistema de recirculación de la unidad experimental para inducción a la reproducción de *L. peru*.

6.2 Sistemas de Recolección de Huevos

Durante el 2020, la recolección de los huevos se realizó únicamente en la descarga del hidrociclón mediante el uso de una bolsa recolectora con malla de 500 μm . Esto fue debido a que no se contó con un sistema de recolección los huevos de la superficie.

En marzo del 2021, se instaló un sistema de recolección de huevos. Este sistema consiste en un recipiente rectangular de 500 litros que contiene dos bolsas recolectoras cuadradas, de 41 cm de lado y 37 cm de altura, hechas con paño *Nitex* de 500 μm de apertura (fig. 2). En las paredes de los tanques, a la altura de la superficie de la columna de agua, fueron colocados tubos de PVC de 2", los cuales mantienen un drenaje hacia el colector de huevos. El agua que es filtrada a través de la bolsa recolectora se dirige hacia el reservorio y posteriormente sufre todo el proceso a través del RAS el cual fue descrito en el apartado anterior. Aún con los recolectores ya instalados, se mantuvo el uso de la bolsa recolectora en la descarga del hidrociclón debido a que algunos huevos se precipitaban y no llegaban a las canastas.

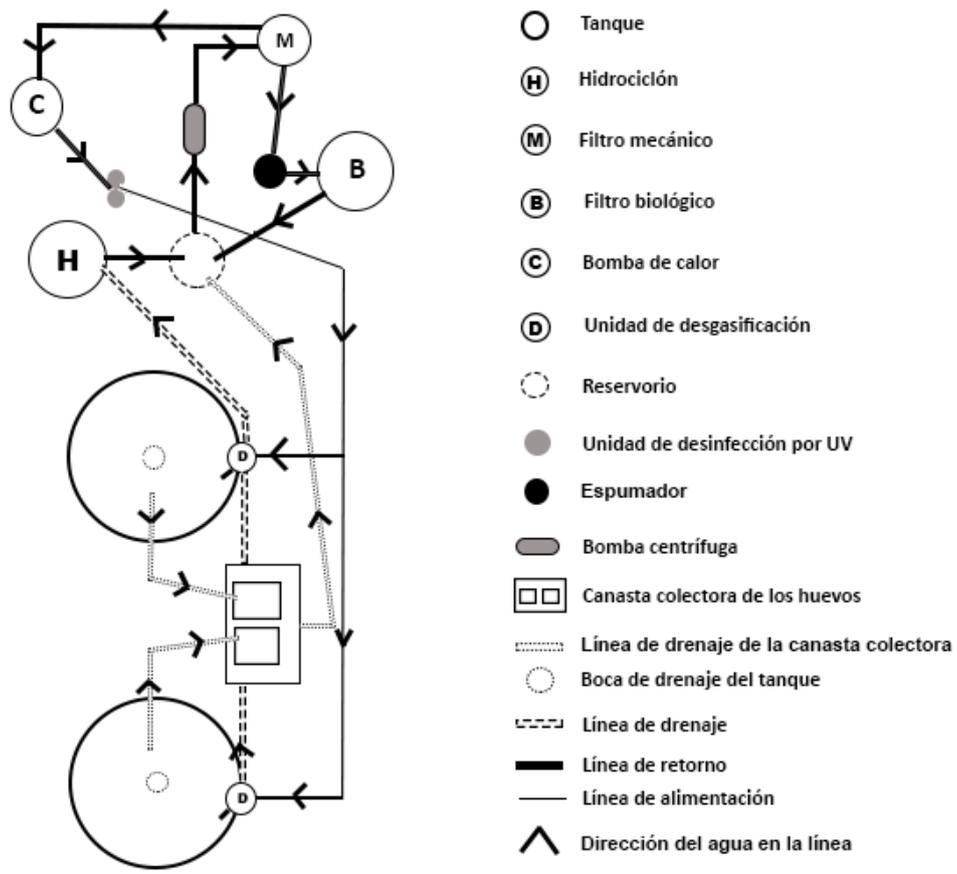


Figura 2. Diagrama del sistema de soporte de vida que detalla la dirección de la secuencia del tratamiento de agua y de la captación de huevos.

6.3. Origen y Manejo de Reproductores

6.3.1. Obtención de Reproductores

En el año 2016, 30 ejemplares con peso promedio aproximado de un kilogramo se capturaron en inmediaciones de las costas de Sayulita, Nayarit. Los peces fueron capturados por buzos mediante un encierro con chinchorro de media agua. Posteriormente, los especímenes que no mostraron signos de daños graves por la captura, se transportaron vía terrestre en tanques de 1000 L con suministro de aireación y oxígeno. Los peces fueron trasladados a las instalaciones de la planta piloto de producción de peces marinos del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) unidad Mazatlán.

Los organismos fueron divididos en varios grupos para colocarlos en tanques del sistema RAS, de los cuales, en este estudio solo fueron evaluados dos grupos: tanque R5 y tanque R6. De enero a febrero del 2020, en el tanque R5 la proporción sexual fue 5M: 6H y en el R6 3M: 7H. En marzo del 2020, las proporciones sexuales fueron 3M: 6H en el tanque R5 y 2M: 4H en el tanque R6. Debido a esto, en mayo del 2020 se transfirieron al tanque R6, tres machos de otro grupo de reproductores, quedando las proporciones 3M: 6H en el tanque R5 y 5M:4H en el tanque R6. Sin embargo, en marzo del 2021, una hembra del tanque R6 no pudo realizar la liberación de los gametos, lo cual quizás fue resultado de una fibrosis en el conducto ovárico, por lo que, las hembras disponibles para poder desovar disminuyó a 3.



Figura 3. Grupo de reproductores de *L. peru*.

6.3.2 Rutinas de Alimentación y Limpieza

Los organismos se alimentaron a saciedad aparente en días alternos. Se les suministró calamar y cabeza de camarón frescos, junto con un alimento semihúmedo elaborado con una premezcla comercial (Fish Breed-M, Inve), calamar, pescado y cabeza de camarón. El alimento semihúmedo fue enriquecido con concentrados vitamínicos (Carosen®, Pisa Agropecuaria; Catosal, Bayer; Vigantol ADE fuerte, Bayer, Stay-C 35, DSM), y aditivos (cúrcuma, Mister Natural; astaxantina, Natura Extracta).

Las actividades de limpieza de los sistemas de soporte se realizaron diariamente a las 9:00 horas. Se purgaron las válvulas del drenaje de fondo de los tanques, del hidrociclón y del filtro biológico. Asimismo, se hicieron retrolavados del filtro mecánico por 5 minutos. El agua de los retrolavados fue reemplazada por agua filtrada a 10 μm con un filtro de bolsa. En escasas ocasiones, cuando se observó turbidez excesiva, se realizaron recambios de agua de un 30% del volumen total de uno de los tanques.

Cada mañana, las bolsas de malla de los recolectores de huevos se limpiaron con agua potable, independientemente si se realizaba o no recolección de los huevos. Adicionalmente, se limpió con un sifón el fondo de los recolectores.

Durante todo el estudio la calidad de agua de los tanques se monitoreó de la siguiente manera: diariamente, a las 8:00 horas se midió la temperatura (± 1 °C) con un termómetro de mercurio y la salinidad (± 1 ups) con un refractómetro de mano. De marzo a junio del 2021, semanalmente se tomaron muestras de agua del tanque reservorio para el análisis de los factores químicos. El análisis de las muestras se realizó siguiendo los procedimientos LQyPA-PA-014 para la determinación espectrofotométrica en muestras acuosas, los cuales tienen como base las técnicas descritas en Parsons *et al.* (1984) para amonio, en NMX-AA-081-1986 para nitratos y en NOM-AA-099-1987 para nitritos.

6.4 Diseño del Estudio

Durante los años 2020 y 2021 se le dio seguimiento a la reproducción de dos grupos de reproductores de *Lutjanus peru* en cautiverio (grupos de tanque R5 y R6). Se registró la actividad reproductiva para la descripción de la conducta reproductiva (metodología descrita en la sección 6.4). Por otra parte, también se registraron los valores de tasas de fertilización (%), volúmenes de huevos desovados (L), frecuencias de desoves y la morfología de los huevos (metodología descrita en la sección 6.5 y 6.6).

Se instalaron dos lámparas de halógeno tipo Par 38 de 90 W en reflectores de policarbonato, una sobre cada tanque a una altura de 2 metros sobre la superficie del agua. Se instaló un controlador manual para ajustar la intensidad de la luz de ambas lámparas. En este estudio, el

área de los tanques no se pudo aislar por completo del efecto de la luz natural, debido a esto, a lo largo de todo el estudio los peces estuvieron sujetos a un fotoperiodo y la intensidad natural bajo sombra.

Durante el año 2020, la etapa de estudio fue con fotoperiodo natural, tanto en horas luz como en intensidad, a esta etapa se le denominó FN-2020. El 24 de diciembre del 2020 fueron encendidas las lámparas para mantener ambos tanques con fotoperiodo extendido, a esta etapa se le denominó FE-2021. Para medir la iluminancia (lx) emitida por ambas lámparas se utilizó un luxómetro portátil HANNA® modelo HI 97500, y un irradiómetro portátil Biospherical Instrumental Inc.® modelo QSL-100 para medir la irradiancia (quanta $s^{-1} cm^{-2}$). La intensidad fue medida en horas sin presencia de luz natural y aproximadamente a 10 cm sobre la superficie central de cada tanque. Los valores iniciales de iluminancia medidos fueron 0.004 lx para ambos tanques. Posteriormente fueron aumentados a 0.022 y 0.024 lx para el tanque R5 y R6, respectivamente. El valor de irradiancia correspondiente para ambos tanques fue de 0.3 quanta $s^{-1} cm^{-2}$. Estas características luminosas se mantuvieron hasta el 20 de agosto del 2021, día en el que ambas lámparas fueron apagadas debido a una falla en el controlador, la cual generaba cambios en la iluminación que estresaba a los animales. A partir de este día, los animales solo estuvieron expuestos al fotoperiodo natural. Esta última etapa fue FN-2021, la cual abarcó desde el 21 de agosto hasta el 31 de diciembre del 2021. Los valores de las horas luz naturales (máximos y mínimos) presentes en las etapas FN-2020 y FN-2021 fueron determinadas consultando la base <https://salidaypuestadelsol.com/sun>.

La selección del régimen térmico óptimo para el bienestar y el desarrollo gonadal de *L. peru*, se basó en un estudio preliminar hecho en la Planta Piloto de Peces Marinos del CIAD (Martínez-Brown datos no publ.). En ese estudio se probaron simultáneamente dos regímenes de temperaturas (uno para cada dos lotes de reproductores) que fueron desde los 18 °C hasta los 27 °C (protocolo 1) y desde los 18°C hasta los 24°C (protocolo 2), bajo fotoperiodo natural. Los incrementos de temperatura fueron acotados a una simulación de las variaciones ambientales a la que están sujetas las poblaciones silvestres de huachinango durante su temporada reproductiva en la región de la costa de Nayarit, Jalisco y Colima (Filonov *et al.*, 2000; López-Sandoval *et al.*, 2009). El protocolo 1 provocó la espermiación de solo un macho en ambos tanques y no produjo maduración sexual en las hembras. El protocolo 2 estimuló tanto la espermiación de casi el 50% de los machos, así como el inicio de la maduración de ovarios de algunas hembras. Posteriormente se encontró que el intervalo de 22 a 24°C era

suficiente para lograr la maduración gonadal (vitelogénesis completa) en hembras y espermiación en machos.

Con base en lo anterior, durante el primer semestre del 2020, la temperatura se mantuvo a 24°C, y el resto del año en 22°C. En el año 2021, a partir del 7 de enero la temperatura del agua se fijó en 24°C, y así se mantuvo hasta finalizar el estudio.

6.5 Recolección de Huevos

Los huevos de *L. peru* fueron obtenidos mediante desoves voluntarios. Diariamente y a lo largo del día, se realizaron revisiones frecuentes en los recolectores de huevos, en las bolsas ubicadas en la descarga del hidrociclón y en cada uno de los tanques, para determinar la ocurrencia de desoves. Cuando se detectaron huevos en cualquiera de los sitios mencionados, se tomó una muestra para determinar el estado de desarrollo embrionario y se registró la hora en la cual se encontraba en dicho estado, para posteriormente poder determinar el tiempo aproximado que había transcurrido desde que ocurrió el desove. Al revisar una muestra, si se observó que el desove había ocurrido recientemente, evidenciado por el estado de desarrollo (p. ej., activación o segmentación del blastodisco), los huevos fueron recolectados después de una o dos horas para permitir que todos los huevos cayeran al recolector. Por el contrario, si los huevos se encontraron en un estado avanzado (p. ej., gastrulación o somitogénesis) o muertos, se recolectaban inmediatamente. Una vez recolectados, los huevos se colocaron en una probeta o un vaso de precipitado para registrar el volumen de la fracción de huevos flotantes (viables) de los precipitados (principalmente muertos) y el volumen total. Con las muestras tomadas, se determinó y registró la tasa de fertilización ocurrida en los desoves.

De cada desove se tomaron muestras para fotografiar al menos 100 huevos de cada sitio de muestreo (en recolectores y en la descarga del hidrociclón). Las microfotografías se obtuvieron con un estereoscopio con iluminación transmitida (SZX16, Olympus®), equipado con una cámara digital (DP27, 5Mp, Olympus) operada mediante el programa informático cellSens (v 3.17, Olympus).

Dependiendo del grupo de reproductores del cual provenían los huevos, los registros se

clasificaron en tres grupos de muestreos: tanque R5, tanque R6 y desoves mixtos (de ambos tanques). En este último grupo se concentran los registros de los huevos obtenidos de la bolsa recolectora ubicada en la descarga del hidrociclón. Esto fue así porque en ocasiones no se pudo determinar a cual grupo de reproductores pertenecían los huevos (tanque R5 o R6). Además, con base en el total de desoves que ocurrieron en cada mes, se calculó los días que en promedio transcurren para que ocurra un desove en cada grupo.

6.6. Evaluación Morfológica de la Calidad de Huevos

6.6.1. Morfometría de los Huevos

Las mediciones morfométricas de los huevos y glóbulos de aceite se realizaron a partir de las microfotografías digitales calibradas con referencia a la microfotografía de una reglilla micrométrica (1000 μm), tomada a los mismos aumentos y calidad de imagen que las microfotografías problema. Se midieron al menos 100 huevos por desove y sitio de recolecta.

Para el examen morfométrico de los huevos se midió el diámetro máximo y mínimo en planos perpendiculares y se calculó el diámetro promedio de cada huevo. De la misma forma se obtuvo el diámetro promedio del glóbulo de aceite. Las mediciones se realizaron con el programa informático SigmaScan Pro 5. Se determinaron los diámetros promedio del huevo y del glóbulo de aceite de cada grupo de huevos obtenidos (tanque R5, tanque R6 y desoves mixtos), durante las diferentes etapas (FN-2020, FE-2021 y FN-2021), por lo que no se manejó un valor de diámetro promedio general, si no, un valor para cada etapa de cada grupo de desoves. Sin embargo, debido a la falta del registro fotográfico de huevos de los desoves mixtos en las etapas FN-2020 y FN-2021, para cubrir estos valores de los números de huevos por mililitro, se utilizaron los obtenidos en los desoves del tanque R5 para hacer una aproximación.

Con los valores de los diámetros, se utilizó la fórmula propuesta por Ibarra-Castro y Álvarez-Lajonchère (2011) para determinar el número de huevos por mililitro de los desoves de del tanque R5, tanque R6 y desoves mixtos en cada etapa:

$$E = - 18.648 x + 16645$$

En donde E es el número de huevos es el número de huevos por mililitro.

x es el diámetro promedio de los huevos.

De manera que, no se manejó un valor general de número de huevos por mililitro, si no, un valor para cada etapa de cada grupo de desoves. Para determinar la cantidad de huevos obtenidos en los volúmenes desovados, se multiplicó el valor del número de huevos por mililitro obtenido en cada grupo de desoves por el valor del volumen obtenido en cada desove.

