

SEGUIMIENTO DE LA MADUREZ SEXUAL DE REPRODUCTORES DE PARGO LUNAREJO (*Lutjanus guttatus*) EN DOS SISTEMAS DE CULTIVO EN EL PACIFICO COLOMBIANO
Centro de Investigaciones Educacion Y Recreacion San Martin de Pajarales -CEINER SAS-
Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca -AUNAP
28 diciembre de 2021

RESUMEN

En el marco del **Convenio de Cooperación de Actividades Científicas y Tecnológicas N° 288 de 2021 entre la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca – AUNAP - Centro de Investigaciones Educación y Recreación San Martín de Pajarales – CEINER**. Se conformaron dos stocks de reproductores de pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) que fueron cultivados en sistemas de cultivo tipo jaula flotantes (JF) y tanque de recirculación (TR) para evaluar el proceso de maduración de estos ejemplares. Bajo las condiciones de ambos tratamientos se evidenciaron patrones de maduración lentos en las hembras e incompletos en machos. Los ejemplares hembra que fueron inducidos hormonalmente no mostraron consolidar una nueva maduración y los machos llegaron desarrollar una poca cantidad de semen. El control de esta variable es de suma importancia en la consolidación de una técnica sostenible para producir alevinos, por tanto, se hace necesario diseñar procesos que involucren el control de la temperatura, salinidad, fotoperiodo y alimentación.

1. INTRODUCCIÓN

El pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) es una especie demersal, que habita los arrecifes costeros hasta los 30 mt de profundidad. En estado juvenil, se le puede ver formado grandes cardúmenes en estuarios y la boca de los ríos. Su rango de distribución abarca desde el Golfo de California, México hasta Perú (Arrellano – Martínez, *et al.*, 2001). En la región Pacífica colombiana, es de las especies más capturadas en la pesca artesanal (Correa – Herrera y Jiménez – Segura, 2013), y se considera como un recurso de alto valor económico, pero que, en los últimos años, ha mostrado reducciones en las tasas de capturas a causa de la sobre pesca (Soto – Rojas, *et al.*, 2009). La Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP), desde hace varios años, viene apoyando la iniciativa de cultivo de esta especie en inmediaciones del corregimiento de Juanchaco en la Bahía de Málaga. En la estación marina AUNAP Bahía Málaga, se viene adelantando un proceso de investigación, que tiene como propósito afianzar técnicas para la producción de alevinos. Dentro de las características que han puesto a esta especie como candidata para operaciones de cultivo, se encuentran algunas relacionada con la importancia de la especie dentro de la economía de las comunidades costeras, sin embargo, el valor y la gran demanda de su carne, las tasas altas de crecimiento y supervivencia y la obtención de desoves en condiciones controladas, son los indicadores que busca la acuicultura para aumentar el portafolio de especies producidas (Alvarez – Lajonchere y Ibarra – Castro, 2013). Por tal razón, la continua investigación en los procesos reproductivos sería uno de los principales cuellos de botella a solucionar. El presente trabajo, se centra en establecer el patrón de maduración del pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) en sistemas de cultivo tipo jaula flotante (JF) y sistemas de recirculación (TR), en la estación marina AUNAP Bahía Málaga Pacífico colombiano.

