



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA
REPRODUCTOR EN DESARROLLO Y LA
DIFERENCIACIÓN SEXUAL DEL HÍBRIDO DE
Paralabrax nebulifer x *P. maculatofasciatus*
DURANTE LA ONTOGENIA**

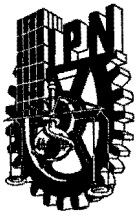
TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

PRESENTA

XCHEL AURORA PÉREZ PALAFOX

LA PAZ, B.C.S., DICIEMBRE DE 2014



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 14 del mes de noviembre del 2014 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

“CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA REPRODUCTOR EN DESARROLLO Y LA DIFERENCIACIÓN SEXUAL DEL HÍBRIDO DE *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus* DURANTE LA ONTOGENIA”

Presentada por el alumno:

<u>PÉREZ</u>	<u>PALAFX</u>	<u>XCHEL AURORA</u>
Apellido paterno	materno	nombre(s)
Con registro:		
<u>A</u>	<u>1</u>	<u>3</u>
<u>0</u>	<u>4</u>	<u>1</u>
<u>2</u>		

Aspirante de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

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

LA COMISION REVISORA

Directores de Tesis

DR. JOSÉ LUIS ORTIZ GALINDO
Director de Tesis

DR. MARTÍN OSCAR ROSALES VELÁZQUEZ
2º Director de Tesis

DRA. ROSA ISABEL OCHOA BÁEZ

DR. FRANCISCO JAVIER GARCÍA RODRÍGUEZ

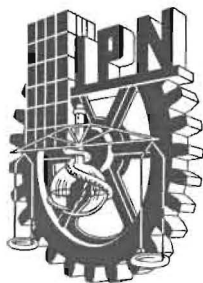
DR. JOSÉ DE LA CRUZ AGÜERO



PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

DR. MARÍA MARGARITA CASAS VALDEZ

IPN
CICIMAR
DIRECCION



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 20 del mes noviembre del año 2014
el (la) que suscribe BIÓL. XCHEL AURORA PÉREZ PALAFOX alumno(a) del
Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS
con número de registro A130412 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS
manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:
DR. JOSÉ LUIS ORTIZ GALINDO Y DR. MARTÍN OSCAR ROSALES VELÁZQUEZ
y cede los derechos del trabajo titulado:

“CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA REPRODUCTOR EN DESARROLLO Y LA DIFERENCIACIÓN
SEXUAL DEL HÍBRIDO DE *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus* DURANTE LA ONTOGENIA”

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: xapp39@gmail.com - jortiz@ipn.mx - mrosales0400@ipn.mx

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

BIÓL. XCHEL AURORA PÉREZ PALAFOX

hombre y firma

La vida no es fácil, para ninguno de nosotros. Pero... ¡qué importa!
Hay que perseverar y, sobre todo, tener confianza en uno mismo.

Marie Curie (1867-1934)

DEDICADO CON AMOR

A mi padre, Juan Manuel Pérez Guzmán, por ser mi ejemplo de vida, el impulsor para que sea mejor cada día e inculcarme buenos valores, por no permitirme decir “no puedo” ¡Te amo pá!

A mi madre, Aurora Palafox León, mi otro gran ejemplo de lucha y superación, pilar de nuestra familia, gracias mami por siempre brindarme tu confianza, por apoyarme, darme ánimos para alcanzar mis metas, por educarnos con amor y hacer de nosotros personas de bien ¡Te amo mami!

A mi hermanito, Jairo León Pérez Palafox, por siempre estar a mi lado en todo momento, por ser ese compañero de juegos y de peleas, por confiar en mí y apoyarme, por ser un buen ejemplo de hermano mayor ¡Te quiero mucho manito!

A toda mi familia, que de alguna u otra manera siempre me han apoyado.

A Francisco Javier Barrón Barraza, por ser mi mejor amigo, por brindarme su amor, apoyo, compañía y comprensión, sobre todo en los momentos de estrés, discutir y aprender conmigo durante el desarrollo de la maestría y de esta tesis. Gracias por inyectarme esa chispa que hace que los problemas sean más fáciles de resolver... ¡Ti voglio bene!

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no hubiera sido posible sin la ayuda de muchas personas e instituciones a las cuales quiero expresarles mis agradecimientos:

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico brindado para realizar mis estudios de maestría y a la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas del IPN (COFAA) por los apoyos otorgados para congresos.

Al Instituto Politécnico Nacional y al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas por brindarme la oportunidad de realizar mi posgrado en esta institución reconocida en el país y el extranjero.

A mi director de tesis: Dr. José Luis Ortíz Galindo por la confianza depositada en mí y por darme la oportunidad de incorporarme a su equipo de trabajo. Por asesorarme y transmitirme conocimientos con sus comentarios e ideas, por estar al pendiente durante mi periodo estudiantil.

A mi segundo director de tesis: Dr. Martín Oscar Rosales Velázquez, por aceptar la codirección de esta tesis y apoyarme en todo momento en el área de laboratorio, así como también por sus comentarios, los cuales fueron indispensables y muy enriquecedores en este trabajo.

A los integrantes de mi comisión revisora: Dra. Rosa Isabel Ochoa Báez, Dr. José de la Cruz Agüero y Dr. Francisco Javier García Rodríguez por su tiempo y acertados comentarios, ya que sus ideas en conjunto coincidieron y reforzaron muchísimo este trabajo.

Al Dr. Enrique Nava por sus conocimientos transmitidos en las clases, sus charlas y aceptar ser suplente en la comisión revisora.

A la Dra. Carmen Rodríguez Jaramillo por permitirme realizar la toma de imágenes en el Laboratorio de Histología e Histoquímica del CIBNOR, sus buenas pláticas y su amistad.

Al Dr. Víctor Hugo Cruz Escalona por sus consejos y su amistad.

A mis compañeros y amigos que se convirtieron en mi familia putativa en La Paz: Gisela, Adalberto, Eva, Conchita, Alex, Mirtha, Casandra (gracias por el microscopio), Astrid, Kathe, Itzi, Atzhiri, Juan David, Lalo ("Vide"), Noemí, Alfonso Arellano, Karen, Taty, Paco Mendoza, Yazmín Vázquez y los que seguramente omita por descuido, gracias por su amistad y los buenos ratos vividos.

A las personas más locas, Habacuc P. Tribouillier y Marcelino Ruiz D. gracias por ser como mis hermanos, los quiero mucho.

A Teresa Barriga por abrirme las puertas de su casa y brindarme su amistad.

Finalmente, y no por ello menos importante, a la familia Barrón Barraza, encabezada por la Sra. Aurora Barraza por permitirme compartir buenos momentos con ustedes, se les quiere mucho.

ÍNDICE

	Índice	Página
RELACIÓN DE FIGURAS		iii
RELACIÓN DE TABLAS		vi
GLOSARIO		vii
RESUMEN		xi
ABSTRACT		xii
1.- INTRODUCCIÓN		1
2.- ANTECEDENTES		3
2.1.- Gametogénesis inicial		3
2.2.- Patrón sexual en <i>Paralabrax</i> spp.		4
2.3.- Hibridación en acuicultura		7
3.- JUSTIFICACIÓN		8
4.- HIPÓTESIS		9
5.- OBJETIVOS		10
5.1.- General		10
5.2.- Particulares		10
6.- MATERIAL Y MÉTODOS		11
6.1.- Sistema cerrado de cría larvaria		11
6.2.- Obtención y fijación de muestras.		11
6.3.- Proceso histológico		12
6.4.- Distribución del diámetro de los ovocitos		13
6.5.- Indicadores reproductivos		14
6.6.- Talla media de madurez sexual		14
7.- RESULTADOS		15
7.1.- Variables morfométricas		15
7.2.- Análisis histológico de la gónada indiferenciada		15
7.3.- Análisis histológico de las gónadas en crecimiento		17
7.4.- Distribución del diámetro de los ovocitos		23
7.5.- Machos		25

7.6.- Talla media de primera madurez sexual	27
7.7.- Indicadores reproductivos	28
8.- DISCUSIÓN	31
8.1.- Gametogénesis inicial	31
8.2.- Evaluación reproductiva	34
8.3.- Indicadores reproductivos	37
8.4.- Patrón sexual	38
8.5.- Hibridación en acuicultura	41
9.- CONCLUSIONES	43
10.- RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS	44
11.- LITERATURA CITADA	45

RELACIÓN DE FIGURAS

Figura		Página
1	Proporción de aparición por clase de talla de los primordios gonadales de individuos del híbrido <i>Paralabrax nebulifer</i> x <i>P. maculatofasciatus</i> .	16
2	Microfotografías de la gametogénesis inicial del híbrido <i>Paralabrax nebulifer</i> x <i>P. maculatofasciatus</i> . A) Primordios gonadales, individuo de 9.97 mm LP, B) gónada indiferenciada, C) acercamiento de la gónada indiferenciada, individuo de 21 mm LP, D) diferenciación a ovario, individuo de 42 mm LP. Primordios gonadales (Pg), riñón (R), tejido mesodérmico (Tm), células germinativas primordiales (PGCs), ovogonias (Ov).	17
3	Microfotografías de secciones de ovario donde se muestran los diferentes estadios de desarrollo de gónadas de hembras del híbrido <i>Paralabrax nebulifer</i> x <i>P. maculatofasciatus</i> . I) Inmaduro, II) Desarrollo, III) Con capacidad de desove, IV) Regresión. Nidos de ovogonias (Ov), ovocito nucléolo cromatina (Nc), ovocito perinucleolar inicial (Pi), ovocito perinucleolar final (Pf), ovocito alveolo cortical (Ac), ovocito inclusión lipídica (Ip), ovocito vitelogénesis 1 (Vtg 1), ovocito vitelogénesis 2 (Vtg 2), ovocito vitelogénesis 3 (Vtg 3), núcleo migratorio (Nm), vitelo coalescente (Vc) y atresia (At). Núcleo (n), nucléolo (nu), vitelo lipídico (*), vitelo proteico (^), zona radiata (zr) y granulosa (gr).	20
4	Distribución porcentual de los estadios de madurez gonádica por clase de talla del híbrido <i>P. nebulifer</i> x <i>P. maculatofasciatus</i> .	21

5	Distribución porcentual de las etapas de desarrollo de los ovocitos por clase de talla del híbrido <i>Paralabrax nebulifer</i> x <i>P. maculatofasciatus</i> .	22
6	Variación del diámetro del ovocito del híbrido <i>Paralabrax nebulifer</i> x <i>P. maculatofasciatus</i> . Ovogonia (Ov) (n=273), Nucléolo cromatina (Nc) (n=43), Perinucleolar inicial (Pi) (n=1556), Perinucleolar final (Pf) (n=329), Alveolo cortical (Ac) (n=160), Inclusiones lipídicas (Lp) (n=53), Vitelogénesis 1 (Vtg 1) (n=167), Vitelogénesis 2 (Vtg 2) (n=198), Vitelogénesis 3 (Vtg 3) (n=84), Núcleo migratorio (Nm) (n=48), Vitelo coalescente (Vc) (n=10). Se muestra la desviación estándar del diámetro (—) por tipo de ovocito.	23
7	Distribución del diámetro de ovocitos en fase inmadura y en maduración del híbrido <i>Paralabrax nebulifer</i> x <i>P. maculatofasciatus</i> .	24
8	Microfotografía de macho del híbrido <i>Paralabrax nebulifer</i> x <i>P. maculatofasciatus</i> . A) tejido testicular con presencia de espermatocitos (Ec) y espermatidas (Et), B) acercamiento a las espermatogonias (Eg).	25
9	Microfotografía de individuo híbrido de <i>Paralabrax nebulifer</i> x <i>P. maculatofasciatus</i> . A) Testículo con presencia de espermatocistos (Es) y ovocitos en fase perinucleolar inicial (Pi) unido por epitelio germinal (Epg), B) espermatocitos (Ec) y espermatidas (Et), C) Ovocito en atresia α inmerso en el tejido testicular.	26
10	Modelo ajustado de la longitud de primera madurez (Tm) del híbrido <i>Paralabrax nebulifer</i> x <i>P. maculatofasciatus</i>	27

11	Análisis de varianza del IGS Vs IHS del híbrido de <i>Paralabrax nebulifer</i> x <i>P. maculatofasciatus</i> .	28
12	Distribución del IGS (A) e IHS (B) por clases de talla del híbrido <i>Paralabrax nebulifer</i> x <i>P. maculatofasciatus</i>	29
13	Variación del diámetro de ovocitos e IGS del híbrido <i>Paralabrax nebulifer</i> x <i>P. maculatofasciatus</i> .	30

RELACIÓN DE TABLAS

Tabla		Página
I	Variables morfométricas de individuos del híbrido <i>Paralabrax nebulifer</i> x <i>P. maculatofasciatus</i> .	15
II	Clasificación de los estadios del desarrollo ovárico del híbrido <i>Paralabrax nebulifer</i> x <i>P. maculatofasciatus</i> (Wallace & Selman, 1981; Tyler & Sumpter, 1996; Ocampo-Cervantes, 2002; Sánchez-Gallegos, 2007 y Brown-Peterson <i>et al.</i> , 2011).	18

GLOSARIO

CÉLULAS FOLICULARES: Células que envuelven al gameto femenino formando el folículo, estas células proveen los elementos con que se nutre el gameto femenino (Estrada & Uribe, 2002).

BISEXUAL: Consiste en una gónada con tejido testicular y ovárico inmaduro. Este término es usado para describir la morfología gonadal, no infiere sobre el potencial reproductivo del individuo (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

DIANDRÍA: En esta existen dos tipos de machos. Machos primarios son aquellos que desde el inicio se desarrollan como machos, mientras que los machos secundarios son aquellos que derivaron de una hembra funcional (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

ENDODERMO: Es una de las tres primeras poblaciones celulares en las que se diferencian los blastómeros, células originadas en las primeras etapas del desarrollo embrionario, durante la gastrulación. El endodermo se sitúa en la parte interna del embrión y forma estructuras en el organismo adulto como el epitelio digestivo y las glándulas gástricas (Estrada & Uribe, 2002).

EPITELIO: Complejo de células estructuradas en forma de capa que limitan y recubren a cualquier superficie del cuerpo, luz o conducto, están unidas lateralmente, carecen de vasos sanguíneos y se apoya en una membrana basal (Estrada & Uribe, 2002).

ESPERMATOGÉNESIS: Es un proceso que tiene lugar en el epitelio germinal, se lleva a cabo en tres fases: 1) fase proliferativa, implica divisiones mitóticas de las espermatogonias, 2) meiosis, división donde se reduce el número de cromosomas dando lugar a los espermátocitos primarios, secundarios y espermátidas y 3) espermiogénesis, fase en la cual las espermátidas se diferencian en espermatozoides (Méndez-Marín, 2008).

ESPERMATOGONIA: Célula sexual masculina esférica, de núcleo denso y diploide que se divide activamente por mitosis y células que iniciaran el proceso meiótico formando espermatoцитos primarios (Estrada & Uribe, 2002).

FASE DE TRANSICIÓN SEXUAL: Es el momento en el cual las gónadas muestran clara evidencia de tejido testicular y ovárico, demostrando degeneración de alguno de estos tejidos. Implica el cambio de sexo en el individuo (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

GONOCORISMO: Condición de una especie o población en la que todos sus individuos se reproducen exclusivamente como hembra o macho durante su vida, independientemente de su morfología gonadal (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

GRÁNULOS DE VITELLO: Forma más usual de almacenamiento de reservas en el ovocito (Estrada & Uribe, 2002).

HERMAFRODITA FUNCIONAL SECUENCIAL: Tipo de patrón sexual que puede ser protogínico o protándrico (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

HERMAFRODITA FUNCIONAL SIMULTÁNEO: Individuo que puede reproducirse como hembra o macho al mismo tiempo o dentro de un corto lapso de tiempo (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

HERMAFRODITA PROTÁNDRICO: Consiste en el cambio sexual es de macho a hembra funcional. Puede mostrar monoginia o diginia (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

HERMAFRODITA PROTOGÍNICO: Consiste en el cambio sexual es de hembra a macho funcional. Pueden mostrar monandría y diandría (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

HERMAFRODITISMO FUNCIONAL: Condición de especies o poblaciones en la que una porción de sus individuos funciona con ambos sexos en algún momento de su vida. Pueden ser simultáneos o secuenciales (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

HERMAFRODITISMO NO FUNCIONAL: Porción de individuos de una especie o población que pueden presentar tejido testicular y ovárico, y solo puede reproducirse como hembra o macho en su vida. Desde la perspectiva funcional, este estado es gonocórico (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

MONANDRÍA: Condición en la cual todos los machos derivan de hembras funcionales y son llamados “machos secundarios” (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

OVARIOS: Órganos pares presentes en la mayoría de los vertebrados, existen diversas formas (alargada, ovalada o irregular) y tamaños; situados en la cavidad abdominal, suspendido en la cavidad del cuerpo por el mesovario. Contiene las células sexuales femeninas, las ovogonias, las que a través de la ovogénesis constituirán los ovocitos (Estrada & Uribe, 2002).