6.6.2 Criterios para Categorizar la Morfología de los Huevos

La evaluación de la calidad morfológica de los huevos se realizó a partir de las microfotografías digitales. Al menos 100 huevos por desove y sitio de recolecta se examinaron morfológicamente. Para el examen morfológico, los huevos fueron agrupados en cuatro categorías de calidad morfológica de acuerdo con el modelo propuesto por Pavlov y Emel'yanova (2008) y modificado para este estudio: 1) huevos "sin blastodisco" (huevos transparentes, sin blastodisco y sin espacio perivitelino) (fig. 4A); 2) huevos "sin fertilización" (huevos activados pero no fertilizados; con blastodisco no segmentado y con espacio perivitelino) (fig. 4B, C y D); 3) huevos con "desarrollo anormal" (blastómeros asimétricos y sin límites claros, periferia del blastodermo no uniforme, sincitio e inclusiones en el blastodermo, amplio espacio perivitelino (fig. 5A, B, C y D); 4) huevos con "desarrollo normal" (apariencia normal) (fig. 6A, B y C). Aquellos huevos que presentaron estructuras de origen desconocido (fig. E y F), y que estuvieron muertos pero presentaron desarrollo (fig. 6D), no fueron designados en alguna categoría de las mencionadas porque no fue posible determinar la categoría que pertenecían, estos fueron incluidos en una quinta categoría denominada huevos de "mala calidad".

Del volumen de cada fracción de huevos (flotantes y precipitados tanto de los recolectores como de la descarga del hidrociclón) obtenidos a lo largo del estudio, se determinó la cantidad de huevos que presentaban características de alguna categoría de calidad morfológica.

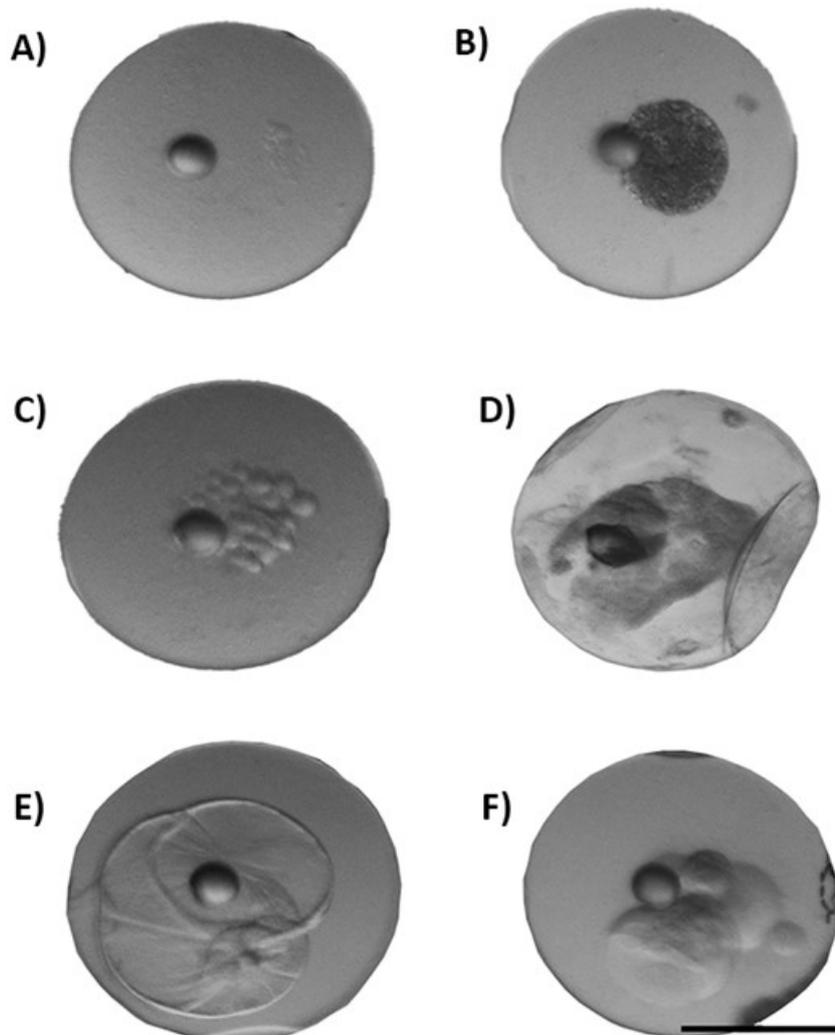


Figura 4. Huevos de *L. peru* sin activación o fertilización. **A)** Categoría “sin blastodisco”, huevos no activados: transparentes y sin blastodisco y espacio perivitelino. **B), C) y D)** Categoría “sin fertilización”, se observa una masa opaca en el centro del huevo, que corresponde al blastodisco en descomposición. **E) y F)** se observan estructuras desconocidas en el centro del huevo. Huevos como estos no se clasificaron dentro de alguna categoría de las mencionadas, pero se consideraron como huevos de “mala calidad”. Barra de escala 500 μm .

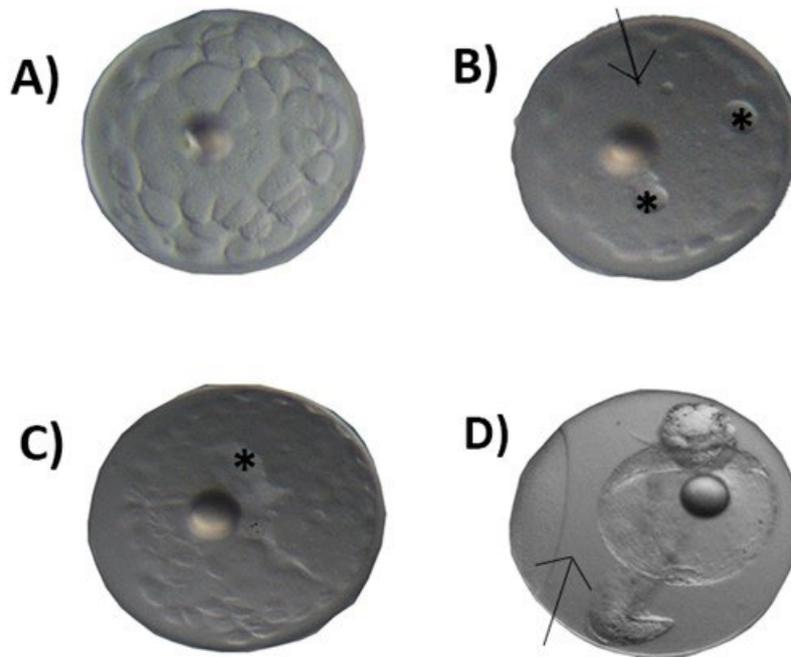


Figura 5. Huevos de *L. peru* con defectos en el desarrollo, categoría “desarrollo anormal”. **A)** Los blastómeros son asimétricos con baja adherencia de los blastómeros periféricos del blastodisco, por lo que el blastodisco presenta un margen exterior irregular (no es circular). **B) y C)** Se observan escisiones incompletas (asteriscos) de los blastómeros y un sincitio (flecha). **D)** Huevos con amplio espacio perivitelino (flecha). Barra de escala 500 μm .

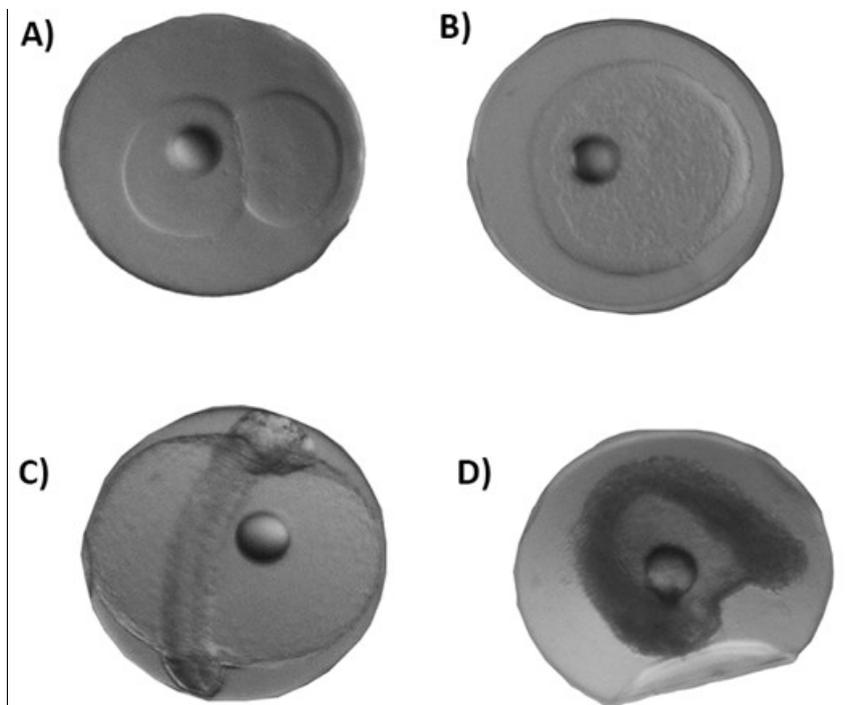


Figura 6. Huevos de *L. peru* con desarrollo aparentemente normal, categoría “desarrollo normal”. **A)** Huevo en estadio de 2 células; **B)** Huevo en inicio de la gastrulación (estadio anillo germinal) y **C)** Embrión en somitogénesis. **D)** Huevo que presentó desarrollo pero murió; a huevos como estos no fue posible clasificarlos dentro de alguna categoría de las mencionadas, por lo que se consideraron como “huevos de mala calidad”. Barra de escala 500 μm .

6.7. Registro Directo y Videográfico de la Conducta Reproductiva

Para el registro video gráfico fue utilizada una cámara de acción sumergible (Go Pro® Hero 8). La cámara se sujetó a un soporte extensible, se colocó a 5 cm por debajo de la superficie del agua y se orientó de manera tal que el ángulo de visión cubriera la mayor parte de la columna de agua y la circunferencia del tanque. Se usó la opción de grabación gran angular. Al inicio las observaciones y registros fueron realizadas durante la noche, debido a que en estas horas se observaba mayor actividad, además que esto coincidía con lo reportado para otras especies de Lutjánidos (Starck y Schroeder, 1970; Thresher, 1984). Sin embargo, también se realizaron videograbaciones a distintas horas durante el transcurso del día. Las grabaciones fueron tomadas de las 9:00 horas hasta las 19:00 horas, de enero a abril del 2021. No se grabó al oscurecer y durante la noche porque la iluminación artificial no fue suficiente para alcanzar un nivel de saturación de luz adecuado para distinguir la silueta de los organismos, sus movimientos y la liberación de los gametos (si ocurría), pues estos no contrastaban debido a la oscuridad en el tanque. Las observaciones directas (registro observacional) se realizaron desde arriba del tanque, en una posición en la que se pudiera observar toda la circunferencia y profundidad del tanque, sin ocasionar estrés aparente en los organismos. Se registraron direcciones de nado e interacciones entre los peces, que parecieran atípicos a las conductas no reproductivas y que debido a la hora en la cual se presentaban estos comportamientos pudiesen ser comportamientos reproductivos. Esto se complementó con el registro videográfico.

6.8. Patrones de Conducta Reproductiva

Con el registro videográfico y los registros de las observaciones directas se construyeron etogramas, tanto descriptivo como gráfico, para presentar el repertorio de comportamientos reproductivos de *L. peru*. Para la definición y categorización de los comportamientos que conformaron los etogramas se siguieron las recomendaciones de Jenset *et. al.*, (1986). Considerando la secuencia de eventos conductuales antes, durante y después del desove y a partir de la definición de las unidades conductuales, se cuantificaron el número de interacciones sociales y su frecuencia.

6.9. Análisis Estadístico

Los datos obtenidos de fertilización, número de huevos y volúmenes de los huevos desovados fueron organizados en dos diferentes grupos de análisis: grupo 1, desoves del tanque R5, R6 y mixtos a lo largo del estudio, y grupo 2, desoves en el tanque R5 en las tres diferentes etapas del estudio (FN-2020, FE-2021 y FN-2021). Los datos porcentuales (p. ej., tasas de fertilización) fueron transformados con la función arco seno. Todos los datos se sometieron a las pruebas de la normalidad Kolmogorov-Smirnov o Shapiro-Wilk (dependiendo del número de datos) y de homoscedasticidad de Levene. Para el grupo de análisis 1, debido a que los datos no fueron normales u homoscedásticos, se aplicó una prueba de rangos de Kruskal-Wallis para determinar si existían diferencias significativas entre los volúmenes de huevos desovados del tanque R5, R6 y mixtos a lo largo del estudio; si presentaron diferencias se utilizó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Para el grupo de análisis 2, los datos de los volúmenes de huevos desovados en el tanque R5 en las tres diferentes etapas del estudio, se aplicó una prueba de medidas repetidas para datos no paramétricos de Friedman. Si se presentaron diferencias entonces se aplicó una prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

Para determinar la correlación entre el diámetro de los huevos (variable predictiva) y el diámetro de los glóbulos de aceite, se realizó un análisis de correlación de Pearson o de Spearman en caso de no cumplir con el supuesto de normalidad y homoscedasticidad.

7. RESULTADOS

7.1 Calidad de Agua

Durante la etapa FN-2020, la temperatura promedio en el sistema fue de 23.6 ± 2.4 °C y la salinidad de 34.3 ± 1.5 UPS. El fotoperiodo natural osciló entre las 12.23 horas luz en abril, alcanzando su máximo en junio con 13.55 horas luz y disminuyendo en agosto hasta las 12.38 horas luz (fig. 10A). En la etapa FE-2021, la temperatura promedio en el sistema fue de 24 ± 0.6 °C y la salinidad de 35 UPS. En esta etapa, el fotoperiodo natural osciló entre las 10.56 horas luz en enero y 13.44 horas luz en junio. En las noches, la iluminancia de las lámparas a 10 cm sobre la superficie del centro de los tanques, con la que se mantuvo el fotoperiodo extendido fue de 0.022 y 0.024 Lx, para el tanque R5 y tanque R6, respectivamente, y de 0.3 quanta $s^{-1} cm^{-2}$ en ambos tanques (fig. 11A). En la etapa FN-2021, la temperatura promedio del sistema fue de 24.1 ± 0.6 °C, la salinidad de 35 UPS y el fotoperiodo natural osciló entre las 12.9 horas luz en agosto y 10.7 horas luz en diciembre (fig. 11A).

En el Cuadro 1 se presentan las concentraciones de amonio (NH_4), nitritos (NO_2), nitratos (NO_3) y fosfato (PO_4). Estos se mantuvieron por debajo de lo niveles máximos recomendados.

Cuadro 1. Concentraciones promedio ($mg L^{-1}$; \pm desviación estándar) de compuestos nitrogenados y fosfatos en los tanques R5 y R6 durante el estudio.

$N-NH_4$	$N-NO_2$	$N-NO_3$	PO_4
0.03 ± 0.02	0.03 ± 0.02	3.52 ± 12.30	0.19 ± 0.12

7.2 Patrones de Conducta Reproductiva

7.2.1. Horario de Desove

Durante la etapa FN-2020 se registraron 35 desoves, de los cuales solo a 14 se les pudo estimar el tiempo en el que ocurrieron. Los desoves ocurrieron del 19 de abril al 9 de agosto, en

diferentes horarios (mañanas, tardes, noches y madrugadas), sin presentar algún patrón general en el horario (fig. 7A). Con respecto a las etapas FE-2021 y FN-2021, se pudo estimar la hora de ocurrencia en 136 desoves de los 231 que se registraron en estas etapas. Los desoves ocurrieron del 17 de enero al 20 de agosto en el FE-2021 y del 21 de agosto al 5 de octubre en el FN-2021. De la misma forma que en la etapa FN-2020, no se encontró un patrón específico en el horario de desove. (fig. 7B).

