



# MASTER OFICIAL EN CULTIVOS MARINOS

III MASTER INTERNACIONAL EN ACUICULTURA

Las Palmas de Gran Canarias, España 2012-2014

**Obtención de puestas del pez de limón (*Seriola dumerili*) mediante inducciones con GnRH $\alpha$ , aplicada con inyección e implante. Calidad de las puestas obtenidas**

ANTONINO LA BARBERA

Las Palmas de Gran Canaria  
a Junio 2014



# MASTER OFICIAL EN CULTIVOS MARINOS

## III MASTER INTERNACIONAL EN ACUICULTURA

Organizado conjuntamente por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC), el Instituto Canario de Ciencias Marinas (Gobierno de Canarias) y el Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos (CIHEAM), a través del Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza (IAMZ)

### **Obtención de puestas del pez de limón (*Seriola dumerili*) mediante inducciones con GnRH $\alpha$ , aplicada con inyección e implante. Calidad de las puestas obtenidas.**

Trabajo realizado en el Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM) de Las Palmas de Gran Canaria, España, bajo la dirección del Dr. Hipólito Fernández-Palacios Barber y del Dr. Javier Roo Filgueira

Presentado como requisito parcial para la obtención del Título oficial de Máster Universitario en Cultivos Marinos, otorgado por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC), el Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM) y el Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos (CIHEAM).

Director

Dr. Hipólito Fernández-  
Palacios Barber

Director

Dr. Javier Roo Filgueira

Autor

Antonino La Barbera

Fdo: Dr.....

Fdo: Dr.....

Fdo: Dr.....

## **Agradecimientos**

La presente Tesis es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas leyendo, opinando, corrigiendo, teniendo paciencia, dándome ánimo, acompañando en todos los momentos.

Por esto dedico este trabajo a mi familia, mis padres Mario e Rosy, y mi hermano Domenico, que siempre me han apoyado en los buenos y malos momentos de toda mi vida.

Mi más sincero agradecimiento a mi director, Dr. Hipólito Fernández-Palacios Barber, gracias por la ayuda a lo largo de todo este tiempo, por haber confiado en mi persona, por la paciencia y por la dirección de este trabajo.

A todos los que me ayudaron a llevar a cabo este trabajo, Pipo, Javier R., Dominique, Samira, Antonio M., Lorena, Jesús R. y todo el grupo de investigación en acuicultura, gracias.

A mi queridos amigos y compañeros Giampiero, Vincenzo, Nayra, Samira, Serhat, Yolanda, Bruno, Antonio M., gracias por haber compartido conmigo buenos momentos en esta isla tan preciosa.

A Ylenia que con los buenos y malos momentos pasados juntos me hizo crecer y adquirir las ganas y pasión para seguir investigando.

A todos mis amigos italianos.....

**GRACIAS**

Este estudio forma parte del proyecto AQUATRANS, un proyecto de cooperación transfronteriza financiado mediante recursos FEDER (Fondo Europeo de Desarrollo Regional) articulados a través del Programa POCTEFEX (Programa de Cooperación Transfronteriza España-Fronteras Exteriores).



Parte de este estudio fue presentado como poster con el título: **“Spawning quality obtained in greater amberjack (*Seriola dumerili*) through GnRH $\alpha$  inductions by injections or implants”** al IV Simposio Internacional de Ciencias del Mar, Las Palmas de Gran Canaria (España), 11-13 junio 2014.



**Spawning quality obtained in greater amberjack (*Seriola dumerili*), through GnRH $\alpha$  induction by injections or implants**

**Abstract**

Greater amberjack (*Seriola dumerili*) is a highly valuable species in aquaculture. The aim of the present study was to obtain the best spawning quality and reproductive success in greater amberjack through GnRH $\alpha$  induction by injections or implants. The results show that the best spawning quality was obtained by injection of GnRH $\alpha$  (100 µg/kg) and by implantation of GnRH $\alpha$  (100 µg/kg) in the abdominal cavity. The results also show that the best spawning quality was obtained by injection of GnRH $\alpha$  (100 µg/kg) and by implantation of GnRH $\alpha$  (100 µg/kg) in the abdominal cavity.

**Materials and methods**

Greater amberjack (1.5 kg) were divided into two groups: injection and implantation. The fish were divided into two groups: injection and implantation. The fish were divided into two groups: injection and implantation. The fish were divided into two groups: injection and implantation.

**Results**

Group	Spawning quality (%)	Reproductive success (%)	Survival (%)	Cost (€/kg)
Injection	85.0	75.0	90.0	0.15
Implantation	80.0	70.0	85.0	0.20

**Conclusions**

- The results show that the best spawning quality was obtained by injection of GnRH $\alpha$  (100 µg/kg) and by implantation of GnRH $\alpha$  (100 µg/kg) in the abdominal cavity.
- The results also show that the best spawning quality was obtained by injection of GnRH $\alpha$  (100 µg/kg) and by implantation of GnRH $\alpha$  (100 µg/kg) in the abdominal cavity.

**Acknowledgements**

The authors thank the Spanish Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs for the financial support of this project.

# Índice

Lista de figuras .....	I
Lista de tablas .....	III
Abreviaturas .....	IV
Resumen .....	V
<b>1. INTRODUCCION .....</b>	<b>I</b>
1.1. Acuicultura en el mundo.....	1
1.2. Acuicultura en la Unión Europea .....	3
1.3. Acuicultura en España .....	6
1.4. Diversificación.....	8
1.5. Disfunciones reproductivas en acuicultura.....	10
1.6. Inducción hormonal a la puesta.....	11
1.6.1. Extractos hipofisarios.....	12
1.6.2. Gonadotrofina purificada o parcialmente purificada.....	12
1.6.3. Gonadotrofina Coriónica Humana (HCG).....	13
1.6.4. Hormonas liberadoras de gonadotrofinas GnRH y análogos GnRH.....	13
1.7. Técnicas de aplicación hormonal.....	15
1.8. Aspectos económicos en las inducciones hormonales.....	17
1.9. Calidad de puesta .....	188
1.10. Cultivo de la <i>Seriola</i> .....	19
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>24</b>
<b>3. MATERIAL Y METODOS .....</b>	<b>25</b>
3.1. Especie objeto del experimento.....	25
3.1.1. Descripción.....	26

3.1.2. Distribución.....	26
3.1.3. Biología.....	27
3.1.4. Reproducción en la naturaleza.....	27
3.2. Condiciones de cultivo.....	28
3.2.1. Reproductores .....	28
3.2.2. Tanques experimentales .....	322
3.3. Inducciones.....	333
3.4. Control de las puestas .....	355
3.5. Parámetros controlados .....	388
3.6. Análisis de datos .....	40
3.7. Nombres vulgares de las especies utilizados.....	40
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>41</b>
4.1. Parámetros abióticos del agua durante el experimento .....	41
4.2. Evolución biométrica de los reproductores.....	42
4.2.1. Diámetro de los oocitos .....	444
4.3. Eficacia de la inducción.....	45
4.4. Efecto de los tratamientos sobre la calidad de la puesta .....	46
4.5. Efecto de los tratamientos en la producción.....	466
4.5.1 Producción por puesta.....	466
4.5.2. Producción por inducción.....	48
4.5.3. Producción por kg de hembra y por puesta.....	488
4.5.4. Producción por kg de hembra y por inducción .....	49
4.6. Eficacia económica de los tratamientos hormonales .....	500
<b>5. DISCUSION.....</b>	<b>522</b>
<b>6. CONCLUSIONES .....</b>	<b>666</b>
<b>7. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>677</b>

## Lista de figuras

<b>Fig. 1.</b> Producción mundial de la pesca de captura y de la acuicultura (FAO, 2012) .....	2
<b>Fig. 2.</b> Distribución de la producción de acuicultura en los Estados miembros de la Unión Europea, en 2011 (FAO 2012). .....	5
<b>Fig. 3.</b> Evolución de la producción de la acuicultura en la Unión Europea por grupos principales, para el periodo 1950-2011 (FAO,2012). .....	6
<b>Fig. 4.</b> Evolución de la producción acuática total (acuicultura y pesca) en España, en el periodo 1950-2011 (FAO, 2012).....	7
<b>Fig. 5.</b> Evolución de la producción de la acuicultura en España por especie, en el periodo 1950-2011 (APROMAR, 2013).....	8
<b>Fig. 6.</b> Producción en Europa de <i>Seriola dumerili</i> , en el periodo 2005-2011 (FAO, 2012). .....	23
<b>Fig. 7.</b> Producción mundial de <i>Seriola dumerili</i> , en el periodo 2005-2011 (FAO, 2012)..	23
<b>Fig. 8.</b> <i>Seriola dumerili</i> , Risso, 1810. (www.google.it).....	25
<b>Fig. 9.</b> Distribución mundial de <i>Seriola dumerili</i> (AquaMaps Aug. 2013).....	26
<b>Fig. 10.</b> Traslado a tierra de los reproductores capturados.....	28
<b>Fig. 11.</b> Camión de transporte con los reproductores.....	29
<b>Fig. 12.</b> Tanque de poliéster de 500 l para anestésiar los peces.....	30
<b>Fig. 13.</b> Biopsia ovárica de ejemplares de <i>Seriola dumerili</i> .....	31
<b>Fig. 14.</b> Esquema de los tanques experimentales.....	32
<b>Fig. 15.</b> Inducción con implante.....	34
<b>Fig. 16.</b> Inducción con jeringa.....	34
<b>Fig. 17.</b> Tanque con incubador de malla de 500 µm.....	36
<b>Fig. 18.</b> Huevos de la fracción flotante a las 36 horas de la puesta.....	37

<b>Fig. 19.</b> Vasos de precipitado con los huevos en bandejas, con recirculación de agua de mar.....	38
<b>Fig. 20.</b> Valores de la temperatura del agua, durante el periodo experimental.....	41
<b>Fig. 21.</b> Valores de oxígeno disuelto, a lo largo del periodo experimental.....	42
<b>Fig. 22.</b> Evolución del peso del stock capturado en el 2011, desde la llegada a la instalación hasta el inicio del experimento. ....	43
<b>Fig. 23.</b> Evolución de la longitud total del stock capturado en el 2011, desde la llegada a la instalación hasta el inicio del experimento.....	44
<b>Fig. 24.</b> Evolución de la longitud furcal del stock capturado en el 2011, desde la llegada a la instalación hasta el inicio del experimento.....	44
<b>Fig. 25.</b> Producción, por puesta, de cada tratamiento .....	47
<b>Fig. 26.</b> Producción, por inducción, de cada tratamiento.....	48
<b>Fig. 27.</b> Producción, por Kg de hembra y por puesta, de cada tratamiento .....	49
<b>Fig. 28.</b> Producción, por Kg de hembra y por inducción, de cada tratamiento .....	50



## Lista de tablas

<b>Tabla I.</b> Producción acuícola por países (incluyendo algas) en 2011, y tasa de variación interanual (FAO, 2012) .....	3
<b>Tabla II.</b> Principales especies de peces producidas mediante acuicultura, en la Unión Europea en 2011 (FAO, 2012). .....	4
<b>Tabla III.</b> Resumen de las investigaciones sobre la reproducción de <i>Seriola dumerili</i> , en países mediterráneos de la UE en los últimos años. ....	21
<b>Tabla IV.</b> Datos biométricos de los reproductores utilizados en el experimento. ....	43
<b>Tabla V.</b> Valores medios del diámetro de los oocitos de las hembras de cada tratamiento, antes del inicio del experimento. ....	44
<b>Tabla VI.</b> Eficacia de la inducción hormonal. ....	45
<b>Tabla VII.</b> Parámetros de la calidad de la puesta. ....	46
<b>Tabla VIII.</b> Eficacia económica de la inducción en los dos tratamientos. ....	51

## **Abreviaturas**

AGL: Acido DL-láctico y ácido glicólico.