OVOCITO: Célula germinal femenina que a través de división celular meiótica se convertirá en un ovulo maduro (Estrada & Uribe, 2002).

OVOGÉNESIS: Es un proceso que se inicia cuando las ovogonias se dividen por mitosis e inician la meiosis formando ovocitos primarios. Los principales eventos que caracterizan el proceso son: a) formación de células germinales en etapas tempranas de la ontogenia; b) transformación de las células germinales en ovogonias y proliferación por mitosis de estas células; c) transformación de las ovogonias en ovocitos (inicio de la meiosis); d) crecimiento de los ovocitos durante el arresto meiótico; e) desarrollo de folículos ováricos; f) reinicio de a meiosis (maduración) y g) expulsión del ovulo del folículo (ovulación) (Méndez-Marín, 2008).

PATRÓN SEXUAL: Se refiere al tipo reproductivo característico de una especie o población y puede describirse como gonocórico o hermafrodita (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

SEXO FUNCIONAL: es el sexo reproductivo de un individuo (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

TEJIDO CONECTIVO MESENQUIMÁTICO: Es un tipo de tejido conectivo formado por células indiferenciadas y por una matriz extracelular amorfa que no contiene colágeno ni fibras elásticas. En los embriones, a partir de este tejido se forman por diferenciación otros como los tejidos conectivos propiamente dichos, cartílago u óseo, entre otros (Estrada & Uribe, 2002).

TESTÍCULOS: Son órganos pares, alargados fusiformes o irregulares en peces, situados en la cavidad abdominal, a un costado o debajo de la vejiga natatoria. En ellos se lleva a cabo la maduración de los gametos masculinos mediante el proceso de espermatogénesis (Estrada & Uribe, 2002).

RESUMEN

La hibridación es una estrategia utilizada en la piscicultura para obtener un mejor rendimiento de los individuos; además el análisis de la biología reproductiva permite diseñar estrategias para el manejo adecuado y manipulación de las especies con potencial acuícola. La cabrilla arenera (*Paralabrax maculatofasciatus*) ha sido objeto de estudios para lograr su producción mediante el cultivo, presenta un crecimiento lento y precocidad sexual, razón por la cual se han realizado investigaciones para inducir poblaciones monosexo y la producción de organismos triploides, no obstante los resultados han sido poco alentadores. En el presente trabajo, se evaluó el desarrollo morfológico de las gónadas del híbrido de *P. nebulifer* x *P. maculatofasciatus* durante el desarrollo ontogenético, desde los 15 hasta los 730 días después de la eclosión (DDE). Se registró la longitud patrón (LP, mm) y el peso del individuo, las gónadas y el hígado (g). Las muestras fueron fijadas en formaldehído fosfatado (10%); posteriormente se realizaron cortes transversales de 3 μ m, teñidos con la técnica hematoxilina-eosina. Se calculó el diámetro teórico de los ovocitos, se estimó el índice gonadosomático (IGS), hepatosomático (IHS) y la talla media de madurez sexual (Tm) mediante un modelo logístico. La aparición de los primordios gonadales en el híbrido se detectaron en individuos de 9.97 ± 0.23 mm LP. El análisis histológico reveló cuatro estadios ováricos: I) inmaduro, II) desarrollo, III) con capacidad de desove y IV) regresión. Adicionalmente se describieron siete etapas que incluyeron doce fases de desarrollo. El estadio I predominó en peces <104 mm LP, el estadio II también fue observado en individuos >83 mm LP. El diámetro de los ovocitos entre las fases de desarrollo mostró diferencias significativas ($P < 0.001$). El valor más alto del IGS (3.32) se presentó en individuos de 138 a 148 mm LP. El IHS tuvo el valor máximo (3.77) en peces de 94 a 104 mm LP. Se detectó la presencia de dos machos, uno de 124 mm LP y el otro de 155 mm LP. La Tm se estimó en 123.9 mm LP. Debido a la evidencia histológica y distribución de tallas, el híbrido muestra un patrón sexual de tipo hermafrodita protogínico con un desarrollo ovárico asincrónico.

ABSTRACT

Hybridization is a strategy used in the context of fish culture for a better performance of organisms. Analysis of reproductive biology allows to design strategies for the proper management and manipulation of species with aquaculture potential. The spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* has been subject of numerous studies to achieve its production through fish farming, this species has a low growth and sexual precocity, reason why there have been investigations for the induction of monosexual populations and the production of triploids organisms. Nevertheless, the results have done little to solve the problem of growth. The present study evaluated the morphological development of the gonads corresponding to the hybrid of *P. nebulifer* x *P. maculatofasciatus* during the ontogenetic development from day 15 to day 730 after hatching (DAH). Standard length (SL) was registered (mm), and the total weight of the fish, gonads and liver (g). Samples were fixed in formaldehyde phosphated (10%); later, transversal cuts (3 μ m) were performed, stained with hematoxylin-eosin technique. The theoretical diameter of oocytes, gonadosomatic index (GSI), hepatosomatic index (HSI) were calculated and the average size at sexual maturity (T_m) was estimated using a logistic model. The apparition of the primordial germ cells in the hybrid was detected in individuals starting from 9.97 ± 0.23 mm SL. The analysis exposes four ovarian stages: I) immature, II) development, III) spawning capable and IV) regression. Seven phases that include twelve sub phases of development were described. Stage I predominated in individuals < 104 mm SL; stage II was observed in individuals > 83 mm SL. Significant differences ($P < 0.001$) between diameters of oocytes corresponding to the different phases of development were found. The highest value of the GSI (3.32) occurred in individuals from 138 to 148 mm SL. The HSI had the maximum value (3.77) on specimens between 94 and 104 mm SL. The presence of two males was detected, one corresponding to 124 mm SL, and the other to 155 mm SL. The estimate of T_m was 123.9 mm SL. Due to the histological evidence and size distribution, the hybrid shows a protogynous hermaphroditism sexual pattern type with asynchronous ovarian development.

1.- INTRODUCCIÓN

En México, los serránidos son un grupo de peces marinos de importancia comercial; en 2012 en Baja California Sur la producción de este grupo ascendió a las casi 5,600 toneladas con una derrama económica de 40 millones de pesos (CONAPESCA, 2013). La cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner, 1868) ha sido objeto de estudios para lograr su producción mediante el cultivo, sin embargo se han identificado condicionantes como la baja tasa de crecimiento (Sánchez-Gallegos, 2007; Rosales-Velázquez, 2008) dada por su precocidad sexual, razón por la cual se han realizado investigaciones para la inducción a poblaciones monosexo y la producción de organismos triploides (Alcantar-Vázquez, 2005; Rosales-Velázquez, 2008; Alcantar-Vázquez, 2010), no obstante, estos trabajos no alcanzaron a solucionar la problemática planteada.

Con respecto al verdillo *P. nebulifer* (Girard, 1854), en la Carta Nacional Pesquera 2010 (DOF, 2010) se señala como una especie objetivo, de importancia comercial para las pesquerías ribereñas desde Santa Cruz, California hasta Bahía Magdalena, BCS. Asimismo, el verdillo posee alta demanda en el mercado por la calidad de su carne y es considerada como una de las 10 mejores especies para la pesca deportiva en California, pues alcanza tallas de hasta 70 cm (Aburto-Oropeza *et al.*, 2008; Mason & Lowe, 2010). No obstante, se ha investigado poco de ella y los estudios realizados están encaminados a conocer hábitos alimentarios, uso del hábitat, filogenia y concentración de metales pesados (Roberts *et al.*, 1984; Phillips *et al.*, 1997; Mason & Lowe, 2010; McKinzie *et al.*, 2014). Los trabajos que abordan temáticas reproductivas y de cultivo son muy escasos (Oda *et al.*, 1993; Baca-Hovey *et al.*, 2002; Sadovy & Domeier, 2005; Martínez-Brown, 2012).

La producción de híbridos es una herramienta biotecnológica propuesta en la acuicultura para obtener un mejor rendimiento de las especies cultivadas (Palmiter *et al.*, 1982). En ella, se combinan cualidades favorables de dos especies genéticamente diferentes para aprovechar el vigor híbrido (heterosis), ya que se obtiene en algunas de estas cruces, peces con índices de crecimiento

mejorados, mejoras de la calidad de la carne, mayor resistencia a las enfermedades y a condiciones ambientales extremas (Bartley, 2001; FAO, 2011). Algunos casos de éxitos son la lobina rayada híbrida (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) (Smith, 1988; Wang *et al.*, 2006; Cotter *et al.*, 2008), el bagre híbrido (*Ictalurus punctatus* x *I. furcatus*) (Kossowski, 2001; Argue *et al.*, 2003; Arias *et al.*, 2012) y el mero híbrido (*Epinephelus fuscoguttatus* x *E. polyphkadion*) (James *et al.*, 1999).

Se ha señalado que la reproducción de las diferentes especies de peces depende de la combinación óptima de factores ambientales, tales como la temperatura para el desarrollo de la progenie, la cantidad y calidad de alimento, la densidad de depredadores, entre otros (Lluch-Cota *et al.*, 2007). En acuicultura, la adecuada manipulación de la reproducción es importante, pues se debe tener conocimiento de los momentos clave, como el desarrollo y la maduración sexual para asegurar una producción exitosa (Luin *et al.*, 2013). Por esta razón, es necesario generar investigación básica sobre aspectos reproductivos en las especies que presentan cualidades para ser cultivadas.

El análisis del desarrollo gonádico de los especímenes por medio de la histología, permite determinar durante el desarrollo embrionario, el tiempo en que se presentan las gónadas indiferenciadas, así como el inicio de la diferenciación y las características morfológicas de las gónadas durante este proceso (Sánchez-Gallegos, 2007; Rosales-Velázquez, 2008), así como también la temporada reproductiva, la proporción de sexos y la talla de primera madurez.

En el presente estudio se incluyen aspectos morfológicos relacionados con el desarrollo gonádico de híbridos de *P. nebulifer* x *P. maculatofasciatus*, para llegar a determinar cuál es su patrón reproductivo. Para ello se realizó un seguimiento desde la gametogénesis inicial hasta la maduración, a través de la observación microscópica de cortes histológicos de las gónadas.

2.- ANTECEDENTES

2.1.- Gametogénesis inicial

En los vertebrados, el desarrollo de las gónadas se da a partir del borde superior de la capa visceral del mesodermo, donde aparecen formando una banda longitudinal de epitelio que tapiza la cavidad del cuerpo, a este engrosamiento se le llama “cresta germinal” (Kardong, 2009).

Sánchez-Gallegos (2007) realizó la descripción de las gónadas de *Paralabrax maculatofasciatus* a partir de un cultivo bajo condiciones controladas, desde el desarrollo larvario hasta su transformación al juvenil, donde encontró la formación de las crestas germinales a los 11.6 mm LP; concluyó que la aparición de las células gonadales se relaciona con la talla y está fuertemente relacionado con condiciones ambientales como la temperatura. Asimismo, Rosales-Velázquez (2008) al realizar un estudio encaminado a la masculinización de individuos de esta especie, definió el periodo lábil entre los 18 y los 40 mm LP y señaló este periodo como el ideal para el manejo reproductivo.

Maack & Segner (2003) realizaron el seguimiento del desarrollo y diferenciación sexual del pez cebra (*Danio rerio*) y encontraron células germinales primordiales (PGCs, por sus siglas en inglés) en la cavidad dorsolateral del cuerpo a las dos semanas después del desove. Posteriormente, en la quinta semana, el 90% de los peces analizados presentaba una gónada de tipo ovárico. Cabe señalar que entre la semana 5–8 se encontraron alteraciones en la morfología ovárica, los autores sugieren que esta alteración es debido a la transformación del ovario a un testículo inicial, ya que esta especie es hermafrodita protogínica. Entre los 13-23 mm LT (8 semanas) 55% de los individuos presentaron ovarios bien diferenciados, mientras que el resto de los peces presentó células masculinas como espermatoцитos y espermátidas.

Bogdanova (2004) describió el patrón de desarrollo en *Coregonus lavaretus baeri*, un pez de agua dulce de la familia Salmonidae. Observó las PGCs a los 30 días después de la eclosión (DDE) (0.17 ± 0.003 cm) y hasta los 82 DDE ($4.5 \pm$

0.26 cm) la diferenciación a ovario. Después de 100 días, a los 9.2 cm aproximadamente detectaron individuos hermafroditas, sin embargo los salmónidos son considerados gonocóricos y atribuyen este fenómeno a las altas temperaturas en el lago Chud.

En *Pseudobagrus fulvidraco* reportaron el hallazgo de las PCGs a los 3 DDE (7.8 mm LT), las PGCs presentaron una morfología alargada y oval, unida por tejido conectivo; a los 12 DDE (146 mm LT) se inició la diferenciación a ovario. Esta especie también es gonocórica, la diferenciación hacia macho se observó cuando las espermatogonias se distinguieron de las PGCs a los 20 DDE, con una talla de 230 mm LT. Cuando alcanzaron una talla de 984 mm LT (100 DDE) las espermatogonias y los espermatoцитos incrementaron y los primeros espermatozoides se detectaron (Park *et al.*, 2004).

Komatsu *et al.* (2006) detectaron en *Siganus guttatus*, un teleósteo marino, un par de primordios gonadales a los 24 DDE (17.7 ± 0.2 mm LT). Esta especie es gonocórica, la diferenciación hacia ovario y hacia testículo se observó a los 31 DDE (20.3 ± 0.2 mm LT). En peces de 129 a 157 DDE (145.6 ± 2.6 mm LT) se encontraron ovarios en ovogénesis activa, caracterizados por la presencia de ovocitos perinucleolares. Por otro lado, se hallaron testículos con proliferación espermatogénica en peces de 100 DDE (95.9 ± 2.0 mm LT). Una peculiaridad de esta especie, es el desarrollo de las gónadas en la cavidad ventral, mientras que en la mayoría de los peces se da en la cavidad dorsal. Otra diferencia es la presencia de una estructura dual en la que células somáticas encierran a las células germinales (como cordones sexuales) y el tejido somático está rodeado de dicha estructura.

2.2.- Patrón sexual en *Paralabrax* spp.

El hermafroditismo es un fenómeno natural reportado en 27 de las 448 familias de teleósteos. En la familia Serranidae se han confirmado el gonocorismo y el hermafroditismo simultáneo y secuencial (protoginia) en 20 de los 64 géneros que la conforman (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008). La posición filogenética del

género *Paralabrax*, basados en estudios genéticos y morfológicos, lo colocan como un grupo basal de la subfamilia Serraninae, la subfamilia más basal de la familia Serranidae (Pondella II *et al.*, 2003), no obstante por más de cuatro décadas se ha tratado de determinar su patrón sexual. Una de las razones más importantes en la dificultad de señalar si una especie es gonocórica o hermafrodita es la falta de estructuras morfológicas que distingan a un macho primario de uno secundario. Además, la distinción entre especies hermafroditas funcionales y no funcionales es de suma importancia, porque esto puede proporcionar señales filogenéticas (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

Borquez *et al.* (1988) describieron la anatomía gonadal de *Paralabrax humeralis* en Isla Santa María, Antofagasta, Chile. En sus observaciones detectaron la presencia de organismos bisexuales, en los individuos pequeños predominó la porción ovárica y en los individuos más grandes, la porción testicular con algunos ovocitos remanentes. Concluyeron que no corresponde a una protoginia propiamente dicha, ya que las hembras que invierten sexualmente no han alcanzado la madurez y estos individuos son machos funcionales. Por lo anterior, determinaron que *P. humeralis* es una especie gonocórica secundaria.

El comportamiento reproductivo de *P. maculatofasciatus* es complejo, se ha reportado que el patrón sexual de diferentes poblaciones de la región sur de California varía de gonocórico funcional a protogínico estricto (Hovey & Allen, 2000). Además en el Alto Golfo de California, Hastings (1989) encontró que la especie se comporta como protogínica, ejemplares de menor talla eran hembras, mientras que los machos eran de mayor tamaño. De igual manera, la cabrilla arenera (*Paralabrax maculatofasciatus*) se considera como hermafrodita protogínica en Bahía Magdalena y Bahía de La Paz (Lluch-Cota, 1995; Ocampo-Cervantes, 2002; Ochoa-Báez *et al.*, 2012). Asimismo en la Bahía de La Paz, se ha reportado que el desarrollo de la gónada en esta especie es de tipo asincrónico (Sergio-Ferreira, 1997).

Oda *et al.* (1993) estudiaron la biología reproductiva de *Paralabrax clathratus*, *P. maculatofasciatus* y *P. nebulifer* en Ventura y Mission Bay, California. En su investigación encontraron que las tres especies presentaron una membrana central en la cavidad de los testículos (lumen) y sinusoides espermáticos en la pared gonadal, la evidencia histológica solo les permitió concluir que *P. maculatofasciatus* es hermafrodita protogínica, mientras que en las otras dos especies esta condición es incierta.

Baca-Hovey *et al.* (2002) realizaron un estudio de la población de *P. nebulifer* en la parte sur de California, de los 436 individuos analizados, dos fueron clasificados como individuos en transición, además de que todos los machos presentaron lumen. En conclusión, señalaron que esta especie es gonocórica funcional, que presenta una capacidad latente para cambiar de sexo.