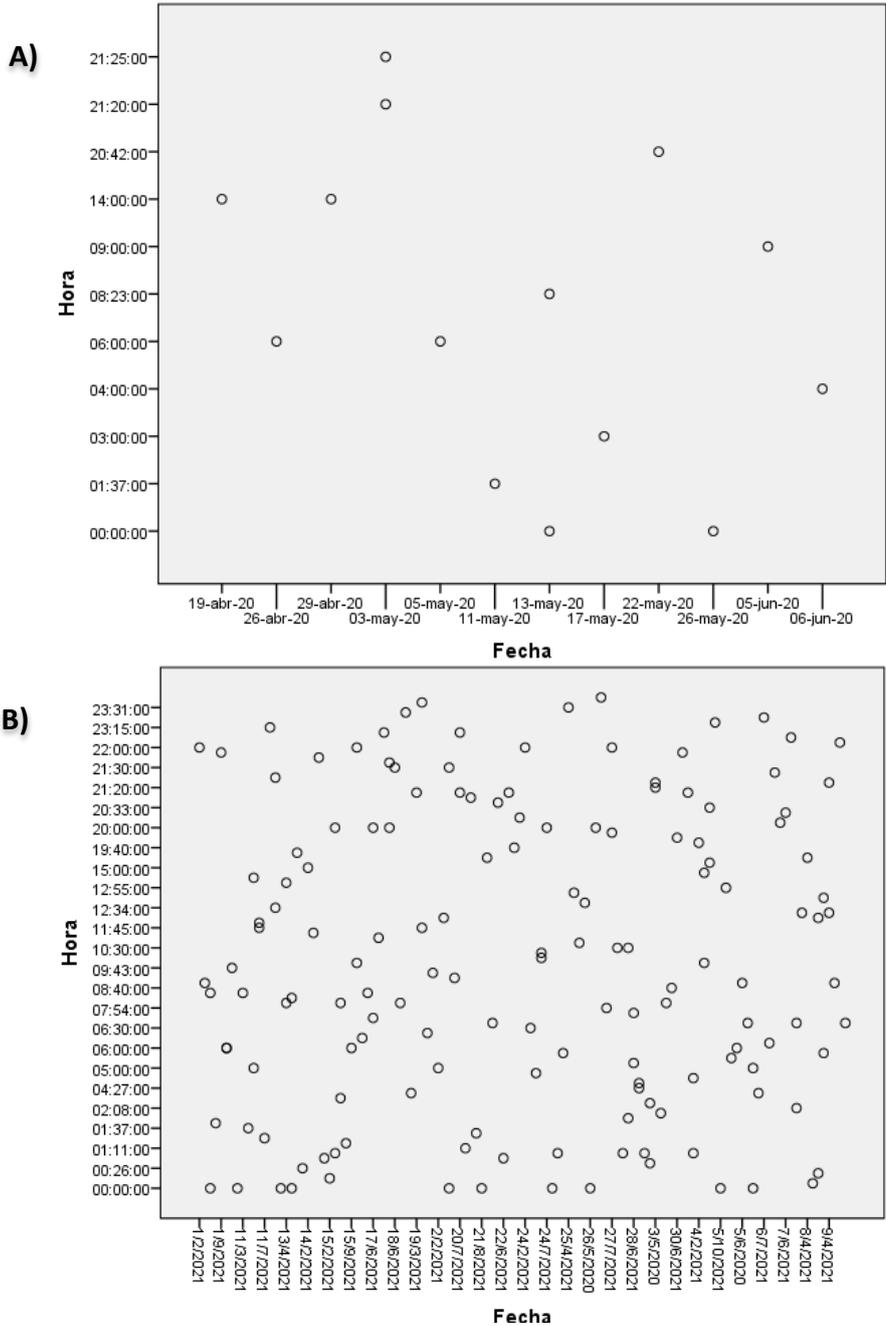


Figura 7. Hora en que ocurrieron los desoves en **A)** el FN-2020, y **B)** en el FE-2021 y FN-2021, en el tanque R5 y R6. Nótese la ausencia de un patrón general en la hora del desove.

7.2.2. Conducta Reproductiva

Durante la etapa FE-2021 se logró documentar únicamente dos eventos de desove que ocurrieron en el mismo día (21 de marzo del 2021) y en el mismo grupo poblacional (tanque R5). Se describieron ocho unidades conductuales incluidas en cuatro categorías de interacción (social, pre-desove, desove y post-desove; Cuadro 2). La duración total de estos eventos duró 2.78 h.

Cuadro 2. Etograma de la conducta reproductiva de *L. peru* en cautiverio.

Categorías conductuales	Unidad (figura)	Descripción
Social	Nado en grupo	Nadan en la misma dirección y sin agresión.
	Roce (fig. 8A)	Un macho se aproxima a una hembra por un lado y acerca su hocico y la parte lateral de su cuerpo con la región anal y región lateral del cuerpo de la hembra.
Pre-desove	Acompañamiento (fig. 8B)	Un macho roza y sigue a la hembra, ya sea, manteniendo contacto o no. Esta acción puede ser realizada por 1, 2 o 3 machos, pero el segundo y el tercero se unen a uno que inicia en solitario la acción.
	Cortejo (fig. 8C)	Un macho se aproxima a la hembra por un costado o por debajo, realiza cabezazos a la hembra en la región anal y la persigue aceleradamente; posteriormente otro macho se une a la persecución. Mientras realizan la persecución, un macho cabecea a la hembra en repetidas ocasiones y finalmente la levanta y la sostiene con el hocico durante unos 3–4 segundos. Cuando un tercer macho se une a la persecución, ésta se detiene y se separan. Esto lo realizan en la parte media superior del tanque, en ocasiones muy cercanos a la superficie, incluso ocasionando que la hembra mantenga la cola fuera del agua cuando el macho la levanta y sostiene.
	Evasión (fig. 8C)	La hembra no mantiene un patrón de nado pues constantemente cambia de dirección aceleradamente tratando de evadir a los machos. Realiza vueltas de 180° y se dirige hacia la parte baja del tanque.

	Persecución de desove (fig. 8D)	La hembra es perseguida en dirección horizontal por 3 machos, los cuales se mantienen muy juntos. Estos realizan cabezazos en la región anal de la hembra. Esto dura 2–3 segundos y lo llevan a cabo en la parte media superior del tanque.
Desove	Liberación de gametos (fig. 8D)	Todo el grupo de peces envueltos en la persecución, acelera en la misma dirección durante 2–3 segundos y haciendo contacto físico con la hembra. La hembra realiza un movimiento curvilíneo hacia la parte inferior del tanque. Durante este movimiento dejan una nube blanquecina detrás (gametos).
	Separación (fig. 8D)	Los machos mantienen la persecución de la hembra durante unos 3 segundos más para después separarse de ella y entre ellos.
Post-desove	Cortejo (fig. 8C)	Los machos involucrados en el desove se mantienen realizando roces, acompañamientos y pequeñas persecuciones al resto de los peces, incluso hasta entre ellos. Este comportamiento se mantiene continuo pero disminuye en intensidad.
Social	Nado en grupo	Nadan en la misma dirección y sin agresión.

La secuencia de las unidades conductuales que constituyen la conducta reproductiva es la siguiente (fig. 8):

Antes del inicio de los comportamientos reproductivos, los peces se mantuvieron nadando en grupo y en la misma dirección, sin mostrar algún tipo de interacción agresiva entre ellos. Los machos inician con aproximaciones a la hembra rozando su región anal o lateral (roce) (fig. 8A). A continuación, realizan el acompañamiento (fig. 8B). Después, los machos a presentar comportamientos agresivos hacia la hembra mediante cabezazos y persecuciones rápidas, al grado de mantener levantada a la hembra con el hocico durante algunos segundos, al ocurrir este comportamiento, la hembra evade a los machos cambiando de dirección y dirigiéndose al fondo del tanque (cortejo y evasión). Este comportamiento es repetido constantemente y la hembra lo evade en cada ocasión. Estos comportamientos pueden ser realizados por uno o hasta tres machos (fig. 8C). El acompañamiento y cortejo siempre es iniciado por un macho en solitario, el cual incluso puede detener este comportamiento si los demás machos se unen al grupo (fig. 8B y C). Posteriormente ocurre el desove.

El desove es comprendido por comportamientos de poca duración (persecución de desove: 2

segundos; liberación de gametos: 1 segundo; separación: 2 segundos). Un grupo de machos, muy juntos entre sí, persiguen a la hembra y ejercen cabezazos sobre su región anal. El grupo completo nada rápidamente en la misma dirección sin que los machos pierdan contacto físico con la hembra. Durante este nado rápido, la hembra realiza un movimiento curvilíneo hacia la parte inferior del tanque y dejan una nube blanquecina de gametos detrás de ellos (desove). La persecución se mantiene durante un par de segundos y después se separan (fig. 8D).

Posterior al desove, los que al parecer son los machos involucrados en el desove, mantienen un comportamiento de cortejo en el cuál realizan roces, cabezazos y persecuciones al resto de los peces del grupo, incluso realizando esto hasta entre ellos mismos. Este comportamiento, al inicio lo realizan muy constantemente, pero con el tiempo va disminuyendo su intensidad y frecuencia hasta que los todos los peces mantienen un nado en grupo, en una dirección similar y sin contactos ni agresiones entre ellos. En ninguna categoría conductual reproductiva se observó algún cambio cromático en alguno de los peces involucrados. Sin embargo, las hembras ovuladas pueden presentar un abdomen marcadamente distendido a los costados, aunque el grado de distención varía entre especímenes. Por otro lado, los machos no presentan cambios morfológicos aparentes.

Dado que en este trabajo se lograron registrar dos desoves (uno seguido de otro), el comportamiento de cortejo posterior al desove se observó en dos ocasiones, logrando un siguiente desove solo después del primer desove. Después del segundo desove es cuando la frecuencia del comportamiento va disminuyendo hasta que los peces no realizan ningún tipo de comportamiento reproductivo. El lapso transcurrido entre ambos desoves fue de 32 minutos, mientras que el tiempo transcurrido desde el roce hasta el cese de los desoves (nado en grupo) fueron 2.78 h.

La mayor parte de los comportamientos reproductivos son realizados en la parte media superior del tanque, dirigiéndose a la parte media inferior en algunas acciones de evasión o en el cambio de dirección en la liberación de los gametos. Los machos son los que inician el contacto físico y fue notorio como la frecuencia y cantidad de contactos van cambiando su intensidad y frecuencia conforme están próximos, o bien, ya pasado el desove. Si bien, en el cortejo de una hembra se involucran de uno a tres machos, no fue posible determinar si son los mismos organismos los que participaron en cada uno de los comportamientos durante todo el tiempo que se observaron. Esto se debió a que no se colocaron marcas externas a los peces, las cuales

permitieran diferenciar uno de otro, por lo que no se pudo determinar si las interacciones se daban estrictamente solo entre machos y hembras, por lo cual, al contabilizar las interacciones, todas se incluyeron en un mismo total y no en una categoría de “interacciones macho-hembra”.

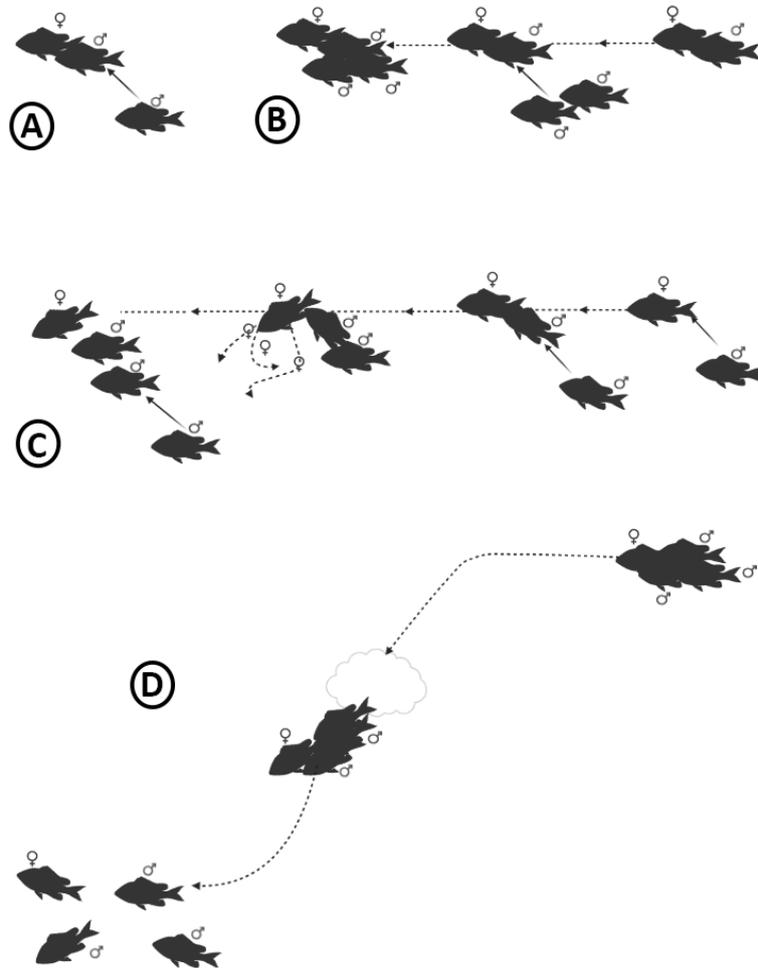


Figura 8. Conducta reproductiva de *L. peru* en cautiverio. **A)** Roce: un macho se acercan a la hembra y acerca su hocico a la región anal o lateral del cuerpo de la hembra;
B) Acompañamiento: un macho se acerca, roza a la hembra y la sigue, en algunas ocasiones esto lo realizan dos o hasta tres machos, pero siempre iniciado por uno solo al cual se le unen,
C) Cortejo y evasión: un macho se acerca a la hembra, da cabezazos e incluso la levanta, un segundo y tercer macho se acercan pero no se involucran; la hembra cambia de dirección y velocidad de nada para evadir a los machos; y **D)** desove: tres machos persiguen a la hembra muy cercanamente a ella y la cabecean, todo el grupo en esta persecución dan un cambio de dirección hacia abajo, y durante este cambio de dirección liberan los gametos, posterior a esto, siguen su nado 2–3 segundos más y se separan.

Las distintas unidades de conducta contenidas en las cuatro categorías presentaron frecuencias y tiempos de duración relativas diferentes (fig. 9). La unidad conductual evasión, que está

dentro de la categoría de pre-desove, no fue incluida en este análisis, debido a que las hembras no siempre realizaban esta conducta como respuesta a una interacción directa con los machos. En repetidas ocasiones las hembras realizaban esta conducta al acercarse a cualquier otro pez dentro del grupo, es decir, la evasión era una respuesta tanto a la “interacción macho-hembra”, como una conducta que la hembra realizaba por sí sola. Durante el pre-desove (que duró 62 minutos), la unidad conductual roce tuvo una frecuencia del 15%, mientras que cortejo presentó la mayor frecuencia con 55%. En los dos eventos de desove (5 segundos de duración cada uno), las tres unidades conductuales que conforman la categoría de desove tuvieron la misma frecuencia relativa, lo que fue diferente fue el tiempo de duración de cada unidad. Las unidades conductuales persecución, separación y liberación de gametos, tuvieron las mismas frecuencias relativas ya que solo ocurrieron una vez en cada evento y entre eventos. Sin embargo, sí presentaron diferencia en tiempo de duración (duración relativa) de cada uno: persecución 40%, liberación de gametos 20%, y separación 40% (fig.9). El post-desove tuvo diferente duración entre eventos, con una duración total de 30 min en el primero y de 75 min en el segundo. No obstante, las unidades conductuales roce, acompañamiento y cortejo tuvieron aproximadamente las mismas frecuencias relativas (15, 30, y 55%, respectivamente) entre eventos.

Algo notable fue que los organismos en algunas ocasiones presentaron conductas pre-desove, sin embargo esto no siempre fue indicador o predecesor de un desove, es decir, presentaban conducta pero no desovaban.

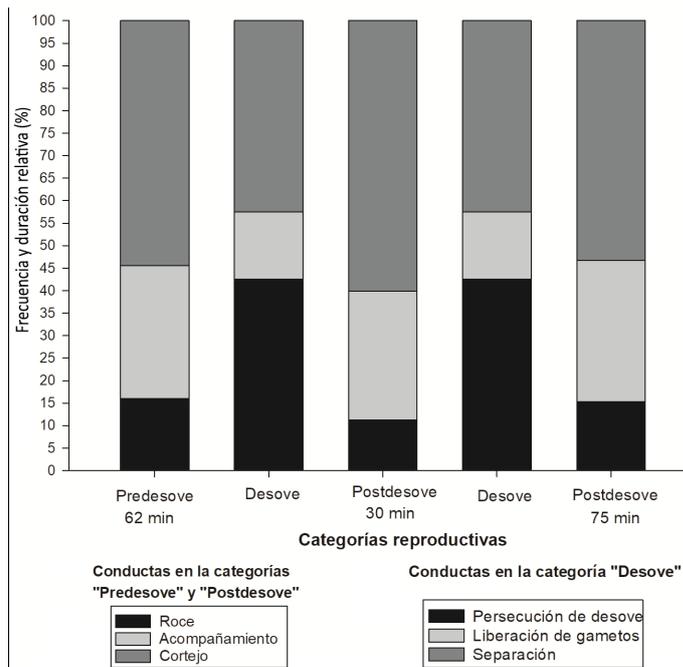


Figura 9. Frecuencias y duraciones relativas de las unidades conductuales observadas antes, durante y después del desove. Se presentan dos categorías de desoves debido a que ocurrieron dos eventos durante el mismo periodo de observación.

7.3 Producción de Huevos

7.3.1 Etapa FN-2020

En esta etapa se obtuvieron 1000 huevos por mililitro, cantidad que fue utilizada para calcular el total de huevos obtenidos en cada grupo de desoves.