APROMAR: Asociación Empresarial de Productores de Cultivos Marinos.

Dpe: Días después de la eclosión.

EVAc: Co-polímero de etileno y acetato de vinilo.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

FEAP: Federación Europea de Productores de Acuicultura.

FOM: Maduración Final de los Oocitos.

GIA: Grupo de Investigación en Acuicultura.

GnRH o LH-RH: Hormonas liberadoras de gonadotropinas.

GnRHa o LH-RHa: Análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas.

GtH: Gonadotropinas.

HCG: Gonadotropina Coriónica Humana.

LF: Longitud furcal.

LH: Hormona luteinizante.

LT: Longitud total.

P: Peso.

PCTM: Parque Científico Tecnológico Marino.

PIRSA: Agencia Gubernativa Australiana para el Desarrollo Sostenible.

PIT: Passive Integrated Transponder.

PPPA: Planta Pilota Producción Alevines.

SGnRHa: Análogos de la hormona liberadora de Gonadotropina de Salmon.

UE: Unión Europea.

ULPGC: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

USA: Estados Unidos.

## Resumen

En los países mediterráneos, la producción de peces marinos ha estado basada durante mucho tiempo en pocas especies, de hecho, la diversificación es un tema importante en el desarrollo sostenible de la acuicultura. Uno de los principales cuellos de botella en el cultivo de nuevas especies, es la reproducción y la consiguiente obtención de alevines de alta calidad. Muchas especies de peces presentan problemas reproductivos debidos al cautiverio.

El pez de limón (*Seriola dumerili*), es uno de los principales candidatos en los programas de diversificación de acuicultura por sus importantes características: rápido crecimiento, alta calidad y textura del filete, alto valor comercial, rápida adaptación a la comida inerte y condiciones de cultivo.

Los objetivos principales de este estudio fueron: la obtención de puestas del pez de limón induciendo los reproductores con la hormona GnRH $\alpha$ , mediante inyección e implantes; la evaluación de la calidad y de la producción de las puestas obtenidas, y la evaluación de la eficacia económica de los dos tratamientos hormonales.

Los reproductores fueron capturados en la naturaleza en el 2011, y mantenidos dos años en tanques de 10 m<sup>3</sup>. En Mayo del 2013, se seleccionaron 9 hembras con oocitos mayores de 500  $\mu$ m y 9 machos fluyentes y se estabularon en tres tanques de 10 m<sup>3</sup>; 3  $\sigma$  y 3  $\text{♀}$  por tanque, un tanque por cada tratamiento y uno para el control. A lo largo de la estación reproductiva se realizaron 9 inducciones por tratamiento de tal manera que cada macho y cada hembra de los dos tratamientos fueron inducidos un total de tres veces. Los peces del tanque control no fueron inducidos.

Los datos de calidad de puesta, y producción por puesta mostraron diferencias significativas en los dos tratamientos en cuanto a % y número de huevos viables, de eclosión y de supervivencia (3 dpe), evidenciando mejores resultados en el tratamiento con inyecciones.

Igualmente los datos económicos mostraron mejores resultados en el tratamiento con inyección.

# 1. Introducción

## 1.1. Acuicultura en el mundo

Los recursos naturales del planeta tierra son limitados, la explotación insostenible de los recursos naturales a lo largo de los años, no ha consentido una regeneración sostenible de estos, incluso los océanos y ríos, se encuentran sobrexplotados, y están mostrando su finitud como fuente de alimentos silvestres. La población humana sobre la tierra está en constante aumento, así como los niveles de vida medios, y el aprovisionamiento de alimento está volviendo a ser un problema sustancial para la humanidad. La producción mundial de alimentos deberá crecer un 70% entre 2010 y 2050, para satisfacer las necesidades nutricionales de la población humana. Más de la mitad del total, de los productos de origen acuático consumidos actualmente en el mundo, procede de granjas de acuicultura. Mirando al futuro, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), estima que antes del 2030 más del 65% de los alimentos acuáticos, procederán de la acuicultura (APROMAR, 2013).

Según la FAO (2012), en las últimas tres décadas (1980-2010), la producción acuícola mundial de especies comestibles ha aumentado casi 12 veces, con una tasa media de crecimiento anual del 8,8 %. En las décadas de los 80 y de los 90, la acuicultura ha registrado tasas medias de crecimiento anual de un 10,8 % y un 9,5 %, respectivamente; tras este periodo ha disminuido a un promedio anual del 6,3 %. En el 2010 alcanzó su nivel máximo con una producción de 60 millones de toneladas (t) (Fig. 1) y un contravalor económico estimado de 119.400 millones de dólares USA (excluidas las plantas acuáticas y los productos no utilizados directamente para la alimentación).

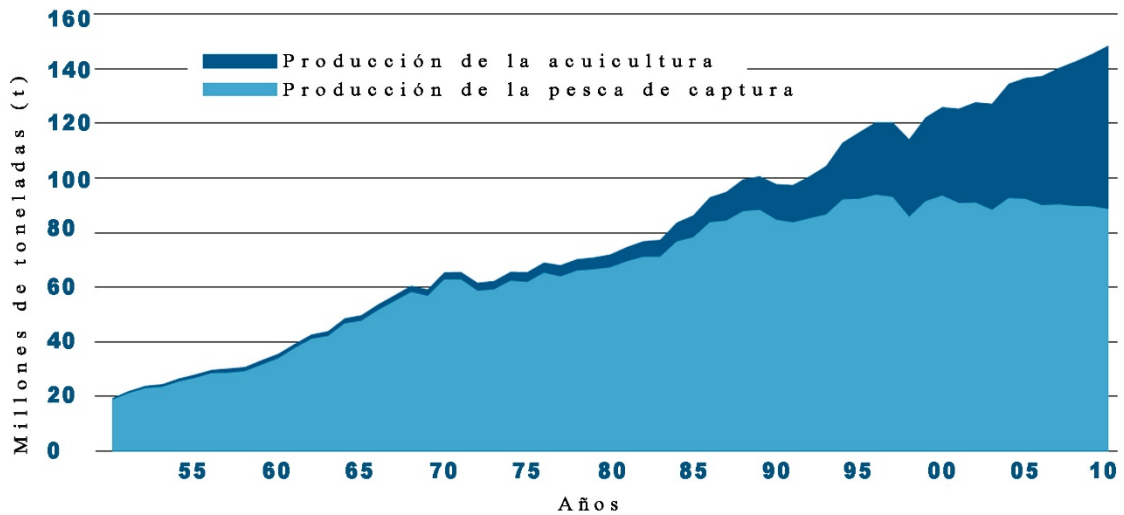


Figura. 1. Producción mundial de la pesca de captura y de la acuicultura (FAO, 2012).

Las regiones de Asia y del Pacífico son las principales productoras de la acuicultura mundial, aportan el 89 % de la producción total en cantidad, y el 77 % en valor. Este predominio se debe principalmente a la enorme producción de China; de hecho China es el primer país productor mundial de acuicultura, con 50,1 millones de toneladas de producción en 2011, cifra un 4,9% superior a la de 2010 (Tabla I). Entre las 10 principales naciones productoras de acuicultura, hay que señalar el fuerte crecimiento observado durante 2011 en Indonesia (algas, tilapia, carpas y langostinos), India (carpas y langostinos) y Vietnam (pangas, carpas y langostinos). Sin embargo, hay que resaltar la caída en la producción de Tailandia (-21,6%), a causa de patologías en la cría de langostinos (Tabla I). En relación con los países desarrollados, Noruega, ha tenido un importante crecimiento de la producción acuícola, que con un incremento del 13,0% superó en 2011 las 1.138.000 toneladas, y pasó del 10º al 8º lugar mundial, de hecho Noruega y Chile son los dos mayores productores mundiales de salmón Atlántico (*Salmo salar*) y representan el 33 % y el 31 %, respectivamente, de la producción mundial de esta especie (APROMAR, 2013).

Tabla I. Producción acuícola por países (incluyendo algas) en 2011, y tasa de variación interanual (FAO, 2012)

País	Toneladas	%crec. anual
China	50.173.139	4,9
Indonesia	7.937.072	26,4
India	4.577.965	20,8
Vietnam	3.052.500	12,8
Filipinas	2.608.120	2,4
Bangladesh	1.523.759	16,4
República de Corea	1.499.335	8,9
Noruega	1.138.797	13,0
Tailandia	1.08.49	-21,6
Egipto	986.820	7,3
TOTAL 10 PAIES PRINCIPALES PRODUCTORES	74.505.556	7,9
RESTO DE LOS PAISES	9.223.757	2,0
TOTAL MUNDIAL	83.729.313	7,2
España puesto 19°	271.963	7,8

## 1.2. Acuicultura en la Unión Europea

En 2011, la acuicultura de la Unión Europea (UE), puso en el mercado 1,27 millones de toneladas de productos acuáticos, y la producción de pescados de acuicultura fue de 647.156 t, un -0,3% con respecto a 2010, y un descenso acumulado del 12,7%, desde el pico de producción acuícola europea que tuvo lugar en 1999. Sin embargo, así como la suma de los volúmenes de producción de las primeras 10 especies de peces cultivadas no varió entre 2010 y 2011, la producción del resto de especies cayó un 6,0%, indicando una menor relevancia de estas especies, frente a la consolidación de las especies convencionales (Tabla II) (APROMAR, 2013).

Tabla III. Principales especies de peces producidas mediante acuicultura, en la Unión Europea en 2011 (FAO, 2012)

Especie	Nombre científico	Toneladas	% Var. anual
Trucha arco iris	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	176.983	-7,8
Salmon Atlántico	<i>Salmo salar</i>	171.034	-0,1
Dorada	<i>Sparus aurata</i>	98.840	8,8
Lubina europea	<i>Dicentrarchus labrax</i>	73.196	16,8
Carpa común	<i>Cyprinus carpio</i>	61.860	-6,2
Rodaballo	<i>Psetta maxima</i>	11.138	11,8
Anguila europea	<i>Anguilla anguilla</i>	6.711	5,0
Pez gato africano	<i>Clarias gariepinus</i>	5.334	0,5
Trucha de río	<i>Salmo trutta</i>	3.913	-13,6
Carpa plateada	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	3.496	2,8
TOTAL 10 PRINCIPALES ESPECIES		612.505	0,0
RESTO DE ESPECIES		34.651	-6.6
TOTAL ACUICULTURA PECES EN UE		647.156	-0,3

España es el miembro de la UE, con un mayor volumen de producción en acuicultura, con 271.963 t en 2011 (21,5% del total de la UE), seguido por Francia con 226.020 t (el 17,8%), y el Reino Unido con 177.155 t (14,0%) (Fig. 2).