2. ÁREA DE ESTUDIO

El Pacífico colombiano, cuenta con una extensión oceánica 339.500 km² y 1.580 km de línea costera, abarcando los departamentos de Chocó, Valle del Cauca y Nariño. Hacia el norte (75° 28' N) limita con la hoya del río Juradó, hacia el sur (0° 14' N) con el río Guaitará, afluente del río Patía y en la parte este (75° 51' W) limita con el nacimiento del río San Juan y al oeste (79° 02' W) con la desembocadura del río Mira en cabo Manglares (Tejada et al., 2003). Dentro de las principales bahías de esta región del país se ubican en el departamento del Valle del Cauca, iniciando con Buenaventura (3° 57' 08''N – 77° 00' 00''W) al occidente, Tumaco hacia el suroccidente y Bahía Málaga hacia el norte (Celis et al., 2008). Al interior de la Bahía de Málaga, se encuentra la estación marina AUNAP Bahía Málaga, epicentro de la investigación en pargo lunarejo (*L. guttatus*) y donde actualmente se desarrolla procesos de reproducción y larvicultura de esta especie. Las condiciones climáticas que rigen esta zona son afectadas por la Zona de Convergencia Intertropical (ZCIT), presentando vientos variables – débiles con altos niveles de precipitaciones entre los meses de marzo – abril y septiembre – noviembre, con promedio de precipitación anual de 6000 mm, temperatura entre 25 – 27 °C y humedad relativa del 90 % (Cordoba y Giraldo, 2014). Los periodos de marea alta y baja ocurren cada 12 a 15 días. Durante los primeros 15 días del mes, el nivel alcanza un máximo y un mínimo en un intervalo de tiempo de 4 a 6 horas y su desplazamiento es mucho mayor (Puja). Al finalizar este periodo, se presenta un desplazamiento mucho menor del volumen de agua, siguiendo la misma dinámica (Queiebra) (Figura 1).

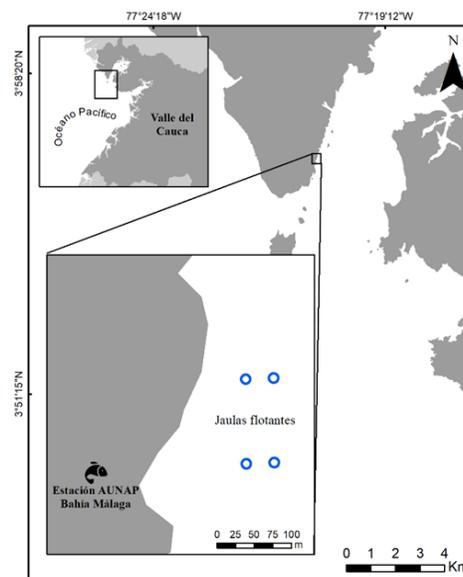


Figura 1. Ubicación de la estación marina AUNAP Bahía Málaga Pacífico colombiano

3. METODOLOGÍA

3.1. Animales de experimentación

Reproductores potenciales de pargo lunarejo (*L. guttatus*), fueron capturados por pescadores artesanales en caladeros cercanos a la población de Juanchaco, utilizando línea de mano como arte de pesca en puntos con profundidad no mayor a 30 mt. El transporte hasta la estación marina AUNAP Bahía Málaga, se realizó en el vivero de la embarcación con agua de mar del lugar, el cual, y se realizaron recambios periódicos durante el trayecto (Figura 2). Los ejemplares recién ingresados, fueron puestos en tanques de 4 tn, con recambio y aeración continua por 24 horas. Pasado este tiempo, cada ejemplar fue sedado con aceite de clavo a concentración de 10 ppm, y se ingresados,

fueron puestos en tanques de 4 tn, con recambio y aeración continua por 24 horas. Pasado este tiempo, cada ejemplar fue sedado con aceite de clavo a concentración de 10 ppm, y se procedió a introducir un microchip a nivel de la 3 espina de la aleta dorsal (Figura 3). El sexo del animal fue determinado por la observación de la papila, en el caso de las hembras, estas muestran un pliegue transversal entre el conducto urinario y el ano. Utilizando una cánula, se extrae una muestra de material gonadal, que es examinada al microscopio óptico. La maduración de los machos es determinada por la cantidad de semen expulsada al momento del masaje abdominal. Diariamente, los reproductores eran alimentados a saciedad con alimento húmedo (camarón, calamar y pescado) a saciedad.



Figura 2. Transporte y recepción de ejemplares silvestres de pargo lunarejo (*L. guttatus*) a las instalaciones de la estación marina AUNAP Bahía Málaga, Pacífico colombiano.



