

MONITOREO DE LOS NIVELES DE TESTOSTERONA Y ESTRADIOL EN EL PLASMA SANGUÍNEO DE HEMBRAS DE PARGO PALMERO *LUTJANUS ANALIS* MANTENIDAS BAJO DOS TERMOPERIODOS DE ACONDICIONAMIENTO DIFERENTES

Fabio Castaño-Rivera y Julián Botero-Arango

RESUMEN

Dos grupos de pargos palmeros *Lutjanus analis* adultos capturados en el medio natural, cada uno compuesto por tres hembras y cuatro machos, fueron sometidos durante ocho meses a condiciones de temperatura y fotoperiodo controladas en el laboratorio para estimular su maduración sexual, que estaba en estado de latencia por efectos del confinamiento. El primer grupo se mantuvo bajo un ciclo artificial con manipulación de la temperatura y el segundo bajo un ciclo control donde este parámetro se dejó en condiciones naturales. Para el análisis de los niveles plasmáticos de testosterona (T) y estradiól (E_2) se tomaron muestras bimensuales de sangre a cada una de las hembras, recolectándose biopsias ováricas simultáneamente para registrar el diámetro medio de los oocitos. Al cabo de seis meses se hizo evidente un incremento en el diámetro medio de los oocitos en las tres hembras del ciclo artificial, el cual coincidió y se correlacionó con el aumento de los niveles de T y E_2 ($r = 0.62$ y 0.82 , respectivamente). En las hembras del ciclo control no se observó crecimiento de los oocitos. En los dos ciclos se observó que los niveles de T y E_2 se relacionaron con el fotoperiodo ($r = 0.84$ y $r = 0.61$), mientras que con la temperatura esta relación fue mucho menor, o incluso no significativa ($r = 0.40$ y $r = 0.20$). Se presentaron diferencias significativas ($P < 0.1$) entre los factores de condición (K) de los dos grupos, mientras que entre los niveles de T y E_2 no se presentaron diferencias. El presente trabajo constituye el primer reporte sobre el análisis de los niveles de esteroides sexuales durante el proceso de maduración gonadal en peces de la familia Lutjanidae sometidos a un ciclo artificial de acondicionamiento.

PALABRAS CLAVE: Pargo palmero, *Lutjanus analis*, Maduración sexual, Ciclo artificial de acondicionamiento.

ABSTRACT

Monitoring of testosterone and oestradiol levels in blood plasma of mutton snapper *Lutjanus analis* females maintained under two different thermoperiod conditioning cycles. Two groups of adult Mutton snapper fish *Lutjanus analis* captured in the wild, each one

of three females and four males, were kept during eight months under controlled temperature and photoperiod conditions in the lab in order to stimulate their sexual maturation which was in a state of latency because of the effects of confinement. The first group was maintained under an artificial cycle with temperature manipulation and the second under a control cycle, in which this parameter was left at natural conditions. Every two months blood samples from all females were taken for the analysis of plasma testosterone (T) and oestradiol (E_2) levels, taking ovarian biopsies simultaneously to register the mean diameter of the oocytes. After six months, a significant increase in the mean diameter of the oocytes of the three females of the artificial cycle was observed, with coincidence and statistic relationship with the increase in the T and E_2 ($r = 0.62$ y 0.82 respectively). No oocyte growth was observed in the females under the control cycle. In both, artificial and control cycles, T and E_2 levels showed a close relationship with photoperiod ($r = 0.84$ y $r = 0.61$) while temperature showed a lower or non significant relationship ($r = 0.40$ y $r = 0.20$). Statistical differences ($P < 0.1$) were found between the condition factors of the two groups, while the sexual steroids didn't show any differences between them. The present work constitutes the first report on the analysis of sexual steroid levels during the gonadal maturation process in fish of the Family Lutjanidae kept under an artificial conditioning cycle.