Sadovy & Domeier (2005) describieron el patrón sexual en cuatro especies: *Paralabrax maculatofasciatus*, *P. nebulifer*, *P. auroguttatus* y *P. clathratus* al sur de California, EU y en las islas cercanas a Punta Eugenia, B.C.S. Los autores señalan que las cuatro especies son gonocóricas funcionales, que pasan por una fase bisexual no funcional en la etapa juvenil y posteriormente se da una clara diferenciación hacia macho o hembra, encontraron en todos los individuos, de ambos sexos, un lumen ovárico derivado de esta fase bisexual inicial. Asimismo, resaltan que ciertos aspectos de la morfología gonádica pueden ser utilizados para estudios de filogenia, no obstante la plasticidad del patrón sexual *per se*, limitan su valor para tales estudios.

Erisman & Allen (2006) analizaron el comportamiento reproductivo de *Paralabrax clathratus* en la Isla de Santa Catalina, California. Señalan que esta especie forma grandes agregaciones durante el desove, lo cual es similar a otros serránidos gonocóricos funcionales, corroborando así esta condición explicada por estudios histológicos anteriores de la especie.

2.3.- Hibridación en acuicultura

En acuicultura se ha desarrollado con éxito la hibridación de algunos peces. La lobina rayada híbrida (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) presenta una tasa alta de crecimiento y gran tolerancia a variaciones de la temperatura y el oxígeno disuelto, así como un mayor crecimiento en talla y peso (Smith, 1988; Wang *et al.*, 2006; Cotter *et al.*, 2008). Del mismo modo, el bagre híbrido (*Ictalurus punctatus* x *I. furcatus*) presenta mayores porcentajes de carne y mayor resistencia a enfermedades que sus progenitores (Kossowski, 2001; Argue *et al.*, 2003; Arias *et al.*, 2012); de igual manera, en el mero híbrido (*Epinephelus fuscoguttatus* x *E. polyphkadion*), se demostró un mejor crecimiento durante la engorda (James *et al.*, 1999). Por otra parte, Martínez-Brown (2012) realizó la cruce entre una especie especialista (*P. nebulifer* ♀) y una especie generalista (*P. maculatofasciatus* ♂), concluyó que al cruzarse dos especies filogenéticamente cercanas se obtuvo un híbrido viable, que no presenta ontogenia pedomórfica con respecto a las especies parentales. Por tal situación, se considera al híbrido como un candidato para el desarrollo de su cultivo.

Puede existir esterilidad en las especies híbridas, debido a que las especies parentales generalmente presentan un número distinto de cromosomas y no pueden encontrar un par homólogo en la meiosis, la meiosis se interrumpe y no pueden formar gametos viables (Bartley *et al.*, 2001). Por ejemplo, Park *et al.* (2003) analizaron a través de descripciones histológicas la viabilidad reproductiva de *Pleuronectes ferrugineus* x *P. americanus*, ellos encontraron que el desarrollo gonadal fue retardado, con ovocitos y espermatozoides de tamaño notablemente menor que el de las especies parentales, por lo que concluyen su probable esterilidad.

No obstante, Luin *et al.* (2013) determinaron histológicamente la capacidad reproductiva del híbrido de *Epinephelus fuscoguttatus* x *E. lanceolatus*, en los individuos encontraron ovocitos en vitelogénesis y testículos en etapa madura. Sugieren que la maduración sexual está presente de manera normal, pero aún se debe analizar la viabilidad de los ovocitos y espermatozoides del híbrido.

3.- JUSTIFICACIÓN

Debido a la importancia comercial del verdillo y la cabrilla arenera en el mercado local e internacional (Aburto-Oropeza *et al.*, 2008; Mason & Lowe, 2010; CONAPESCA, 2013), es necesario ampliar el conocimiento en los procesos reproductivos del híbrido. La comprensión del desarrollo de sus gónadas y su maduración es de gran utilidad en disciplinas como la acuicultura, ya que permite diseñar estrategias adecuadas para su cultivo y de esta manera alcanzar a través de biotecnologías reproductivas, la talla comercial deseada (Díaz & Neira, 2005).

En este sentido, el presente trabajo es una contribución en el conocimiento reproductivo de los híbridos de *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*, al analizar las tallas en las cuales se da la aparición de los primordios gonadales, la diferenciación sexual y la maduración de la gónada, se generará información útil para posteriormente diseñar estrategias de cultivo adecuadas al desarrollo de este híbrido.

4.- HIPÓTESIS

La familia Serranidae muestra una amplia gama de estilos reproductivos, abarcando gonocorismo, hermafroditismo simultáneo, incluye la protoginia y la protandria. Particularmente el género *Paralabrax* ha causado controversia por más de cuatro décadas; la asignación del patrón sexual ha abarcado la protoginia y el gonocorismo, sin llegar a un consenso definitivo.

Con base en estudios previos en *Paralabrax maculatofasciatus* y *P. nebulifer* donde se clasifican como hermafrodita protogínico y gonocórico funcional, respectivamente, se espera que el patrón sexual del híbrido de *P. nebulifer* x *P. maculatofasciatus* sea el hermafroditismo protogínico.

5.- OBJETIVOS

5.1.- General:

Describir la morfogénesis de las gónadas del híbrido de *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus* durante el desarrollo ontogenético.

5.2.- Particulares:

- Analizar la morfología de la gónada indiferenciada.
- Definir el tipo de reproducción y desarrollo de ovocitos.
- Establecer la talla media de madurez sexual.
- Examinar la relación que existe entre el índice gonadosomático y el índice hepatosomático con respecto al estadio de desarrollo gonadal.

6.- MATERIALES Y METODOS

6.1.- Sistema cerrado de cría larvaria

A partir de un lote de híbridos de *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus* (n=480), los peces se sembraron en un sistema cerrado de cría larvaria (SCCL) conformado por ocho tanques cilíndricos de fibra de vidrio de 300 l, donde se realizó la incubación de los embriones, la cría de las larvas y la producción de los juveniles requeridos para el presente estudio, de acuerdo con Martínez-Brown (2012).

La temperatura del agua se mantuvo controlada a 22.51 ± 0.46 °C por medio de temperatura ambiental con un aire acondicionado tipo mini split (Japando®); la concentración de oxígeno disuelto y el pH permanecieron en los niveles adecuados con aireación y recirculación constante, los cuales fueron monitoreados con el sistema multiparametro YSI 556 MPS. El fotoperiodo se realizó con dos temporizadores electrónicos, de los cuales, uno mantuvo encendidas seis lámparas fluorescentes de 08:00 a 21:00 h, distribuidas equidistantemente sobre la línea central, paralela a las dos líneas de tanques. El otro temporizador mantuvo encendidas ocho lámparas de 08:15 a 20:45 h. La cría larvaria se llevó a cabo de los días 40 hasta los 90 después de la eclosión (DDE), a partir del cual se suministró una serie de alimentos inertes (marca INVE), posteriormente se utilizó alimento inerte de la marca Nutripec marino 4210 con 42% de proteína y 10% de lípidos.

6.2.- Obtención y fijación de muestras.

Con la finalidad de cubrir todo el desarrollo gonádico, se utilizaron muestras tomadas del periodo inicial, de marzo, abril, octubre a diciembre de 2012 y enero de 2013, las cuales corresponden de los 10 a los 326 DDE (n=89). Para este estudio el muestreo fue de febrero a junio de 2013 (n=133), las cuales abarcaron de los 344 a 470 DDE. Además, para completar la descripción morfológica se utilizaron muestras tomadas de agosto a noviembre de 2013 y marzo de 2014, las cuales corresponden de los 520 a los 730 DDE (n=39). Los peces se sacrificaron

con una sobredosis de anestésico (Eugenol). Posteriormente, se realizó la biometría, tomando en cuenta la longitud patrón (LP) en milímetros (mm), así como el peso del pez, de la gónada y del hígado en gramos (g).

Las muestras fueron fijadas en una solución de formaldehído fosfatado (10 %) y puestas en viales de vidrio en sus primeras fases de desarrollo. Para el caso de juveniles de los 40 y hasta los adultos a los 730 DDE, en los cuales fue posible la detección visual de la gónada se disectaron transversalmente desde el ano hasta el inicio de las aletas pectorales para su extracción y fijación.

6.3.- Proceso histológico

El procesamiento histológico se llevó a cabo en el laboratorio de Morfofisiología, en el CICIMAR-IPN. Del periodo inicial se analizaron 68 de 89 muestras, de este estudio 110 de 133 y del periodo final, 20 de 39 muestras. Las larvas del híbrido se sometieron a un proceso de doble inclusión (Alginato-Parafina) basado en la metodología descrita por Muñetón-Gómez *et al.* (1989), la cual consistió en poner dentro de un recipiente pequeño (1.5 x 1 cm) una cantidad de alginato de sodio al 1%, posteriormente la larva fue colocada en la posición en la que se desea que salga el corte y finalmente se agregó al recipiente unas gotas de cloruro de calcio al 0.25 molar, con la finalidad de que el alginato se endurezca, el resultado de este proceso fue una pastilla con la larva dentro de ella, de esta manera las larvas pudieron ser puestas en el procesador automático de tejidos Tissue Tek II modelo 4640-B (Miles laboratories Inc., Tokio Japón) para su deshidratación e inclusión en parafina; por otro lado, las gónadas de los peces pasaron por el proceso tradicional de deshidratación e inclusión en el procesador antes mencionado.

Posteriormente se realizaron cortes de 3 μ m en un micrótopo rotatorio Microm modelo HM 355 S, las preparaciones histológicas se tiñeron con hematoxilina-eosina (Sheehan & Hrapchak, 1980). La hematoxilina por su naturaleza básica, tiñe estructuras ácidas (basófilas) en tonos azul y púrpura, como por ejemplo los núcleos celulares; el uso de eosina tiñe componentes

básicos (acidófilos) en tonos de color rosa, gracias a su naturaleza ácida, como el citoplasma.

Las preparaciones histológicas se observaron con un microscopio óptico (Olympus Bx50), a diferentes aumentos (4x, 10x, 20x, 40x y 100x) y se fotografiaron con una cámara digital (CoolSNAP-Pro, Media Cybernetics). Para determinar los estadios de madurez de las gónadas se siguieron las descripciones de Wallace & Selman (1981); Tyler & Sumpter (1996); Ocampo-Cervantes (2002); Sánchez-Gallegos (2007) y Brown-Peterson *et al.* (2011).

6.4.- Distribución del diámetro de los ovocitos

Se determinó el área del ovocito con imágenes digitalizadas, mediante el programa informático Image-Pro Plus® 6.0 (Media Cybernetics). Fueron medidos 40 ovocitos de cada preparación histológica seleccionada al azar cuando el núcleo de la célula fuera visible. Debido a que los ovocitos cambian conforme éstos crecen y desarrollan, el diámetro de los ovocitos del set de datos fue estandarizado mediante la ecuación para el diámetro teórico:

$$DT = \sqrt{4A/\pi}$$

Donde DT es el diámetro teórico, A es el área del ovocito y π un valor constante (Saout *et al.*, 1999). Se calculó la media y la desviación estándar, la variación del diámetro de los ovocitos se analizó mediante una prueba de varianza de una vía ($P=0.01$) (Zar, 2010).

6.5.- Indicadores reproductivos

Se determinó el índice gonadosomático (IGS) y el índice hepatosomático (IHS) de febrero de 2013 a marzo de 2014, para evaluar su relación con el desarrollo de la gónada, según lo propuesto por Ericsson *et al.*, (1985).

$$IGS = \frac{Pg}{Pt} \times 100$$

$$IHS = \frac{Ph}{Pt} \times 100$$

Dónde:

Dónde:

IGS= Índice Gonadosomático.

IHS= Índice Hepatosomático.

Pg = Peso de la gónada.

Ph = Peso del hígado.

Pt= Peso total del organismo

Pt= Peso total del organismo

Los datos obtenidos de los índices se sometieron a pruebas de normalidad y homoscedasticidad de Shapiro-Wilk (Zar, 2010). La variación del IGS e IHS se analizó mediante una prueba de varianza de una vía ($P=0.05$).

6.6.- Talla media de madurez sexual

Se estimó la longitud a la cual 50% de los individuos alcanzan la madurez sexual (L_{50}) mediante un modelo logístico (King, 1995), usando el procedimiento no lineal de mínimos cuadrados, descrito como:

$$Tm = \frac{1}{1 + \exp[-r \times (LP - L_{50})]}$$

Donde Tm es la proporción de individuos maduros dentro de la clase de talla (intervalos de 10 mm de longitud), r es la pendiente de la curva que describe la tasa de cambio en Tm de 0 a 1, y L_{50} es la longitud patrón (LP) a la cual 50% de los especímenes se encuentran sexualmente maduros, para establecer este criterio se utilizó como estructura indicadora a los ovocitos vitelogénicos y con núcleo migratorio.

Para la realización de los análisis estadísticos se utilizó el programa informático SigmaPlot® 12.0 (Systat Software Inc.).

7.- RESULTADOS

7.1.- Variables morfométricas

En la tabla I se observa la longitud patrón y el peso promedio por mes de los 261 individuos que se analizaron en este estudio.

Tabla I.- Variables morfométricas de individuos del híbrido *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*. Los datos que se resaltan en el sombreado corresponden a este estudio.

Mes	n	Longitud patrón (mm)			Peso (g)		
		Mín.	Máx.	Promedio	Mín.	Máx.	Promedio
mar-12	23	7.77	9.86	8.80 ± 0.64	0.01	0.20	0.05 ± 0.07
abr-12	9	17	35	24.22 ± 5.91	0.12	0.79	0.3 ± 0.2
oct-12	21	45	98	68 ± 16.91	1.70	22.90	8.5 ± 6.2
nov-12	12	84	92	88.63 ± 2.87	12.90	20.00	17.0 ± 2.1
dic-12	12	87	95	91.83 ± 2.66	15.90	20.30	18.4 ± 1.6
ene-13	12	61	107	92.25 ± 14.55	4.80	28.20	19.9 ± 7.2
feb-13	18	91	128	110.11 ± 10.02	16.50	53.40	35.4 ± 10.7
mar-13	24	94	135	116.88 ± 10.43	23.50	65.70	42.8 ± 11.1
abr-13	30	100	137	119.83 ± 9.88	26.90	67.00	44.9 ± 11.5
may-13	30	105	140	125.33 ± 8.09	28.50	77.50	51.6 ± 10.6
jun-13	31	104	144	124.48 ± 9.71	28.20	76.50	49.7 ± 12.3
ago-13	2	141	154	147.50 ± 9.19	86.50	94.50	90.5 ± 5.7
sep-13	6	102	145	129 ± 16.88	24.30	78.80	55.7 ± 21.6
oct-13	4	140	157	149.25 ± 8.10	69.60	103.30	86.025 ± 16.7
nov-13	4	143	155	147.25 ± 5.44	64.20	99.00	78.7 ± 14.6
mar-14	23	116	174	137.09 ± 12.74	36.80	143.50	71.13 ± 18.7

7.2.- Análisis histológico de la gónada indiferenciada

Se observaron, mediante cortes histológicos, 31 individuos de entre 7.77 mm y 35 mm de longitud patrón y se definieron cinco clases de talla con un intervalo de 5 mm. La aparición de los primordios gonadales fue en aumento a partir de la clase de 7.77 hasta los 27.8 mm (Fig. 1).

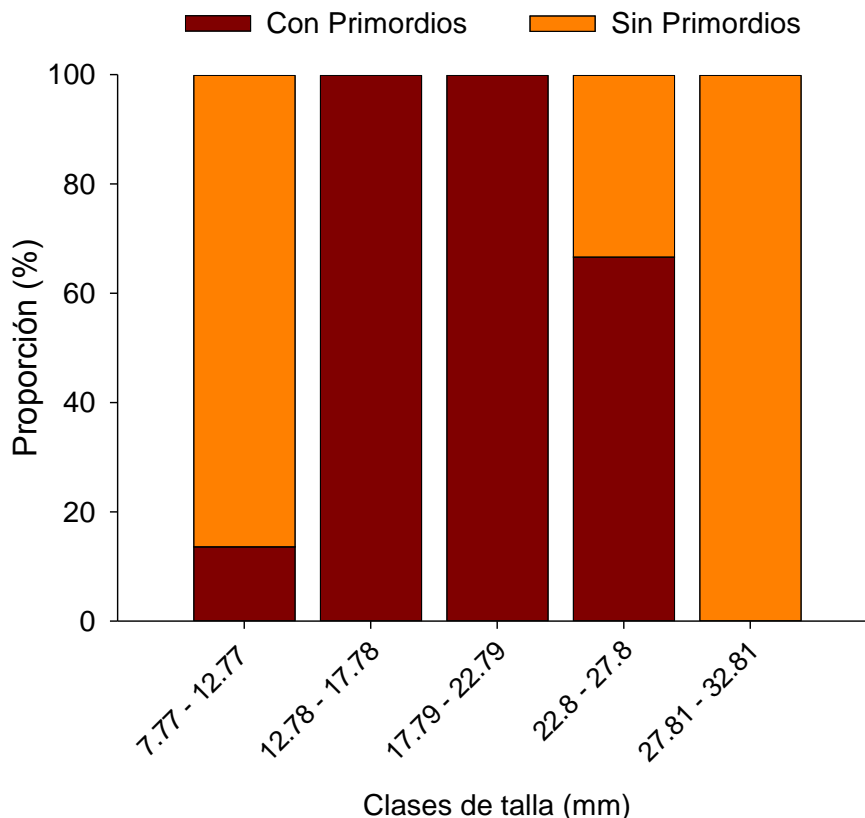


Figura 1. Proporción de aparición por clase de talla de los primordios gonadales de individuos del híbrido *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*.