Figura 3. Procedimientos de medición peso – longitud y marcaje con microchip en ejemplares de pargo lunarejo (*L. guttatus*) silvestres que componen el stock de reproductores potenciales de la estación marina AUNAP Bahía Málaga, Pacífico colombiano.

3.1. Mantenimiento de reproductores de pargo lunarejo (*L. guttatus*) en dos sistemas de cultivo.

Un lote de 28 ejemplares de pargo lunarejo (*L. guttatus*), con peso promedio de $584,29 \pm 243,96$ gr y longitud total de $34,91 \pm 6,31$ cm, provenientes del medio natural, fue repartido en partes iguales,

en dos sistemas de cultivo. El primero, una jaula flotante (JF) de 8 mt de diámetro y 2 mt de profundidad efectiva, ubicada frente a la estación marina AUNAP Bahía Málaga, y el segundo, un tanque circular (TR) de 12 toneladas de capacidad con recambio y aeración continua. Todos los reproductores fueron previamente evaluados para determinar el sexo y su estado de maduración. Un total de 7 machos y 7 hembras fueron transferidos a JF y 5 machos y 9 hembras a TR.

3.2. Evaluación de maduración en reproductores de pargo lunarejo (*L. guttatus*), cultivados en sistemas de jaulas flotantes y sistemas de recirculación.

En intervalos mensuales, los reproductores fueron evaluados en términos de peso, longitud total y estado de madurez. El procedimiento de muestreo se realizó anestesiando el animal con aceite de clavo a concentración de 10 ppm. La maduración en machos se determinó por la presencia (maduro) o ausencia (inmaduro) de semen. La cantidad de semen fue clasificada como 1) poco abundante, 2) medianamente abundante y 3) abundante. Para el caso de las hembras, se extrajeron muestras de material gonadal con ayuda de una cánula y almacenadas en tubos eppendorff (Figura 4). Al momento de la revisión al microscopio óptico, se adicionaba 1 mL de agua de mar, para homogenizarla. En el objetivo de 5X con regla micrométrica, se realizaba un barrido de la muestra, midiendo los diámetros de la mayor cantidad de ovocitos posibles. Los diámetros fueron clasificados entre 250 550 micras en intervalos de 25 micras. Los ovocitos por debajo de 250 micras se consideraban como masas de huevos y por encima de 550 como fuera de tiempo.



Figura 4. Procedimientos para evaluar el estado de madurez sexual en reproductores de pargo lunarejo (*L. guttatus*) para procesos de inducción hormonal. Superior: ejemplar hembra. Inferior: ejemplar macho.

3.1. Análisis de la información

Los datos de peso y longitud total fueron almacenados en una matriz vertical para cada muestreo. La información obtenida de la evaluación de los ovocitos se consignaba en una matriz vertical, donde

se relaciona la trazabilidad de cada reproductor en el tiempo. momento de la revisión al microscopio optimo, se adicionaba 1 mL de agua de mar, para homogenizarla. En el objetivo de 5X con regla micrométrica, se realizaba un barrido de la muestra, midiendo los diámetros de la mayor cantidad de ovocitos posibles. Los diámetros fueron clasificados entre 250 550 micras en intervalos de 25 micras. Los ovocitos por debajo de 250 micras se consideraban como masas de huevos y por encima de 550 como fuera de tiempo.

4. RESULTADOS

Un total de 28 reproductores potenciales fueron evaluados entre los meses de septiembre a noviembre, en dos sistemas de cultivo. Tanto el tanque de recirculación (TR) como la jaula (JF), albergaron ejemplares machos y hembras que, en la primera evaluación, mostraron signos de maduración en diferentes grados. De los reproductores objetos de estudio, 5 hembras fueron inducidas al momento del ingreso, y al terminar el ensayo regresaron a su sistema de cultivo. Estos ejemplares, no registraron una nueva maduración, en ninguno de los sistemas de cultivo. El restante de las hembras ha mostrado un progreso en la composición de ovocitos en masas de 50 a 100 y máximo hasta 250 micras de diámetro. En el caso de los machos, muchos ingresaron en estado inmaduro, y al poco tiempo, se registró poca abundancia de semen. Los ejemplares que marcaron en la primera evaluación semen abundante se utilizaron en los ensayos de inducción, y tras el periodo de ensayo, se fue notando una disminución en la cantidad de material espermático hasta quedar completamente inmaduro.