En el tanque R5, los desoves ocurrieron del 19 de abril al 08 de agosto, de los cuales se obtuvo un volumen total de huevos 4.3 L, que equivalen a 4, 300,000 huevos, con promedio de volumen de huevos desovados de $0.205 (\pm 0.167)$ L, equivalentes a 205,000 huevos ($\pm 167,000$) ($n = 21$) (fig. 10B). El mes con mayor cantidad de desoves fue mayo, con 19 desoves, lo que significó que cada 1.7 días ocurrió un desove (fig. 12A). El volumen total de huevos producidos en este mes, fueron 3.2 L, que equivalen a 3, 200,000 huevos, con promedio de huevos desovados de $0.161 (\pm 0.172)$ L, equivalentes a 161,000 ($\pm 172,000$) huevos. El análisis de medidas repetidas de Friedman mostró diferencias significativas entre los volúmenes de huevos desovados en esta etapa, con respecto a los obtenidos en las etapas FE-2021 y FN-2021 ($p < 0.05$).

Durante esta etapa no se registraron desoves en el tanque R6. En el caso de los desoves mixtos, fueron tres, y ocurrieron en julio (1) y agosto (2), de los cuales se obtuvieron 0.280 L, que representan 209,440 huevos, con un promedio de huevos desovados de 0.0933 (± 0.073) L, que equivalen a 93,300 huevos ($\pm 73,000$) ($n = 3$), de los cuales, uno ocurrió en julio y el resto en agosto (fig. 10C). El desove de julio ocurrió 35 días después del último registrado anterior a este, y el primer desove de agosto, 26 días después del ocurrido en julio (fig. 12A)

7.3.2 Etapa FE-2021

En el tanque R5, los desoves ocurrieron del 17 de enero al 18 de agosto. En esta etapa, se obtuvieron 1097 huevos por mililitro. El volumen total de huevos fue 59.5 L, que equivalen a 65,271,500 huevos, con promedio de volumen de huevos desovados de 0.709 L (± 0.541) desovados, equivalentes a 777,773 huevos ($\pm 593,477$) ($n = 85$) (fig. 11D). Se registraron desoves durante todos los meses, siendo junio el mes con más desoves ocurridos ($n = 18$), lo que significó que en promedio, ocurrió un desove cada 1.6 días (fig. 12B). En este mes se obtuvo un volumen total de huevos 12.2 L, equivalentes a 13,384,300 huevos, con un volumen promedio de huevos desovados de 0.677 (± 0.407) L, que equivalen a 742,669 ($\pm 446,479$) huevos, mientras que en febrero solo registró un desove de 0.800 L de huevos, que equivalen a 877,600 huevos. Se encontraron diferencias significativas entre los volúmenes de huevos desovados en esta etapa en el tanque R5, con respecto a los obtenidos en la etapa FN-2020 y FN-2021 ($p < 0.05$).

En el tanque R6, los desoves ocurrieron entre el 14 de marzo y el 15 de agosto. Se obtuvieron 583 huevos por mililitro. El volumen total de huevos obtenidos fue de 10.5 L, que equivalen a 6,121,500 huevos, con un promedio de 0.228 L (± 0.209), equivalente a 132,924 huevos ($\pm 121,847$) ($n = 48$). Los desoves se presentaron en todos los meses, siendo abril y junio los meses con más número de desoves (15), y con los picos de volúmenes de desoves más altos, con 2.27 y 2.50 L, que representan 1,323,410 y 1,311,750 huevos, respectivamente (fig. 11C). Esto significó que en promedio, en ambos meses, ocurriera un desove cada 2 días. Sin embargo, en julio, a pesar de que ocurrieron menor número de desoves ($n = 5$), el volumen de huevos desovados fue similar al obtenido en abril (2.26 L; 1,317,580 huevos). Por otra parte, agosto fue el mes con menor cantidad de desoves ($n = 2$), iniciando los desoves de este mes, 10 días después del último ocurrido en julio (fig. 12.C).

Con respecto a los huevos obtenidos de desoves mixtos, estos fueron recolectados del 19 de enero al 15 agosto en los cuales se presentaron 705 huevos por mililitro. Se obtuvo un volumen total de huevos 38.3 L, que equivalen a 27, 001,500 huevos, con volumen promedio por desove de 0.564 (± 0.422) L, equivalentes a 397,620 ($\pm 297, 510$) huevos (fig. 11B). Marzo fue el mes con el mayor número de desoves ($n = 22$), que representó una frecuencia de desove de cada 1.27 días, mientras que en abril no se presentaron huevos de desoves mixtos (fig. 12D). En este mes, se recolectó un volumen total de huevos de 14.6 L, que equivalen a 10, 293,000 huevos.

El tiempo en el que ocurren los desoves no son similares puesto que es más amplio el periodo en el tanque R5; lo mismo ocurre con la frecuencia de desove, la cual fue mayor en el tanque R5. Sin embargo, se observó que tanto en el tanque R5 como en el R6, los mayores picos de desove se presentaron en junio.

7.3.3 Etapa FN-2021

En esta etapa se obtuvieron 748 huevos por mililitro, cantidad que fue utilizada para calcular el total de huevos obtenidos en cada grupo de desoves.

En el tanque R5, los desoves ocurrieron del 21 de agosto al 5 de octubre. Se obtuvo un volumen total de 17.2 L, los cuales representan 12, 865,600 huevos, con un volumen promedio de 0.967 L (± 0.708), equivalentes a 723,316 huevos ($\pm 529,584$) ($n = 15$) (fig. 11D). Durante septiembre se presentaron 11 desoves, lo que representó que en promedio un desove ocurriera cada 2.72 días (fig. 12B). De estos desoves, se obtuvo un volumen de huevos de 8.9 L, que equivalen a 6, 657,200 con un volumen promedio de huevos por desove de 0.809 L (± 0.553), que equivalen a 605,132 huevos ($\pm 413, 644$). En esta etapa no se registraron desoves en el tanque R6.

Con respecto a los desoves mixtos, en total fueron seis desoves y se presentaron del 25 de agosto al 14 de septiembre, de los cuales cinco ocurrieron en septiembre, con una frecuencia de desove de seis días. (fig. 12D). De estos desoves se obtuvo un volumen total 3.2 L, que son equivalentes a 2, 393,600 huevos, con un volumen promedio de huevos por desove de 0.538 ± 0.0007 L, que son equivalentes a $402,424 \pm 523.6$ huevos (fig. 11B). Del 6 de octubre, hasta que finalizó el año, no se hubo presencia de huevos de desoves mistos.

7.3.4 Producción de huevos entre tanques

Se encontró una diferencia significativa en el total de huevos producidos entre tanques, siendo que se presentó mayor producción de huevos en el tanque R5 ($p < 0.05$). No se realizó el análisis para encontrar diferencias significativas entre los volúmenes de huevos obtenidos del tanque R6 y de los desoves mixtos a lo largo del estudio, pues de las etapas FN-2020 y FN-2021 solo se contaron con menos de cinco datos.

7.4 Tasas de Fertilización

7.4.1 Etapa FN-2020

En el tanque R5, la tasa de fertilización promedio fue de 41.4 ± 43.4 % ($n = 27$). Y en los desoves mixtos 100% ($n = 3$). En esta etapa, no se registraron desoves en el tanque R6 (fig. 10). Las tasas de fertilización obtenidas en esta etapa, presentaron diferencias significativas con respecto a las obtenidas en la Etapa FE-2021, pero no con respecto a FN-2021.

7.4.2 Etapa FE-2021

En esta etapa, en el tanque R5, la tasa de fertilización promedio fue 81.3 ± 35.3 ($n = 80$). En los meses de marzo ($n = 10$), abril ($n = 12$) y mayo ($n = 11$) se obtuvo una tasa de fertilización del 100% en todos los desoves (fig. 11B). En el tanque R6 la tasa de fertilización fue de 85 ± 32.7 % ($n = 46$). En los meses de abril ($n = 12$), mayo ($n = 4$) y julio ($n = 4$) en todos los desoves se presentó el 100% de fertilización en todos los desoves (fig. 11C). Los meses en los ocurrieron las tasas de fertilización mayores, en ambos tanques, fueron marzo, abril y mayo

En los desoves mixtos, la tasa de fertilización promedio fue de 47.05 ± 49 % ($n = 51$). En los desoves ocurridos en agosto ($n = 6$) se obtuvo una tasa de fertilización del 0%, mientras que en marzo, en el 83.5% de los desoves ($n = 12$), fue del 100% (fig. 11D).

7.4.3 Etapa FN-2021

La tasa de fertilización promedio obtenida en el tanque R5 fue de $90.2 \pm 15.6 \%$ ($n = 14$). Solo en un desove de los ocurridos en septiembre se presentó una tasa de fertilización del 80%, en el resto de los desoves las tasas fueron de 100%. Mientras que en los desoves mixtos ($n = 6$), solo en un desove, ocurrido en septiembre, la tasa de fertilización fue del 100%. En los cinco desoves restantes fue del 0%. En esta etapa, no se registraron desoves en el tanque R6 (fig. 12).

7.4.4 Tasas de Fertilización entre Tanques

No se presentaron diferencias significativas en las tasas de fertilización promedio de los huevos obtenidos de los tanques R5 y R6 a lo largo del estudio ($p > 0.05$), pero sí de estos dos con respecto a las obtenidas en los desoves mixtos ($p < 0.05$).

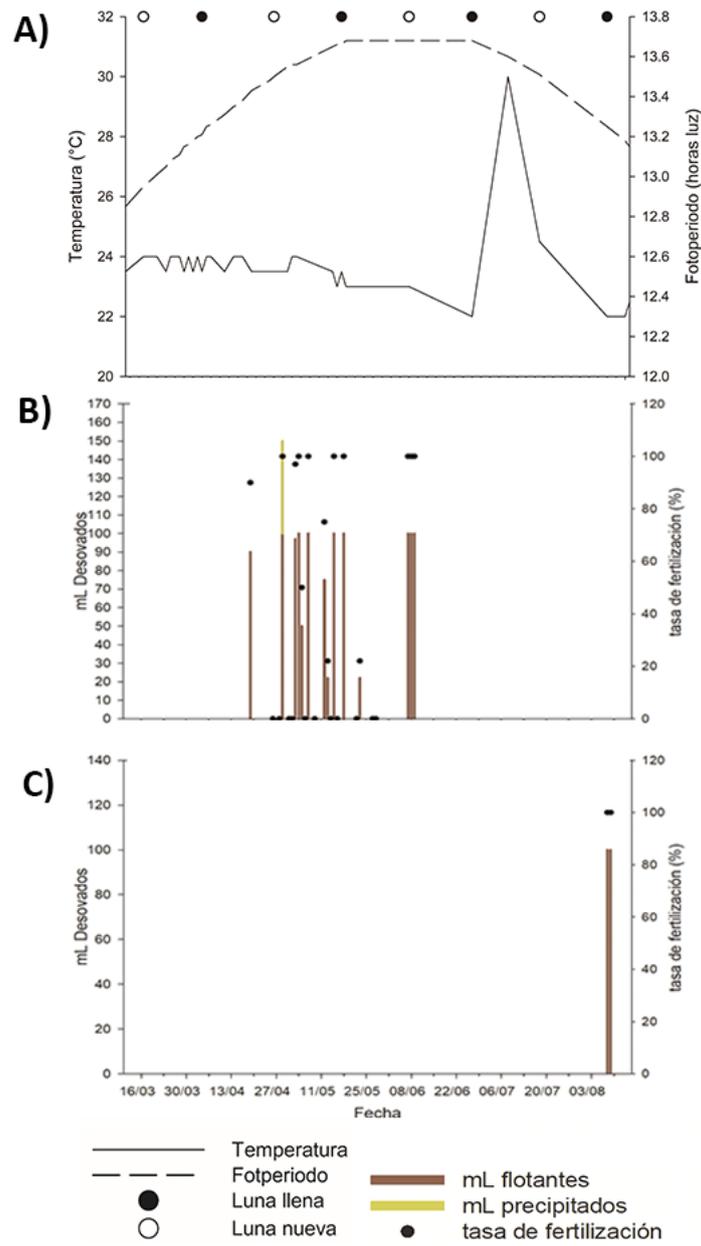


Figura 10. A) Valores de las variables ambientales, volúmenes de huevos desovados (en mL) y tasas de fertilización (%) obtenidos durante FN-2020 B) en el tanque R5 y C) en los desoves mixtos.

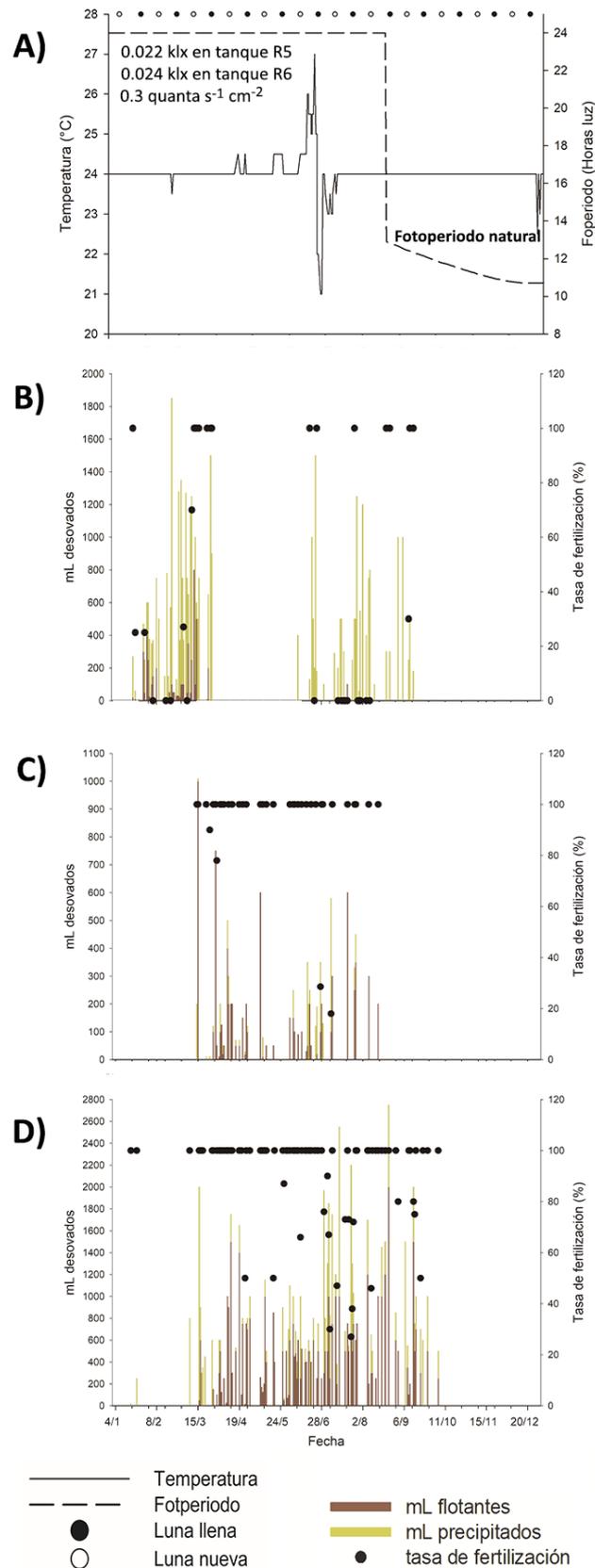


Figura 11. A) Valores de las variables ambientales, volúmenes de huevos desovados (en mL) y tasas de fertilización (%) obtenidos durante FE-2021 y FN-2021 en B) desoves mixtos, C) tanque R6 y D) tanque R5. Sobre la línea punteada se menciona cuál fue la intensidad de luz (lx y quanta s⁻¹ cm⁻²) que irradiaba la lámpara sobre el tanque, y la de luz natural, por ende, los meses de duración de las etapas FE-2021 y FN-2021.