El Reino Unido es el miembro de la UE, con una mayor producción de pescado de acuicultura, con 162.874 toneladas (el 25,2%) en 2011. Las principales especies criadas en el Reino Unido son el salmón Atlántico y la trucha arco iris. Grecia es el segundo productor, con 121.980 toneladas (el 18,8%), que en su mayor parte son lubina europea y dorada. España es el tercer país productor, con 59.263 toneladas (el 9,2%) (Fig. 2).

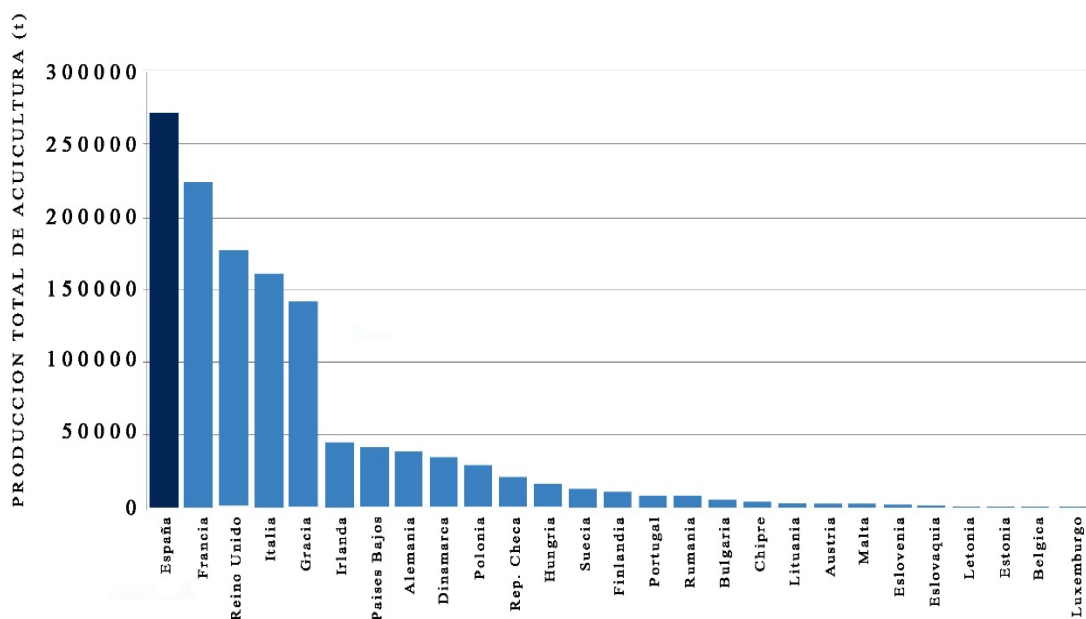


Figura. 2. Distribucion de la produccion de acuicultura en los Estados miembros de la Union Europea, en 2011 (FAO 2012).

En la Unión Europea, los principales productos de la acuicultura son pescados y moluscos, la producción de crustáceos, algas u otros invertebrados es muy reducida. La producción total de productos acuáticos en 2011 sumó 1.267.248 t, de estos 647.248 fueron de pescado, lo que supuso el 51,1% del total; 619.685 t de moluscos, el 48,9%; 280 t de crustáceos, el 0,04%; 125 t de plantas acuáticas, el 0,009% y 2 t de otros invertebrados acuáticos el 0,001 % (Fig. 3).

La especie más producida en la UE es el mejillón (355.555 t), de la que se producen dos especies, el común (*Mytilus edulis*) y el mediterráneo (*Mytilus galloprovincialis*), seguido por la trucha arco iris (176.983 t, el 27,3% del total de pescados de acuicultura producidos, si bien con una reducción del 7,8% respecto al 2010), el salmón Atlántico (171.983 t, prácticamente la misma cantidad que en el año anterior, el 26,4% del total) y la dorada (98.840 t, el 15,3% con un aumento del 8,8% en relación con el año anterior)(APROMAR, 2013).



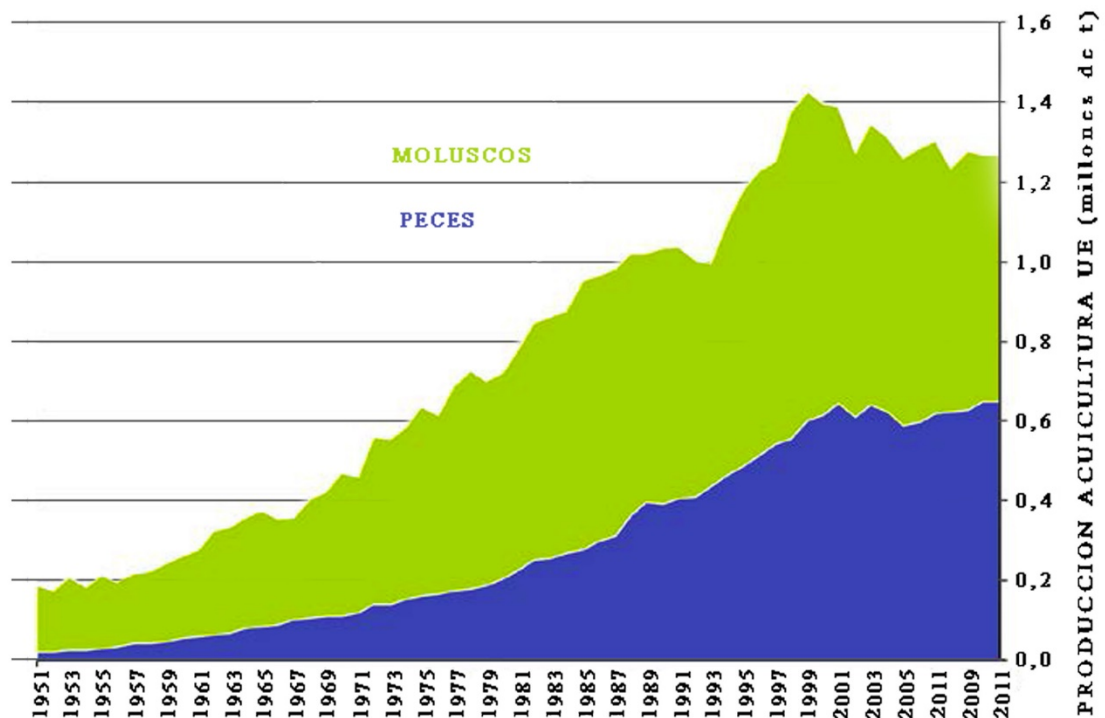


Figura. 3. Evolución de la producción de la acuicultura en la Unión Europea por grupos principales, para el periodo 1950-2011 (FAO, 2012).

### 1.3. Acuicultura en España

En España, la acuicultura es una actividad empresarial importante, que cuenta una larga tradición en numerosos lugares, tanto costeros como fluviales. Este sector primario, del que es el principal productor en la Unión Europea, está formado por micro, pequeñas, medianas y grandes empresas que ofrecen empleo de calidad, son competitivas, cada una a su nivel, e innovadoras dentro de sus posibilidades. Según APROMAR (2013) en España la obtención de los productos acuáticos proveniente de pesca, marisqueo y acuicultura aumentó en 2011 en un 3,4% con respecto al 2010, alcanzando 1.265.657 toneladas. Mientras que la pesca creció un 2,3%, la producción de acuicultura alcanzó un 7,8% de crecimiento (Fig. 4).

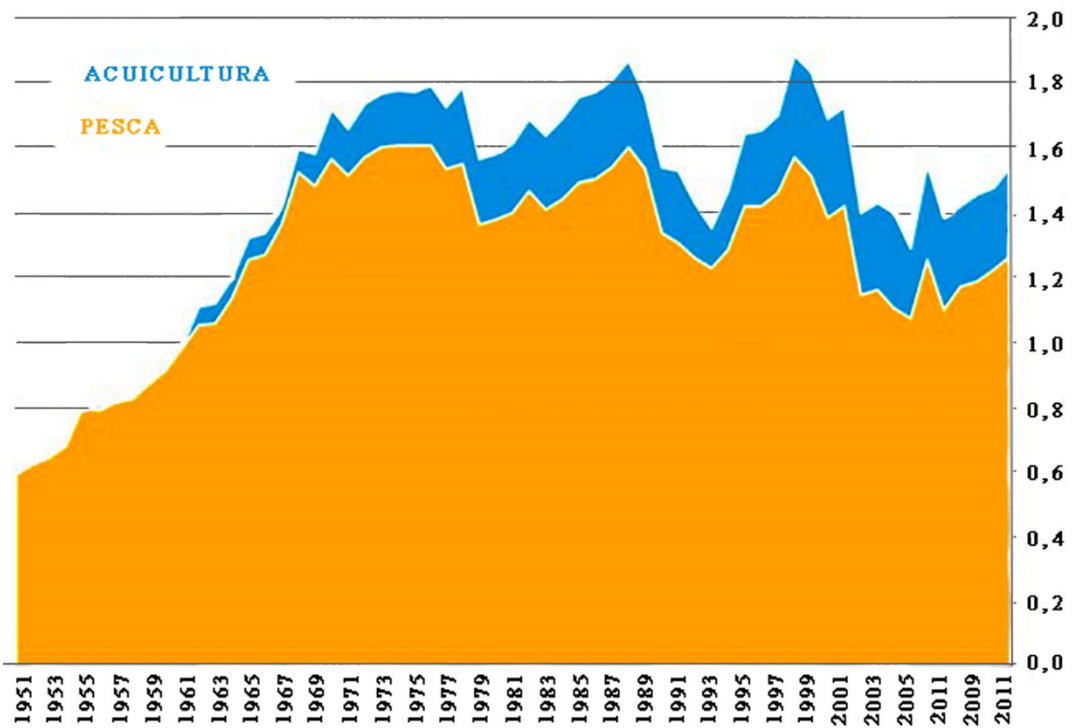


Figura. 4. Evolución de la producción acuática total (acuicultura y pesca) en España, en el periodo 1950-2011 (FAO, 2012).

De las especies producidas en España, destaca en la producción de mejillones con 212.556 t; de trucha arco iris con 18.612 t; de dorada con 19.430 t; de lubina europea con 14.270 t; y de rodaballo con 7.970 t (Fig. 5).