KEY WORDS: Mutton snapper; *Lutjanus analis*; Sexual maturation, Artificial conditioning cycle.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas que se presenta en la reproducción artificial de peces marinos de aguas tropicales es el de la reabsorción de sus gónadas o estado de latencia reproductiva que se produce por el estrés del cautiverio prolongado en el laboratorio. Este fenómeno, descrito en detalle en los trabajos de Campbell *et al.* (1994), Bromage (1995), Tucker (1998), Cleary y Pankhurst (2000) y Kubokawa *et al.* (1999), prácticamente obliga a obtener los desoves a partir de reproductores silvestres en estado de madurez, inyectados con hormonas inmediatamente después de su captura, antes de que se produzca la reversión gonadal. En circunstancias especiales donde esta estrategia no es posible, como es el caso de los laboratorios de la Corporación Centro de Investigación de la Acuicultura de Colombia - CENIACUA, donde por razones de bioseguridad no se pueden introducir reproductores silvestres sin someterlos antes a una prolongada cuarentena para evitar el contagio de los reproductores de camarón con posibles patógenos, se debe diseñar y poner en práctica un sistema o ciclo de acondicionamiento artificial donde se manipule la temperatura y el fotoperiodo en los tanques de los peces para estimular y reactivar su proceso de maduración gonadal. En los trabajos de Lam (1983), Munro (1990) y Sumpter (1990) se explica detalladamente la importancia de estas variables ambientales sobre la maduración, regulación y sincronización de los ciclos reproductivos en los teleósteos.

El comportamiento de los esteroides sexuales durante la gametogénesis y maduración gonadal y su relación con las variables medioambientales ha sido estudiado principalmente en peces de agua dulce, particularmente en salmónidos y ciprínidos (Blythe, *et al.*, 1994). Aunque existen algunas referencias que hacen mención a los esteroides en especies de aguas subtropicales y templadas, como los trabajos de Carragher y Pankhurst (1993), Webb *et al.* (1999) y Björnsson *et al.* (1998) para peces de las familias Sparidae, Ascipenseridae y Pleuronectidae respectivamente, son muy escasos, por no decir inexistentes este tipo de estudios en peces marinos de aguas tropicales. El presente trabajo constituye el primer reporte, hasta donde se tiene noticia, del análisis y seguimiento de los esteroides sexuales durante el proceso de maduración gonadal en peces de la familia Lutjanidae (pargo palmero = *Lutjanus analis*), sometidos a un termoperiodo artificial de acondicionamiento.

Esta investigación se desarrolló con el objetivo de reestablecer el proceso de maduración gonadal de los reproductores cuarentenados, mediante la aplicación de un ciclo de acondicionamiento artificial, capaz de revertir el estado de latencia gonadal manipulando la temperatura y el fotoperiodo. Las actividades de la investigación se desarrollaron entre septiembre de 2001 a mayo de 2002 en los laboratorios de la Corporación Centro de Investigación de la Acuicultura de Colombia (CENIACUA), ubicados en el corregimiento de Punta Canoa (Bolívar, Caribe colombiano) y estuvieron enmarcadas dentro del Programa de Diversificación de la Corporación, cuyo objetivo es el de desarrollar tecnologías que permitan a mediano plazo la diversificación del sector camaricultor colombiano.

METODOLOGÍA

Captura y mantenimiento de los reproductores:

El grupo de peces de la investigación estuvo conformado por 14 reproductores cuyo peso y longitud total oscilaba entre 1.953 - 2.737 gr y 45 - 52 cm respectivamente, los cuales fueron capturados en el Bajo de Canceco y en las Islas del Rosario (Caribe colombiano) mediante el uso de líneas de mano con anzuelo y palangre. Con los peces se conformaron dos grupos experimentales, cada uno con tres hembras y cuatro machos, los cuales fueron mantenidos en dos tanques circulares de fibra de vidrio de 10 T c/u bajo techo dentro del laboratorio. Durante el estudio los peces fueron alimentados a saciedad, día de por medio, con alimento congelado compuesto por calamar, pescado y camarón. Una vez a la semana se les proporcionó un alimento concentrado elaborado en el laboratorio con 40% de proteína, 16% de grasa y

11% de humedad, enriquecido con una premezcla de vitaminas, minerales y pigmentos proporcionada por Laboratorios ROCHE®.

Ciclos de acondicionamiento:

El primer grupo de hembras (N = 3) se mantuvo durante ocho meses bajo un *ciclo artificial* de termoperiodo cuya característica particular fue la manipulación de la temperatura mediante un enfriador o “chiller” de 120.000 BTU. El diseño de este ciclo se hizo con base en una modificación y adaptación a condiciones tropicales del modelo de Arnold *et al.* (1978), teniendo en cuenta las temperaturas superficiales reportadas por Sandoval (1999) para la zona de Santa Marta, Caribe colombiano. El segundo grupo, con igual número de hembras, se mantuvo durante el mismo periodo bajo un *ciclo control* donde no se manipuló la temperatura, dejándola libremente bajo las condiciones reinantes en la zona de Punta Canoa (Tabla 1).