A los 15 DDE, los peces alcanzaron LP de 9.97 ± 0.23 mm y 0.26 ± 0.05 g. Los individuos presentaron un par de primordios gonadales, localizados en la pared dorsal del cuerpo, sostenidos por una banda de tejido mesodérmico; su forma es alargada, constituida por epitelio celómico, en su interior se encuentran aparentemente las células germinales primordiales (PGCs). A los 43 DDE los peces alcanzaron una LP de 21.00 ± 3.22 mm y 0.23 ± 0.10 g. A esta talla los primordios gonadales aumentan de tamaño, clasificándose como una gónada indiferenciada, se pueden apreciar claramente las PGCs, presentando un núcleo grande, central y redondo, con un nucléolo evidente en su interior (Fig. 2 A-C).

A los 44 mm LP y 2.9 g de peso, la gónada presenta cambios significativos en su morfología, lo cual marca el inicio de la diferenciación sexual del ovario. Inmersas en el epitelio germinativo se pueden apreciar células diferenciadas en

ovogonias, caracterizándose por presentar citoplasma escaso, un núcleo redondo y central (Fig. 2 D).

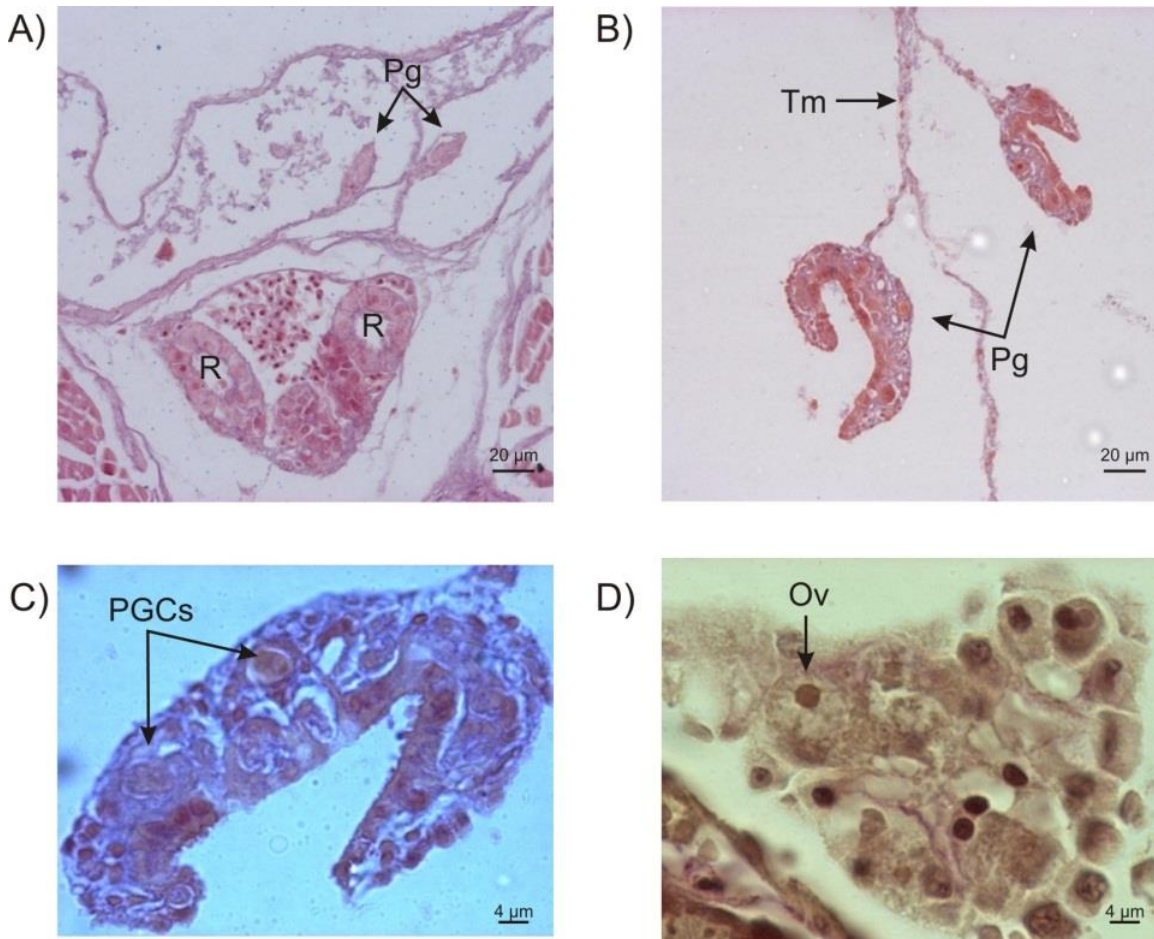


Figura 2.- Microfotografías de la gametogénesis inicial del híbrido *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*. A) Primordios gonadales, individuo de 9.97 mm LP, B) gónada indiferenciada, C) acercamiento de la gónada indiferenciada, individuo de 21 mm LP, D) diferenciación a ovario, individuo de 42 mm LP. Primordios gonadales (Pg), riñón (R), tejido mesodérmico (Tm), células germinativas primordiales (PGCs), ovogonias (Ov).

7.3.- Análisis histológico de las gónadas en crecimiento

La caracterización del desarrollo ovárico se realizó con base en el análisis histológico de las gónadas de *P. nebulifer* x *P. maculatofasciatus*. Se identificaron cuatro estadios de desarrollo ovárico: inmaduro (I), desarrollo (II), con capacidad de desove (III) y regresión (IV), siete etapas de desarrollo y 12 fases del ovocito, cada fase celular se describe en la tabla II.

Tabla II.- Clasificación de los estadios del desarrollo ovárico del híbrido *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus* (Wallace & Selman, 1981; Tyler & Sumpter, 1996; Ocampo-Cervantes, 2002; Sánchez-Gallegos, 2007 y Brown-Peterson *et al.*, 2011).

Estadio Gonádico	Etapas de Desarrollo	Fase	Descripción del crecimiento de los ovocitos	Diámetro promedio (μm)
I Inmaduro	Crecimiento primario	Ovogonia (Ov)	Se caracterizan por formar grupos o nidos en el epitelio germinal.	8.37 \pm 5.96
		Nucléolo cromatina (Nc)	Célula con núcleo grande y solo un gran nucléolo. Citoplasma ligeramente basófilo.	24.52 \pm 9.77
		Perinucleolar inicial (Pi)	Se observan dos nucléolos en la periferia del núcleo. Incremento en el volumen del citoplasma.	50.23 \pm 15.10
		Perinucleolar final (Pf)	Ovocito de forma irregular con cinco o más nucléolos periféricos. Las células foliculares (granulosa) son planas.	82.54 \pm 24.80
II Desarrollo	Alveolo cortical	Alveolo cortical (Ac)	Ovocito de forma más esférica, caracterizado por la presencia de alveolos corticales, como pequeñas vacuolas localizadas en la periferia del citoplasma del ovocito.	128.58 \pm 27.21
		Inclusiones lipídicas (Lp)	Presencia de inclusiones lipídicas en el citoplasma, se observa una delgada zona radiata.	177.33 \pm 41.49
	Vitelogénesis	Vitelogénesis 1 (Vtg 1)	Incremento de tamaño, núcleo central, citoplasma con abundantes gotas lipídicas pequeñas y esféricas. Gránulos vitelinos escasos. La granulosa y la zona radiata son más evidentes.	215.04 \pm 34.16
		Vitelogénesis 2 (Vtg 2)	El ovocito aumenta su tamaño debido al incremento de gránulos de vitelo redondos en la periferia del citoplasma.	312.9 \pm 48.77
III Con capacidad de desove	Vitelogénesis 3 (Vtg 3)	Vitelogénesis 3 (Vtg 3)	Los gránulos de vitelo incrementan su tamaño y ocupan todo el citoplasma. La zona radiata incrementa su grosor.	353.05 \pm 46.07
	Maduración de ovocitos	Núcleo migratorio (Nm)	El núcleo migra hacia el polo animal. Los gránulos de vitelo ocupan todo el citoplasma	347.44 \pm 40.04
		Vitelo coalescente (Vc)	Los gránulos de vitelo se proteolizan y los lipídicos se fusionan para formar una gran vacuola.	365.55 \pm 51.61
IV Regresión	Atresia	Atresia (At)	Estadio α : Ovocito aun esférico, la zona radiata se disocia y fragmenta. Estadio β : la zona radiata con mayor disociación o invaginaciones, pierde su forma esférica y reduce su tamaño.	-

En el estadio I se aprecia claramente en la gónada la diferenciación a ovario, de forma alargada y sacular, cubierta por una capa de tejido conjuntivo. La estructura de la gónada está constituida por lamelas proyectadas desde la pared hasta el lumen ovárico. Se pueden distinguir distintos tipos celulares, desde nidos de ovogonias, nucléolo cromatina, ovocitos perinucleolares iniciales con forma irregular con dos nucléolos en la periferia del núcleo, hasta ovocitos perinucleolares finales, de forma poligonal con cinco o más nucléolos periféricos; estos dos últimos tipos celulares se mantuvieron presentes en todos los estadios de madurez. Además se distinguieron células foliculares (granulosa) planas (Fig. 3).

Los ovarios en desarrollo, estadio II, han incrementado su tamaño; predominan cuatro tipos de ovocitos. Los primeros del tipo alveolo cortical (Ac), se caracterizan por presentar numerosos nucléolos, con citoplasma granular y pequeñas vacuolas en su periferia. El segundo, ovocitos en fase de inclusiones lipídicas, presentan inclusiones o vacuolas lipídicas distribuidas en todo el citoplasma, las cuales incrementan en tamaño y número a medida que avanza la maduración. La zona radiata se observa bien definida y delgada. Ovocitos en vitelogénesis 1 se observan con núcleo central y grande, el citoplasma contiene abundantes inclusiones lipídicas y gránulos de vitelo esféricos y pequeños. El último tipo son ovocitos en vitelogénesis 2, los cuales muestran un incremento en su tamaño por la proliferación de gránulos de vitelo redondos en la periferia del citoplasma. La zona radiata muestra estriaciones y subsecuentemente las células cúbicas de la granulosa (Fig. 3).

En el estadio III, el ovario está caracterizado por tres tipos de ovocitos. Los ovocitos en vitelogénesis 3 presentan todo el citoplasma cubierto por gránulos de vitelo, la zona radiata alcanza su máximo grosor y las células de la granulosa son evidentes. El siguiente tipo son ovocitos en los cuales el núcleo está desplazado hacia el polo animal (*Nm*); finalmente, en ovocitos con vitelo coalescente, los gránulos de vitelo y las inclusiones lipídicas se fusionan para formar una gran vacuola (Fig. 3).

En la distribución de frecuencias por clase de talla se observó que el estadio inmaduro estuvo presente en todas las clases de tallas de los peces, dominando con un 97% desde los 61 hasta los 104 mm de longitud patrón. A partir de los 83 mm fue posible detectar la presencia del estadio desarrollo, mostrando la mayor frecuencia entre los 149 a 159 mm (31%). El estadio con capacidad de desove se presentó en mayor proporción entre los 138 y 148 mm (12%). Se observaron ovocitos en regresión a partir de los 83 mm y hasta los 159 mm LP. La clase de talla de 72 a 82 mm no estuvo representada la distribución de las frecuencias de tallas (Fig. 4).

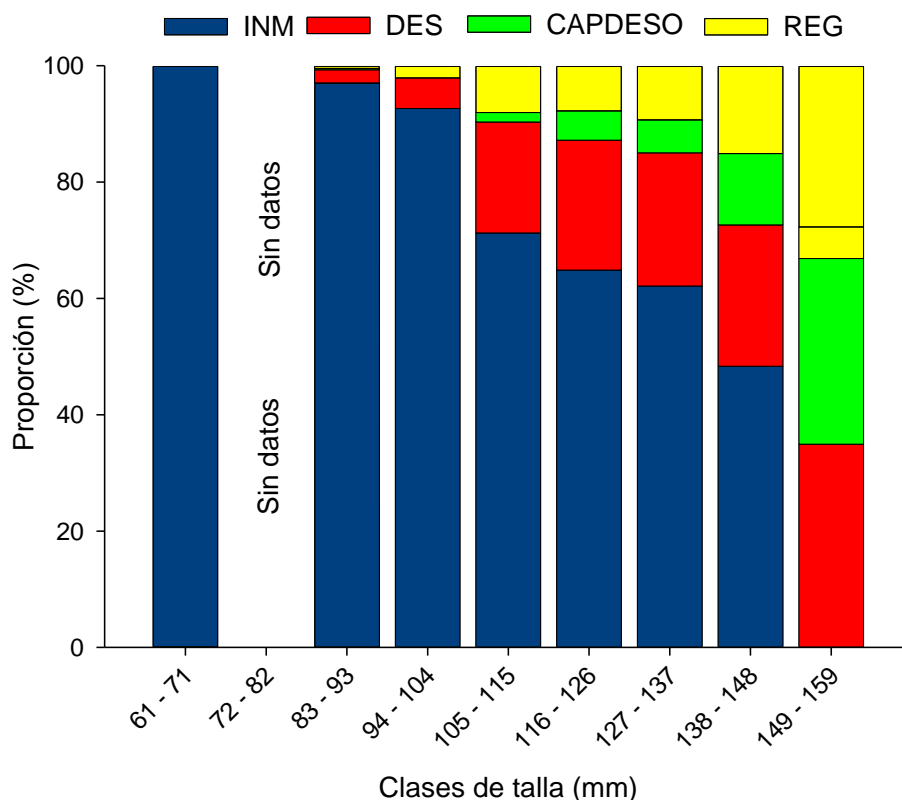


Figura 4.- Distribución porcentual de los estadios de madurez gonádica por clase de talla del híbrido *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*.

El desarrollo de los ovocitos se describió por talla (Fig. 5), clasificándose en 7 etapas: crecimiento primario (CP), alveolo cortical (Ac), vitelogénesis 1, 2 y 3 (VTG 1, 2 y 3), maduración del ovocito (Mo) y atresia (Atr). Se observaron ovocitos en CP en todos los peces analizados en el estudio, siendo más frecuentes de los 61 a los 104 mm LP (97%). La etapa de Ac se detectó en individuos a partir de los 83 mm y en el intervalo de 127 a 137 mm LP obtuvo su mayor frecuencia (10%). La Mo estuvo mejor representada en la clase de 138 a 148 mm LP (7%). La mayor proporción de Atr se observó en individuos de 149 a 159 mm LP (28%).

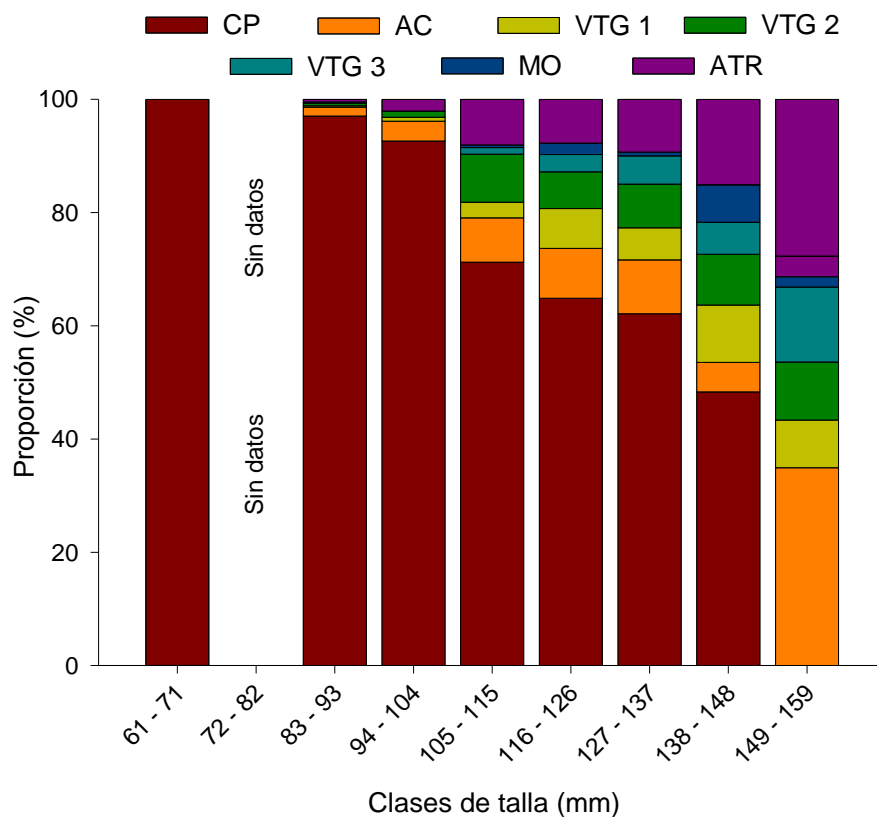


Figura 5.- Distribución porcentual de las etapas de desarrollo de los ovocitos por clase de talla del híbrido *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*.