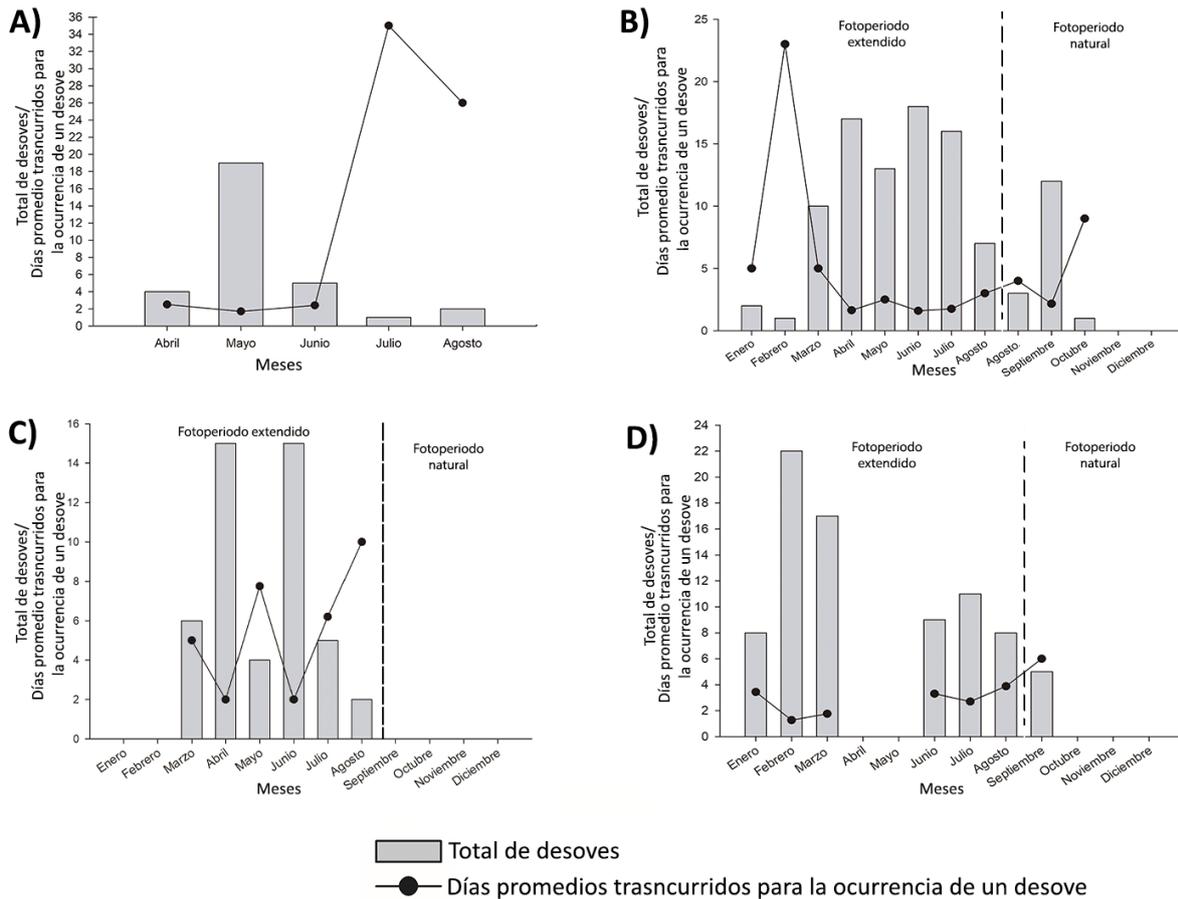


Figura 12 Días que transcurren para la ocurrencia de un desove (promedio) en cada mes en **A)** FN- 2020, **B)** en el tanque R5 durante el FE-2021 y FN-2021; **C)** en el tanque R6 durante FE-2021, y **D)** en desoves mixtos en el FE-2021 y FN-2021. La línea punteada marca los meses de duración de las diferentes etapas de fotoperiodo (FE y FN).

7.5 Calidad Morfológica de los Huevos

7.5.1 Tamaño de los Huevos y los Glóbulos de Aceite

7.5.1.1 Etapa FN-2020. Durante la etapa FN-2020, en el tanque R5, el diámetro promedio de los huevos obtenidos fue $839 \mu\text{m} (\pm 12)$, mientras que el del glóbulo de aceite fue $137 \mu\text{m} (\pm 5)$. Estos valores también fueron utilizados para determinar la cantidad de huevos obtenidos de los desoves mixtos. Durante esta etapa no se presentaron desoves en el tanque R6.

7.5.1.2 Etapa FE-2021. Durante la etapa FN-2021, en los huevos obtenidos del tanque R5, el diámetro promedio fue de 833 μm ($\pm 39 \mu\text{m}$), mientras que el glóbulo de aceite fue 144 μm ($\pm 6 \mu\text{m}$). En el tanque R6 el diámetro promedio de los huevos fue 861 μm ($\pm 29 \mu\text{m}$), mientras que el del glóbulo de aceite fue 137 μm ($\pm 4 \mu\text{m}$). En los desoves mixtos el diámetro promedio de los huevos fue 854 μm (± 45), mientras que el del glóbulo de aceite fue 142 μm ($\pm 7 \mu\text{m}$).

7.5.1.3 Etapa FN-2021. En el tanque R5 el diámetro promedio de los huevos fue 852 μm ($\pm 22 \mu\text{m}$), mientras que el del glóbulo de aceite fue 142 μm ($\pm 3 \mu\text{m}$). En el tanque R6 no se presentaron desoves durante esta etapa.

7.5.1.4 Variación en el tamaño de los huevos y los glóbulos de aceite a lo largo del estudio. Considerando la producción total de huevos de ambos tanques en los dos años del estudio, se presentó una variación en el diámetro de los huevos en todos los desoves. En general, el diámetro promedio de los huevos fue de 844 μm ($\pm 38 \mu\text{m}$). El diámetro varió de 744 μm (para el diámetro más pequeño) a los 965 μm (para el diámetro más grande) (fig. 13A y B). El diámetro promedio del glóbulo de aceite fue de 139 μm ($\pm 9 \mu\text{m}$), y varió desde los 102 μm para el diámetro más pequeño, a los 163 μm para el diámetro más grande (fig.13A y B). El análisis de correlación mostró una baja pero significativa asociación entre el diámetro del huevo y el del glóbulo de aceite ($r = 0.35$; $p = 0.0001$).

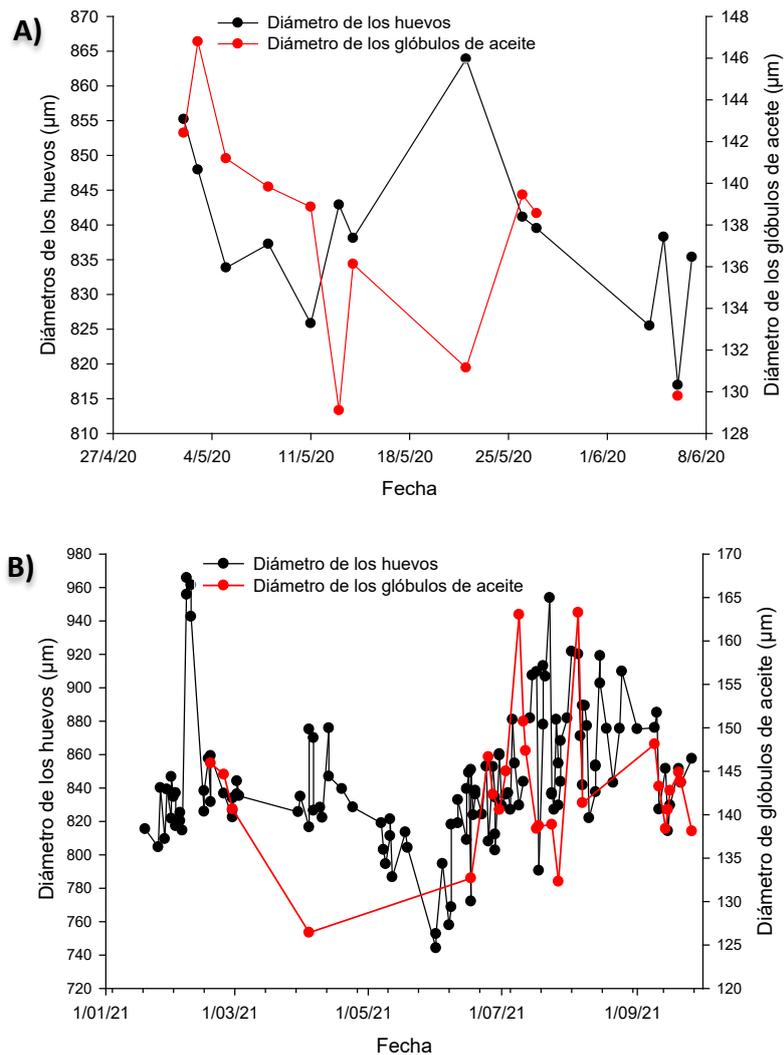


Figura 13. Diámetro promedio de huevos y los glóbulos de aceite de *L. peru* **A)** durante la etapa FN-2020 y **B)** durante la etapa FE-2021 y FN-2021.

7.5.2 Evaluación de la Calidad Morfológica de los Huevos

7.5.2.1 Etapa FN-2020. De los 28 desoves obtenidos en el tanque R5, solo a 16 se les pudo realizar la evaluación de la calidad morfológica de los huevos. De estos 16 desoves, en abril el 66.7 % del total de huevos perteneció a huevos de la categoría con “desarrollo normal”. En mayo fue el 12%, mientras que en junio no se encontraron huevos con “desarrollo normal”. De estos tres meses, en mayo se presentó la mayor cantidad de huevos en todas las categorías (fig. 14A). En esta etapa, no se presentaron desoves en el tanque R6.

En el caso de los desoves mixtos, se obtuvieron tres desoves, de los cuales, a todos se les pudo realizar la evaluación de la calidad morfológica de los huevos. En estos desoves, no se presentaron huevos con “desarrollo normal”, todos fueron huevo de la categoría “sin blastodisco”, siendo agosto el mes con mayor presencia de estos huevos (fig. 14A).

7.5.2.2 Etapa FE-2021. De los huevos obtenidos de 82 desoves que ocurrieron en el tanque R5 en esta etapa, solo a 70 desoves se les pudo realizar la evaluación de la calidad morfológica de los huevos. En enero el 43.9% de los huevos obtenidos pertenecieron a la categoría “desarrollo normal”. En febrero y marzo no se obtuvieron huevos de la categoría con “desarrollo normal”. En abril el 91.1% de los huevos obtenidos pertenecieron a la categoría “desarrollo normal”, en mayo el 96.6%, en junio el 100%, en julio el 89.8% y en agosto el 93.3% (fig. 14B).

Comparando entre meses, en junio se presentó la mayor cantidad de huevos de categoría “sin blastodisco”, y enero con la menor (fig. 14B). En julio se presentó la mayor cantidad de huevos de la categoría “sin fertilización”, y en abril la menor (fig. 14B). En abril se presentó la mayor cantidad de huevos en la categoría “desarrollo anormal” y enero con la menor (fig. 14B) En julio se presentó la mayor cantidad de huevos de la categoría “desarrollo normal” y en octubre la menor (fig. 14B). Con respecto a huevos de la categoría “mala calidad”, abril fue el mes con menor cantidad de estos huevos, y julio con la mayor (fig. 14B).

En el tanque R6, de los huevos obtenidos de 47 desoves, a 43 se les pudo realizar la evaluación de la calidad morfológica de los huevos. De estos 43 desoves, el porcentaje de huevos obtenidos que pertenecieron a la categoría “desarrollo normal” fueron el 53.1% en marzo, el 75% en abril, el 92.8% en mayo, el 41.4% en junio, el 52.2% en julio y en agosto no hubo huevos con “desarrollo normal” (fig. 14C).

Comparando entre meses, en junio se presentó la mayor cantidad de huevos de la categoría “sin blastodisco” y marzo la menor (fig. 14C). En abril la mayor cantidad de huevos de la categoría “sin fertilización”, y mayo con la menor (fig. 14C). Julio fue el mes con la mayor cantidad de huevos de la categoría “desarrollo anormal” y junio con la menor (fig. 14C), mientras que abril fue el mes con la mayor cantidad de huevos de la categoría “desarrollo normal”, y mayo con la menor (fig. 14C). Por último, mayo fue el mes con menor cantidad de huevos de la categoría “mala calidad” y abril con la mayor (fig. 14C).

En el caso de los desoves mixtos, de los 70 desoves, a 64 se les pudo realizar la evaluación de la calidad morfológica de los huevos. De los huevos obtenidos en estos desoves, en enero el 12.79% pertenecieron categoría “desarrollo normal”, en febrero el 21.5%, en marzo el 33%, en junio el 7.8%, en julio no se presentaron huevos de esta categoría y en agosto el 19.5% (fig. 14D).

Comparando entre meses, en febrero se presentó la mayor cantidad de huevos de la categoría “sin blastodisco”, mientras que en enero la menor, esto ocurrió de la misma con huevos de la categoría “sin fertilización” (fig. 14D). La mayor cantidad de huevos de la categoría “desarrollo anormal” se presentó en agosto, mientras que la menor en enero (fig. 14D). La mayor cantidad de huevos de la categoría “desarrollo normal” se presentaron en marzo y la menor en enero (fig. 14D). Respecto a los huevos de la categoría “mala calidad”, enero fue el mes con menor cantidad de estos huevos, y febrero con la mayor (fig. 14D).

7.5.2.3 Etapa FN-2021. En el tanque R5, de los huevos obtenidos de 16 desoves ocurridos en esta etapa, a 15 se les pudo realizar la evaluación de la calidad morfológica de los huevos. Los desoves ocurrieron en agosto y el 100% de los huevos obtenidos pertenecieron a la categoría “desarrollo normal”. Se puede observar que septiembre es el mes con mayor cantidad de huevos (fig. 14B). En el R6 no ocurrieron desoves en esta etapa.

De los huevos obtenidos de seis desoves mixtos, solo a cinco desoves se les pudo realizar la evaluación de la calidad morfológica de los huevos. En agosto no se presentaron huevos de la categoría “desarrollo normal”, mientras que en septiembre el 6.2% de los huevos obtenidos pertenecieron a la categoría “desarrollo normal” (fig. 14D).

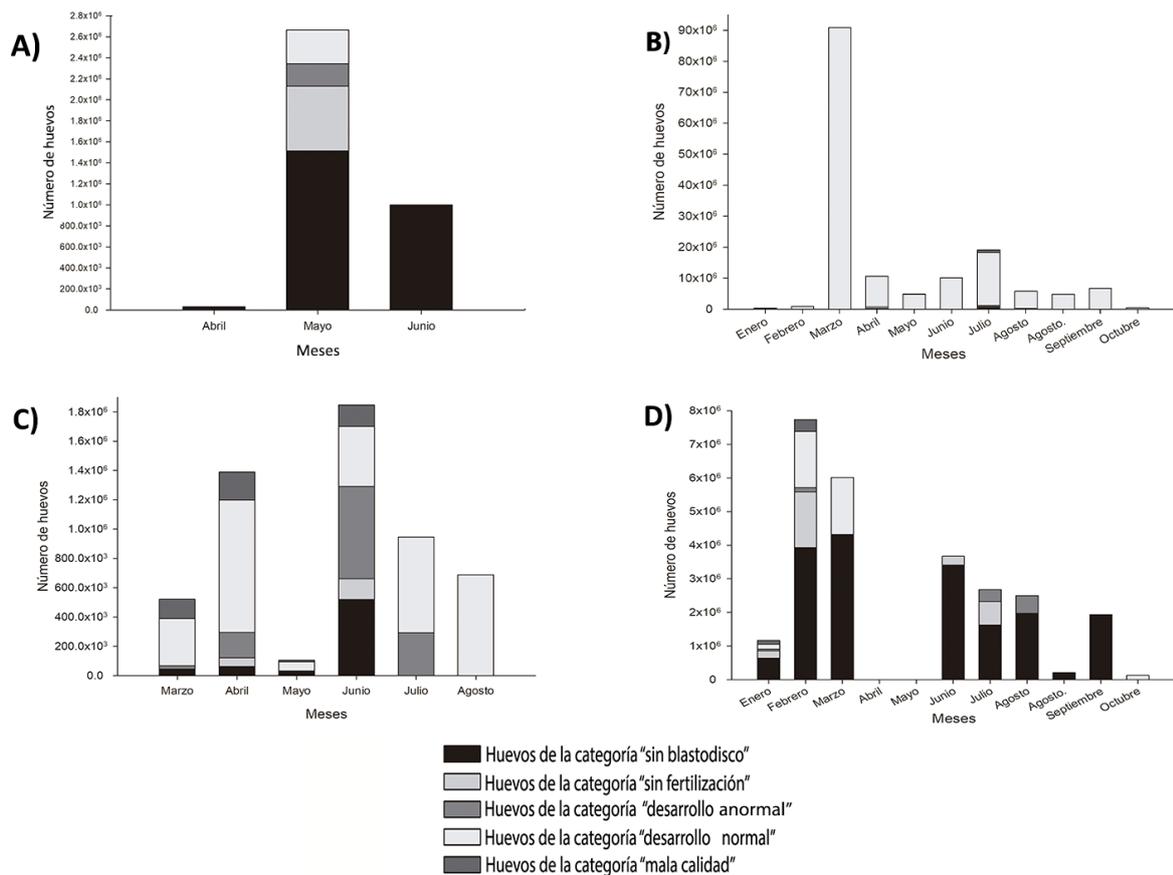


Figura 14. Número de huevos obtenidos por cada categoría **A)** en la etapa FN-2021 los desoves del tanque R5 (abril, mayo y junio) y mixtos (junio b y agosto) y durante las etapas FE-2021 y FN-2021 en **B)** tanque R5, **C)** tanque R6 y **D)** desoves mixtos. Las cantidades (eje Y), están representadas en fracciones exponenciales.