En el tratamiento JF, los machos mostraron varios patrones de desarrollo. Algunos fueron regresiones de semen abundante hasta inmaduro, otros, fueron progresiones cortas que inician con poco semen y pasan por un periodo de inmadurez hasta llegar poco semen nuevamente. Las hembras de este tratamiento alcanzaron un máximo de desarrollo de masas de 250 micras (Tabla 1). En el tratamiento TR, se evidencio un patrón muy similar al TR. Las hembras después de los ensayos de inducción no mostraron signos de maduración, también se evidencia un aumento en el diámetro de los ovocitos, con máximo grado de maduración 250 micras. Un ejemplar macho mostro una progresión completa en el desarrollo, iniciando en inmaduro y terminando en semen medianamente abundante (Tabla 2).

Tabla 1. Seguimiento a la madurez sexual de reproductores de pargo lunarejo (*L. guttatus*) cultivados en condiciones de sistemas de jaulas flotantes, frente a la estación marina AUNAP Bahía Málaga Pacífico colombiano

CHIP	SEXO	20/09/21			4/10/21			20/10/21			23/11/21		
		PESO (gr)	LT (cm)	OBSERVACIÓN	PESO (gr)	LT (cm)	OBSERVACIONES	PESO (gr)	LT (cm)	OBSERVACIONES	PESO (gr)	LT (cm)	OBSERVACIONES
95688	MACHO	620	37,5	SEMEN ABUNDANTE	620	37,5	SEMEN ABUNDANTE	589	37	SEMEN POCO ABUNDANTE	556	36	SEMEN POCO ABUNDANTE
95700	HEMBRA	372	31		411	32	FUERA DE TIEMPO	494	32,5	INMADURA	459	32,5	OVOCITOS 500 MICRAS
95612	MACHO	1152	48,5	SEMEN POCO ABUNDANTE	1136	48	INMADURO	1159	47,5	INMADURO	1066	46,7	INMADURO
95682	HEMBRA	454	40	INMADURA	512	36	INMADURA	567	36	HUEVOS EN MASA	528	35,5	HUEVOS EN MASA DE 250 MICRAS
95631	MACHO	242	27	SEMEN POCO ABUNDANTE	253	27	INMADURO	266	21	INMADURO	271	27,3	INMADURO
95693	MACHO				702	39	SEMEN ABUNDANTE	720	37,3	INMADURO	770	38	SEMEN POCO ABUNDANTE
95616	MACHO				1191	34	SEMEN POCO ABUNDANTE	471	33,5	INMADURO	490	31	SEMEN POCO ABUNDANTE
95690	HEMBRA				1108	46	MADURA OVOCITOS BIEN FORMADOS SUeltos LIGERAMENTE OVALADOS 425 MICRAS 30%, 350 MICRAS 1%, 400 MICRAS 30%, 450 MICRAS 20%, 475 MICRAS PASADOS 2%, 375 MICRAS 7%. PROMEDIO: 412,5 MICRAS	1064	45,7	INMADURA	966	44,5	MASAS DE HUEVOS DE 250 MICRAS
95632	HEMBRA				889	43	INMADURA	860	42	INMADURA	900	42,5	HUEVOS EN MASA DE 50 MICRAS
95658	MACHO				474	34,5	SEMEN POCO ABUNDANTE	462	34	SEMEN MEDIANAMENTE ABUNDANTE	470	35	INMADURO
95649	HEMBRA				567	36,5	INMADURA	593	36,7	INMADURA	533	35,5	HUEVOS EN MASA DE 200 MICRAS
95620	MACHO				472	34,7	SEMEN POCO ABUNDANTE	462	34	INMADURO	480	35	SEMEN POCO ABUNDANTE
95652	HEMBRA				203	25,3	HUEVOS EN MASA	282	25	HUEVOS EN MASA DE 50 MICRAS	223	25,5	HUEVOS EN MASAS DE 100 A 150 MICRAS
95656	HEMBRA							343	30	INMADURA	436	33	HUEVOS EN MASA
PROMEDIO		568,0	36,8		656,8	36,4		595,1	35,2		582,0	35,6	
DS		354,1	8,3		329,4	6,6		271,1	7,1		250,8	6,0	
N		5	5		13	13		14	14		14	14	