Tabla 1. Valores de temperatura (media diaria \pm desviación estándar) y fotoperiodo aplicados a reproductores de pargo palmero *Lutjanus analis* bajo un ciclo artificial y un ciclo control de acondicionamiento.

Mes	Ciclo artificial (°C)	Ciclo control (°C)	Fotoperiodo (horas luz)
Oct	26 \pm 1.0	28.2 \pm 1.2	12
Nov	24.7 \pm 1.3	28.5 \pm 0.4	12
Dic	24.9 \pm 1.7	28 \pm 0.5	11
Ene	22.1 \pm 0.6	26.2 \pm 0.5	11
Feb	22.4 \pm 1.1	25.7 \pm 0.5	11
Mar	22.6 \pm 0.3	26.8 \pm 0.6	13
Abr	24.5 \pm 1.3	27.4 \pm 0.7	13
May	26 \pm 1.9	27.9 \pm 1.2	13

La temperatura fue monitoreada a mañana y tarde utilizando un equipo digital HANNA HI9143 con una precisión de 0.1 °C. Para la simulación del fotoperiodo, el cual fue igual para los dos grupos, se utilizaron dos lámparas fluorescentes de 20 W colocadas a 50 cm sobre la superficie de los tanques de los peces. El régimen lumínico que se aplicó correspondió a las condiciones naturales locales.

Los reproductores del ciclo artificial se mantuvieron en un sistema 95 % en recirculación, equipado con un desnatador superficial, una batería de filtros de cartucho de 20, 5 y 1 μ m y dos biofiltros de 2 T de capacidad, mientras que los reproductores del grupo control se mantuvieron en un sistema 100% en flujo directo, equipado con un desnatador superficial y una batería de

filtros igual al descrito anteriormente, pero sin biofiltración. La aireación se suministró constantemente a los dos sistemas por medio de un blower de 2 HP. El oxígeno, pH, amonio total (TAN) y nitritos fueron medidos periódicamente por métodos convencionales. Las concentraciones de estos parámetros se mantuvieron durante todo el experimento dentro de los rangos aceptables para el mantenimiento de peces marinos (Tucker, 1998).

Toma y análisis de muestras:

Las muestras de sangre se tomaron mediante punción en el seno caudal, utilizando jeringas de 3 ml sin heparinizar, con agujas hipodérmicas de 1 1/2" 22G. De la totalidad de las hembras se tomaron bimensualmente muestras de 2 ml aproximadamente, las cuales fueron refrigeradas durante 3 hr aproximadamente hasta el momento de su centrifugación a 3.500 rpm durante 10 min en el laboratorio. Posteriormente el plasma sanguíneo fue almacenado a -20 °C durante 24 hr hasta su análisis, de acuerdo con lo sugerido por Pankhurst (1994). Los niveles de los esteroides sexuales estradiól (E₂) y testosterona (T) fueron determinados por el método de Fluoroinmunoensayo a tiempo de resolución, siguiendo el protocolo DELFIA® 1244-056 y A050-101 respectivamente.

Las muestras o biopsias ováricas de las hembras fueron tomadas simultáneamente con las de sangre mediante la introducción de una cánula de 1.5 mm de diámetro externo por el oviducto, realizando una suave succión. Una vez recolectados, los oocitos fueron fijados en formalina bufferada al 10% en agua de mar filtrada de acuerdo con lo descrito por Watanabe *et al.* (1998) y observados al estereoscopio. En cada ocasión se midieron por lo menos 50 oocitos mediante un micrómetro ocular de 30 µm de precisión.

El factor de condición (K), es un índice basado en la relación talla-peso del individuo y explica fundamentalmente el estado de bienestar en que se encuentra el animal durante su vida. Si bien este factor no está diseñado para evaluar ciclos de acondicionamiento, sí nos da una señal de la adaptabilidad de los peces al medio de confinamiento en términos cuantitativos, lo que nos permite determinar el efecto de cada uno de los ciclos sobre el bienestar de los peces (Rodríguez, 1992).

$$K = (W / L^3) * 100$$

Donde, *K* es el factor de condición, *W* el peso total en gramos y *L* la longitud total del pez en cm.