8. DISCUSIÓN

8.1 Conducta Reproductiva de *L. peru* en Cautiverio

En diferentes especies de Lutjanidos (p. ej., *L. cyanopterus*, Sakaue *et al.*, 2016; *L. jocu*, Kadison *et al.*, 2006; *L. skasmira*, Suzuki y Hioki, 1979), se ha observado que las fases lunares tienen influencia sobre el ritmo reproductivo. En dichas especies, tanto el inicio de la conducta reproductiva (p. ej., inicio de agregaciones) como de los desoves, ocurren en días cercanos o con luna llena, por lo que este patrón es típico en esta familia (Johanns, 1989). En el presente estudio no se observó dicha asociación, pues el comportamiento reproductivo y los eventos de desove se presentaron sin un patrón específico y fueron independientes de las fases lunares o de la hora del día.

La conducta reproductiva de *L. peru* en cautiverio presentó varios comportamientos similares a observadas en otros lutjánidos. El roce y el acompañamiento son conductas que ocurren en otros lutjánidos en el pre-desove. Estas conductas son iniciadas por un macho en solitario y posteriormente se unen otros.

En otras especies de lutjánidos (*L. synagris*, Wicklound, 1969; *L. kasmira*, Suzuki y Hioki, 1979); *L. stellatus*, Hammamoto *et al.*, 1992), se observó que en la unidad de comportamiento desove, los grupos de peces inician con un movimiento desde el fondo (ya sea del tanque o del fondo marino) y en ese desplazamiento vertical realizan la liberación de los gametos. En contraste, en este estudio, los organismos inician el desove con un movimiento horizontal y posteriormente, en un movimiento rápido en dirección hacia el fondo del tanque liberan los gametos.

En el presente estudio se observó la conducta de cortejo al finalizar ambos desoves. Sin embargo, solo tras el primer desove, el cortejo de los machos sobre la hembra logró que se presentara otro desove. Se observó que el número de ocasiones en el que se repitió cada conducta y el lapso en el cual sucedieron, fue mayor después del segundo desove, aunque sin lograr el desove. Además, los machos involucrados interaccionaron con todos los peces del grupo, incluso entre ellos. Esto pudo deberse a la presencia de feromonas disueltas en el agua

que se mantuvieron en el sistema por cierto tiempo, lo cual causó que los machos se mantuvieran excitados y realizando conductas post-desove. Aunque en trabajos realizados con organismos cautivos de *O. mykiss* (Vermeirssen y Scott, 1996) y *Dentex dentex* (Pavlidis *et al.*, 2004), que midieron las feromonas disueltas en el agua tales como Testosterona, 11-ketosterona, 17,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17,20 β -P) y 17,20 β , 21-trihydroxy-pregn-4-en-3-one (17-20 β ,21-P), observaron que existe una caída en la concentración de estos esteroides disueltos en el agua en cuanto el desove se ha completado, del tiempo y la cantidad de feromonas a las que se mantienen expuestos los organismos. La concentración de feromonas en el agua también depende del espacio del sistema en los que estos se encuentran, junto con el volumen y velocidad de recambio del agua en los que los peces se encuentran. En condiciones de hacinamiento en donde el espacio es limitado o las tasas de recambio son insuficientes, podrían exponer a los peces a altas concentraciones de feromonas por periodos de tiempo más amplios, lo que no sucede en vida silvestre (Mackie y Shelton, 1972; Pearson, 1977). Esto último podría justificar lo ocurrido en este estudio, aunque faltaría un estudio que mida la concentración de feromonas disueltas en el agua, durante la reproducción de los organismos.

Por otra parte, el hecho de que los machos involucrados que mantuvieron comportamientos post-desove, interactuaban con todos los peces del resto del grupo pudo deberse a la dificultad de distinguir a alguna hembra ovulada o a la hembra involucrada en el desove. Esto podría indicar que el reconocimiento sexual intraespecífico es mediado únicamente por feromonas. Una consecuencia de esto puede ser que los machos desarrollan la actividad reproductiva solamente si hay presencia de feromonas en el medio. Si los machos no perciben las feromonas liberadas por las hembras entonces no desarrollan alguna actividad que promueva la reproducción. Por ejemplo, en machos de *C. auratus*, la 17,20 β -P liberada por las hembras induce el incremento en la producción de gonadotropina y esteroides (Sorensen y Scott, 1994). Por lo tanto, en congruencia con lo planteado anteriormente, si los machos no perciben las feromonas liberadas por las hembras, no completan su maduración sexual. Esto plantea la explicación de una posible causa de disfunción reproductiva en peces en cautiverio.

En este estudio, lo anterior podría reflejarse en el papel que desarrolló la hembra del tanque R6 que no pudo desovar. A pesar de no poder realizar la liberación de los gametos, esta hembra quizás se mantuvo liberando feromonas, lo cual no permitía que los machos ubicaran a otra, u otras hembras que realizaban la liberación en el mismo momento feromonas, lo cual dificultaba la diferenciación de las hembras próximas a desovar, o bien, realizaban la conducta

reproductiva con la hembra que no podía desovar, y no con las que sí les era posible realizar el desove. Debido a esto, al ocurrir el desove, los huevos liberados por las hembras a quienes no cortejaban los machos, no eran fertilizados, se iban al fondo y eran absorbidos por el sistema de drenaje. Esto podría relacionarse con alta cantidad de huevos no fertilizados encontrados en los colectores colocados en la salida del hidrociclón (huevos de desoves mixtos). Si lo mencionado con el papel de la hembra que no pudo desovar no hubiese ocurrido, se podrían haber obtenido, mayor cantidad de huevos de huevos fertilizados, y también quizás de buena calidad. Sin embargo, con respecto a cantidad de huevos sin fertilizar que fueron recolectados en el hidrociclón y eran originados de desoves del tanque R5, al igual que con los del tanque R6, no puede ser estimada, ni atribuirse a una causa como la reconocida en el tanque R6. La falla en la sincronización en la liberación de los gametos entre machos y hembras puede ser la razón causal de huevos sin fertilización en desoves en el tanque R5, aunque lo que causó esta falla en la sincronización no es clara.

Rocha-Olivares y Gómez-Muñoz (1993) mencionan que en el medio silvestre la proporción sexual de las poblaciones de *L. peru* es dominada por machos (1:0.84). Siguiendo esto, los trabajos para lograr la reproducción en cautiverio de esta especie utilizaron proporciones sexuales en las cuales la cantidad de machos fue mayor a la de las hembras, o proporciones similares (1M: 1H) (Peña, 2004, Dumas, 2004; Estrada-Godínez *et al.* 2015, Spanopoulos *et al.*, 2016, 2021). Asimismo, en otros lutjánidos, como *L. argentimaculatus* (Leu *et al.*, 2003), *L. argentiventris* (Martínez-Lagos, 2003) y *L. guttatus* (Ibarra-Castro y Álvarez-Lajonchère, 2011) se utilizaron proporciones sexuales iguales o dominadas por machos. Sin embargo, en el presente trabajo, se observó que proporciones sexuales en las que dominaban el número de hembras (tanque R5, 3M: 6H), permiten que los organismos presenten una conducta reproductiva completa en cautiverio. La suficiencia de esta proporción sexual queda explicada por la conducta reproductiva que se observó en el tanque R5: generalmente una hembra y tres machos participan en el desove. Además, la mayor cantidad de huevos, mayor frecuencia de desove y época de desove más amplia se encontró en el grupo de reproductores dominado por hembras (tanque R5), contrario al otro grupo de reproductores del tanque R6, en donde la proporción sexual era dominada por los machos (5M:4H, pero solo 3 hembras capaces de desovar).

8.2. Efecto del Régimen Fototérmico Sobre la Reproducción en Cautiverio

La manipulación de las variables ambientales para lograr la maduración sexual de especies de peces en cautiverio, particularmente la temperatura y el fotoperiodo, es una herramienta que se presenta como alternativa para poder implementar una acuicultura industrializada. En especies como *S. fontinalis* (Lundova *et al.*, 2018), *Sebastiscus tertius* (Lim *et al.*, 2014) y *S. salar* (Qiu *et al.*, 2014), se ha logrado inducir el desarrollo gonadal y el desove mediante la manipulación del fotoperiodo y la temperatura, lo cual, plantea a este método como un medio para incrementar la eficiencia y sostenibilidad en la producción.

En este estudio se observó que el fotoperiodo es un factor ambiental que presenta una gran importancia en la reproducción de *L. peru*. Mientras que la temperatura se mantuvo a 24 °C, con variaciones ocasionales, el fotoperiodo extendido indujo la reproducción más allá del periodo reproductivo comprendido por el fotoperiodo natural, provocando mayor cantidad de desoves. Los desoves ocurrieron tanto en los meses correspondientes a la época reproductiva reportada, como en meses anteriores.

Los resultados demostraron diferencias significativas entre los volúmenes y total de huevos desovados en la etapa con fotoperiodo extendido en relación a las etapas con fotoperiodo natural. Entre los diferentes grupos (tanque R5 y R6) se observó que en junio se presentó los mayores picos de desove, para ambos casos, lo cual no presenta similitud a lo reportado en organismos en estado silvestre.

Debido a que *L. peru* podría presentar la característica innata de que las fases lunares influyen en su reproducción, como generalmente sucede en los lutjánidos (Johanns, 1989), lo cual significaría que organismos de esta especie utilizan las distintas fases lunares, ya sea por la luz emitida y aspectos geofísicos (marea), como señales de sincronización para el desove. Sin embargo, en este estudio se observó que los organismos no presentaron correlación entre sus desoves con respecto a alguna fase lunar, ni en la etapa con fotoperiodo natural, como en la etapa con fotoperiodo extendido.

El haber mantenido a los organismos en condiciones el fotoperiodo extendido (24 horas), provocó que la melatonina se mantuviera sus niveles más bajos de producción, lo cual no

permitió que los procesos endócrinos asociados al eje Hipotálamo-Pituitaria-Gónada se inhibieran, lo cual permitió a los organismos alcanzar su maduración final.

La melatonina es una hormona que actúa como traductor de la información lumínica que existe en el entorno, por lo que sus concentraciones en la circulación sanguínea fluctúan a lo largo del día (Bromage *et al.*, 2001). La melatonina que es secretada por la glándula pineal, ocupa una posición fundamental en el control fotoneuroendócrino de la reproducción de peces. Esta neurohormona puede actuar tanto en el sistema hipotalámico-hipofisial, o directamente en la gónada o en ambos, esto se debe a que desempeña un papel importante en el control del eje endócrino, modulando la kisspeptina, hormona hipotalámica que influye sobre otras neuronas hipotalámicas para producir GnRh y regular las funciones gonadotrópicas (Maitra y Hassan, 2016). Sin embargo, aunque la expresión de la kisspeptina es controlada por el fotoperiodo (mediada por la melatonina), el efecto del fotoperiodo sobre la expresión de la kisspeptina varía entre especies. Por ejemplo, Martínez-Chávez *et al.* (2008) reportan que exponer organismos de *Oreochromis niloticus* a largos fotoperiodos inhibe la expresión de los receptores de kisspeptina, retrasando el inicio de la pubertad. En contraste, Chi *et al.* (2017) encontraron que en *S. salar* largos fotoperiodos inducen mayor expresión de kisspeptina, lo que beneficia el desarrollo gonadal. Además, la melatonina reduce el estrés oxidativo de los folículos ováricos en crecimiento actuando como un antioxidante (Reiter *et al.*, 2009, 2013; Silva *et al.*, 2015), y actúa en la transcripción de genes que contienen proteínas involucradas en las síntesis de esteroides gonadales, que en conjunto, influyen en la maduración de los ovocitos (Maitra y Hassan, 2016). Con base en lo anterior, en el presente estudio se puede decir que, el exponer a los organismos a luz constante originó una modificación en la liberación de melatonina, lo cual desencadenó procesos a lo largo del eje hipotálamo-pituitaria-gónada que permitieron la maduración final de los ovocitos y el consecuente desove.

También se ha visto que la acción de la melatonina sobre la reproducción se ve influenciada no solo por la longitud del fotoperiodo (horas luz), sino también por la intensidad de luz y el momento en el cual se exponen los peces a dicho factor. Por ejemplo, para *D. labrax* son suficientes 10 lx para suprimir los niveles de melatonina (Bayarri *et al.*, 2001), mientras que en *Tinca tinca*, para lograr lo mismo se necesitan niveles mucho más bajos (0.3 lx) (Vera *et al.*, 2010). Cada especie de pez adquiere un sistema precisamente afinado para la percepción y transducción de los cambios periódicos a través de procesos evolutivos (Takemora *et al.*, 2010), por lo que su respuesta ante distintas señales ambientales representan las condiciones que

perduran en los ambientes que habitan y a las cuales están adaptadas. Por lo tanto, el papel de la melatonina en la actividad reproductiva de los peces no debe ser tomado de manera generalizada, pues esta influye de diferentes maneras entre las especies.

En este estudio, manteniendo los organismos con intensidad de luz baja (iluminancia de 0.022 y 0.024 lx; irradiancia de 0.3 quanta $s^{-1} cm^{-2}$) en el fotoperiodo extendido, bajo una temperatura fija de 24 °C, dio como resultado que el primer desove ocurriera 17 días de la exposición a esta condición. La baja intensidad de luz utilizada para lograr el desove puede ser el reflejo de un requerimiento de la luz de esta especie, con relación a su sensibilidad innata a las intensidades y longitudes de ondas que predomina en los entornos que habita. El que los primeros desoves se hayan presentado en un periodo de tiempo corto después del inicio de la exposición a luz constante, podría reflejar que los peces ya presentaban un grado de desarrollo gonadal antes del inicio de esta etapa, el cual pudo ser influenciado por el resto de los factores, particularmente la temperatura. Por lo tanto, para *L. peru* el aumento de las horas de luz funcionaría como un factor predictivo y de sincronización para la reproducción, según la clasificación propuesta por Munro (1990) para los estímulos ambientales relacionados con la reproducción. Este resultado fue similar a lo obtenido por Spanopoulos *et al.* (2021) e Ibarra Castro (datos no publicados), pues obtuvieron los primeros desoves en la misma especie cuando las horas luz del fotoperiodo natural aumentaron. En estos últimos mencionados, los desoves solo ocurrieron en los meses de la temporada reproductiva natural de *L. peru* en La Paz, B.C.S., México (Reyna-Trujillo, 1993), mientras que en el presente estudio, los desoves ocurrieron tanto en meses anteriores como posteriores a la temporada reproductiva natural. Esto es similar a resultados obtenidos por Spanopoulos *et al.* (2016), ya que estos autores obtuvieron desoves en meses posteriores al mes en el cual termina la temporada reproductiva, sin embargo se desconoce la cantidad total de desoves y la frecuencia con la que ocurrieron en meses fuera de la temporada reproductiva natural.

Aunque los organismos hayan presentado conducta reproductiva sin la necesidad de ocurrir un desove, esto es buen indicador del efecto de las variables ambientales sobre la reproducción de los organismos, ya que la conducta y los comportamientos indica el vínculo que existe entre los organismos y su entorno (Lam, 1983).

8.3. Producción, Morfometría y Calidad Morfológica de los Huevos

Para que la producción comercial de cualquier especie de pez marino sea sostenible, se deben contar con tecnologías y protocolos confiables, rentables y estables, los cuales tengan resultados consistentes para la producción en masa de huevos y larvas de buena calidad (Ibarra-Castro y Álvarez-Lajonchère, 2011). Debido a lo anterior, uno de los objetivos principales de muchos trabajos de investigación referentes al control reproductivo, es el establecimiento las condiciones ambientales y de manejo que permitan lograr el control de la maduración gonadal y el desove voluntario. Esto permitiría reducir la dependencia del uso de hormonas para la inducción a la maduración final de los organismos madurados en cautiverio y la presión sobre las poblaciones silvestres de las cuales regularmente se obtienen los reproductores maduros para inducir hormonalmente los desoves.

En este trabajo, la cantidad de huevos producidos varió dependiendo de la etapa (FN-2020, FE-2021 y FN-2021). Sin embargo, en todos los casos, los mayores volúmenes de huevos registrados en esas etapas fueron mayores a los reportados en otros estudios (Spanopoulos *et al.* 2016, 2021). No obstante, de las tres etapas, el volumen total registrado durante la etapa de fotoperiodo extendido (FE-2021) fue mucho mayor que en el resto de las etapas.