Las principales especies de peces marinos cultivados en España son dorada, lubina europea y rodaballo, representando un 94% de la producción piscícola, la restante parte es ocupada por la corvina (*Argyrosomus regius*), el lenguado senegalés (*Solea senegalensis*), la anguila europea (*Anguilla anguilla*) y el besugo (*Pagellus bogaraveo*) (APROMAR, 2013). La búsqueda de nuevas especies en acuicultura se ha convertido en una cuestión muy importante, no solo para diversificar el mercado de especies producidas, sino también para seguir manteniendo la tendencia de aumento de la producción que la acuicultura ha tenido hasta hoy.

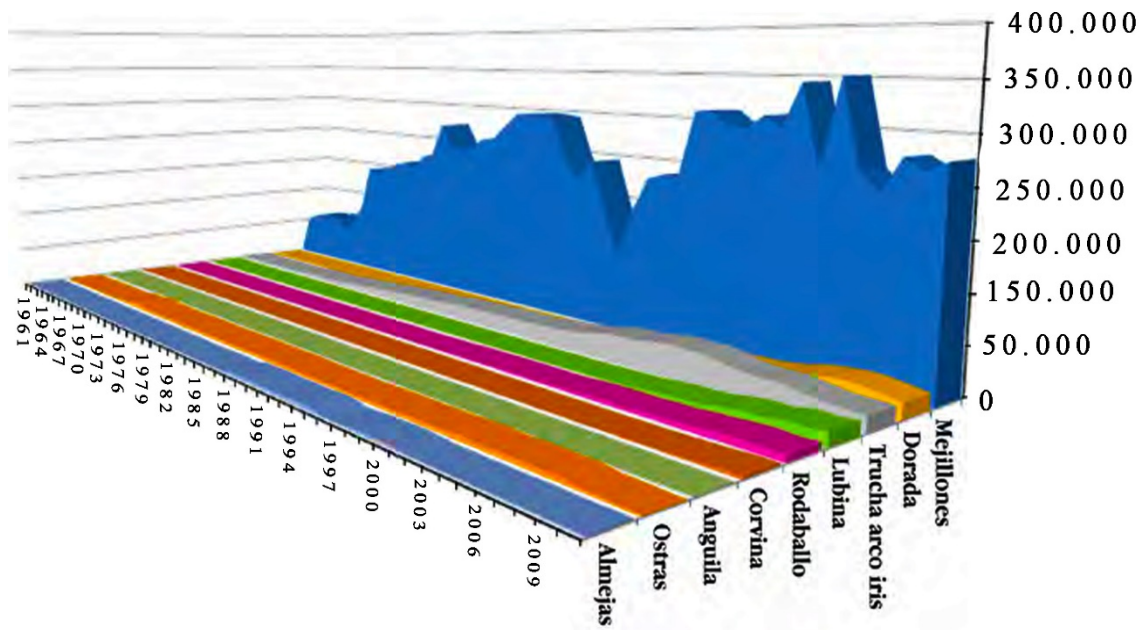


Figura. 5. Evolución de la producción de la acuicultura en España por especie, en el periodo 1950-2011 (APROMAR, 2013).

#### 1.4. Diversificación

En los países mediterráneos, la producción de peces marinos ha estado basada durante mucho tiempo en pocas especies, alcanzando su nivel máximo en el 2008, con una producción de 217.409 t (FEAP, 2013). En cuanto a la acuicultura marina mediterránea, en la actualidad la producción sigue centrada principalmente en dos especies, la dorada y la lubina europea, ambas especies representan el 97,87% de dicha producción. También hay especies nuevas que ya se encuentran en producción, como es el caso del besugo en España, y del lenguado senegalés y de la corvina en varios países mediterráneos. Además hay que subrayar el engorde del atún rojo (*Thunnus thynnus*), que se realiza desde hace unos años en Italia, Malta, Croacia, Chipre y España (FEAP, 2011).

El aumento de la producción de la acuicultura, en los países mediterráneos, depende de la diversificación de las especies cultivadas, y de los productos comercializados (Fernández-Palacios *et al.*, 2013).

Según Basurco y Abellan (1999), la selección de una nueva especie debe basarse en las siguientes fases:

- Una primera fase con estudios de mercado: demanda, precio y posibles evoluciones; las condiciones biológicas básicas: tasa de crecimiento, talla, fecundidad, mortalidad etc.; las características abióticas del hábitat como: temperatura, oxígeno, profundidad, etc.
- Una segunda fase basada en las investigaciones para: obtener alevines de buena calidad y de forma constante; definir protocolos para el cultivo larvario, requerimiento nutricional, densidad de cultivo, engorde, y condiciones ambientales de cultivo y tecnología disponibles.
- Una última fase más empresarial que tiene cuenta factores como: los costes de producción, expectativa de los precios de mercado, riesgos, búsquedas de mercados y promoción.

También hay que tener en cuenta el punto de vista medioambiental, por esto las especies seleccionadas deben ser especies locales, evitando la introducción de especies exóticas (Bartley, 1998).

En los últimos años se ha investigado mucho sobre el cultivo de nuevas especies, realizándose grandes progresos en especies como la cobia (*Rachycentrom canadum*) (Faulk *et al.*, 2007), el lenguado, *Solea solea* (Bonaldo *et al.*, 2011), la lisa *Chelon labrusus* (Ben Khemis *et al.*, 2006), el pez de limón, *Seriola dumerili* (Mylonas *et al.*, 2004; Jerez *et al.*, 2006; Fernández-Palacios *et al.*, 2013;) el pez gato asiático, *Pangasius bocourti* (Hung *et al.*, 2002), el atún rojo (Corriero *et al.*, 2003, 2007, 2009; Mylonas *et al.*, 2007; De Metrio *et al.*, 2009, 2010; Caggiano *et al.*, 2009) o el medregal negro (*Seriola rivoliana*) (Roo *et al.*, 2012).

El punto de partida para el cultivo y la producción industrial, de una nueva especie es el control de la reproducción. Para tener una producción sostenible es necesario el control de la reproducción en cautiverio, sin embargo, en la mayoría de las especies candidatas para la acuicultura, la reproducción en cautividad es el principal cuello de botella, de hecho muchas especies tienen disfunción reproductivas en cautividad.

## 1.5. Disfunciones reproductivas en acuicultura

Como la mayoría de los animales salvajes mantenidos en cautividad, muchas especies piscícolas, de interés para la acuicultura presentan disfunciones reproductivas (Cataudella y Mazzola, 2013), estas disfunciones pueden ser debidas a diferentes causas como: falta de los hábitats naturales de reproducción (Zohar, 1989 a,b; Yaron, 1995; Battaglione y Selosse, 1996), estrés producido por el cautiverio (Sumpter *et al.*, 1994; Pankhurst y Van der Kraak, 1997), factores abióticos, alimentación o manejos inadecuados (Schreck *et al.*, 2001; Zohar y Mylonas, 2001; Duncan *et al.*, 2012).

Como ha sido descrito por Cataudella y Mazzola (2013), los problemas reproductivos suelen ser más graves en las hembras que en los machos y pueden ser de tres tipos:

- **Interrupción completa de los proceso de oogenesis y espermatogénesis:** Es el caso, por ejemplo, de las anguilas donde la imposibilidad de realizar la migración, parece ser la causa de la interrupción del desarrollo gonadal (Fontaine, 1975).
- **La ausencia de puesta al final del ciclo reproductivo:** En las especies que presentan este problema, los oocitos tienen un proceso normal de desarrollo, pero las hembras no desovan espontáneamente. En este punto los huevos puede tener dos destinos: o se mantienen en la cavidad abdominal, y se reabsorben lentamente como en el caso de los salmónidos (Bromage *et al.*, 1992), o las hembras pueden liberar huevos inviables, poco después a la ovulación (desde unas pocas horas a unos pocos días), incluso en ausencia de comportamientos reproductivos, es el caso la lubina estriada (*Morone saxatilis*) (Zohar y Mylonas, 2001), y de la cherna de ley (*Epinephelus aeneus*) (Hassin *et al.*, 1997). En estos caso se puede utilizar la técnica de masaje abdominal o stripping, para obtener huevos viables (Cataudella y Mazzola, 2013).
- **Interrupción de la maduración final de los oocitos (FOM):** En esto caso el desarrollo ovárico parece desarrollare normalmente, pero al inicio de la estación reproductiva, cuando los oocitos están en estado avanzado de vitelogénesis se interrumpe el desarrollo, y los huevos entran en un proceso de regresión conocido como atresia (Berlinsky *et al.*, 1997; Mylonas *et al.*, 1997). Este es el problema más frecuente en acuicultura. Se ha observado en muchas especies

como: la cherna (*Polyprion americanus*) (Suquet *et al.*, 2001; Papandroulakis *et al.*, 2004) y el pez de limón (Marino *et al.*, 1995; Díaz *et al.*, 1997; Micale *et al.*, 1999).

En los peces, el estrés del cautiverio puede afectar al sistema inmune, al crecimiento y a la reproducción, afectando en este último caso, al desarrollo de los gametos y su calidad, alterando la supervivencia de huevos y larvas, y su desarrollo (Campbell *et al.*, 1992; Foo y Lam, 1993; Pankhurst y Van der Kraak, 1997; Schreck *et al.*, 2001; Wagner *et al.*, 2002). Según Schreck *et al.* (2001), en la trucha arcoíris los niveles de cortisol después de un agente estresante, son mayores en peces que se encuentran cerca del proceso de maduración sexual, y aparece más marcado en hembras que en machos. Excluyendo el caso de la anguila, en los machos las disfunciones reproductivas habituales son la reducción de la cantidad, y la producción de esperma de baja calidad (Zohar y Mylonas, 2001). Berlinsky *et al.* (1997), observaron en el lenguado canadiense (*Paralichthys dentatus*), que los reproductores machos capturados en la naturaleza en el periodo reproductivo, y mantenidos en cautividad producían esperma poco activo y que no se mezclaba bien con el agua y por esto era poco viable.

## 1.6. Inducción hormonal a la puesta

Son muchas las especies de peces, que manifiestan disfunciones reproductoras cuando son estabuladas en cautividad, por ello los tratamientos hormonales son hasta ahora la única alternativa, para lograr adecuados procesos reproductivos. En los últimos años se han utilizado con éxito, una gran variedad de hormonas y tecnologías, en numerosas especies (Hoar, 1969; Donaldson y Hunter, 1983; Zohar y Mylonas, 2001).

Varios autores (Zohar, 1988; Mylonas *et al.*, 1997, 1998), han señalado que la principal hormona responsable en los procesos de reproducción, es la hormona luteinizante (LH). Durante el proceso de vitelogénesis los niveles de hormona LH en la hipófisis va creciendo, alcanzando el máximo nivel al final de la vitelogénesis, posteriormente, durante los procesos de FOM y ovulación, se detectan niveles crecientes de hormona LH, en el fluido sanguíneo (Elizur *et al.*, 1995; Zohar, 1988). Los peces estabulados en

cautividad, que tienen disfunciones en la FOM y en la ovulación, producen normalmente la hormona LH, por esto se completa la vitelogénesis, pero la LH no se encuentra en el torrente sanguíneo, y por tanto no puede llegar a los ovarios, y así completar la maduración final de los oocitos y la puesta.