Para comparar el efecto de los ciclos de acondicionamiento en términos de *K*, *T* y E₂, se realizaron pruebas de hipótesis para la diferencia entre las

medias de dos poblaciones con varianza desconocida, donde la hipótesis nula correspondió a $H_0: \mu_1 - \mu_2 \leq 0$, y la hipótesis alternativa a $H_a: \mu_1 - \mu_2 > 0$.

Todas las estimaciones estadísticas pertinentes se realizaron por medio del paquete STRAGRAPHIC PLUS® para Windows 2000. Primero se evaluó la normalidad de las variables mediante el test de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de las varianzas por medio de un chequeo de varianza (Variante check), condiciones fundamentales para realizar las pruebas de regresión lineal. El modelo de regresión lineal simple utilizado en esta investigación está representado por la siguiente ecuación:

$$y = \alpha + \beta x$$

Donde y es un valor representativo de una de las subpoblaciones de Y , y α , β se les conoce como los coeficientes de regresión de la población y geoméricamente representan la ordenada al origen y la pendiente de la recta, respectivamente (Daniel, 2002).

Para estimar la tendencia de los niveles de esteroides sexuales en las muestras plasmáticas se realizó un análisis de estadística descriptiva, pues el bajo valor de n de la muestra no permitió hacer un análisis más exhaustivo.

RESULTADOS

Al inicio de los ciclos artificial y control todas las hembras presentaron un estado de madurez gonadal grado I y II ($\emptyset=50 \pm 14 \mu\text{m}$), según la escala de González y Lugo (1997) (Figura 1). Este estado se mantuvo en los dos grupos alrededor de seis meses, al cabo de los cuales se detectó por primera vez en el mes de mayo un incremento en el diámetro medio de los oocitos de las tres hembras del ciclo artificial, con valores de 122 ± 76 , 86 ± 40 y $122 \pm 87 \mu\text{m}$ (Figura 1). Dicho incremento coincidió y se correlacionó con la temperatura y el fotoperiodo ($r = 0.55$, $P=0.007$ y $r = 0.61$, $P=0.005$, respectivamente) y con el incremento de las concentraciones plasmáticas de T y E_2 ($r = 0.62$ $P=0.049$ y $r = 0.82$ $P=0.009$, respectivamente). Por su parte las hembras del ciclo control no experimentaron evolución alguna en el crecimiento de sus oocitos y su correlación con las variables ambientales temperatura y fotoperiodo ($r = 0,00$, $P=0.93$ y $r = 0.34$, $P=0.28$ respectivamente), no fue estadísticamente significativa. El mismo comportamiento (correlaciones débiles, no significativas estadísticamente), se observó con los esteroides sexuales T y E_2 , los cuales presentaron correlaciones (r) con el diámetro de los oocitos de 0.28 y 0.28 ($P=0.36$ y $P=0.37$ respectivamente).

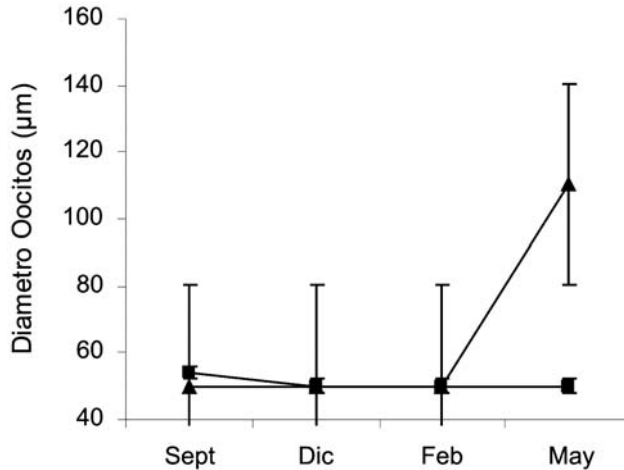


Figura 1. Diámetro medio de los oocitos de hembras de pargo palmero *Lutjanus analis* mantenidas bajo ciclos de acondicionamiento artificial (▲) y control (■) en el laboratorio.