La fertilización es el evento en el que el espermatozoide penetra en el óvulo y desencadena el desarrollo embrionario, y en la práctica, este evento se verifica por las primeras divisiones del blastodisco o subsecuentes estados de desarrollo. La tasa de fertilización es un parámetro que mide el porcentaje de huevos que fueron fertilizados por un espermatozoide. En el presente estudio, las mayores tasas de fertilización se obtuvieron en la etapa FE-2021, valores que fueron significativamente diferentes con respecto los de la etapa FN-2020 y FN-2021. En comparación con especies congéneres, los resultados obtenidos en este trabajo fueron mayores a los obtenidos con *L. argentiventris* (Martínez-Lagos, 2003) y *L. campechanus* (Papanikos *et al.*, 2008), pero menores a los obtenidos con *Ocyurus chrysurus* (Gutiérrez-Sigeros *et al.*, 2018), *L. campechanus* (Phelps *et al.*, 2009), *L. argentimaculatus* (Emata *et al.*, 1994), y con *L. guttatus* (Ibarra-Castro y Álvarez-Lajonchère, 2011; Boza-Abarca *et al.*, 2008). Sin embargo, hay que remarcar que en este trabajo se observó que la exposición de los organismos a fotoperiodo extendido dio como resultado tasas de fertilización más altas, en comparación las obtenidas en las etapas con fotoperiodo naturales.

Una de las limitaciones más importantes para el crecimiento de la producción acuícola es la calidad de los huevos disponibles para el cultivo (Kjørsvik *et al.*, 1990; Bromage *et al.*, 1991).

Generalmente, la evaluación de la calidad de los huevos se realiza con huevos que han sido inseminados, tomando en cuenta diferentes parámetros, como las tasas de fertilización, tasas de eclosión, tamaño del huevo, morfología de los blastómeros, entre otros (Bromage *et al.*, 1994; Pavlov *et al.*, 2008).

La morfología de los ovocitos en las etapas iniciales de desarrollo, muy probablemente, puede representar un indicador confiable de su calidad. Sin embargo, los datos de estados posteriores a la ovulación, durante la reacción cortical y el consecuente aumento de tamaño del huevo, así como estados posteriores cercanos a la fertilización son escasos o no son utilizados para realizar evaluaciones (Pavlov *et al.*, 2008).

En este estudio se realizó la evaluación de calidad morfológica de los huevos en sus estados de desarrollo iniciales, como una herramienta para poder predecir la calidad de descendencia obtenida. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que no se evaluaron estados y eventos como la eclosión o la primera alimentación, o posteriores, que son umbrales en el desarrollo de mayor rigor para la determinación de la calidad de los huevos y las larvas. Por lo tanto, resultados positivos en las variables evaluadas en este trabajo no representan la consecuente calidad de la descendencia y deben ser interpretados con precaución. Sin embargo, sí permiten reconocer el efecto de la manipulación fototérmica sobre la reproducción y el desempeño reproductivo de los organismos.

Anterior a este trabajo, se han reportado distintos promedios del diámetro del huevo y del glóbulo de aceite: de 820 μm y 130 μm (Dumas *et al.*, 2004), de 930 μm y 151 μm (Pintos *et al.*, 2004), de 801 μm y 133 μm (Estrada-Godínez *et al.*, 2015). Por otra parte, Spanopoulos *et al.* (2021) mencionan variación en los tamaños de los huevos en distintas temporadas reproductivas: de 782 a 795 μm durante el primer año en el que ocurrieron los desoves y de 776 a 793 μm durante el segundo. Estos autores indicaron que en los primeros desoves de ambas temporadas se obtienen huevos de menores tamaños y más grandes en los últimos desoves. Los diámetros de los huevos obtenidos en este trabajo son mayores a los obtenidos por Dumas *et al.* (2004), Estrada-Godínez *et al.* (2015) y Spanopoulos *et al.* (2021), pero más pequeños que los obtenidos por Pintos *et al.* (2004). En el caso del diámetro promedio de los glóbulos de

aceite, los valores promedios que se obtuvieron en este trabajo se encontraron entre los valores obtenidos en los trabajos ya mencionados.

Tanto en el estudio realizado por Spanopoulos *et al.* (2021) como en el presente trabajo, se encontraron variaciones en el diámetro del huevo. Sin embargo, contrario a lo obtenido por Spanopoulos *et al.* (2021), en el presente estudio las variaciones en el diámetro promedio no presentaron una tendencia general, ya sea a aumentar o disminuir.

El aumento en el diámetro de los huevos puede ser atribuida a que las hembras retengan los huevos en la cavidad ovárica por varias horas o días antes de desovarlos (i.e., sobre maduración) (Pavlov *et al.*, 2008), lo cual podría ser resultado de ausencia de señales que provoquen la liberación de los huevos. Por otra parte, las variaciones en el diámetro de los huevos también puede ser resultado de los cambios en la temperatura del medio, de manera que, conforme aumenta la temperatura el diámetro de los huevos disminuye (Robertson y Collin, 2015). Sin embargo, en el presente trabajo no se realizaron cambios en la temperatura, esta se mantuvo constante; por lo que no es posible confirmar la hipótesis de una relación inversamente proporcional entre la temperatura del agua y el diámetro de los huevos.

En el presente trabajo, los huevos obtenidos durante la etapa FN-2020 en mayoría fueron de las categorías “sin blastodisco”, “sin fertilización” y “desarrollo anormal”, en los cuales predominaron los huevos de la primer categoría mencionada, mientras que en la etapa FN-2021, la mayor cantidad de huevos fueron huevos con “desarrollo normal”, de los cuales la mayor parte fueron obtenidos de desoves del tanque R5. Por ende, del total de huevos obtenidos en este tanque, la mayoría fueron huevos con “desarrollo normal”, lo cual sucedió todos los meses. En el caso de los huevos del tanque R6, aunque se registró mayor presencia de huevos de las categorías “sin blastodisco”, “sin fertilización”, “desarrollo anormal” y “mala calidad”, con respecto a lo obtenido en el tanque R5, también se observó dominancia de los huevos de la categoría “desarrollo normal”. Mientras que en los huevos obtenidos de los desoves mixtos, en su mayoría fueron huevos de las los cuales, fueron dominados por la presencia de huevos de la categoría “sin blastodisco” y “sin fertilización”.

La presencia de huevos las categorías “sin blastodisco”, “sin fertilización”, “desarrollo anormal” y “mala calidad”, puede ser atribuido a que después del almacenamiento de los ovocitos en la cavidad ovárica, o su presencia en el medio externo, estos mueren por asfixia,

debido a la ausencia de conexión entre el ovocito y las células foliculares, particularmente la zona de la teca con los vasos sanguíneos (Korovina, 1986); Makeyeva *et al.*, 1987). Hablando específicamente a la presencia de huevos de la categoría “sin fertilización”, además de atribuirse al actuar de las feromonas sobre la conducta reproductiva, también puede deberse a un proceso de “autoactivación” de los huevos (Stoss, 1983) y anomalías en la estructura del citoplasma y del vitelo, estas debido a una baja concentración de aminoácidos lo cual bloquea la penetración de los espermatozoides (Pavlov *et al.*, 2008).

9. CONCLUSIONES

Con la implementación del fotoperiodo extendido se obtuvieron mejores resultados en el desempeño reproductivo de *L. peru*. En comparación con trabajos anteriores, en el presente trabajo se obtuvieron altos volúmenes de huevos, alta frecuencia de desove, altas tasas de fertilización y mayor cantidad de huevos con desarrollo normal.

En organismos de *L. peru* mantenidos en cautiverio, la luz actúa como un factor predictor y de sincronización en la reproducción, siempre y cuando, factores como la temperatura y alimentación sean los adecuados para la maduración gonádica.

Este trabajo presenta un régimen fototérmico que permite controlar el desove de *L. peru* en cautiverio, lo cual podría presentarse como una herramienta para el diseño de un método de inducción a la reproducción de manera natural, que permita contar con el suficiente suministro de huevos, lo cual favorecería al crecimiento de la industria de producción de esta especie.

10. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar trabajos que midan las fluctuaciones de la melatonina con respecto a la luz, y por ende, las fluctuaciones de otras hormonas involucradas en la reproducción, y que actúan en función de la liberación de melatonina.

Debido a las limitaciones que se presentaron en este trabajo, los organismos no pudieron ser aislados por completo del efecto de la luz natural por lo que, futuros trabajos que deseen controlar de manera más efectiva los periodos de reproducción en los organismos, deberían realizarse en medios en los cuales las fuentes de la luz sean solamente artificiales, pues se podrían establecer las horas luz e intensidad deseadas y requeridas.

Aunque en este trabajo se observó que la calidad de morfológica de los huevos presenta mejora por efecto del fotoperiodo extendido, en futuros trabajos se recomienda realizar evaluaciones de calidad considerando otros parámetros o eventos más avanzados en el desarrollo, como lo son la eclosión y primera alimentación exógena, los cuales permitirían determinar de mejor manera la calidad de la descendencia.

11. BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Agulleiro M., Anguis V., Cañavate J., Martínez-Rodríguez G., Mylonas C. y Cerdá J. 2006. Induction of spawning of captive-reared Senegal sole (*Solea senegalensis*) using different administration methods for gonadotropin releasing hormone agonist. *Aquaculture*. 257: 511–524.
- Allen G. 1985. FAO Species Catalogue. Vol. 6. Snappers of the world. An annotated and illustrated catalogue of lutjanid species known to date. FAO. Rome Fish. Synop. 125(6). 208 pp.
- Álvarez-Lajonchère L. 2006. La selección de especies de peces marinos nativos en el caribe y avances en México. Resúmenes de la conferencia latinoamericana sobre cultivo de peces nativos y resúmenes de la conferencia mexicana sobre cultivo de peces nativos. Michoacán
- Amano M., Iigo M., Ikuta K., Kitamura S., Yamada H. y Yamamori K. 2000. Roles of Melatonin in Gonadal Maturation of Underyearling Precocious Male Masu Salmon. *General and Comparative Endocrinology*, 120(2), 190–197.
- Amano M., Iigo M., Ikuta K., Kitamura S., Okuzawa K., Yamada H. y Yamamori K. 2004. Disturbance of Plasma Melatonin Profile by High Dose Melatonin Administration Inhibits Testicular Maturation of Precocious Male Masu Salmon. *Zoological Science*, 21(1), 79–85.
- Bapary, M. y Takemura A. 2010. Effect of temperature and photoperiod on the reproductive condition and performance of a tropical damselfish *Chrysiptera cyanea* during different phases of the reproductive season. *Fisheries Science*. 76(5):769–776.
- Bayarri M., Madrid, J. y Sanchez-Vazquez, F. 2002. Influence of light intensity, spectrum and orientation on sea bass plasma and ocular melatonin. *Journal of Pineal Research*, 32(1), 34–40.
- Billard R. y Breton B. 1977. Sensibilité à la température des différentes étapes de la reproduction chez la truite arc-en-ciel. *Cahiers Lab. Montereau*. 5:5-24.
- Billard R., Reinaud R. y Le Bren P. 1981. Effects of changes of a photoperiod on gametogenesis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Reprod. Nutr. Develop.* 21:1009-1014.
- Billard R. 1989. Endocrinology and fish culture. *Fish Physiol. Biochem.* 7:49-58.
- Bobé J. 2015. Egg quality in fish: Present and future challenges. *Animal Frontiers*, American Society of Animal Science. 5(1):66-72.
- Boza-Abarca, Calvo-Vargas. E, Solis-Ortiz N y Komen J. 2008. Induced spawning and larval rearing of spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus*, at the Marine Biology Station, Puntarenas, Costa Rica. *Ciencias marinas*, 34(2): 239–252.
- Breton B. y Billard R. 1977. Effects of photoperiod and temperature on plasma gonadotropin and spermatogenesis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Richardson. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 17:331-340.
- Bromage N., Bruce M., Basavaraja, N. y Rana K. 1994. Egg Quality Determinants in Finfish The Role of Overripening with Special Reference to the Timing of Stripping in the Atlantic Halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 25(1), 13–21.

- Bromage N., Porter M. y Randall C. 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture*. 197: 63–98.
- Carnevali O., Gioacchini G., Maradonna, F., Olivotto, I. y Migliarini, B. 2011. Melatonin Induces Follicle Maturation in *Danio rerio*. *PLoS ONE*, 6(5), e19978.
- Carrillo M., Zanuy S., Felip A., Bayarri M., Molés G. y Gómez A. 2009. Hormonal and Environmental Control of Puberty in Perciform Fish. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1163(1): 49–59.
- Chi L., Li X., Liu Q y Liu Y. 2017. Photoperiod regulate gonad development via kisspeptin/kissr in hypothalamus and saccus vasculosus of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *P LoS ONE* 12(2): e0169569.
- Choi S., Lee C., Park W., Kim D. y Sohn Y. 2010. Effects of Shortened Photoperiod on Gonadotropin-Releasing Hormone Gonadotropin and Vitellogenin Gene Expression Associated with Ovarian Maturation in Rainbow Trout. *Zoological Science*, 27(1), 24–32.
- Cruz-Romero M., Chávez E., Espino E. y García, A. 1996. Assessment of a snapper complex (*Lutjanus spp.*) of the Eastern Tropical Pacific. En: F. Arreguín-Sánchez, J.L. Munro, M.C. Balgos y D. Pauly (eds.). *Biology, Fisheries and Culture of Tropical Groupers and Snappers*. ICLARM Conf. Proc. 324–330 pp.
- Danilowicz B. 1995. Spatial patterns of spawning in the coral reef damselfish *Dascyllus albisella*. *Mar. Biol.* 122:145–155.
- Day R. y Taylor M. 1983. Environmental control of the annual gonadal cycle of *Fundulus heteroclitus* L.: the pineal organ and eyes. *Journal of Experimental Zoology*. 227:453
- Davis D., Arnold C. y Holt G. 1999. Research Summary On Pottential Mariculture Species For The Gulf Of Mexico. En: *Joining Forces With Industry: Proceedings Of Third International Conference On Open Ocean Aquaculture*. TAMU-SG-99-103. Texas. 120–131.
- Díaz-Muñoz D., Díaz, N., Torres O., Leiva J., Palacios H., Romero F., ... Benetti, D. 2019. Culture of cobia *Rachycentron canadum* in a recirculation aquaculture system in northern Chile. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 47(5), 733–742.
- Donaldson E., Hunter y Dye H. 1981. Induced ovulation in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). II. Preliminary study of the use of LH-RH and two high potency LH-RH analogues. *Aquaculture*. 26:129–141.
- Donelson J, Munday P, McCormick M, Pankhurst N. y Pankhurst P. 2010. Effects of elevated water temperature and food availability on the reproductive performance of a coral reef fish. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 401:233–243.
- Dumas S., Rosales-Velásquez M., Contreras-Olguín M., Hernández-Ceballos D. y Silverberg N. 2004. Gonadal maturation in captivity and hormone-induced spawning of the Pacific red snapper *Lutjanus peru*. *Aquaculture*. 234:614–623.
- Duston J., Astatkie T. y Macisaak P. 2003. Long-to-short photoperiod in winter halves the incidence of sexual maturity among Arctic charr. *Aquaculture*. 221:567–580.
- Duston J. y Bromage N. 1988. The entrainment and gating of the endogenous circannual rhythm of reproduction in the female rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Comparative Physiology*. 164:259–268.