### 1.6.1. Extractos hipofisarios

Los primeros compuestos a base de gonadotropinas (GtH), usados para la inducción de la puesta en peces, fueron los homogeneizados y extractos. Su uso comenzó a finales de la década de los '30 (Von Ihering, 1937; Fontenele, 1955).

Actualmente, este método es utilizado masivamente en la producción de carpas, en los países asiáticos. Zohar (1989 a,b), observó que hipófisis provenientes de peces en estadio reproductivo, eran mucho más eficaces para la inducción por su alto contenido en GtH.

Esta técnica tiene muchos inconvenientes: la gran diferencia en contenido de LH hipofisario, la presencia de otras hormonas en el extracto que pueden afectar a la fisiología del organismo receptor, y la posibilidad de transmisión de enfermedades (Yaron, 1995).

### 1.6.2. Gonadotrofina purificada o parcialmente purificada

La preparación de gonadotrofinas purificadas de salmón chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) y de carpa común, fueron muy utilizadas en el pasado (Yaron, 1995; Donaldson, 1973). Sin embargo, el elevado costo de la purificación, y la alta especificidad de las gonadotrofinas, han restringido su uso a especies filogenéticamente cercanas (Zohar, 1988; Patiño, 1997; Peter y Yu, 1997; Mylonas y Zohar, 2001).

### 1.6.3. Gonadotropina Coriónica Humana (HCG)

La HCG por su fácil disponibilidad, es de las gonadotropinas que ha sido más usada en acuicultura. Es extraída con facilidad de la orina de mujeres embarazadas (Lam, 1982; Donaldson y Hunter, 1983; Zohar, 1989b), su éxito se debe a su similitud con la Hormona Luteinizante (LH) (Hoar, 1969; Harvey y Hoar, 1980).

La ventaja de esta hormona, es que actúa directamente al nivel de la gónada, y no requiere la activación de la glándula hipofisaria, o la presencia de LH almacenado, actuando así mucho más rápido, induciendo la maduración final del oocito, la espermiación y la puesta (Hodson y Sullivan, 1993).

La mayor contraindicación para el uso de HCG, es que al ser un péptido grande, es altamente inmuno-estimulante, por lo que resulta ineficaz, si se suministra en la mismas dosis en épocas reproductivas siguientes, ya que el sistema inmune la reconoce como sustancia exógena, y desarrolla anticuerpos específicos contra ella (Lam, 1982; Donaldson y Hunter, 1983; Zohar, 1989a), por esto cada año es necesario incrementar las dosis, aun así, todavía puede ser insuficiente para el obtención de la puesta (Cataudella y Mazzola, 2013).

### 1.6.4. Hormonas liberadoras de gonadotropinas GnRH y análogos GnRH<sub>a</sub>

Las hormonas hipotalámicas liberadoras de gonadotropinas (GnRH o LH-RH), son pequeños dodecapéptidos, que actúan como control de la glándula hipofisis, para la liberación de gonadotropinas, se descubrieron en los mamíferos en los años '70 (Schally, 1978), y ahora son unos de los métodos más modernos de inducción hormonal a la ovulación. Cuando Breton *et al.* (1990), probaron por primera vez extractos hipotalámicos de GnRH nativo en la carpa, observaron un rápido incremento de GtH hipofisario.

Rápidamente se crearon análogos sintéticos GnRH<sub>a</sub> o LH-RH<sub>a</sub> (Fujino *et al.*, 1972), que actúan como los análogos nativos, pero de forma más potente y con mayor duración,



desde entonces su utilización se incrementó de forma notable (Zohar, 1988; Patiño, 1997; Peter y Yu, 1997).

Las GnRH nativas producen un rápido incremento de GtH, en muchas especies de peces, pero este incremento es de baja intensidad, y de corta duración para inducir la FOM, la ovulación y la puesta (Omeljaniuk *et al.*, 1987; Crim *et al.*, 1988a,b; Zohar, 1988; 1989a), esto es debido al efecto degenerativo de las endopeptidasas, presentes en la hipófisis, hígado y riñón de los peces (Peter y Yu, 1997; Zohar *et al.*, 1990), de hecho estas enzimas cortan los dacapéptidos en la posición 5-6 y 9-10, produciendo pequeños fragmentos inactivos.

Con la preparación de análogos sintéticos (GnRHa), se consiguió sustituir los aminoácidos de la posición 6 y 10 con, respectivamente, un aminoácido dextrorso y un grupo etilamino, produciendo así una molécula resistente a la degradación enzimática, de las endopeptidasas (Goren *et al.*, 1990; Weil *et al.*, 1991, 1992), pudiendo así permanecer por más tiempo en el torrente sanguíneo, y regular de forma eficaz la liberación de gonadotrofinas por la hipófisis. Las GnRHa, por su mayor resistencia a la degradación enzimática, y la más alta afinidad a los receptores, son de 30 a 100 veces más eficaces que las GnRH nativas, en la inducción de la liberación de LH, tanto en términos de amplitud como de duración (Peter *et al.*, 1988; Zohar, 1989a, b; Crim y Bettles, 1997), por tanto las GnRH y las GnRHa son capaces de inducir el desarrollo del ovario, la FOM y la ovulación, pero la dosis debe ser muy superior en la forma nativa ( $1-15 \text{ mg kg}^{-1}$  GnRH) en comparación con la forma sintética ( $1-100 \text{ } \mu\text{g GnRHa kg}^{-1}$ ) (Donaldson y Hunter, 1983; Zohar, 1989a, b).

En los peces fueron probadas varias formas de GnRH (Peter *et al.*, 1985; Crim *et al.*, 1988a; Zohar, 1989a; Zohar *et al.*, 1989a), pero las más usadas son la de mamíferos y la de salmon, con resultados variables según las especies, sin embargo la de mamíferos es usada en varias aplicaciones en los humanos (Barbieri, 1992; Emons y Schally, 1994), y por esto es de precio más bajo y de más fácil disponibilidad.

La utilización de GnRH y homólogos GnRHa, en la inducción a la puesta en peces tienen varias ventajas:

Las GnRH son pequeñas moléculas, no generan respuesta inmune en el receptor, y por esto se pueden usar en época de reproducción posteriores, sin reducción de la eficacia.

Induciendo la liberación de LH endógeno, las GnRH actúan como un reparador de la interrupción del sistema endocrino, que regula la reproducción en peces.

Las GnRH actúan a un nivel más alto del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, en consecuencia GnRH puede proporcionar una estimulación más equilibrada de eventos reproductivos, y presumiblemente, una mejor integración de estos eventos con otras funciones fisiológicas, tanto directa como indirectamente, también afecta a la liberación de otras hormonas necesarias para el éxito de la FOM y la de espermiación.

El poder obtener análogos sintéticos puros, impide la posibilidad de transmisión de enfermedades (Zohar y Mylonas, 2001).

El suministro de GnRH se lleva a cabo principalmente mediante inyección en solución salina, o en forma de sistemas de liberación lenta y continua.

## 1.7. Técnicas de aplicación hormonal

Los métodos de aplicación de estos productos han sido estudiado por numerosos autores, y evaluados en muchas especies (Peter *et al.*, 1988; Zohar, 1988; Donaldson, 1997; Patiño, 1997). La mayoría se iniciaron con la aplicación en un medio líquido (suero fisiológico), para llegar actualmente al uso de compuestos biodegradables (implantes y microesferas), capaces de regular la liberación de la hormona incorporada en el producto. (Suzuki *et al.*, 1988a,b; Yu y Shen, 1989; Swanson, 1991; Lin *et al.*, 1992; Koide *et al.*, 1993; Okada *et al.*, 1994a, b; Elizur *et al.*, 1996; Garcia-Hernandez *et al.*, 1997; Kajimura *et al.*, 2001; Han *et al.*, 2003; Weltzien *et al.*, 2003; Hellqvist *et al.*, 2004; Mateos, 2007).

Las GnRHa se produjeron con el fin de resistir a la degradación enzimática, durante un período de tiempo superior a las GnRH nativas, y permitir la liberación de GtH por un periodo de tiempo más largo (Van der Kraak *et al.*, 1983; Zohar *et al.*, 1989b, 1990, 1995a,b; Goren *et al.*, 1990). Sin embargo, incluso la GnRHa más resistente a la

degradación enzimática tiene una vida media de sólo 23 minutos (las GnRH nativas 5 minutos) (Gothilf y Zohar, 1991). Por esto, en los últimos 20 años se desarrollaron diferentes sistemas de aplicación biodegradable de las GnRHa, los primeros en ser probados fueron los pellets de colesterol en el salmón Atlántico (Weil y Crim, 1983). Variando la cantidad de colesterol en los pellets, es posible regular la liberación de las hormonas, desde 8 días hasta 8 semanas (Carolsfeld *et al.*, 1988; Sherwood *et al.*, 1988). Los implantes de colesterol se presentan en forma de pellets cilíndricos sólidos, de 3 mm de diámetro, y cada implante puede tener entre 25 y 250 µg de hormona, se implantan por vía intramuscular, utilizando un aplicador especial o por medio de un bisturí. Este tipo de sistema se prepara fácilmente y es relativamente barato, pero la liberación de la GnRHa es muy variable (Carolsfeld *et al.*, 1988), probablemente porque cada pellet se prepara individualmente (Sherwood *et al.*, 1988).

Otro tipo de sistema de aplicación de la GnRHa son las microesferas (5 - 200 µm de diámetro). Las microesferas se preparan usando una doble emulsión, con el método de la evaporación del disolvente (Okada *et al.*, 1994a,b), donde se disuelve la GnRHa en gotitas de agua microscópicas, que son atrapada en una matriz de la AGL (ácido DL-láctico y ácido glicólico). La liberación de la hormona de las microesferas es inmediata, y puede durar hasta varios meses, en relación a la cantidad de ácido láctico y ácido glicólico utilizado, y a la longitud y el peso molecular del polímero (Chasin y Langer, 1990).

El último tipo de sistema de aplicación de la GnRHa, utilizado para la inducción de la puesta, se prepara en forma de un implante sólido monolítico, utilizando un co-polímero no degradable de etileno y acetato de vinilo (EVAc) (Rhine *et al.*, 1980a). En este sistema de lenta velocidad de liberación, la GnRHa se mezcla con un agente inerte expandible, y la mezcla está incluida en la matriz EVAc. Se puede controlar la cinética de liberación, variando el peso molecular del polímero, el porcentaje de matriz inerte, el tipo de matriz, la forma del implante (esferas o disco), o mediante la aplicación de un escudo en la superficie (Rhine *et al.*, 1980a,b; Hsu y Langer, 1985; Brown *et al.*, 1986; Langer, 1991).

## 1.8. Aspectos económicos de las inducciones hormonales

La reducción en el precio de venta del pescado, durante los últimos años, y el incremento de la oferta, obliga a las empresas a controlar el coste de producción para ser más competitivas, lo que es posible mediante alternativas de manejo (utilización de piensos más rentables, empleo de óptimas estrategias de alimentación, mecanización de las operaciones de alimentación y pesca, etc.), y mejoras estructurales (volumen de producción, tamaño de las jaulas, etc.) (Merinero *et al.*, 2005).