Durante los primeros seis meses las hembras del ciclo artificial no experimentaron cambios en los niveles plasmáticos de esteroides sexuales. Solo hacia el final del ciclo, en el mes de mayo, se evidenció un incremento en las concentraciones de T y E₂, las cuales coincidieron con el aumento del fotoperiodo y la temperatura en el ciclo de acondicionamiento (Figura 2). La variable ambiental que presentó mayor relación con la T y el E₂ fue el fotoperiodo, el cual presentó un coeficiente de correlación de 0.76 y 0.61 (P=0.004 y P=0.031, respectivamente), mientras que con la temperatura la correlación fue no significativa: no hay correlación (r = 0.43, P=0.051 y r = 0.26, P=0.39, respectivamente).

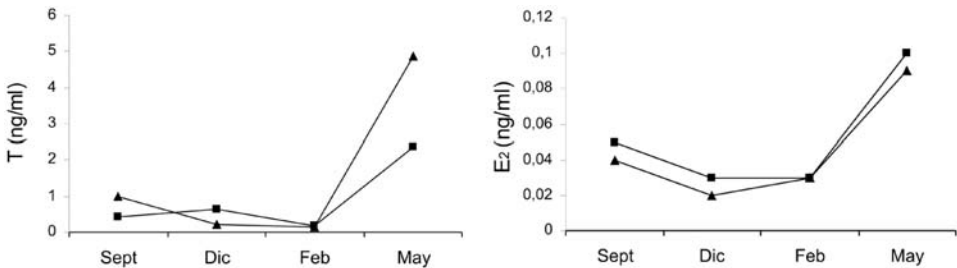


Figura 2. Comportamiento de los niveles de testosterona (T) y estradiol (E₂) en el plasma sanguíneo de hembras de pargo palmero *Lutjanus analis* sometidas a un ciclo artificial (▲) y control (■).

La variación de los niveles de esteroides sexuales en el plasma sanguíneo de los peces del ciclo control fue similar a la presentada por los peces del ciclo artificial, en donde las bajas concentraciones de T y E₂ fueron

la constante durante los primeros meses del termoperiodo (Figura 2). Posteriormente se observó un incremento de los niveles de los esteroides en el mes de mayo, los cuales, como se mencionó anteriormente, no incidieron en la maduración y/o evolución de los oocitos. Sin embargo, este incremento en los esteroides sexuales T y E₂ coincidió y se correlacionó con el fotoperiodo ($r = 0.84$, $P=0.002$ y $r = 0.61$, $P=0.034$ respectivamente), pero no con la temperatura ($r = 0.40$ $P=0.053$ y $r = 0.20$, $P=0.52$ respectivamente).

El factor de condición en los peces del ciclo artificial aumentó durante todo el periodo experimental, mientras que los peces del control permanecieron prácticamente constantes (Figura 3). En las pruebas de hipótesis, se observó que el t calculado cayó en la zona de rechazo de la hipótesis nula (H_0), es decir que las dos medias poblacionales son estadísticamente diferentes ($P<0.1$) y que el K de los peces del ciclo artificial es mayor que el K de los peces del ciclo control. Sin embargo, en las pruebas de hipótesis comparando los esteroides T y E₂ no se presentaron diferencias significativas entre las medias de los dos grupos.

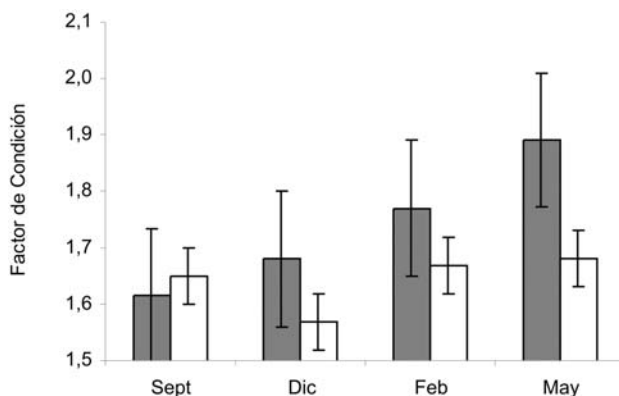


Figura 3. Comportamiento del factor de condición (K) en hembras de pargo palmero *Lutjanus analis* sometidas al ciclo artificial (barras grises) y control (barras blancas).