Tabla 2. Seguimiento a la madurez sexual de reproductores de pargo lunarejo (*L. guttatus*) cultivados en condiciones de tanques de recirculación en la estación marina AUNAP Bahía Málaga Pacífico colombiano

CHIP	SEXO	20/09/21			4/10/21			20/10/21			23/11/21		
		PESO (gr)	LT (cm)	OBSERVACIÓN	PESO (gr)	LT (cm)	OBSERVACIONES	PESO (gr)	LT (cm)	OBSERVACIONES	PESO (gr)	LT (cm)	OBSERVACIONES
95644	MACHO	304	29	INMADURO	340	29	POCO SEMEN	340	29	POCO SEMEN	324	29,5	SEMEN MEDIANAMENTE ABUNDANTE
95689	MACHO							769	40	SEMEN ABUNDANTE	737	38,7	INMADURO
95653	HEMBRA	454	32	INMADURA	434	32	INMADURA	477	32	INMADURA	458	31,5	HUEVOS EN MASA DE 50 MICRAS
95701	HEMBRA	514	34	PROMEDIO OVOCITOS: 400 MICRAS	507	34	HUEVOS EN MASA DE 50 MICRAS	521	34	HUEVOS EN MASA 50 MICRAS	511	33,5	HUEVOS EN MASAS DE 100 MICRAS
95621	HEMBRA	839	41,5	MASA DE 50 MICRAS	832	41	HUEVOS EN MASA DE 50 MICRAS	822	40,5	HUEVOS EN MASA 50 MICRAS	852	40,7	HUEVOS EN MASA DE 50 MICRAS
95646	HEMBRA	411	32	PROMEDIO OVOCITOS: 400 MICRAS	402	32	INMADURA	432	32	INMADURA	434	31,5	HUEVOS EN MASA DE 50 MICRAS
95664	MACHO				973	45	SEMEN ABUNDANTE	980	46	INMADURO	951	43	INMADURO
95698	HEMBRA				748	40,5	HUEVOS EN MASA DE 200 MICRAS	862	40,3	HUEVOS EN MASA DE 200 MICRAS	842	40	HUEVOS EN MASAS DE 250 MICRAS
95634	HEMBRA				604	35,6	HUEVOS EN MASA DE 50 MICRAS	648	35,5	HUEVOS EN MASA 50 MICRAS	648	35,5	HUEVOS EN MASAS DE 100 MICRAS
95685	MACHO				426	34	SEMEN MEDIANAMENTE ABUNDANTE	442	33,5	SEMEN ABUNDANTE	446	33,5	INMADURO
95640	HEMBRA							338	29,5	OVOCITOS EN: 300 MICRAS 2,63%, 350 MICRAS 10,53%, 375 MICRAS 31,78%, 400 MICRAS 42,11%, 425 MICRAS 13,16%. PROMEDIO OVOCITOS: 387,12 MICRAS	310	30	INMADURA
95623	HEMBRA							551	30,3	OVOCITOS EN: 325 MICRAS 3,70%, 350 MICRAS 25,93%, 375 MICRAS 33,33%, 400 MICRAS 42,11%, MASAS 3,71% PROMEDIO OVOCITOS: 387,12 MICRAS	510	35	INMADURA
95694	HEMBRA							212	25,5	HUEVOS EN MASA 50 MICRAS	211	26	HUEVOS EN MASA 200 MICRAS
95692	MACHO							634	37,2	SEMEN ABUNDANTE	621	36,5	ABUNDANTE
PROMEDIO		504,4	33,7		585,1	35,9		573,4	34,7		561,1	34,6	
DS		202,2	4,7		219,7	5,2		223,3	5,6		222,7	4,8	
N		5	5		9	9		14	14		14	14	