7.4.- Distribución del diámetro de los ovocitos

Se midieron 2921 ovocitos, en general se observó una diferencia significativa entre los estadios de desarrollo ovárico ($P < 0.01$), así como también diferencia significativa entre el tamaño de los ovocitos como una función de la fase de desarrollo ($P < 0.01$), excepto en vitelogénesis 3 y maduración del ovocito ($P > 0.05$). El incremento del diámetro medio de los ovocitos se muestra en la figura 6.

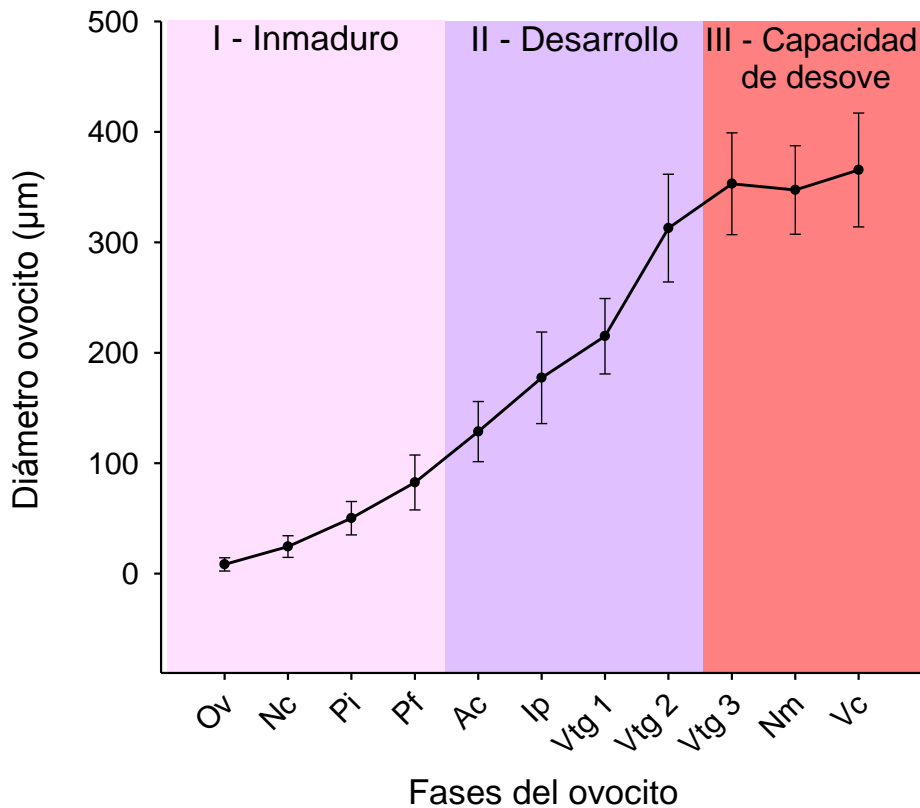


Figura 6. Variación del diámetro del ovocito del híbrido *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*. Ovogonia (Ov) (n=273), Nucléolo cromatina (Nc) (n=43), Perinucleolar inicial (Pi) (n=1556), Perinucleolar final (Pf) (n=329), Alveolo cortical (Ac) (n=160), Inclusiones lipídicas (Ip) (n=53), Vitelogénesis 1 (Vtg 1) (n=167), Vitelogénesis 2 (Vtg 2) (n=198), Vitelogénesis 3 (Vtg 3) (n=84), Núcleo migratorio (Nm) (n=48), Vitelo coalescente (Vc) (n=10). Se muestra la desviación estándar del diámetro (—) por tipo de ovocito.

Al realizar el análisis del diámetro promedio de los ovocitos durante el periodo de estudio se encontró que la fase de inmadurez incluye ovocitos que van

de los 8 a los 82 μm , siendo más frecuentes a los 50.23 μm ($n=1556$). La fase de maduración fue menos frecuente, el diámetro promedio de los ovocitos osciló entre los 128 y 365 μm ($n=720$) (Fig. 7).

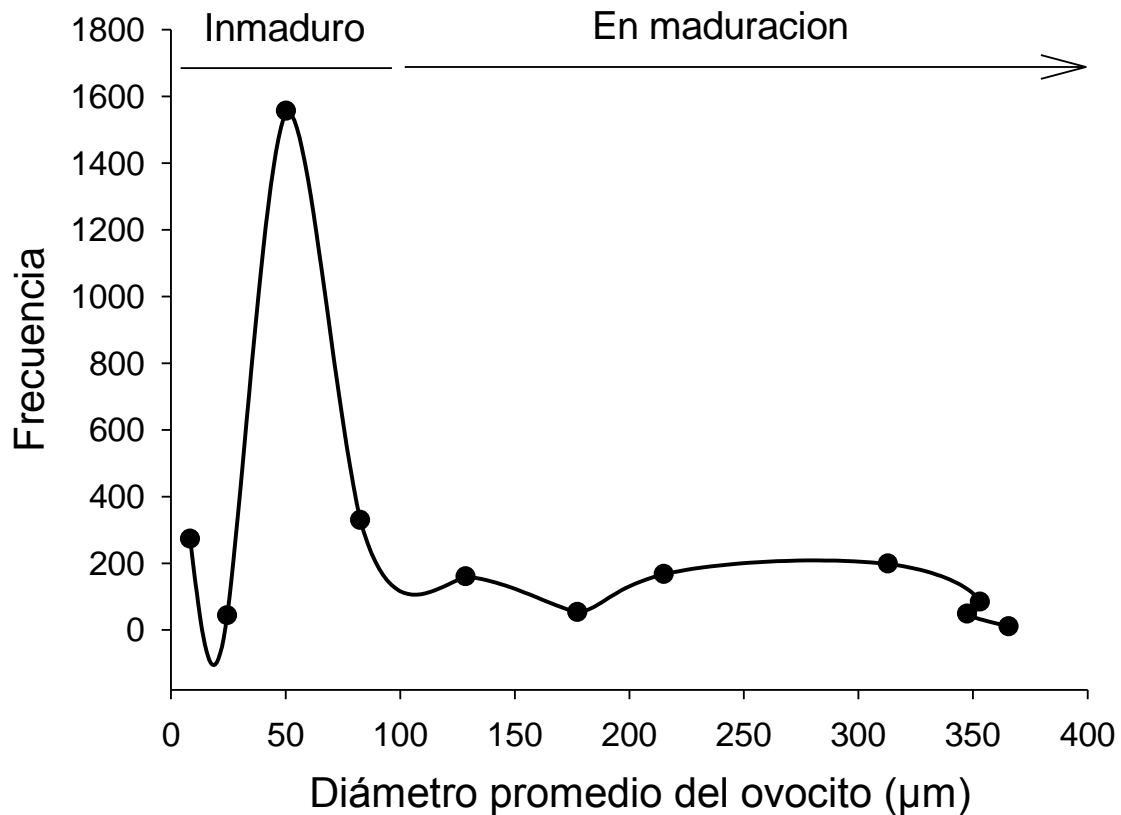


Figura 7. Distribución del diámetro de ovocitos en fase inmadura y en maduración del híbrido *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*.

7.5.- Machos

De los 261 peces que se obtuvieron en éste estudio, se realizaron cortes histológicos de 198 individuos, en ellos se detectó la presencia de únicamente un macho de 124 mm de longitud patrón a los 456 días después de la eclosión. En la gónada se observó tejido testicular, representado por espermátogonias de $6.44 \pm 1.38 \mu\text{m}$. Asimismo, se observaron espermatoцитos y espermátidas (Fig. 8).

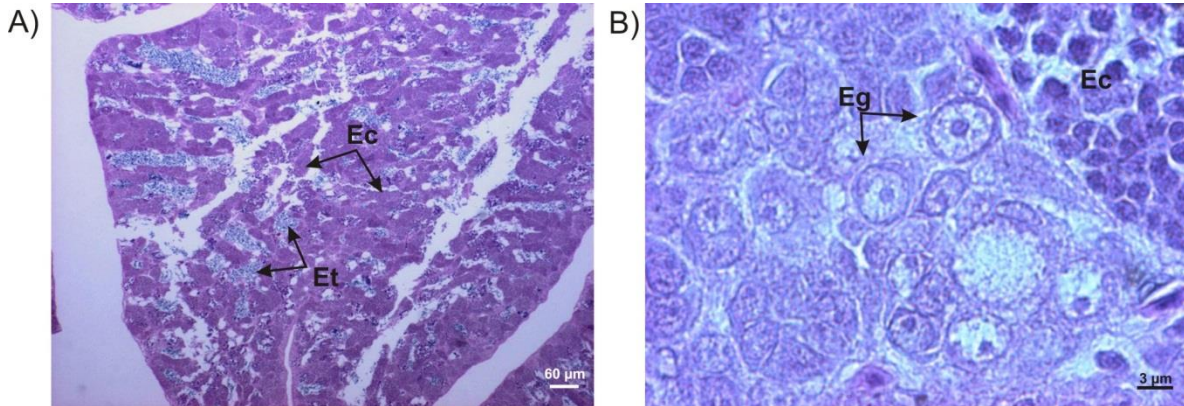


Figura 8.- Microfotografía de macho del híbrido *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*. A) tejido testicular con presencia de espermatoцитos (Ec) y espermátidas (Et), B) acercamiento a las espermátogonias (Eg).

Otro hallazgo relevante fue la presencia de un individuo a los 626 DDE y 155 mm de longitud patrón. En este individuo se observaron espermatoцитos (*Es*), conteniendo en su interior espermatoцитos y espermátidas, células características del tejido testicular unidas, mediante un epitelio germinal continuo (*Epg*), a ovocitos perinucleolares, las cuales pertenecen a tejido ovárico. Además se pudo observar la presencia de un ovocito en atresia α (Fig. 9).

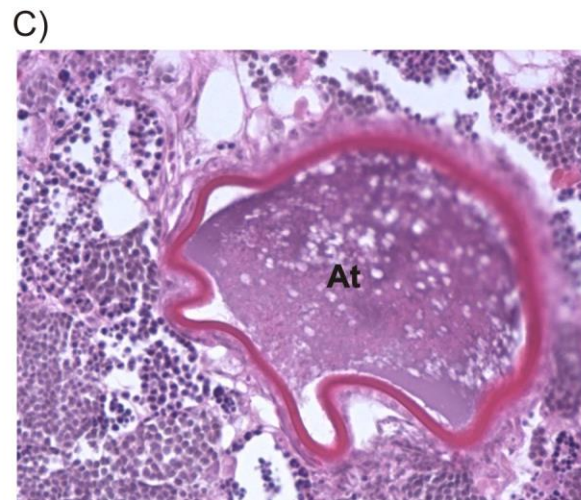
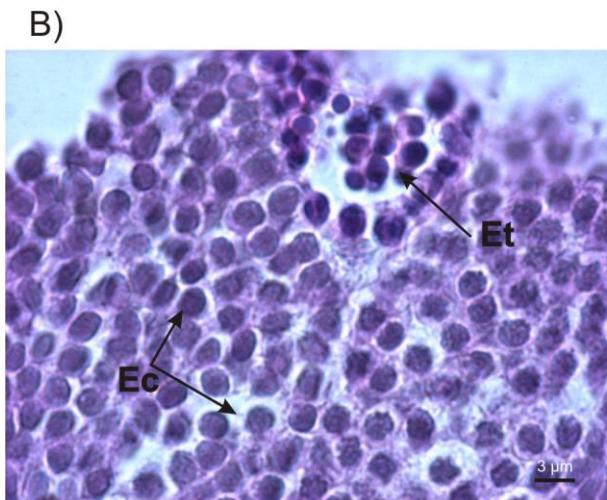


Figura 9.- Microfotografía de individuo híbrido de *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*. A) Testículo con presencia de espermatocistos (*Es*) y ovocitos en fase perinucleolar inicial (*Pi*) unido por epitelio germinal (*Epg*), B) espermatocitos (*Ec*) y espermatidas (*Et*), C) Ovocito en atresia α inmerso en el tejido testicular.

7.6.- Talla media de primera madurez sexual

Para la estimación de la talla de primera madurez sexual (T_m) se incluyó a hembras que presentaran estructuras histológicas (ovocitos vitelogénicos y núcleo migratorio) que permitiera clasificarlas como maduras, dichas hembras estuvieron dentro de un intervalo de tallas de 83 a 159 mm LP. Se estimó la T_m con un valor de 123.9 mm LP (Fig. 10).

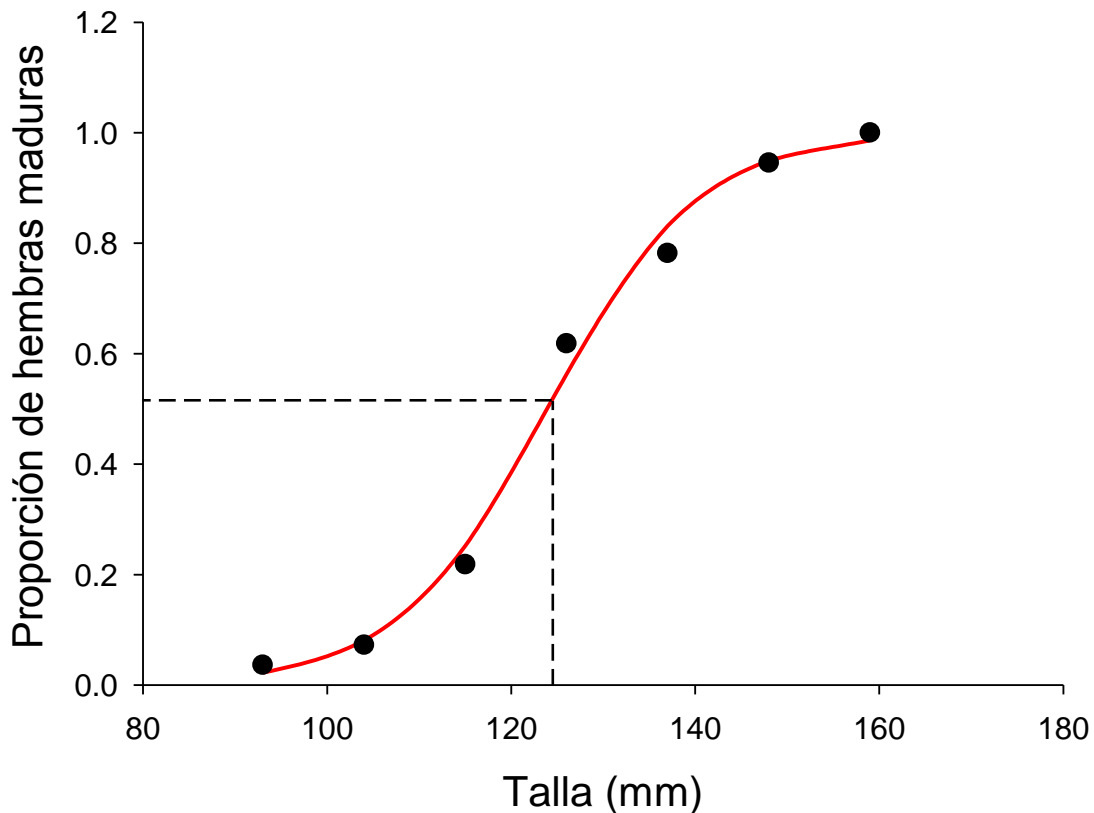


Figura 10. Modelo ajustado de la longitud de primera madurez (T_m) del híbrido *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*

7.7.- Indicadores reproductivos

Se obtuvieron los índices gonadosomático (IGS) y el hepatosomático (IHS) de febrero de 2013 a marzo de 2014, el análisis de varianza (ANOVA) mostro diferencias significativas tanto en el IGS, así como en el IHS entre los meses analizados ($P<0.05$). El IGS presentó un patrón ascendente donde el valor más alto correspondió al mes de octubre 2013 (IGS=2.8), mientras que el IHS se comportó de manera inversa, registrándose el máximo en agosto 2013 (IHS=3.28) (Fig. 11).