DISCUSIÓN

En el presente estudio se pudo observar, que el ciclo artificial produjo un efecto positivo sobre el bienestar de los pargos palmeros (*Lutjanus analis*), cautivos, lo cual, posiblemente favoreció su K y la maduración gonadal de los reproductores con respecto a sus semejantes del ciclo control, que permanecieron inmaduros a través de todo el periodo experimental. El incremento del K en los peces del ciclo artificial se puede atribuir a una preparación fisiológica para la época reproductiva, como lo explica Oasim (1957, en Rangarajan, 1971), cuando sugiere que las variaciones del K en

Blennius pholis son debidas al consumo o construcción de las reservas para su maduración gonadal. De acuerdo con este principio, el objetivo de los primeros seis meses del ciclo artificial es el de preparar a los peces para el recrudescimiento gonadal, acumulando reservas energéticas en su cavidad abdominal. De acuerdo con Lam (1983), cuando la temperatura y el fotoperiodo presentan una tendencia a la baja, los peces entran en un estado de “latencia” gonadal con el fin de prepararse fisiológicamente para la maduración. Es por esta razón que las hembras no experimentaron ninguna evolución en su madurez gonadal durante esta primera fase y el K no varió considerablemente en los primeros tres meses. Este mismo comportamiento se vio reflejado en los niveles de T y E₂ en el plasma sanguíneo, los cuales no sufrieron cambios significativos durante este periodo.

Los dos últimos meses del ciclo artificial tenían como objetivo estimular la producción de esteroides sexuales para el crecimiento de los oocitos, ajustando la temperatura y el fotoperiodo a niveles elevados. Durante este proceso se observó por primera vez un incremento en el diámetro medio de los oocitos, el cual se relacionó con los niveles de T y sobre todo con los de E₂ en el plasma sanguíneo de los peces del ciclo artificial. De acuerdo con Kime *et al.* (1999), este incremento se debe principalmente al aumento de los niveles de E₂ en el plasma sanguíneo, pues este promueve en el hígado la producción de vitelogenina, proteína fundamental para el crecimiento y desarrollo de los oocitos. Blythe *et al.* (1994) también encontró en *Morone saxatilis* un incremento de los niveles de estradiól en el plasma sanguíneo previo al crecimiento de los oocitos en hembras sometidas a tres fototermoperiodos de acondicionamiento. Sin embargo, en nuestro caso las hembras del ciclo control no experimentaron ninguna evolución en su madurez gonadal, aun habiendo presentado niveles de T y E₂ similares a los del ciclo artificial. Vale la pena tener en cuenta lo descrito por Webb *et al.* (1999), para hembras de *Acipenser transmontanus*, donde este fenómeno puede explicarse cuando se presentan temperaturas por encima del rango óptimo, las cuales causan una atresia folicular y afectan la vitelogénesis, disminuyendo la respuesta a estímulos hormonales externos. Por su parte Pankhurst y Thomas (1998), expresan que temperaturas elevadas pueden generar en *Oncorhynchus mykiss* una incapacidad del folículo para sintetizar la 17, 20βP y causar una demora en la maduración gonadal.

Durante el experimento la temperatura del ciclo control osciló entre 25.7 y 28.5 °C, reportadas como aptas para el desove de algunos lutjanidos y de esta especie (Vernon *et al.* 1983; Emata *et al.* 1994; Watanabe *et al.* 1998). De acuerdo con lo reportado por Watanabe *et al.* (1998) y Turano *et al.* (2000), el aumento en la temperatura es una de las condiciones principales con las que se

puede asociar la maduración y el desove de algunos Lutjánidos. Sin embargo, cuando se mantiene una temperatura elevada por un periodo prolongado de tiempo, como se presentó en el ciclo control, se pueden presentar inconvenientes en la maduración de los peces (Pankhurst y Thomas, 1998).

Como se observó en los resultados, la influencia de las variables ambientales (temperatura y fotoperiodo) sobre la esteroidogénesis hace evidente la estrecha relación del medio ambiente con los procesos reproductivos del pargo palmero (Castaño, 2003). Según Munro (1990) y Sumpter (1990), los factores exógenos como la temperatura y el fotoperiodo, entre otros, juegan un papel muy importante en la cascada endocrina de los teleósteos ya que son los que regulan la estacionalidad de los ciclos reproductivos en los peces. Durante esta investigación se observó que el fotoperiodo se relacionó en una mayor proporción que la temperatura, con los niveles de esteroides sexuales, hecho que se vio reflejado en las correlaciones obtenidas en los resultados. Webb *et al.* (1999) observó en *Acipenser transmontanus* este mismo comportamiento en hembras expuestas a tres diferentes tratamientos de temperatura, concluyendo que la estacionalidad del fotoperiodo se sobreponía a la estacionalidad térmica. Los mismos autores sin embargo, no descartan la importancia de este último factor, pues la temperatura es la encargada del desarrollo normal de la gónada y valores por encima de los rangos óptimos de desove pueden ocasionar una incapacidad de alcanzar la maduración gonadal, como sucedió en las hembras del ciclo control. Al observar este comportamiento podemos inferir que la temperatura aplicada al ciclo control no se encontró en los rangos óptimos para el desarrollo y maduración de los oocitos de la especie y que la carencia de variaciones en su magnitud pudo afectar algún proceso reproductivo de los peces allí confinados, mientras que la temperatura y las variaciones aplicadas al ciclo artificial favorecieron de alguna manera dicho proceso.