En el cultivo de especies que necesitan un control hormonal de la reproducción, los costes de las hormonas, son gastos que se añaden al frágil equilibrio económico de los criaderos, de hecho la búsqueda de la máxima rentabilidad es esencial en la utilización de estos productos. Según Valdebenito (2008), la elección de las hormonas y de las técnicas hormonales, tiene que tener en cuenta no solo la eficiencia de producto si no también los costes, por ejemplo en la salmonicultura chilena, el uso de implantes de GnRHa es una actividad rutinaria, a pesar de su alto costo.

En el pez gato africano, la utilización del producto comercial Ovaprim (®Syndel laboratory, Vancouver, Canada), que contiene SGNRHa (análogo de la Hormona liberadora de Gonadotropina de salmon), fue económicamente más rentable, que la utilización del estrato pituitario del mismo pez gato africano, y del extracto pituitario de la rana toro africana (*Rana adspersa*), a pesar de que los tres productos producían los mismos porcentaje de eclosión, de fertilización y periodo de latencia (Adebayo y Popoola, 2008), y además la solución de Ovaprim, diluida al 50 % con solución salina, fue más eficaz en términos de porcentaje de eclosión y supervivencia larvaria, que el mismo producto no diluido (Olumuji y Mustapha, 2012).

## 1.9. Calidad de puesta

Uno de los mayores problemas, para el desarrollo de nuevas especies en acuicultura es la reproducción, y la producción de huevos de buena calidad, por esto desarrollar protocolos para medir la calidad de la puesta en peces, ha sido muy importante en la investigación en acuicultura. La buena calidad de los huevos es una variable muy importante, que hay que tener en cuenta, porque se refleja en todas las fases de desarrollo larvario y posteriormente.

En la industria de la acuicultura los huevos de buena calidad han sido definidos como aquellos que tienen: baja mortalidad, buena tasa de fecundación, buena formación del embrión, alta tasa de eclosión, y de supervivencia antes de la primera alimentación exógena, cuando la larva ha reabsorbido el saco vitelino (Bromage *et al.*, 1992).

Kjørsvik (1994), ha usado la morfología de las larvas como indicador de la calidad de los gametos en algunas especie de peces.

Fernández-Palacios *et al.* (2005) indican que la supervivencia hasta la reabsorción del saco vitelino, y la producción final de larvas, son buenos parámetros para medir la calidad de la puesta.

También se ha propuesto la utilización de nuevos indicadores de la calidad de la puesta como: marcadores genéticos (Kestemont *et al.*, 1999; Carnevali *et al.*, 2000, 2001), peso de las cenizas del huevo (Trippel *et al.*, 2000), y el pH del fluido ovárico (Lahnsteiner *et al.*, 2000; Denson *et al.*, 2001).

Los indicadores de calidad, más usados en trabajos de investigación son:

- Fecundidad, tasa de eclosión y tasa de supervivencia (Fernández-Palacios *et al.*, 2005).
- Tasa de fecundación (Kjørsvik *et al.*, 2003).
- Marcadores genéticos (Kestemont *et al.*, 1999; Carnevali *et al.*, 2000, 2001).
- Peso de cenizas de los huevos (Trippel *et al.*, 2000).
- PH del fluido ovárico (Lahnsteiner *et al.*, 2000; Denson *et al.*, 2001).
- Forma y transparencia de huevos (Kjørsvik *et al.*, 1990; Bromage *et al.*, 1994).

- Morfología de larvas y huevos (Kjørsvik *et al.*, 1990; Kjørsvik, 1994).
- Número y distribución de gotas lipídicas (Kjørsvik *et al.*, 1990; Bromage *et al.*, 1994;).
- Composición bioquímica de los huevos (Kjørsvik *et al.*, 1990).
- Flotabilidad de los huevos (McEvoy, 1984; Carrillo *et al.*, 1989; Kjørsvik *et al.*, 1990).

Ningunos de los parámetros utilizados, parece ser capaz de medir por sí mismos la calidad de la puesta, sin embargo el uso de varios de estos en combinación parece aportar mejores resultados.

Las inducciones hormonales afectan a estos parámetros, que pueden variar en base a la técnica de inducción, a la hormona usada, a la dosis de inducción y a la especie estudiada (Crim y Geble, 1984; Lim, 1991; Hodson y Sullivan, 1993; Woods y Sullivan, 1993; Dabrowski *et al.*, 1994; Mylonas *et al.*, 1997; Lush y Crim, 2000; Shioda y Wakabayashi, 2000; Watanabe y Carrol, 2001).

### 1.10. Cultivo de la *Seriola*

Debido a algunas características como: rápido crecimiento, buena capacidad de adaptación a la cautividad, alta demanda y valor comercial, algunas especies del género *Seriola* tienen gran interés para la acuicultura mundial.

***Seriola quinqueradiata*** (seriola coreana, japanese amberjack).

Desde los años 40 se cultivan en jaulas marinas en Japón, Corea y Taiwán, principalmente a partir de juveniles capturados en la naturaleza, cerca de objetos flotantes. Representa más de 80% del total de *Seriolas* producidas por la acuicultura. Entre los años 80' y 90' su producción media anual alcanzó las 140.000 t (el 70% de la producción total de peces marinos de Japón) (Cataudella y Mazzola, 2013), mientras que en el 2012 la producción alcanzó 160.396 toneladas (FAO, 2012). Sin embargo, no existe producción a escala comercial de juveniles.

***Seriola lalandi*** (medregal del cabo, yellowtail amberjack).

Se cultiva en Japón y Corea en jaulas marinas flotantes, principalmente a partir de juveniles capturados en la naturaleza. La producción es más baja en comparación con la *S. quinqueradiata*, y no pasa de las 10.000 toneladas por año. Desde el final de los años 90, son criadas en jaulas marinas flotantes, a escala comercial en Australia y Nueva Zelanda, a partir de juveniles criados en cautividad, procedentes de reproductores silvestres mantenidos en cautiverio. A principios de los años 2000, la producción anual en Australia variaba entre 2.000-5.000 t (PIRSA, 2002; Cataudella y Mazzola, 2013).

***Seriola rivoliana*** (medregal negro, longfin yellowtail).

Desde finales de los 90 se registran producciones experimentales en Ecuador a partir de reproductores salvajes y F1 mantenidos en cautividad, con producciones que no superan las 20.000 unidades. Desde el 2005 se cultiva en jaulas flotante en Hawái, USA, en el 2008 la producción alcanzó la 750 t. (Cataudella y Mazzola, 2013).

***Seriola dumerili*** (pez de limón, greater amberjack).

Cultivadas en jaulas flotante en Japón, a partir de juveniles recolectados en la naturaleza; en los años 90' fue el segundo pez más producido en Japón (Nakada, 2000). Al final de los años 90' existen producciones experimentales de juveniles en Italia, Grecia, España y Malta, a partir de reproductores salvajes mantenidos en cautividad e inducidos con hormonas. En Malta en 2010 se produjeron 14.000 juveniles. (Cataudella y Mazzola, 2013).

A excepción de la *Seriola dumerili*, las otras especies se reproducen de forma espontánea en cautiverio sin necesidad de tratamiento hormonal (Cataudella y Mazzola, 2013), aunque hay casos de reproducción espontánea de *Seriola dumerili* en cautividad, donde reproductores mantenidos en tanques de 500 m<sup>3</sup>, ponen sin inducción hormonal (Jerez *et al.*, 2006).

Considerada la gran importancia del pez de limón como especie para la diversificación de la acuicultura de los países mediterráneos, en los últimos años varios grupos de investigación han realizados estudios sobre el desarrollo de técnicas de reproducción y cultivo larvario de esta especie (Tabla III).

Tabla III. Resumen de las investigaciones sobre la reproducción de *Seriola dumerili*, en países mediterráneos de la UE en los últimos años

País/Fuente	Técnicas	Puesta	Observaciones
Croacia: (Kozul <i>et al.</i> , 2001)	1998-Inducción con HCG a la dosis de 1000 I.U./Kg	2 eventos reproductivos con 750 g de huevos en el primero y 1250g en el segundo	En la primera puesta todos los huevos no fertilizado, en la segunda 200g fertilizados (16%)
España (Jerez <i>et al.</i> , 2006)	2002: puestas espontaneas de reproductores mantenidos en cautividad durante 6 años	14 millones de huevos recogidos en 38 eventos reproductivos entre 29/04 y 01/10	Tanque 500 m <sup>3</sup> , T° entre 19,7 y 24,5°C; Peso medio reproductores 25 Kg (N=12); fecundación 62%; eclosión 16%
(Fernández-Palacios <i>et al.</i> , 2013)	2012: inducciones con inyecciones intramusculares de GnRH $\alpha$ a la dosis de 20 $\mu$ g kg <sup>-1</sup>	15 inducciones y 22 puestas en toda la estación reproductiva, 330.821 $\pm$ 219.519 huevos por inducción	Tasa de fertilización media 93,13%; 98,64% eclosión y 89,76% supervivencia
(García-Gómez y De la Gándara, 2003)	Inducción con jeringa intramuscular de HCG en dos hembras salvajes	Cerca 2 millones de huevos en un evento reproductivo. 43.000 huevos/Kg de peso	2 hembras, peso medio 23 Kg, cerca de la mitad de los huevos obtenidos con masaje abdominal



<b>Grecia:</b> (Mylonas <i>et al.</i> , 2004)	2003: inducción con implante intramuscular de GnRH $\alpha$ la dosis de 500 $\mu$ g por pez	Primera inducción 12/06, 36h después 36.000 huevos. Segunda inducción 27/06, 36h después 180.000 huevos, 5 días después 336000 huevos	Tanque 40 m <sup>3</sup> , T° primera inducción 23°C; T° segunda inducción 25°C; Peso medio reproductores 14 Kg; fecundación 28%;
(Caprioli, datos no publicados)	2007: inducción con implante intramuscular de GnRH $\alpha$ sobre reproductores F1	Dos eventos reproductivos a distancia de 5 días, total de 700.000 huevos	Primera semana de julio, peso medio reproductores 10 Kg (N=12)
<b>Italia:</b> (Lazzari <i>et al.</i> , 2000)	1998: Inducción con LHRH $\alpha$ y decapeptyl a la dosis de 2-10 $\mu$ m/Kg y 20-40 $\mu$ m/Kg	3 eventos reproductivos con un total de 2.250g de huevos	T° primera deposición 21°C; biopsia oocitos 400-600 $\mu$ m de diámetro
<b>Malta:</b> Producción estable de huevos desde el 2006 (Vitalini, datos no publicados)	2007-2008. Reproductores salvaje mantenidos en jaulas se transfieren a tanque en tierra. Canulados e inducidos intramuscularmente con HCG 500 UI	2007: inducción 16/6 huevos no fecundados. Puesta espontanea en jaula el 19/6  2008: inducción 30/05, 48h después 4,5 millones de huevos. Inducción 10/7, 48h después 7 millones de huevos	Dimensión tanque 200 m <sup>3</sup> , h 4m; T° primera inducción 20,3°C; T° 2° puesta 22°C; Peso medio reproductores 21 Kg; sex ratio 50:50; % fecundación > 60%; eclosión > 90%; biopsia: oocitos con 400-600 y 600-800 $\mu$ m

Según FAO (2012) la producción industrial europea de *Seriola dumerili* es muy limitada, de hecho en el 2011 no se superaron las dos toneladas (Fig. 6). A nivel mundial, la producción a partir de alevines nacidos en cautividad es también pequeña (Fig. 7).