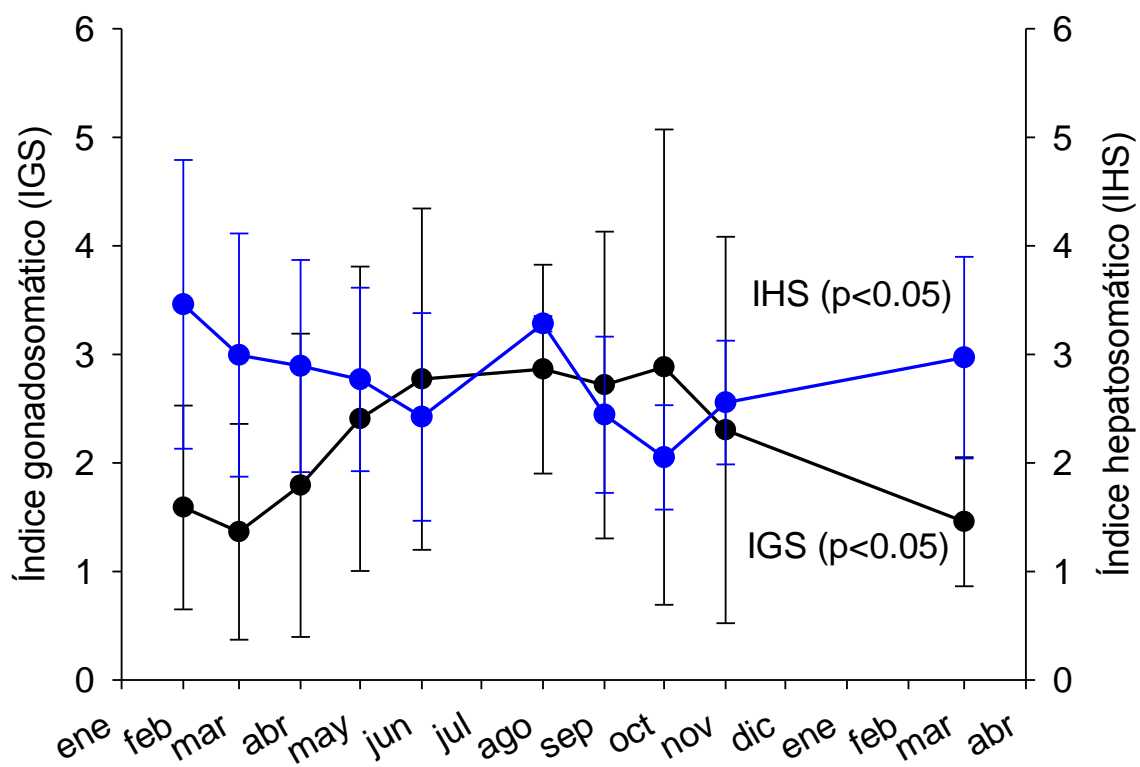


Figura 11.- Análisis de varianza del IGS Vs IHS del híbrido de *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*.

El análisis del IGS por clases de talla presentó dos máximos, el primero con un valor de IGS=3.13 entre los 127 y 137 mm LP; el segundo, entre los 138 y 148 mm LP (IGS=3.32). El valor mínimo (IGS=0.60) se presentó en individuos de 83 a 93 mm LP (Fig. 12A). Por otro lado, el IHS tuvo el valor máximo (IHS=3.77) en

peces de 94 a 104 mm LP y el valor mínimo de IHS=1.21 en peces de 83 a 93 mm LP (Fig. 12B).

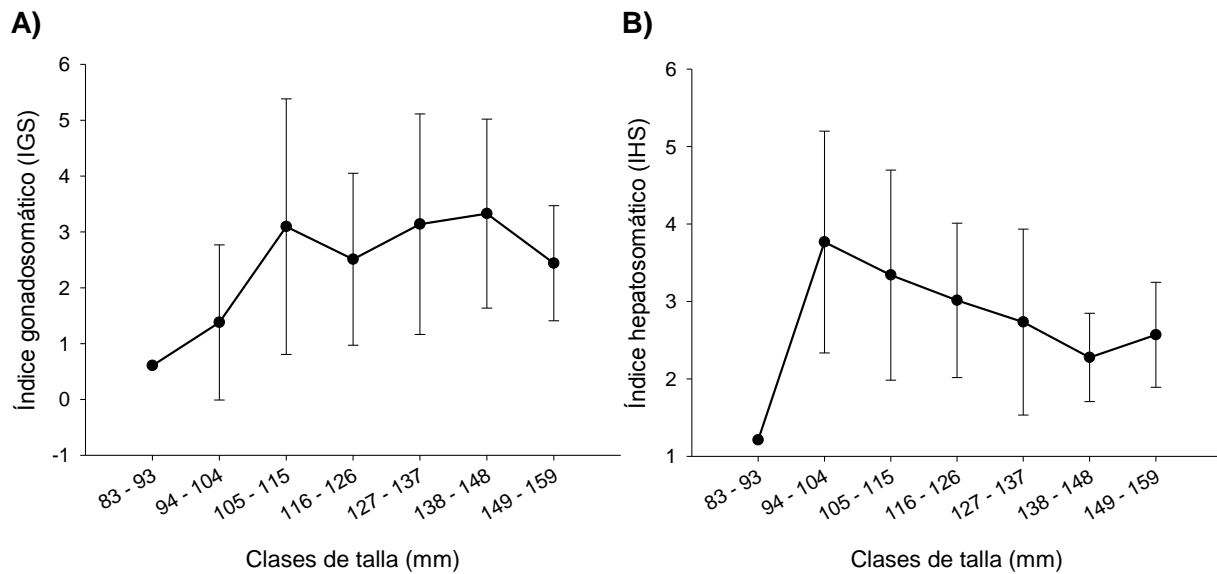


Figura 12.- Distribución del IGS (A) e IHS (B) por clases de talla del híbrido *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*

Al comparar el crecimiento de los ovocitos y el IGS por mes se puede observar que el incremento de ambos valores es simultaneo, excepto en agosto, donde el IGS presenta un valor bajo debido a que solo se obtuvo una muestra en ese mes (Fig. 13).

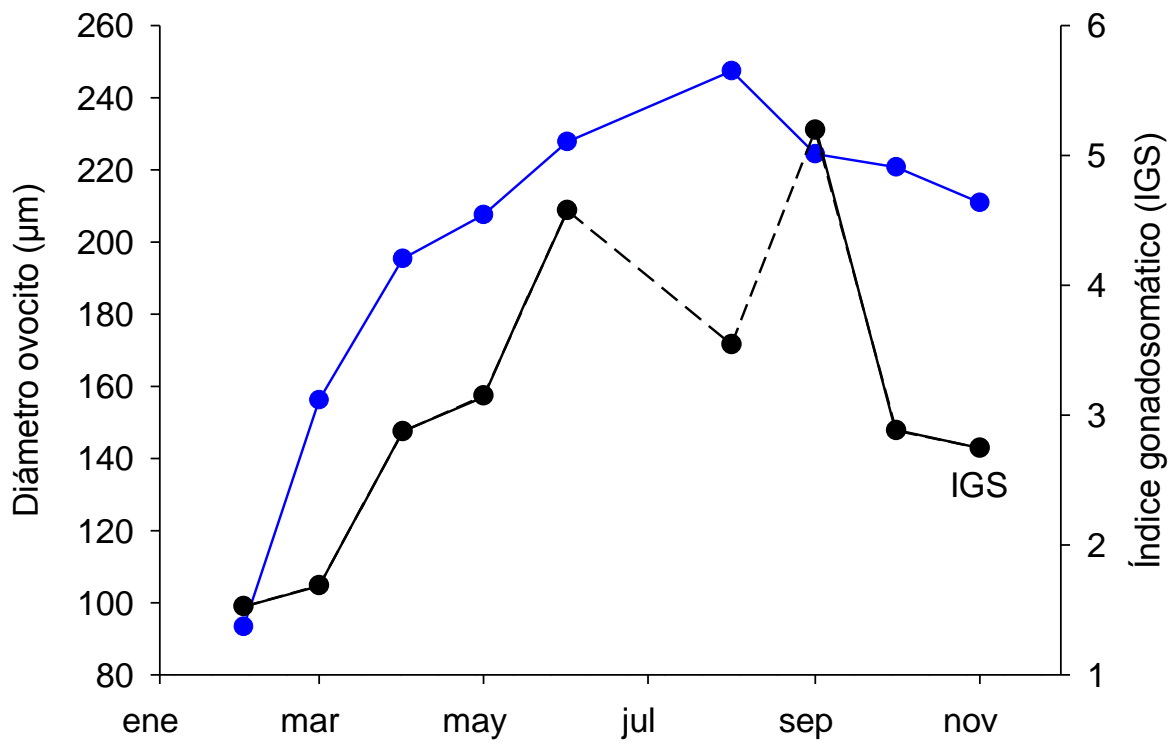


Figura 13.- Variación del diámetro de ovocitos e IGS del híbrido *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*.

8.- DISCUSIÓN

La familia Serranidae muestra una amplia gama de estilos reproductivos, abarcando gonocorismo (sexos separados) y hermafroditismo simultáneo, incluyendo protoginia (cambio de hembra a macho) y protandria (cambio de macho a hembra) aunque esta última, en condiciones controladas de laboratorio (Oda et al., 1993; Hovey & Allen, 2000; Sadovy & Domeier, 2005). Dentro de esta familia se encuentra *Paralabrax maculatofasciatus*, especie que ha sido objeto de diversos estudios enfocados en lograr su producción en cultivo, sin embargo debido a su precocidad sexual (Sánchez-Gallegos, 2007; Rosales-Velázquez, 2008), dada por su condición protogínica, no alcanza la talla comercial deseada. Por esta razón, se han empleado técnicas como la inducción sexual con hormonas y la triploidía, pero estas alternativas no han logrado solventar la problemática planteada (Alcantar-Vázquez, 2005; Rosales-Velázquez, 2008; Alcantar-Vázquez, 2010).

La hibridación es una técnica empleada en la acuicultura para obtener beneficios de la cruce de dos especies, lo que se conoce como vigor híbrido (Bartley, 2001; FAO, 2011). Entre las cualidades de esta técnica es la obtención de organismos con altas tasas de crecimiento, resistencia a enfermedades, condiciones ambientales extremas y en algunos casos esterilidad o poblaciones monosexo. Sobre esta base se realizó la cruce entre dos especies de serránidos, *P. nebulifer* y *P. maculatofasciatus* (Martínez-Brown, 2012), no obstante en este trabajo se caracteriza el sistema reproductor y la diferenciación sexual de este híbrido con el propósito de tener un manejo adecuado.

8.1.- Gametogénesis inicial

Con base en las observaciones histológicas de los individuos del híbrido de *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus* fue posible apreciar la cresta germinal a los 9.97 ± 0.23 mm LP a los 15 días después de la eclosión (DDE), localizados en la pared dorsal del cuerpo y sostenidas por una banda de tejido mesodérmico. La gónada indiferenciada, con células germinales primordiales (PGCs) en su

interior, se pudo observar a los 43 DDE en peces de 21 ± 3.22 mm LP; la diferenciación hacia ovario se observó en individuos a partir de los 44 mm LP.

Hallazgos similares reportó Sánchez-Gallegos (2007) en individuos de *Paralabrax maculatofasciatus* en cultivo, donde observó la cresta germinal a los 11.6 mm LP a los 32 DDE, con temperatura promedio de 23.4 °C; y con una gónada indiferenciada a una talla de 45.9 mm y hasta los 65.29 mm LP las células diferenciadas en ovogonias. Contrario a lo anterior, el desarrollo de estas estructuras en el híbrido se aprecian a una talla y edad más inicial; esto puede ser en respuesta a la temperatura, la cual se mantuvo en un promedio de 22.5 °C. Esto último concuerda con lo reportado por Lluch-Cota (1995), Nakamura *et al.* (1998), Ocampo-Cervantes (2002), Bogdanova (2004) y Mank *et al.* (2006), quienes señalaron que factores ambientales como la temperatura y el fotoperíodo pueden influir en la determinación sexual de los peces, por lo que deben ser especialmente cuidados cuando se pretenda realizar el cultivo de una especie en particular.

Por otra parte, Maack & Segner (2003), realizaron el seguimiento del desarrollo y diferenciación sexual del pez cebra (*Danio rerio*), en el cual detectaron las PGCs en la cavidad dorsolateral del cuerpo dos semanas después del desove. A las cuatro semanas diferenciaron ovogonias, nucléolo cromatina y perinucleolares. En la quinta semana el 90% de los peces presentaba una gónada de tipo ovárico, hasta la séptima semana se hallaron las primeras estructuras masculinas. Entre la semana 5 – 8 se encontraron alteraciones en la morfología ovárica, debido a la transformación de ovario a un testículo inicial, ya que esta especie es hermafrodita protogínica. Finalmente entre los 13 - 23 mm LT (8 semanas) 55% de los individuos presentaban ovarios bien diferenciados, el resto presentó espermatoцитos y espermáticas.

Este mismo patrón de desarrollo lo señala Bogdanova (2004) en *Coregonus lavaretus baeri*, un salmónido en el cual observaron las PGCs a los 30 DDE, a una talla de 0.17 ± 0.003 cm, y hasta los 82 DDE (4.5 ± 0.26 cm) la diferenciación a ovario. Después de 100 DDE (9.2 cm) detectaron individuos hermafroditas, sin

embargo los corégonidos son considerados gonocóricos y atribuyen este fenómeno a las altas temperaturas en el lago Chud.

Komatsu *et al.* (2006), describieron el proceso de diferenciación sexual en *Siganus guttatus* distinguiendo claramente un par de primordios gonadales a los 24 DDE, con una LT de 17.7 ± 0.2 mm. La diferenciación hacia ovario y hacia testículo de esta especie gonocórica se observó a los 31 DDE (20.3 ± 0.2 mm LT). Se apreciaron ovogonias y espermatogonias únicamente en el interior de estructuras como cordones sexuales. En peces de 129 a 157 DDE (145.6 ± 2.6 mm LT) se observó ovogénesis activa, caracterizada por la presencia de ovocitos perinucleolares. Por otro lado, en peces de 100 DDE (95.9 ± 2.0 mm LT) se hallaron testículos con proliferación espermatogénica. Esta especie difiere de otros teleósteos y del híbrido de este estudio, en algunos aspectos de su proceso reproductivo; por un lado el desarrollo de las gónadas se observó en la cavidad del lado ventral, mientras que en la mayoría de los peces este desarrollo se da en la cavidad celómica del lado dorsal. Otra diferencia significativa entre la especie estudiada por Komatsu *et al.* (2006) es la presencia de una estructura dual en la que células somáticas encierran a las células germinales (como cordones sexuales) y tejido somático rodeando dicha estructura. Además, los autores mencionan que las células germinales se produjeron y proliferaron en el interior de en estos cordones.

En un estudio realizado por Park *et al.* (2004) encontraron las PGCs de *Pseudobagrus fulvidraco* a los 3 DDE (7.8 mm LT), las PGCs presentaron una morfología alargadas, ovaladas y unidas por tejido conectivo. En el día 12 DDE (146 mm LT) se inició la diferenciación a ovario, pudiéndose observar ovocitos de 7 – 9 μ m de diámetro. A los 30 DDE (460 mm LT) se hallaron ovocitos perinucleolares de 40 a 50 μ m. Esta especie es gonocórica y la diferenciación hacia macho se observó cuando las espermatogonias se diferenciaron de las PGCs a los 20 DDE (230 mm LT). A los 100 DDE (984 mm LT) se encontró un incremento en las espermatogonias y espermatocitos así como la detección de los primeros espermatozoides.

En el presente estudio se observó que la gónada únicamente desarrolló hacia ovario y fue hasta los 148 y 185 mm LP (456 y 626 DDE, respectivamente) que se observó tejido testicular maduro, lo que podría sugerir la condición protogínica para este híbrido.

Nakamura *et al.* (1998) señalaron que, en especies gonocóricas, la diferenciación morfológica testicular es difícil de detectar, esto es porque las células germinales destinadas a convertirse en testículo permanecen en latencia por mucho tiempo, en *Anguilla japonica* por ejemplo, la transición de espermatogonia a espermatozoides se da antes de su migración reproductiva hacia el mar. Como se puede observar el patrón de desarrollo de las gónadas es similar en la mayoría de los peces óseos, los tiempos y tallas en que se manifiestan las diversas estructuras es particular de cada familia y pueden variar incluso dentro del mismo género o especie, por lo cual este seguimiento se debe realizar de manera independiente.

8.2.- Evaluación reproductiva

Al realizar el análisis de la estructura ovárica del híbrido *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus* se puede señalar que es del tipo cistovárico, dado que presentan una cavidad ovárica central, característica que ha sido señalada para los Actinopterygii más evolucionados (Hoar, 1957). De igual modo, el desarrollo ovárico que presenta es de tipo asincrónico, ya que se observaron ovocitos en todos los estadios de desarrollo, esta característica ha sido reportada para otros serránidos, tales como *Paralabrax clathratus* y las especies parentales del híbrido, *P. nebulifer* y *P. maculatofasciatus* (Hastings, 1989; Oda *et al.*, 1993; Lluch-Cota, 1995; Sergio-Ferreira, 1997; Hovey & Allen, 2000; Baca-Hovey *et al.*, 2002; Ocampo-Cervantes, 2002; Ochoa-Báez *et al.*, 2012). No obstante, Estrada-Godínez *et al.* (2011) reportaron para *Mycteroperca rosacea* un desarrollo ovárico de tipo sincrónico en grupos, lo cual hace evidente las diferencias del patrón reproductivo de las especies de esta familia.