Si bien en esta investigación no existen los elementos suficientes para determinar en qué punto de la cascada endocrina ocurrió la anomalía que generó la incapacidad de crecimiento de los oocitos de las hembras control, sí podemos afirmar en forma empírica que la exposición a periodos prolongados de temperaturas elevadas puede generar para esta especie un efecto negativo en la maduración de los oocitos, evitando o retardando el proceso vitelogénico.

AGRADECIMIENTOS

La presente investigación contó con la ayuda profesional y oportuna de las Doctoras Myrna de Mora, Myrna Patricia Mora y Myriam Rojas en el

procesamiento y análisis de las muestras sanguíneas. Se agradece la colaboración desinteresada de los señores Ernesto Gómez y “Chiqui” de la Empresa Pargos del Caribe, así como de la tripulación del barco “Don Ramón” (Capitán Ostin, John, Germán, Paul, Chino, Jairo, Tayson, Maldonado, Javier, Reyna, Winston, y Nikita), quienes con sus equipos, esfuerzo y experiencia hicieron posible la captura de los reproductores. Se contó también con la colaboración de investigadores y estudiantes de la Corporación Universitaria de Ciencias Aplicadas y Ambientales (UDCA), así como del personal científico y administrativo de la Corporación Centro de Investigación de la Acuicultura de Colombia (CENIACUA). Se agradece a la Doctora Marcela Salazar Vallejo por la revisión del manuscrito. La financiación del trabajo fue otorgada por el Instituto Colombiano de Investigaciones Científicas Francisco José de Caldas (COLCIENCIAS) y por la UDCA.

BIBLIOGRAFÍA

- Arnold, C.R., J.M. Wakeman, T.D. Williams y G.D. Treece. 1978. Spawning of red snapper (*Lutjanus campechanus*) in captivity. *Aquaculture* 15: 301-302.
- Blythe, W.G., I.A. Helfrich y V. Sullivan. 1994. Sex steroid hormone and vitellogenin levels in striped bass (*Morone saxatilis*) maturing under 6, 9 and 12 month photothermal cycles. *Gen. Comp. Endocrinol.* 94: 122-134.
- Björnsson, B.T., O. Halldórsson, C. Haux, B. Norgerg y C. Brown. 1998. Photoperiod control of sexual maturation of the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) plasma thyroid hormone and calcium levels. *Aquaculture* 166: 117-140.
- Bromage, N.R. 1995. Broodstock management and seed quality - general considerations, 1-24. En: Bromage, N.R. y R.J. Robert (Eds.). *Broodstock management and egg and larval quality*. Blackwell, Oxford, 424 p.
- Campbell, P.M., T.G. Pottinger y J.P. Sumpter. 1994. Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. *Aquaculture* 120: 151-169.
- Carragher, J.F. y N.W. Pankhurst. 1993. Plasma levels of sex steroids during sexual maturation of snapper, *Pagrus auratus* (Sparidae), caught from the wild. *Aquaculture* 109: 375-388
- Castaño, F. 2003. Seguimiento y evaluación de la madurez gonadal de reproductores cautivos de pargo palmero *Lutjanus analis* (Cuvier, 1828) mediante la medición de calcio y esteroides sexuales en el plasma sanguíneo durante dos fotoperíodos de acondicionamiento. Tesis de grado, Facultad de Biología Marina, UJTL, Santa Marta, 87 p.
- Cleary, J.J. y N.W. Pankhurst. 2000. The effect of capture and handling stress on plasma steroid levels and gonadal condition in wild and farmed snapper *Pagrus auratus* (Sparidae). *J. Word Aquac. Soc.* 31(4): 558-569.