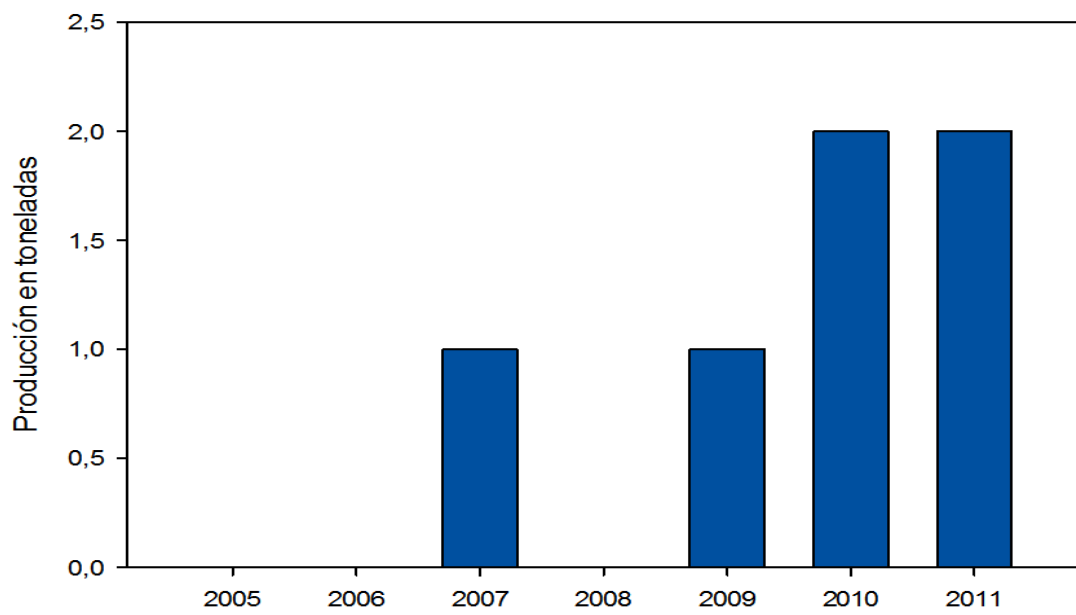


Fig. 6. Producción en Europa de *Seriola dumerili*, en el periodo 2005-2011 (FAO, 2012).

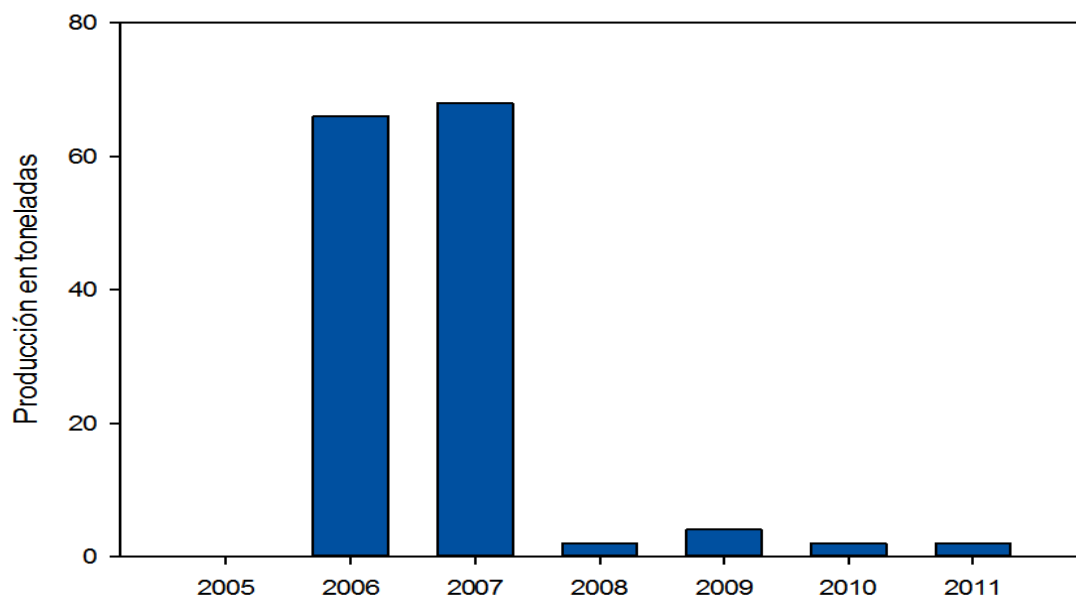


Fig. 7. Producción mundial de *Seriola dumerili*, en el periodo 2005-2011 (FAO, 2012).

## 2. Objetivo:

El objetivo principal de este estudio fue determinar la eficacia, y el efecto en la calidad de la puesta, de diferentes métodos de aplicación de la hormona GnRH $\alpha$ , en la inducción de reproductores de pez de limón (*Seriola dumerili*). Para ello se establecieron como objetivos secundarios los siguientes:

- Determinar la eficacia de la inducción hormonal en la obtención de las puestas.
- Determinar el efecto de distintos métodos de aplicación sobre la calidad de las puestas.
- Determinar el efecto de distintos métodos de aplicación sobre la producción de los reproductores.
- Determinar la eficacia económica de los métodos de inducción.

### 3. Material y métodos

#### 3.1. Especie objeto del experimento.

Phyllum: Cordata

Superclase: Gnathostomata

Clase: Actinopterygii

Orden: Perciformes

Familia: Carangidae

Género: *Seriola*

Especie: *Seriola dumerili*

El pez de limón *Seriola dumerili* (Risso, 1810) (Fig. 8), es un pez teleósteo de la familia Carangidae, que está formada por 33 géneros y 140 especies.



Figura. 8. *Seriola dumerili*, Risso, 1810 (www.google.it).

### 3.1.1. Descripción

La especie se caracteriza por tener un cuerpo alargado, moderadamente alto y ligeramente comprimido. Tiene ojos pequeños en comparación al cuerpo, los dientes son pequeños y se distribuyen en una gran banda en las dos mandíbulas. Posee dos aletas dorsales con 8 espinas dorsales y 29-35 radios blandos, 3 espinas anales y 18-22 radios blandos anales. El color dorsalmente, es amarillo-verdoso en juveniles, y en adultos es azulado o gris oliváceo, de color blanco plateado en lados y vientre; aletas oscuras (Smith-Vaniz, 1986). Segunda aleta dorsal y anal con lóbulo anterior (Smith, 1997). Alcanza un tamaño máximo entre 180-190 cm de longitud total y un peso máximo de 80-90 Kg (Bauchot, 1987), con una media de 100 cm de longitud total y 25-40 Kg (Smith-Vaniz, 1986).

### 3.1.2. Distribución

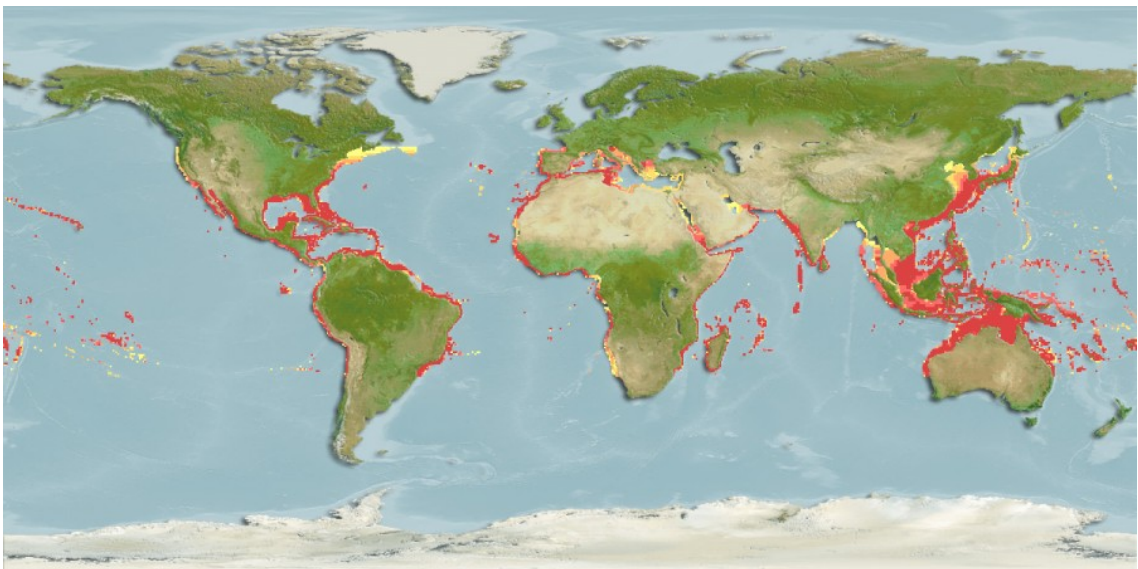


Figura. 9. Distribución mundial de *Seriola dumerili* (Froese y Pauly, 2014).

Es una especie de distribución global (Fig. 9). Se distribuye a lo largo del Mediterráneo hasta el Golfo de Vizcaya, Marruecos, y raramente en la costa británica. También se

encuentra en Nueva Escocia hasta Brasil, Sudáfrica, Golfo Árabe, Australia, Japón y Hawái. La distribución en el Atlántico centro oriental a lo largo de la costa africana no está bien establecida, debido a la confusión en el pasado con *Seriola carpenteri*, aunque su presencia en el Archipiélago Canario está bien documentada (Moro *et al.*, 2003).

### 3.1.3. Biología

Es un pez tanto pelágico como costero, los adultos se encuentran desde los arrecifes hasta el mar profundo, normalmente entre los 18 y 72 metros de profundidad pero pueden aparecer en profundidades mucho más elevadas, de vez en cuando entran en bahías costeras, frecuentemente forman bancos, aunque pueden ser solitarios (Smith-Vaniz, 1986). Los jóvenes entre 9 y 20 cm tienen hábitos alimentarios prevalentemente planctónicos, a base de larvas de crustáceos, gasterópodos y anfípodos pelágicos, mientras desde los 20-30 cm se alimentan principalmente de peces (Pipitone y Andaloro, 1995), y también de invertebrados (Smith-Vaniz, 1986), por esto es considerada una especie oportunista, y su dieta varía en función del tamaño (Mazzola *et al.*, 1993; Matallanas *et al.*, 1995; Pipitone y Andaloro, 1995). Los juveniles pequeños se asocian a plantas y algas flotantes, o desechos en las aguas oceánicas y en alta mar. Se pueden encontrar en bancos o en solitario (Fischer *et al.*, 1990).