De acuerdo con los estadios de desarrollo ovárico encontrados en el híbrido de *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*, estos fueron similares a los encontrados por Lluch-Cota (1995), quién reporto cinco estadios ováricos en *P. maculatofasciatus* en Bahía Magdalena, basándose en el tipo celular de ovocito más avanzado. El estadio 1 lo conformaron ovocitos mononucleolares, estadio 2 ovocitos polinucleolares, estadio 3 ovocitos en vitelogénesis incipiente, estadio 4 ovocitos en vitelogénesis avanzada (incluyendo migración nuclear) y estadio 5 ovocitos hidratados. Las características descritas fueron similares a las encontradas en este estudio, las mediciones del diámetro de los ovocitos no fueron realizadas, además la nomenclatura difiere debido a que el autor se basó en el estudio de Smith & Young (1966).

Ocampo-Cervantes (2002) describió tres fases de crecimiento de los ovocitos para la población de esta misma especie en la Bahía de la Paz; clasificándolas en crecimiento primario (I) donde incluyó ovogonias y ovocitos perinucleolares ($70.1 \pm 12.6 \mu\text{m}$); crecimiento secundario (II) lo conformaron ovocitos con alveolos corticales ($130.1 \pm 20.6 \mu\text{m}$), inclusiones lipídicas ($185.3 \pm 31.1 \mu\text{m}$), vitelogénesis inicial ($322.0 \pm 32.7 \mu\text{m}$), y vitelogénesis final ($480.0 \pm 56.5 \mu\text{m}$). La fase de hidratación-maduración (III) estuvo conformada por ovocitos en hidratación avanzada ($793.7 \pm 74.5 \mu\text{m}$). Los ovocitos del híbrido de este estudio en las primeras fases de desarrollo son de tamaño similar, sin embargo a partir del inicio de la vitelogénesis son de tamaño considerablemente menor.

La tendencia antes mencionada se pudo observar también en el trabajo realizado por Oda *et al.* (1993), quienes analizaron ovocitos de *P. clathratus*, *P. maculatofasciatus* y *P. nebulifer*. No obstante, la metodología empleada para la medición fue distinta, por lo que las diferencias encontradas por Ocampo-Cervantes (2002) y Oda *et al.* (1993) podría deberse a que en el presente estudio se calculó el diámetro teórico de los ovocitos con base en la metodología de Saout (1999). O bien, este fenómeno podría ser una consecuencia del proceso de hibridación, sin embargo, no existen estudios en los que se evalúe el diámetro de los ovocitos de otros híbridos y sus especies parentales para confirmarlo.

El análisis de la distribución de los ovocitos mostró un incremento consecutivo en el diámetro, así como diferencias significativas entre los estadios ováricos; Wallace & Sellman (1981), Tyler & Sumpter (1996) y Brown-Peterson *et al.* (2011) sugieren que la razón de dichas diferencias es porque durante el proceso de desarrollo, los ovocitos sufren una serie de cambios entre los que destaca la acumulación de vitelo y la aparición de gotas de aceite en el citoplasma de la célula, por ello los ovocitos presentan una fluctuación de tamaño en cada etapa y se observa una alta desviación estándar. Además, la vitelogénesis es el evento responsable por el enorme crecimiento de los ovocitos en muchos teleósteos y puede representar hasta un 95% del tamaño final del huevo.

Se estimó una talla media de madurez sexual (T_m) de 123.9 mm LP para el híbrido de *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus* utilizando un modelo logístico para su determinación, asimismo se detectaron individuos con inicios de madurez sexual a partir de los 83 mm LP. En contraste a lo encontrado en este trabajo, Borquez *et al.* (1988), señalaron que las hembras de *P. humeralis* alcanzan la primera madurez sexual a los 193 mm LP. Por otro lado, en el alto Golfo de California, Hastings (1989) encontró tallas mínimas de madurez sexual en *P. maculatofasciatus* de 92 mm LP para el caso de las hembras y de 102 mm LP para los machos. Para las costas de California, Oda *et al.* (1993) encontraron que la hembra funcional más pequeña de *P. maculatofasciatus* fue de 158 mm LP, de *P. nebulifer* 235 mm LP y *P. clathratus* 238 mm LP.

Lluch-Cota (1995) determinó la talla mínima de madurez para *P. maculatofasciatus* de la población de Bahía Magdalena, BCS. La hembra más pequeña que exhibió ovocitos vitelogénicos alcanzó una talla de 65 mm LP, sólo un poco mayor que la hembra más pequeña observada, un ejemplar inmaduro de 62 mm LP, mientras que el macho más pequeño con actividad espermática y capacidad de eyaculación fue de 61 mm LP. Ochoa-Báez *et al.* (2012) calcularon la talla de primera madurez para la población de la Bahía de La Paz de ambos sexos de esta especie en 161.2 ± 24.6 mm de LP. La similitud de estos valores puede atribuirse a que algunas de las especies de la subfamilia Serraninae son

pequeñas y su longevidad es baja (2 a 6 años) por lo que alcanzan la madurez sexual a tallas y edades iniciales (Thresher, 1984; Petersen, 2006; Ochoa-Báez *et al.*, 2012).

8.3.- Indicadores reproductivos

Los valores del índice gonadosomático (IGS) encontrados en el híbrido analizado en el presente trabajo, fluctuaron entre 0.61 a 3.3, donde el valor máximo (3.32) lo obtuvieron peces entre 138 y 148 mm de LP. Estos valores se asemejan a los reportados por Ochoa-Báez *et al.* (2012) trabajaron con la población de *Paralabrax maculatofasciatus* de la Bahía de La Paz, reportaron los valores medios del IGS en un intervalo de 1 a 3, con valores extremos en diciembre y marzo (>6.0) y los mínimos (<1.0) de agosto a octubre de 1992. Asimismo individuos entre 200 y 260 mm tuvieron un valor medio del IGS (2.9 ± 1).

Los valores del IGS reflejaron un patrón ascendente lo cual coincidió con los registros del crecimiento en el diámetro de los ovocitos. Los valores más bajos del IGS se presentaron cuando los individuos se encontraban en estadio de inmadurez o desarrollo y los máximos valores cuando tuvieron capacidad de desove. Arias *et al.* (2006) encontraron relaciones similares en *Brycon amazonicus* y sugieren que el IGS es un buen indicador de la maduración gonadal. Del mismo modo, Clardy *et al.* (2014) señalaron que aunque los valores de IGS son buenos indicadores, el análisis histológico puede refinar y delinear con mayor precisión el desarrollo de la gónada, por lo que en este estudio la utilización de ambos métodos ofrece mayor seguridad para establecer el proceso de maduración gonádica.

Por otro lado, el índice hepatosomático (IHS) mostró un patrón inverso al del IGS, es decir los valores más altos se presentaron cuando la gónada estaba en estadio inmaduro y los más bajos cuando los ovocitos entraba en el proceso de vitelogénesis. Guraya (1994) y Morini *et al.* (2002) atribuyen esta tendencia a que el hígado acumula proteínas y lípidos como colesterol y triglicéridos, previo a la maduración, para posteriormente llevar a cabo la síntesis de vitelogenina, la cual

es transportada por medio del torrente sanguíneo hacia la gónada, donde pasara a formar parte del vitelo de los ovocitos en crecimiento. Después de registrarse la maduración de los ovocitos se observó que el IHS incremento nuevamente, mientras que el IGS decreció, esto sugiere el fin del periodo reproductivo y que la acumulación de nutrientes ya no se enfocan en el crecimiento de los ovocitos o proceso reproductivo en general.

Durante el proceso reproductivo se llevan a cabo cambios energéticos y bioquímicos considerables en los diferentes órganos de los peces teleósteos. En este sentido, el IGS y el IHS pueden dar una idea del estadio de madurez de los individuos.

8.4.- Patrón sexual

La asignación del patrón sexual es un aspecto de gran interés en la familia Serranidae y en particular en el género *Paralabrax*, ya que se han descrito especies tanto gonocóricas como hermafroditas. Sadovy & Shapiro (1987) establecieron que características fuertemente indicativas de protoginia son: una membrana central en la cavidad de los testículos, individuos en transición, ovocitos atrésicos en diferentes etapas en los testículos, sinusoides espermáticas en la pared gonadal, producción experimental de individuos de transición o de inversión sexual a través de manipulación del sistema social. Otros rasgos como la frecuencia de tallas bimodal, los machos son más grandes que las hembras, la proporción de sexos de la población esta sesgada hacia hembras, cuerpos amarillos y ovocitos en los testículos son atributos no específicos que pueden tener muchas causas, siendo la protoginia una de ellas. De la misma forma, las distribuciones de frecuencia de edad bimodales también son inespecíficos, pero tienen menos problemas de interpretación.

En el presente estudio se siguió histológicamente el desarrollo gonádico del híbrido *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus* desde los 15 hasta los 730 DDE observándose estructuras ováricas en la mayoría de los peces (n=196). Se detectó un macho de 124 mm LP (456 DDE) caracterizado por tejido testicular

maduro además de la presencia de lumen. Sadovy & Shapiro (1987) y Sadovy de Mitcheson & Liu (2008) señalaron que en la mayoría de las especies protogínicas, la gónada se desarrolla como ovario, sin ningún rastro de tejido testicular; generalmente el tejido ovárico desaparece durante o después de la reversión sexual. El testículo conserva el lumen y la forma lamelar del ovario, por lo que la presencia de esta estructura en el testículo es una fuerte evidencia presuntiva de un antiguo desarrollo femenino. Estos autores indican que para evaluar el origen ovárico de un testículo, este debe cumplir dos características: 1) la cavidad debe estar revestida y sin uso en el transporte de los espermatozoides y 2) los ovarios de las hembras en la población deben contener un lumen similar. En el testículo descrito anteriormente se pudo observar que el interior del lumen estaba vacío, sin presencia o evidencia de espermatozoides, asimismo la morfología del lumen en las hembras analizadas es similar.

De la misma forma se observó la gónada de un individuo de 155 mm LP (626 DDE), en ella se detectaron espermocitos, espermátidas y espermatozoides, células características del tejido testicular, además de lumen central, ovocitos previtelogénicos y en atresia. Sadovy & Shapiro (1987) y Sadovy de Mitcheson & Liu (2008) indicaron que la presencia de ovocitos no funcionales en los testículos puede obedecer a diferentes causas: 1) remanentes de un antiguo estado ovárico, 2) consecuencia de alguna variación ambiental, 3) resultado de una etapa bisexual temprana o femenina en la fase juvenil, o bien 4) ocurre ocasionalmente en muchas especies gonocóricas. Asimismo la presencia de ovocitos atrésicos en el testículo puede indicar la reversión sexual.

La cabrilla arenera (*Paralabrax maculatofasciatus*) ha sido ampliamente estudiada en términos reproductivos y ha sido señalada como gonocórica y hermafrodita protogínica desde la bahía de San Diego, Ca. hasta el Alto Golfo de California (AGC) (Hastings, 1989; Oda *et al.*, 1993; Lluch-Cota, 1995; Hovey & Allen, 2000; Ocampo-Cervantes, 2002; Ochoa-Báez *et al.* 2012), mientras que el verdillo (*P. nebulifer*) es clasificado como gonocórico funcional (Baca-Hovey *et al.*, 2002). No obstante, los peces catalogados como transformantes o bisexuales en

todos estos estudios han sido pocos (1 a 10 individuos), mientras que en el presente trabajo, los posibles machos derivados de la reversión sexual fueron dos (1% de la población analizada).

Al realizar el análisis de tallas de la población se encontró que la hembra más grande fue de 174 mm LP, en el caso de los machos la talla fue de 124 y 155 mm LP. Por lo que se observó, existe un traslape de tallas, pues existieron hembras de mayor y menor talla que los machos. En la población del AGC, Hastings (1989) reporta una marcada diferencia en las tallas, encontrando machos significativamente más grandes que las hembras. Lluch-Cota (1995) señaló la presencia de organismos en transformación sexual, la presencia de machos y hembras en todos los intervalos de tallas, dominando las hembras en las tallas menores y los machos en tallas mayores, además de la presencia de hembras que no se transformaron sexualmente. Ocampo-Cervantes (2002) reporta 10 individuos en transición, 5% del total de ejemplares capturados. 50% de los individuos presentaba tejido testicular en diferentes clases de actividad, con restos de ovocitos en estadio perinucleolar. Del total de las hembras, la talla mínima fue 168 mm LP, mientras que la talla máxima (232 mm LP) correspondió a un macho. Se observó una sobreposición de tallas en ambos sexos, pero señala una incidencia más alta de hembras en tallas menores a los 200 mm LP, mientras que los machos tienen tallas mayores a 200 mm SL.

Sadovy & Domeier (2005) analizaron el patrón sexual de cuatro especies del género *Paralabrax*, incluidas las especies parentales del híbrido bajo estudio. Con base en observaciones histológicas y de tallas, concluyeron que las cuatro especies son gonocóricas, ya que no existen evidencias suficientes para clasificarlas como hermafroditas, pero pasan por una fase bisexual no funcional en la etapa juvenil, por esta razón en los testículos se puede observar el lumen como un remanente de esta condición juvenil. Sadovy de Mitcheson & Liu (2008) señalaron que la protoginia está confirmada en dos géneros de la subfamilia Serraninae: *Centropristis* y *Chelidoperca*, cuatro géneros de la subfamilia Anthiinae: *Hemanthias*, *Hypoplectrodes*, *Pseudanthias* y *Sacura*, y cuatro géneros

de la subfamilia Epinephelinae: *Cephalopholis*, *Epinephelus*, *Mycteroperca* y *Plectropomus*.

En la presente investigación se mantuvieron a todos los peces a temperatura controlada (22.5°C) y bajo el mismo régimen alimentario (pellets), por lo que la influencia de estos factores en el desarrollo gonádico es mínima, más no es descartable. Debido a las estructuras encontradas en el híbrido y por los antecedentes mencionados, se puede señalar que el patrón sexual es el hermafroditismo protogínico, los machos mantienen el lumen, como una estructura de la etapa bisexual, por lo anterior el macho con ovotestis se clasifica como secundario, derivado de la transformación de una hembra, mientras que el otro individuo es catalogado como macho primario, lo cual establece la condición de diandría, reportada para *P. maculatofasciatus* en Bahía Magdalena (Lluch-Cota, 1995). Otra posible explicación a los hallazgos es que debido al proceso de hibridación, podría tratarse de una población monosexo, dada la baja incidencia de machos.

Con los resultados obtenidos en el presente experimento, se prevé la necesidad de realizar otros ensayos dirigidos a esclarecer las interrogantes derivadas de esta investigación, tal es el caso de evaluar el desarrollo de las tres especies (*Paralabrax nebulifer*, *P. maculatofasciatus* y el híbrido) simultáneamente, evaluar el efecto de la temperatura y la alimentación en el desarrollo de las gónadas, así como también la viabilidad de sus gametos.

8.5.- Hibridación en acuicultura

Desde la década de los 70's, la hibridación es una técnica empleada en acuicultura para obtener organismos con cualidades específicas y mejorar el rendimiento de la producción. En este sentido se espera que las especies híbridas mejoren la tasa de crecimiento con respecto a sus especies parentales, que se puedan producir poblaciones monosexo o bien exista esterilidad, obtener un buen sabor de la carne, resistencia a enfermedades y tolerancia a la manipulación y

condiciones extremas de cultivo (Chevassus, 1983; Bartley *et al.*, 2001; Rahman *et al.*, 2013).

En lo concerniente a aspectos de la manipulación sexual, la producción de animales estériles o poblaciones monosexo puede ser ventajoso para reducir la reproducción no deseada o para mejorar la tasa de crecimiento, evitando la canalización de la energía en la reproducción (Bartley *et al.*, 2001; Rahman *et al.*, 2013). Por lo anterior es necesario evaluar dicha condición en especies que tienen potencial para ser cultivadas, tal es el caso del híbrido de *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus*.

Park *et al.* (2003) reportaron la probable esterilidad del híbrido de *Pleuronectes ferrugineus* x *P. americanus* dado que en la evidencia histológica pudieron observar ovocitos y espermatoцитos de tamaño menor que el de las especies parentales a la misma edad (18 meses), además de abundante tejido mesenquimático. En contraste con lo anterior, Luin *et al.* (2013) determinaron que las gónadas (masculinas y femeninas) del híbrido de *Epinephelus fuscoguttatus* x *E. lanceolatus* alcanzan la madurez, y señalan que aún se debe analizar la viabilidad de sus gametos.

En el presente estudio se pudo observar que tanto los ovarios como los testículos de *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus* llegaron al estadio de madurez, además cerca de los 900 DDE se detectó un desove espontáneo, no obstante es necesario evaluar la calidad del desove, si los huevos han sido fertilizados, así como también continuar observando el desarrollo gonadal de los híbridos y otros parámetros que permitan señalar su fertilidad.

9.- CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en la presente investigación del híbrido de *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus* se establece que la migración de las células germinales primordiales (PGCs) comienza en organismos que alcanzan una talla aproximada de 10 mm LP, son estructuras pareadas en la región superior de la cavidad torácica, lo cual marca el inicio de la formación de las gónadas. Asimismo, se diferenciaron cuatro estadios gonádicos y el tipo de desarrollo es asincrónico, evidenciándose ovocitos en todas las fases de crecimiento. La talla media de madurez sexual (Tm) fue de 124 mm LP. Con respecto al IGS, coincidió con el crecimiento de los ovocitos por lo que se puede calificar como un buen indicador macroscópico de la madurez sexual. El IHS muestra una tendencia decreciente en relación con el IGS. El macho secundario con presencia de ovotestis, indica la condición de diandría. Finalmente, se concluye que el patrón reproductivo del híbrido de *Paralabrax nebulifer* x *P. maculatofasciatus* es el hermafroditismo protogínico.