- Daniel, W.W. 2002. Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. Limusa Wiley. Cuarta edición. México 755 p.
- Emata, A.C., B. Eullaran y T.U. Bagarinao. 1994. Induced spawning and early life description of the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. Aquaculture 121: 381-387.
- González, L.W. y T. Lugo. 1997. Ovogénesis de *Lutjanus purpureus* (Poey 1867, Pisces: Lutjanidae) de la región oriental de Venezuela. Bol. Inv. Mar. Cost. 26: 53-60.
- Kime, D.E., J.P. Nash y A.P. Scout. 1999. Vitellogenesis as a biomarker of reproductive disruption by xenobiotics. Aquaculture 177: 345-352.
- Kubokawa, K., T. Watanabe, M. Yoshioka y M. Iwata. 1999. Effects of acute stress on plasma cortisol, sex steroid hormone and glucose levels in male and female sockeye salmon during breeding season. Aquaculture 172: 335-349.
- Lam, T.J. 1983. Environmental influences on gonadal activity in fish, 65-116. En: Fish Physiology. Hoar, W.S., D.J. Randall y E.M. Donaldson (Eds). Vol 9, Reproduction, Parte B, Behavior and Fertility Control. Academic Press, New York, 477 p.
- Munro, A.D. 1990. Reproductive Seasonality in Teleosts: Environmental Influences, 1-11. En: Munro, A., A. Scott y T.J. Lam (Eds.). Editorial CRC, Florida. 241 p.
- Pankhurst, N.W. 1994. Effect of gonadotropin releasing hormone analogue, human chorionic gonadotropin and gonadal steroid on milt volume in the New Zealand snapper, *Pagrus auratus* (Sparidae). Aquaculture 125: 185-197.
- Pankhurst, N.W. y P.M. Thomas. 1998. Maintenance at elevated temperature delays the steroidogenic and ovulatory responsiveness of the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to luteinizing hormone releasing hormone analog. Aquaculture 166: 163-177.
- Rangarajan, K. 1971. Maturity and spawning of the snapper *Lutjanus kasimira* from the andaman sea. Indian Journal Fish, 18(1-2): 114-125.
- Rodríguez, M. 1992. Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces. AGT editor. México. 3-51 p.
- Sandoval, N. 1999. Análisis reproductivo y de fecundidad de dos especies demersales *Lutjanus synagris* y *Lutjanus analis* en el Golfo de Salamanca, Caribe colombiano. Trabajo de grado presentado a la Facultad de Ingeniería de la Universidad del Magdalena para optar al título de Ingeniero Pesquero. Santa Marta. 89 p.
- Sumpter, J.P. 1990. Reproductive Seasonality in Teleosts: Environmental Influences, 13-31. En: Munro, A., A. Scott y T.J. Lam (Eds.). Editorial CRC, Florida. 241p.
- Tucker, J.W. Jr. 1998. Marine Fish Culture. Kluwer Academic Publishers, London, 750 p.
- Turano, M.A.J., D.A. Davis y C.R. Arnold. 2000. Observations and techniques for maturation, spawning, and larval rearing of the yellowtail *Ocyurus chrysurus*. J. World Aquac. Soc. 31(1): 59-68.
- Vernon-Minton, R., J.P. Hawke y V.M. Tatum. 1983. Hormone induced spawning of red snapper *Lutjanus campechanus*. Aquaculture 30: 363-368.

Watanabe, W.O., E.P. Ellis, S.C. Ellis, J. Chaves, C. Manfredi, R.W. Hagood, M. Sparsis y S. Arneson. 1998. Artificial propagation of Mutton Snapper *Lutjanus analis*, a new candidate marine fish for aquaculture. J. World Aquac. Soc. 29: 176-187.

Webb, M.A.H., J.P. Van Eenennaam, S. Doroshov y G.P. Moberg. 1999. Preliminary observations on the effects of holding temperature on reproductive performance of female white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Aquaculture 176: 315-329.

FECHA DE RECEPCIÓN:26/01/04

FECHA DE ACEPTACIÓN:27/09/05

DIRECCIÓN DE LOS AUTORES:

Corporación Centro de Investigación de la Acuicultura de Colombia (CENIACUA), e-mail: ceniagua@ceniagua.org, Laboratorio de Punta Canoa, A.A. 2877, Cartagena, Colombia.