5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Bajo condiciones de cautiverio, los peces pueden sufrir alteración en el proceso reproductivo, que pueden asociarse con el estrés producto del manejo, calidad de agua y alimentación (Mira *et al.*, 2010). Tanto en los machos como en hembras, se evidencian problemas donde no se alcanza la espermatogénesis ni la vitelogénesis (Fontaine, 1975). Dentro de un banco de reproductores, las hembras pueden llegar a ser las más afectadas. Su desarrollo puede iniciar la fase de vitelogénesis, pero al llegar a la puesta, se detiene la maduración final y los ovocitos se transforman en atrésicos (Larsson *et al.*, 1997). Las disrupciones más comunes en machos se asocian con la reducción en la cantidad de semen producido, viscosidad alta y baja motilidad de los espermatozoides (Vermeirssen *et al.*, 2000). Los patrones de maduración observados en el stock de referencia de pargo lunarejo (*L. guttatus*) sometido a dos condiciones de cultivo, mostró maduración lenta tanto en machos como en hembras, y en algunos casos incompleta. Este tipo de alteraciones, son producto de interrupciones en el funcionamiento del sistema endocrino por los altos niveles de cortisol en la sangre, que actúa como inhibidor de muchas hormonas que son fundamentales para completar el desarrollo de los gametos (Schreck *et al.*, 2001).

Otro patrón observado, se relaciona con los reproductores hembra que ingresaron a completar el stock, y que fueron aptos para los ensayos de inducción hormonal, por la presencia de altos porcentajes de ovocitos en tallas cercanas a 400 micras, sin embargo, tras el tratamiento con Gonadotropina coriónica (HCG) o el análogo de la hormona leutilizante (LHRHa), no se registraron desoves fértiles. Estos ejemplares, en posteriores evaluaciones no registraron maduraciones posteriores. Las inducciones con hormonas tienen efectos secundarios sobre la fisiología de los peces. Muchos de estos compuestos son de naturaleza peptídica, y el sistema inmune los reconoce como un cuerpo exógeno, y genera reacciones de neutralización exógena que hacen más susceptible al animal a factores de estrés, que retardan el ciclo de desarrollo gonadal (Tanaka *et al.*, 1995).

Los problemas de maduración son una limitante para la sostenibilidad de la producción en acuicultura, por el abastecimiento de alevinos (Rasines *et al.*, 2012), por lo tanto, es de suma importancia desarrollar protocolos óptimos para lograr la maduración en condiciones de cautiverio sin depender de las inducciones hormonales, mediante el control de factores de temperatura, salinidad, fotoperiodo y proporciones sexuales (Sato *et al.*, 1995). Por otro lado, también es de suma importancia el manejo del alimento. Incluir dentro del plan de alimentación, insumos ricos en proteínas y lípidos, con el fin de lograr una maduración más eficiente dentro de las condiciones actuales que brinda la estación marina AUNAP Bahía Málaga al stock de reproductores de pargo lunarejo.