- Emata A. 1996. Maturation and induced spawning of the mangrove red snapper (*Lutjanus argentimaculatus*) reared in floating net cage in the Philippines. En: Biology, Fisheries and Culture of Tropical Groupers and Snappers (ed. Arreguin-Sanchez F, Munro J.L., Balgos M.C. y Pauly D.), pp. 378-384. ICLARM, Manila.
- Emata A. 2003. Reproductive performance in induced and spontaneous spawning of the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*: a potential candidate species for sustainable aquaculture. *Aquaculture Research*, 34(10), 849–857.
- Estrada-Godínez J., Moreno-Figueroa L., Maldonado-García M., Pérez-Urbiola J., Romero-Rodríguez J. y Audelo-Naranjo J. 2015. Influence of the temperature on the early larval development of the Pacific red snapper, *Lutjanus peru* (Nichols & Murphy, 1922). *Latin american journal of aquatic research*. 43(1):137-145.
- FAO. 2020. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción. Roma
- Garduño-Dionate M., Unzueta-Bustamante M., Hernández- Martínez M., Lorán-Nuñez R. y Martínez-Insunza F. 2010. Crecimiento de Huachinangos juveniles silvestres (*Lutjanus peru*) en un encierro de engorda en Puerto Vicente Guerrero, Guerrero. México. *Revista Ciencia Pesquera*. 18(1): 93-96.
- Gillet C., Billard R. y Breton B. 1977. Influence de la température sur la reproduction du poisson rouge (*Carassius auratus* L.). *Cahiers Lab. Montereau*, 5:25-42.
- Goren A., Gustafson H. y Doering, D. 1995. Field trials demonstrate the efficacy and commercial benefit of a GnRHa implant to control ovulation and spermiation in salmonids. En: F.W Goetz y P. Thomas. *Reproductive Physiology of Fish*. Fish Symposium 95, Texas, 99–101.
- Ghosh J. y Nath P. 2005. Seasonal effects of melatonin on ovary and plasma gonadotropin and vitellogenin levels in intact and pinealectomized catfish *Clarias batrachus* (Linn). *Indian J. Exp. Biol.* 43:224-232.
- Goulet D. 1995. Temporal patterns of reproduction in the Red Sea damselfish *Amblyglyphidodon leucogaster*. *Bull. Mar. Sci.* 57:582–595
- Grimes A. 1987. Reproductive biology of the Lutjanidae. En: J.J. Polovina y S. Ralston (eds). *Tropical snapper and grouper: Biology and fisheries management*, 239 pp.
- Gutiérrez R. 1990. Tasas de crecimiento, mortalidad, rendimiento, rendimiento y biomasa relativos por recluta de *Lutjanus peru* (Perciformes: Lutjanidae) en el Pacífico Noroeste de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 38:441-447.
- Gutiérrez-Sigueros I., Ibarra-Castro L., Alvarez- Lajonchère L. y Sánchez-Zamora A. Natural spawning and scaling-up of yellowtail snapper (*Ocyurus chrysurus*): Larval rearing for the mass production of juveniles. *Aquaculture* 491: 252-257.
- Hamamoto S., Kumagai S., Nosaka K., Manabe S., Kasuga A. y Iwatsuki Y. 1992. Reproductive behavior, eggs and larvae of a lutjanid fish, *Lutjanus stellatus*, observed in an aquarium. *Japanese Journal of Ichthyology*. 39(3):219–228.
- Harvey B., Denny C., Kaiser S. y Young J. 1988. Remote intramuscular injection of immobilising drugs into fish using a laser-aimed underwater dart gun. *Vet. Rec.* 122:174–177.
- Heyman W. y Requena N. 2001. Whale sharks *Rhincodon typus* aggregate to feed on fish spawn in Belize. *Marine Ecology Progress Series*. 215:275-282
- Heyman W. y Requena N. 2002. Status of Multi Species Spawning Aggregations in Belize. *The*

- Nature Conservancy. Punta Gorda, Belize. 27 pp.
- Hilder M. y Pankhurst N. 2003. Evidence that temperature change cues reproductive development in the spiny damselfish, *Acanthochromis polyacanthus*. *Environ. Biol. Fish.* 66:187–196.
- Ibarra-Castro L y Álvarez- Lajonchère L. 2009. Improved induced spawning protocol for the spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*). *Isr. J. Aquacult./Bamidgeh* 61:121–133.
- Ibarra-Castro L. y Álvarez-Lajonchère L. 2011. GnRHa-induced Multiple Spawns and Volition Spawning of Captive Spotted Rose Snapper, *Lutjanus guttatus*, at Mazatlan, Mexico. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(4), 564–574.
- Imamura S., Hur S., Takeuchi Y., Badruzzman M., Mahardini A, Tizky D. y Takemura A. 2022. Effect of short- and long-term melatonin treatments on the reproductive activity of the tropical damselfish *Chrysiptera cyanea*. *Fish Physiology and Biochemistry*. 48, 253-262.
- Imsland A., Drasnes M. y Stefansson S. 2003. Exposure to continuous light inhibits maturation in turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*. 219: 911–919
- Izquierdo M., Fernández-Palacios H. y Tacon A. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*. 197: 25-42.
- Jensen P., Algers B. y Ekesbo I (Eds.). 1986. Methods of Sampling and Analysis of Data in Farm Animal Ethology. *Animal Management*, Vol. 17.
- Johannes R. 1981. *Words of the lagoon*. Univ. Calif. Press, Los Angeles. 320 pp.
- Kadison E., Nemeth R., Herzlieb, S y Blondeau, J. 2006. Temporal and spatial dynamics of *Lutjanus cyanopterus* (Pisces: Lutjanidae) and *Lutjanus jocu* spawning aggregations in the United States Virgin Islands. *Revista de Biología Tropical*. 54(3):69-78
- Kjørsvik E., Mangor-Jensen A. y Holmefjord I. 1990. Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology* 26, 71 – 113
- Lam T. 1983. Environmental influences on gonadal activity in Fish. *En: Hoar. W.S., Randal D .J. y Donaldson E. M. (Eds). Fish Physiology Vol. IX. Part B: Behavior and fertility control.*
- Lavenz P, Lebegue E., Jaunet H., Brunel, A., Dhert P. y Sorgeloos. 1999. Effect of dietary essential fatty acids and vitamins on eggs quality broodstocks. *Aquac. Int.*, 7: 225-240.
- Leu M., Chen I. y Fang L. Natural spawning and rearing of mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*, larvae in captivity. *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh* 55(1), 2003, 22-30
- Lim S., Baeck J., Kim C. y Kim Y. 2014. Effect of Water Temperature and Photoperiod on Final Oocyte Maturation in Red Marbled Rockfish, *Sebastes tertius*. *Development & Reproduction*, 18(3), 133–137.
- López-Sandoval D.; Lara-Lara J., Lavín M., Álvarez-Borrego S. y Gaxiola-Castro G. 2009. Primary productivity in the eastern tropical Pacific off Cabo Corrientes, Mexico. *Ciencias Marinas*. 35(2):169-182.
- Lundova K., Matousek J., Prokesova M., Vanina T., Sebesta R., Urban J. y Stejskal V. 2018. The effects of a prolonged photoperiod and light source on growth, sexual maturation, fin condition, and vulnerability to fungal disease in brook trout *Salvelinus fontinalis*. *Aquaculture Research*.
- Mackie A. y Shelton R. 1972. A whole-animal bioassay for the determination of food attractants of the lobster *Homarus gannarus*. *Mar Biol* 14:217–221

- Madrid V. y Sánchez P. 1997. Patterns in marine fish communities as shown by artisanal fisheries data on the shelf off the Nexpa River, Michoacán México. *Fisheries Research*. 33: 149-158.
- Maitra K. y Hasan K. 2016. The Role of Melatonin as a Hormone and an Antioxidant in the Control of Fish Reproduction. *Frontiers in Endocrinology*, 7(38):
- Mansour N., Lahsteiner M., McNiven A, Mañanos E., Carrillo M., Sorbera L., Mylonas C., Asturiano J., Bayarri M., Zohar Y. y Zanuy S. 2002. Luteinizing hormone and sexual steroid plasma levels after treatment of European sea bass with sustained-release delivery systems for gonadotropin-releasing hormone analogue. *J. Fish Biol.* 60:328–339.
- Martínez-Chavez C., Minghetti M, Migaud H. 2008. GPR54 and rGnRH I gene expression during the onset of puberty in Nile tilapia. *General and comparative endocrinology*. 156(2):224–33.
- Martínez-Brown J.M., Ibarra-Castro L., Rojo-Cebreros A.H., López-Cabanillas J., Rodríguez-Trejo M., Ortiz-Galindo J.L. 2018. Acute hyperosmotic stress test for vigor assessment of first-feeding larvae of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* and spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 53:87-93.
- Martínez-Lagos R. 2003. Maduración y desove del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris* (Peters, 1869) en condiciones controladas de temperatura y fotoperiodo. Tesis de Maestría. CIBNOR. 134 pp.
- Martínez-Moreno, Dumas S. y Garduño-Dionate M. 2016. Efecto de la temperatura durante el desarrollo temprano del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* en La Paz, Baja California Sur, México. *Ciencia Pesquera*. 24(2): 31-40
- Migaud H., Fontaine P., Kestemont P., Wang N. y Brun-Bellut, J. 2004. Influence of photoperiod on the onset of gonadogenesis in Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture*, 241(1-4), 561–574.
- Miranda L., Cassará M. y Somoza, G. 2005. Increase in milt production by hormonal treatment in the pejerrey fish *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes 1835). *Aquat. Res.* 36:1473–1479.
- Moguel-Hernández I., Peña R., Nolasco-Soria H., Dumas S. y Hinojosa-Baltazar, P. 2013. Egg quality criteria in Pacific red snapper (*Lutjanus peru*). *Aquaculture Research*. 46(4): 909–917.
- Moreno-Sánchez X., Abitia Andres, Trujillo G., Navia f., Ramírez-Pérez J. y Shirasago-German B. 2016. Variation of feeding habits of *Lutjanus peru* (Actinopterygii: Perciformes: Lutjanidae) caught in two regions of the Gulf of California, Mexico. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*. 46. 97-108.
- Mugnier C., Fostier A., Guezou S., Gaignon J. y Quemener L. 1998. Effect of some repetitive factors on turbot stress response. *Aquacult. Int.*, 6:33–45.
- Munro, A. 1990. General introduction. *En: Reproductive seasonality in teleosts: environmental influences*. Munro A., Scott A., Lam T. (Eds.). 1ª edición. 264 pp.
- Mylonas C. y Zohar Y. 2001a. Endocrine regulation and artificial induction of oocyte maturation and spermiation in basses of the genus *Morone*. *Aquaculture*. 202:205–220.
- Mylonas C. y Zohar Y. 2001b. Use of GnRH α -delivery systems for the control of reproduction in fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* 10, 463–491.
- Mylonas C., Fostier A. y Zanuy S. 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology*. 165(3):516–534.

- Pacheco-Rovira L., Pacheco-Tack R., Rodríguez-Martínez C. 2021. Ciclo reproductivo de la especie *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922), aspectos microscópicos del crecimiento y desarrollo de los ovocitos. *Tecnociencia*. 23 (2):93-102.
- Papanikos N., R. Phelps D. Davis A., Ferry y Maus D. 2008. Spontaneous spawning of captive red snapper, *Lutjanus campechanus*, and dietary lipid effect on performance. *Journal of the World Aquaculture Society* 39:324-338.
- Parsons T., Maita Y. y Lalli C. 1984. *A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis*. 1a edición. 189 pp.
- Pearson W. 1977 Chemoreception in the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Biol Bull* 153:346–354
- Pelcastre-Campo V. 2006. Inducción a la ovulación y espermiogénesis en el Huachinango del Pacífico *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy, 1922) y almacenamiento de su semen. Tesis de Maestría. CICIMAR. 98 pp.
- Peña R. y Dumas S. 2007. Desarrollo de la retina en larvas de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Percoidei: Serranidae) bajo condiciones de cultivo. *Cienc. Mar.*, 33: 293-300.
- Phelps R., Papanikos N., Bourque B., Bueno F., Hastey R., Maus D., Ferry A. y Davis, D. 2009. Spawning of Red Snapper (*Lutjanus campechanus*) in Response to Hormonal Induction or Environmental Control in a Hatchery Setting. *Reviews in Fisheries Science*, 17(2), 149–155.
- Pintos-Terán P., Rosales M., Dumas S., Pliego-Cortés H. y Alcántar J. 2003. Características reproductivas del Huachinango del Pacífico (*Lutjanus peru*) en cautiverio. II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura, 615-623.
- Qiu D., Xu S., Song C., Chi L., Li X., Sun G., Liu B. y Liu Y. 2014. Effects of spectral composition, photoperiod and light intensity on the gonadal development of Atlantic salmon *Salmo salar* in recirculating aquaculture systems (RAS). *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 33(1), 45–56.
- Randall J. y Brock V. 1960. Observations on the ecology of epinepheline and lutjanid fishes in the Society Islands, with emphasis on food habits. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 89:9-16.
- Reshetvinok, Y. y Claro R. 1976. Cycles of biological processes in tropical fishes with special reference to *Lutjanus synagris*. *J. Ichthyol.* 16:711-723.
- Reyna-Trujillo, M. 1993: Desarrollo gonádico y época de desove del huachinango (*Lutjanus peru*) Nichols y Murohy, 1922 (pisces:Lutjanidae) en bahía de La Paz, Baja California Sur, México. Tesis de Licenciatura. Guadalajara, México. 69 p
- Robertson D. y Allen G. 2015. Shorefishes of the Tropical Eastern Pacific: online information system. Balboa, Panamá Available at: <http://biogeodb.stri.si.edu/sftep/en/pages>.
- Robertson D. y Collin R. 2015. Inter- and Intra-specific variation in egg size among reef fishes across the Isthmus of Panama. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2.
- Rojas-Herrera A., Mascaró M. y Chiappa-Carrara X. 2004. Hábitos alimentarios de los peces *Lutjanus peru* y *Lutjanus guttatus* (Pisces:Lutjanidae) en Guerrero, México. *Revista de Biología Tropical*. 52(4):959-971.
- Sakaue J., Akino H., Endo M., Ida H. y Asahida T. 2016. Temporal and Spatial Site Sharing during Spawning in Snappers *Symphoricthys spilurus* and *Lutjanus bohar* (Pisces: Perciformes: Lutjanidae) in Waters around Peleliu Island, Palau. *Zool. Stud.* 55:4
- Santamaría, A. y Chávez E. 1999. Evaluación de la pesquería de *Lutjanus peru* (Pisces:

- Lutjanidae) de Guerrero, México. *Rev. Biol. Trop.* 47(3): 571–580.7
- Sarkar A. y Upadhyay B. 2011. Influence of photoperiod and temperature on reproduction and gonadal maturation in Goldfish: *Carassius auratus*. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology.* 2(4): 352-358.
- Saucedo-Lozano M., González-Sansón G. y Chiappa-Carraza X. 1999. Natural feeding of juveniles of *Lutjanus peru* (Nichols and Murphy, 1922) (Lutjanidae: Perciformes) off the coast of Jalisco and Colima, Mexico. *Ciencias Marinas*, 25(3):381–400.
- Saxena P. y Sandhu R. 1994. Influence of temperature on ovarian recrudescence in the Indian catfish, *Heteropneustes fossilis*. *J. Fish Biol.* 44:168–171.
- Shields R., Brown N. y Bromage N. 1997. Blastomere morphology as a predictive measure of fish egg viability. *Aquaculture*, 155(1-4): 1–12.
- Shimizu A. y Hanyu I. 1982. Environmental regulation of annual reproductive cycle in a spring-spawning bitterling *Acheilognathus tabira*. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 48:1563–1568.
- Spanopoulos-Zarco M., Estrada-Godínez J., Pérez-Urbiola J., Gracia-López V., Ascencio F., Carrillo-Estévez, M., Quiñones-Arreola, M. y Maldonado-García M. 2016. Evaluación de la primera madurez sexual del huachinango del Pacífico (*Lutjanus peru*) nacido en cautiverio. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 44(4): 750-759.
- Spanopoulos-Zarco M., Gracia-López V., Pacheco-Vega J., Estrada-Godínez, J., González-Silvera D., Omont A. y Maldonado M. 2021. Reproductive performance of the Pacific red snapper *Lutjanus peru* supplemented with microalgae (*Grammatophora* sp.). *J. Appl. Phycol.* 34, 395-404.
- Suzuki K. y Hioki S. 1979. Spawning behavior, egg, and larvae of the lutjanid fish, *Lutjanus kasmira*, in an aquarium. *Jpn. J. Ichthyol.* 26: 161-166.
- Starck W. y Schroeder R. 1970. Investigations of the gray snapper, *Lutjanus griseus*. *Stud. Trop. Ocenogr. Florida.* 224 pp
- Thresher, R. 1984. *Reproduction in Reef Fishes.* Neptune City, NJ: T. F. H. Publications, New Jersey. 399 pp.
- Tucker J. 1998. *Marine fish culture.* Boston, USA. Kluwe Academic Publishers.
- Watanabe W., Benetti D., Feeley M.W., Davis D. y Phelps Beneitti R. 2005. Status of Artificial Propagation of Mutton, Yellowtail, and Red Snapper (family Lutjanidae) in the Southeastern United States. *American Fisheries Society Symposium.* 46:517-540.
- Wicklound R. 1969. Observations on spawning of the lane snapper. *Underwater Natur.*, 6:40.
- Vera L., Davie A., Taylor J. y Migaud H. 2010. Differential light intensity and spectral sensitivities of Atlantic salmon, European sea bass and Atlantic cod pineal glands ex vivo. *General and Comparative Endocrinology*, 165(1), 25–33.
- Zohar Y., Pagelson G., Gothilf Y., Dickhoff W., Swanson P., Duguay S., Gombotz W., Kost J. y Langer R. 1990. Controlled release of gonadotropin releasing hormones for the manipulation of spawning in farmed fish. *Controlled Release of Bioactive Materials.* 17:51–52.
- Zohar Y. y Mylonas, C. 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture.* 99–136.
- Zohar Y. 2020. Fish reproductive biology reflecting on five decades of fundamental and translational research. *General and Comparative Endocrinology*, 113544.