10.- RECOMENDACIONES Y SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS

Con base en los resultados derivados de esta investigación, se pueden recomendar los siguientes puntos.

En una primera etapa:

1. Es necesario evaluar el desarrollo de las tres especies (*Paralabrax nebulifer*, *P. maculatofasciatus* y el híbrido) simultáneamente, para señalar semejanzas y diferencias en el desarrollo bajo las mismas condiciones de cultivo.
2. Se recomienda evaluar el efecto de la temperatura, el fotoperiodo, la densidad, la alimentación y otros factores que puedan influir en el desarrollo de las gónadas.
3. Es indispensable valorar la calidad del desove y si los huevos han sido fecundados, así como la viabilidad de los embriones.

En una segunda etapa:

4. Se recomienda realizar di híbridos a partir de la cruce de los híbridos y la retrocruza con ambos progenitores, con el fin de valorar su viabilidad, crecimiento y resistencia a enfermedades, para poder realizar una mejor selección con fines de cultivo.

Finalmente, en una tercera etapa:

5. Se recomienda el uso de técnicas histoquímicas o moleculares, tales como PAS y la identificación de gen vasa, que permitan la observación de la migración de las PGCs en las primeras fases del periodo larvario del pez.
6. Se sugiere realizar la certificación molecular del híbrido.

11.- LITERATURA CITADA

Aburto-Oropeza, O., B. Erisman, C. Valdez-Ornelas & G. Danemann. 2008. Serránidos de Importancia Comercial del Golfo de California: Ecología, Pesquerías y Conservación. *Ciencia y Conservación*, (1):1-23.

Alcantar-Vázquez, J.P. 2005. *Evaluación de tratamientos para inducir la triploidía en la cabrilla Paralabrax maculatofasciatus (Percoidei: Serranidae) mediante shock frío*. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., 75 p.

----- 2010. *Evaluación de los efectos de la triploidía en las diferentes etapas del desarrollo de la cabrilla arenera*. Tesis de Doctorado. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., 101 p.

Argue, B. J., Z. Liu & R. A. Dunham. 2003. Dress-out and fillet yields of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, blue catfish, *Ictalurus furcatus*, and their F1, F2 and backcross hybrids. *Aquaculture*, 228: 81-90.

Arias, C. J. A., E. Zaniboni-Filho & B. E. Aya. 2006. Indicadores del ciclo reproductivo del yamú *Brycon amazonicus*, en cautiverio. *Revista ORINOQUIA*, 10 (2): 24-34.

Arias, C.R., W. Cai, E. Peatman & S.A. Bullard. 2012. Catfish hybrid *Ictalurus punctatus* × *I. furcatus* exhibits higher resistance to columnaris disease than the parental species. *Dis. Aquat. Org.*, 100: 77-81.

Baca-Hovey, C., L.G. Allen & T.E. Hovey. 2002. The reproductive pattern of barred sand bass (*Paralabrax nebulifer*) from southern California. *Calif. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.*, 43: 174-181.

Bartley, D.M., K. Rana & A.J. Immink. 2001. The use of inter-specific hybrids in aquaculture and fisheries. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 10: 325-337.

Bogdanova, V. A. 2004. Early gametogenesis of the Volkhov whitefish, *Coregonus lavaretus baeri*. *Ann. Zool. Fennici.*, 41: 99-104.

Borques, R. A., A. Olivares P. & L. Tapia M. 1988. Estructura gonadal e inversión sexual de la "cabrilla común", *Paralabrax humeralis* Valenciennes, 1828 (Pices, Serranidae). *Estud. Oceanol.*, 7: 51-58.

Brown-Peterson, N. J., D. M. Wyanski, F. Saborido-Rey, B. J. Masewicz & S. K. Lowerre-Barbieri. 2011. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Marine and Coastal Fisheries*, 3(1): 52-70.

Chevassus, B. 1983. Hybridization in fish. *Aquaculture*. 33: 245-262.

Clardy, S. D., N. J. Brown-Peterson, M. S. Peterson & R.T. Leaf. 2014. Age, growth and reproduction of Southern Kinfish (*Menticirrhus americanus*): a multivariate comparison with life history patterns in other scienids. *Fish. Bull.* 112: 178-197.

CONAPESCA. 2013. [En línea]. <
http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/consulta_especifica_por_produccion> [Consulta: 25 de septiembre de 2013].

Cotter, P.A., S. R. Craig & E. Mclean. 2008. Hyperaccumulation of selenium in hybrid striped bass: a functional food for aquaculture. *Aquacult. Nutr.* 14: 215-222.

Díaz, N. F. & R. Neira. 2005. Biotecnología aplicada a la acuicultura I. Biotecnologías clásicas aplicadas a la reproducción de especies cultivadas. *Cien. Inv. Agr.*, 31 (1): 45-59.

DOF. 2010. Secretaría de Agricultura, Ganadería Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Acuerdo mediante el cual se da a conocer la actualización de la Carta Nacional Pesquera. Jueves 2 de diciembre de 2010. 93 p.

Ericsson, D. L., J. E. Hightower & G. D. Grossman. 1985. The relative gonadal index: an alternative index for quantification of reproductive condition. *Comp. Biochem. Physiol.*, 81: 117-120.

Erisman, B. E. & L. G. Allen. 2006. Reproductive behaviour of a temperate serrinid fish, *Paralabrax clathratus* (Girard), from Santa Catalina Island, California, U.S.A. *J. Fish Biol.*, 68: 157-184.

Estrada, F. E. & M. C. Uribe A. 2002. Atlas de histología de vertebrados. UNAM, 222 p.

Estrada-Godínez, J. A., M. Malodano-García, B. Gracia-López & M. Carrillo. 2011. Ciclo reproductivo de la cabrilla sardinera *Mycteroperca rosacea* en la Bahía de La Paz, Mexico. *Ciencias Marinas*, 37 (4): 425-441.

FAO. 2011. Nuevo Glosario de Biotecnología. [En línea]. <<http://www.fao.org/cofi/31369-09352ab5fa40e34457cbe6204194fdfcb.pdf>> [Consulta: 09 de septiembre de 2012].

Guraya, S. S. 1994. Gonadal development and production of gametes in fish. *Proc. Indian Natn. Sci. Acad.*, B60 (1): 15-32.

Hastings, P. A. 1989. Protogynous hermaphroditism in *Paralabrax maculatofasciatus* (Pisces: Serranidae). *Copeia*, 1989 (1): 184-188.

Hoar, W. S. 1957. The gonads and reproduction. En: Brown, M E (Ed), *Physiology of Fishes*. Vol 1. Academic Press, New York, pp 287-321.

Hovey, T.E. & L.G. Allen. 2000. Reproductive patterns of six populations of the spotted sand bass, *Paralabrax maculatofasciatus*, from southern and Baja California. *Copeia*, 2000: 459-468.

James, C.M., S.A. Al-Thobaiti, B.M. Rasem & M.H. Carlos. 1999. Potential of grouper hybrid (*Epinephelus fuscoguttatus* x *E. polyphkadion*) for aquaculture. *Naga, the ICLARM Quart.*, 22(1): 19-23.

Kardong, K. V. 2009. *Vertebrates: Comparative Anatomy, Function, Evolution*. 5th Ed. New York: McGraw-Hill. 779 p.

King, M. 1995. Reproduction and recruitment, 151-165.. En King, M. (Ed.), Fisheries Biology, Assessment and management. Fishing News Books, Oxford.

Komatsu, T., S Nakamura & M. Nakamura. 2006. A sex cord-like structure and some remarkable features in early gonadal sex differentiation in the marine teleost *Siganus guttatus* (Bloch). J. Fish Biol., 68: 236-250.

Kossowski, C. 2001. Hibridación del bagre zamurito *Calophrys macropterus* (Pisces, Pimelodidae). *Bioagro*, 13(2): 71-77.

Lluch-Cota, D. B. 1995. *Aspectos reproductivos de la cabrilla arenera, Paralabrax maculatofasciatus (Pisces: Serranidae) en Bahía Magdalena-Almejas, Baja California Sur, México*. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., 116 p.

Lluch-Cota, S.E., E. A. Aragón-Noriega, F. Arreguín-Sánchez, D. Auriol-Gamboa, J. Bautista-Romero, R. C. Brusca, R. Cervantes-Duarte, R. Cortés-Altamirano, P. Del-Monte-Luna, A. Esquivel-Herrera, G. Fernández, M.E. Hendrickx, S. Hernández-Vázquez, H. Herrera-Cervantes, M. Kahru, M. Lavín, D. Lluch-Belda, D. Lluch-Cota, J. López-Martínez, S. G. Marinone, M.O. Nevárez-Martínez, S. Ortega-García, E. Palacios-Castro, A. Parés-Sierra, G. Ponce-Díaz, M. Ramírez-Rodríguez, C.A. Salinas-Zavala, R. A. Schwartzlose & A.P. Sierra-Beltrán. 2007. The Gulf of California: Review of ecosystem status and sustainability challenges. *Prog. Oceanogr.*, 73:1–26.

Luin, M., C. Fiu & S. Senoo. 2013. Sexual maturation and gonad development in Tiger Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) x Giant Grouper (*E. lanceolatus*) hybrid. *J. Aquaculture Research Development*, 5(2): 1-5.

Maack G. & H. Segner. 2003. Morphological development of the gonads in Zebrafish. *J. Fish Biol.*, 62: 895-906.

Martínez-Brown, J. M. 2012. *Hibridación como un mecanismo de cambio de trayectorias ontogénicas: comparación de la ontogenia de Paralabrax*

maculatofasciatus, *P. nebulifer* (Serranidae) y la de sus híbridos. Tesis de Doctorado. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., 150 p.

Mason, T.J. & C. G. Lowe. 2010. Home range, habitat use, and site fidelity of barred sand bass within a southern California marine protected area. *Fish. Res.*, 106: 93–101.

McKinzie, M.K., E.T. Jarvis & C.G. Lowe. 2014. Fine-scale horizontal and vertical movement of barred sand bass, *Paralabrax nebulifer*, during spawning and non-spawning seasons. *Fish. Res.*, 150: 66– 75.

Méndez-Marín, O. 2008. *Estudio morfológico de los ciclos ovárico y testicular del pejelagarto, Atractosteus tropicus, en el Estado de Tabasco, México.* Tesis de Maestría. UJAT, Villahermosa, Tab., 108 p.

Morini, Q. M. V., E. Querol & N. N. Adolpho G. 2002. Gonadal condition factor, hepatosomatic index and recruitment as indicators of reproductive period of *Loricariichthys platymetopon* (Osteichthyes, Loricaridae), médium Uruguay river basin, South of Brazil. *Iheringia, Sér. Zool.*, 92(3): 79-84.

Muñeton-Gomez, M., R.I. Ochoa-Báez & R. Torres-Villegas. 1989. Valoración de la inclusión doble alginato-parafina aplicada para estudios histológicos en larvas de peces. *Inv. Mar. CICIMAR*, 4 (2): 281-284.

Nakamura, M., T. Kobayashi, x. Chang & Y. Nagahama. 1998. Gonadal sex differentiation in teleost fish. *The Journal of Experimental Zoology*, 281: 362-372.

Ocampo-Cervantes, J. A. 2002. *Desarrollo gonádico y actividad reproductiva de la cabrilla arenera Paralabrax maculatofasciatus (Teleostei: Serranidae) en la Bahía de La Paz, Baja California Sur.* Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., 78 p.

Ochoa-Báez, R.I., J.R. Torres-Villegas & J.A. Ocampo-Cervantes. 2012. Estacionalidad reproductiva de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Teleostei: Serranidae) en la Bahía de la Paz, B.C.S. México, 74-102. En: *Anguas-*

Velez, B. (Ed.) *Biología y Pesquería de la cabrilla Paralabrax maculatofasciatus*. Ed. Verlag Editorial Académica Española; Alemania.

Oda, D.L., R.J. Lavenberg & J.M. Rounds. 1993. Reproductive biology of three California species of *Paralabrax* (Pisces: Serranidae). *Calif. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.*, 34: 122-132.

Palmiter R. D, R. L. Brinster, R. E. Hammer, M. E. Trumbauer, M. G. Rosenfeld, N. C. Birnberg & R. M. Evans. 1982. Dramatic growth of mice that develop from eggs micro-injected with Metallothioneine-growth hormone fusion genes. *Nature*, 300: 611-615.

Park, I-S, Y. K. Nam, S. E. Douglas, S. C. Johnson & D. S. Kim. 2003. Genetic Caraterization, morphometrics and gonad development of induced interespecific hybrids between yellowtail flounder, *Pleuronectes ferrugineus* (Storer) and Winter flounder, *Pleuronectes americanus* (Walbaum). *Aquac. Res.*, 34: 389-396.

Park, I., J. Kim, S. H. Cho & D. S. Kim. 2004. Sex differentiation and hormonal sex reversal in the bagrid catfish *Pseubagrus fulbidraco* (Richardson). *Aquaculture*, 232: 183-193.

Petersen, C.W. 2006. Sexual selection and reproductive success in hermaphroditic seabasses. *Integr. Comp. Biol.*, 46(4): 439-448.

Phillips, C.R., D.J. Heilprin & M.A. Hardt. 1997. Mercury accumulation in Barred Sand Bass (*Paralabrax nebulifer*) near a large wastewater outfall in the Southern California Bight. *Mar. Pollut. Bull.*, 34 (2): 96-102.

Pondella II, D. J., M. T. Craig & J. P. C. Franck. 2003. The Phylogeny of *Paralabrax* (Perciformes: Serranidae) and allied taxa inferred from partial 16S and 12S mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 29: 176-184.

Rahman, M. A., A. Arshad & F. Md. Yusoff. 2013. The potentials of inter-specific hybrids in fin fish aquaculture, 135-138. 2nd International Conference on

Environment Agriculture and Food Sciences (ICEAFS'2013) August 25-26. Kuala Lumpur (Malaysia).

Roberts, D. A., E. E. De Martini & K.M. Plummer. 1984. The feeding habits of juvenile-small adult barred sand bass (*Paralabrax nebulifer*) in nearshore waters off northern San Diego County. Cal. Coop. Ocean. Fish., 25: 105-111.

Rosales-Velázquez, M.O. 2008. *Efecto de la 17 alfa-metiltestosterona en la diferenciación sexual de juveniles de Paralabrax maculatofasciatus (Steindachner, 1868) (Teleostei: Serranidae)*. Tesis de Doctorado. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., 104 p.

Sadovy de Mitcheson, Y. & M. Liu. 2008. Functional hermaphroditism in teleosts. Fish and Fisheries, 9:1-43.

Sadovy, Y. & D. Y. Shapiro. 1987. Criteria for the Diagnosis of Hermaphroditism in Fishes. *Copeia*, 1987 (1): 136-156.

Sadovy, Y. & M. L. Domeier. 2005. Perplexing problems of sexual patterns in the fish genus *Paralabrax* (Serranidae, Serraninae). J. Zool., 267: 121-133.

Sánchez-Gallegos, J. 2007. *Organogénesis del sistema reproductor de la cabrilla arenera Paralabrax maculatofasciatus (Percoidei:Serranidae) desde larva hasta juvenil*. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., 63 p.

Saout, C., C. Quéré, A. Domval, Y. Paulet & J. Samain. 1999. An experimental study of the combined effects of temperature and photoperiod on reproductive physiology of *Pecten maximus* from the bay of Brest (France). Aquaculture, 172: 301-314.

Sergio-Ferreira, A. N. 1997. *Ciclo reproductivo de hembras de Paralabrax maculatofasciatus (Steindachner, 1868) y su importancia para la acuicultura*. Tesis de Maestría. UABCS. La Paz, B.C.S., 94 p.

Sheehan, D.C. & B.B. Hrapchak. 1980. Theory and Practice of Histotechnology. 2nd ed. St. Louis, MO: Mosby Co. 151 p.

Smith, T.I.J. 1988. Aquaculture of stripped bass and its hybrids in North America. *Aquacult. Mag.*,14: 40-49.

Thresher, E. R. 1984. Reproduction in reef fishes. T.F.H. Publications. U.S.A., 399 pp.

Tyler, C. R. & J.P. Sumpter. 1996. Oocyte growth and development in teleosts. *Reviews in Fish Biol. Fish.*, 6: 287-318.

Wallace, R. A. & K. Selman. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Am. Zool.*, 21(2): 325-343.

Wang, X. K.E. Ross, E. Saillant, D.M. Gatlin III & J.D. Good. 2006. Quantitative genetics and heritability of growth-related traits in hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*). *Aquaculture* 261: 535-545.

Zar, J.H. 2010. *Biostatistical Analysis*. Pearson Prentice-Hall, New Jersey, 944 p.