6. CONCLUSIONES

No se observó un proceso de maduración continuó dentro del stock de pargo lunarejo (*L. guttatus*) conformado en la estación marina AUNAP Bahía Málaga cultivados en sistemas de recirculación y jaulas flotantes. Los ejemplares machos mostraron una recuperación parcial en la producción de semen y las hembras, muestran un desarrollo lento en las masas de huevos. Para futuras investigaciones, se hace necesario buscar nuevas alternativas para lograr madurar consecutivamente los reproductores y obtener desoves sin la utilización de hormonas. También es clave tratar de mejorar aspectos relacionados con la alimentación, en pro de mejorar los procesos de maduración del pargo lunarejo.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez – Lajonchere, L. y L. Ibarra – Castro. 2013. Aquaculture species selection method applied to marine fish in the Caribbean. *Aquaculture*, 408 – 409: 20 – 29.
- Arrellano – Martínez, M., A. Rojas – Herrera, F. García – Domínguez, B. P. Ceballos – Vázquez y M. Villalejo – Fuerte. 2001. Ciclo reproductivo del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* en las costas de Guerrero, México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 36 (1): 1 – 8.
- Celis, C., R. Casanova y G. Bastidas. 2008. Evaluación estadística del comportamiento espacio – temporal de los parámetros fisicoquímicos determinantes de la calidad del agua en el litoral Pacífico colombiano. *Boletín Científico CCCP*, 15: 91 – 104.
- Cordoba, D. y A. Grinaldo. (2014). Ensamble íctico en corrientes de aguas dulces de Isla Palma (Bahía Málaga, Pacífico colombiano). *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat.* 18(2): 111-124.
- Correa – Herrera, T. y L. F. Jiménez – Segura. 2013. Biología reproductiva de *Lutjanus guttatus* en el

- Parque Nacional Natural Utría, Pacífico colombiano. *Rev. Biol. Trop.*, 61 (2): 829 – 840.
- Fontaine, 1975. Physiological mechanism in the migration of marine and amphialine fish. *Adv. Mar. Biol.*, 13: 241 – 355.
- Larsson, D. G. J., C. C. Mylonas, Y. Zohar y L. W. Crim. 1997. Gonadotropin releasing hormone – analogue (GnRH –A) advances ovulation and improves the reproductive performance of a cold – wáter batch – spawning teleost the yellowtail flounder (*Pleuronectes ferrugineus*). *Can J. Aquat. Fish. Sci.*, 54: 1957 – 1964.
- Mira, T., M. Medina y P. Cruz. 2010. Evaluación de tres protocolos hormonales para la inducción de espermiación en yaque *Leiarius marmoratus*. *Rev. MVZ Córdoba*, 15(2): 2070 – 2077.
- Rasines, I., M. Gómez, I. Martin, C. Rodriguez, E. Mañanos y O. Chereguini. 2012. Artificial fertilization of Senegaleses sole (*Solea senegalensis*): hormone therapy administration methods, timing of ovulation adn viability of eggs retained in the ovarian cavity. *Aquaculture*, 326: 129 – 135.
- Sato, N., I. Kawazoe, Y. Shiina, K. Furukawa, Y. Suzuki y K. Aida. 1995. Anovel method of hormone administration for inducing gonadal maturation in fish. *Aquaculture*, 135: 51 – 58.
- Schreck, C. B., W. Contreras – Sánchez y M. S. Fitzpatrick. 2001. Effects of stress on fish reproduction, gametes quality and progeny. *Aquaculture*, 1997: 3 – 24.
- Soto – Rojas, R. L., F. Mejia – Arana, J. A. Palacios y K. Hiramatsu. 2009. Reproducción y crecimiento del pargo mancha *Lutjanus guttatus* en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 57 (1 – 2): 125 – 131.
- Tanaka, M., J. B. Tanangonan, M. Tagawa, E. G. de Jesus, H. Nishida, M. Isaka, R. Kimira y T. Hirano. 1995. Development of the pituitary thyroid and interrenal glands and applications of endocrinology to the improved rearing of marine fish larvae. *Aquaculture*, 135: 111 – 126.
- Tejada, C., L. Castro, A. Navarrete, T. Cardona, L. Otero, F. Afanador, A. Mogollón y W. Pedroza. 2003. Panorama de la contaminación marina del Pacífico colombiano. Centro de Control de Contaminación del Pacífico colombiano. Ed. DIMAR, Serie de publicaciones Especiales, Vol. 3, San Andrés de Tumaco. 120 p.
- Vermeirssen, E. L. M., R. Shields, C. Mazorra de Quero y A. P. Scott. 2000. Gonadotrophin releasing hormone agonistraises plasma concentration of progestogens and enhances milt flfluidity in male Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Fish. Physiol. Biochem.*, 22: 77 -87.