### 3.1.4. Reproducción en la naturaleza

Los sexos son separados (Smith-Vaniz, 1986). La diferenciación sexual empieza a partir de 24 - 25,5 cm de longitud total, en el 4° - 5° mes de vida (Marino *et al.*, 1995). A los 4 - 5 años de edad maduran sexualmente (Marino *et al.*, 1995; Kožul *et al.*, 2001). Son peces de puesta múltiple, con el ovario formado por grupos sincrónicos, donde al menos dos grupos de oocitos están presentes en el mismo momento (Grau *et al.*, 1992). En el periodo reproductivo, que en el Mediterráneo coincide con meses de primavera y verano, desde mayo hasta julio (Lazzari y Barbera, 1988; Grau *et al.*, 1992), se acercan a

las costas. El índice gonado-somático varía con los años entre 0,51 y 15,56 para las hembras y entre 0,05 y 8,23 para los machos (Cataudella y Mazzola, 2013). En cautiverio los machos alcanzan la madurez, produciendo pequeñas cantidades de esperma, mientras que en las hembras, la maduración de las gónadas se para al comienzo de la vitelogénesis (Cataudella y Mazzola, 2013). Las migraciones reproductivas se repiten de forma constante en el curso de los años, y es en este periodo cuando más ejemplares se capturan. Los huevos son pelágicos, esféricos, con un diámetro entre 1,0 y 1,2 mm, una sola gota lipídica de 0,2-0,3 mm (Masuma *et al.*, 1990; Lazzari, 1991; Tachihara *et al.*, 1993), la eclosión ocurre después de 35h (23-27°C) o 48h (20°C), tras la fecundación (Lazzari, 1991; Tachihara *et al.*, 1993).

### 3.2. Condiciones de cultivo

#### 3.2.1. Reproductores

Los reproductores utilizados en el presente experimento, proceden de un lote de 22 ejemplares de pez de limón, que fueron capturados, en el año 2011, en la costa SO de Gran Canaria por barcos artesanales. Las artes utilizadas fueron nasas de profundidad, con dimensiones entre 2,5 y 3 m de diámetro, y 0,85 y 1,10 m de altura. Los peces una vez capturados, se mantuvieron en circuito abierto en los viveros de las embarcaciones hasta su llegada al puerto de Mogán (Gran Canaria) (Fig. 10).



**Figura. 10. Traslado a tierra de los reproductores capturados.**

A continuación fueron trasladados por carretera, en tanques de 500 l con oxígeno disuelto (Fig. 11). A su llegada a las instalaciones, los peces se estabularon en un tanque de 10 m<sup>3</sup> de capacidad, negro de fibra de vidrio reforzada con polyester (3 m x 3 m x 1,5 m), situado en la Planta Piloto de Producción de Alevines (PPPA) del Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA), localizada en las instalaciones del Parque Científico Tecnológico Marino (PCTM), de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC), situado en el municipio de Telde (Gran Canaria).



**Figura. 11. Camión de transporte con los reproductores.**

Una vez aclimatados a las condiciones de cultivo, los peces fueron anestesiados, en un tanque de poliéster de 500 l de capacidad (Fig. 12), utilizando aceite de clavo (GUINAMA, Valencia, España), a una concentración de 1ml por cada 10 l de agua de mar, y se determinó su longitud total (LT), la longitud furcal (LF) y el peso (P), procediendo al marcaje mediante microchip subcutáneo, PIT (Trovan Ltd. Reino Unido). Los peces se



alimentaron dos veces por semana con pienso comercial (Skretting, Burgos, España), y una vez a la semana con alimento fresco (calamar y mejillón).



**Figura. 12.** Tanque de poliéster de 500 l para anestesiar los peces.

En mayo del 2012, los 22 ejemplares del lote se muestrearon de nuevo, y dado que la biomasa se había duplicado, los peces se dividieron en dos tanques de 10 m<sup>3</sup>, iguales a los anteriormente descritos.

En 2013, los 22 ejemplares del pez de limón se trasladaron a la nueva Estación de Reproductores del PCTM, y se estabularon en un tanque de 40 m<sup>3</sup>, de color negro, construido con poliéster reforzado con fibra de vidrio. Los tanques tienen un diámetro de 5 m y una profundidad de 2,35m en la parte central, y cuentan con una entrada de agua en su parte superior, y dos desagües situados en el fondo, uno de ellos en posición central para el vaciado total, y el otro en posición lateral para un vaciado parcial. Los

peces se mantuvieron bajo condiciones naturales de fotoperiodo, salinidad y temperatura, durante el periodo experimental, con una tasa de renovación diaria del 600%. Los peces se alimentaron dos veces a la semana con pienso comercial para reproductores (13 mm, Vitalis CAL, Skretting, Burgos, Spain) a una tasa del 1%, y una vez la semana con caballa (*Scomber scombrus*) a una tasa del 2%, del peso corpóreo.

A principios del mes de junio del 2013, los 22 ejemplares fueron anestesiados utilizando aceite de clavo, y se volvieron a pesar (P) y a medir (LT y LF), y con el objetivo de seleccionar a los reproductores para el experimento se determinó su sexo, mediante la realización de un masaje abdominal, once de los ejemplares respondieron emitiendo esperma y fueron catalogados como machos. A los otros once ejemplares, que no emitieron esperma, se les practico una canulación ovárica que se llevó a cabo utilizando un catéter con un diámetro interno de 1.3 mm (Kruuse, Langeskov, Dinamarca), introduciéndolo por el poro genital (Fig. 13). Cada muestra de ovario se puso sobre un portaobjetos y se le añadió unas gotas de solución de Serra (6:3:1, 60% de etanol al 96%, 30% de formol al 40% y 10% de ácido acético glacial al 96%), para disgregar y transparentar los oocitos, y se observaron en un proyector de perfiles (Mitutoyo PJ-3000A, Kanagawa, Japón) para estimar el diámetro de 100 ovocitos elegidos al azar. Todos los ejemplares canulados tenían oocitos por lo que fueron catalogados como hembras, de ellas 9 tenían oocitos mayores de 500 $\mu$ , por lo que fueron seleccionadas para el experimento (Fernández-Palacios *et al.*, 2013).



**Figura. 13.** Biopsia ovárica de ejemplares de *Seriola dumerili*.

### 3.2.2. Tanques experimentales

Los reproductores seleccionados para el experimento, se estabularon en 3 tanques a razón de 3 machos y 3 hembras en cada uno. Los tres tanques eran de 10 m<sup>3</sup> de capacidad, de sección cuadrada iguales a los descritos anteriormente, situados en la Estación de Reproductores del PCTM, funcionaban en circuito abierto con una tasa de renovación diaria del 600%, aireación constante distribuida en cuatro puntos en el fondo del tanque a lo largo del perímetro, para evitar la sedimentación de los huevos y facilitar la salida de estos. La salida de agua, situada a nivel de la superficie, terminaba dentro de otro pequeño tanque con salida por rebosadero en la parte superior, donde estaba colocado un colector con malla de 500 µm de luz. La salida por rebosadero aseguraba que los huevos no quedaran en seco, en el caso de fallo del suministro de agua (Fig. 14), a su vez el tanque con el recolector de huevos estaba situado dentro de otro tanque de 500 litros de capacidad para evitar encharcamientos de agua en la tarima.

La temperatura y el oxígeno disuelto de los tanques, se controlaban en continuo, mediante un sistema de sondas automatizadas (INNOVAQUA, Sevilla, España).

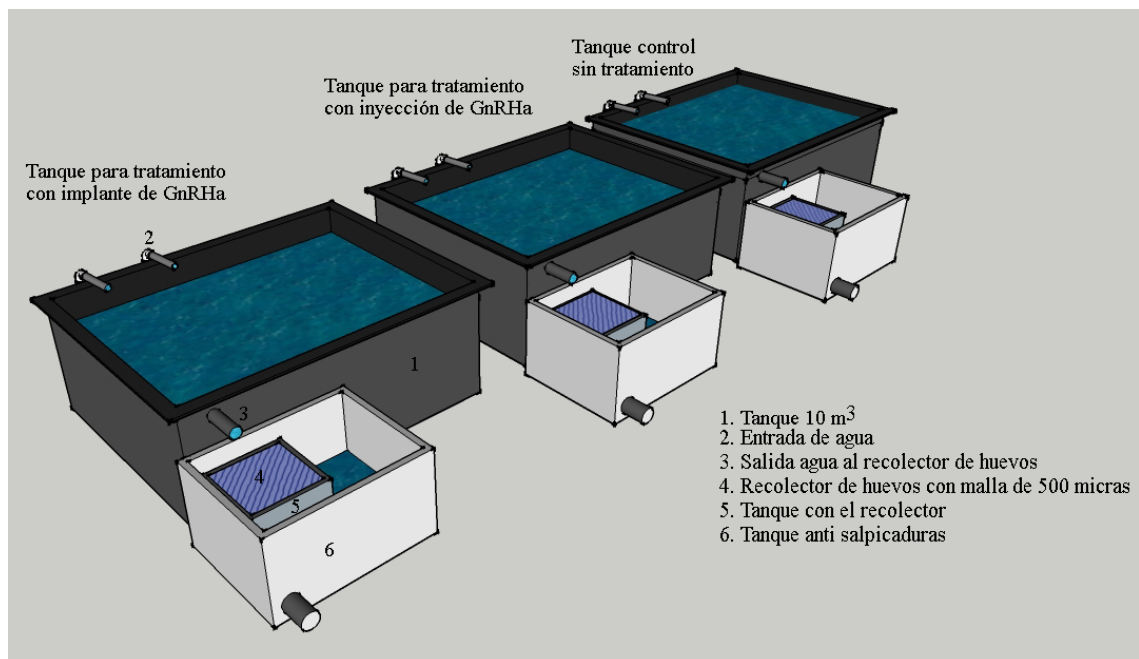


Figura. 14. Esquema de los tanques experimentales.

### 3.3. Inducciones

Semanalmente se indujeron una hembra y un macho, siguiendo el diseño experimental que preveía tres inducciones por cada hembra y por cada macho, a lo largo de la temporada de puesta (desde junio hasta octubre en Canarias) (Fernández-Palacios *et al.*, 2013), tres hembras y tres machos por cada tratamiento. Los reproductores del tanque control no fueron inducidos.

El día anterior a la inducción se preparaban las hormonas: tanto los implantes como las inyecciones. Los implantes de GnRH "Ovaplan®" (Syndel, International Co. Vancouver, Canada), se preparaban a una dosis de 40 µg Kg<sup>-1</sup>, para las hembras, y 30 µg Kg<sup>-1</sup> para los machos (Mylonas *et al.*, 2004), y se ponían en bolsas numeradas una por cada pez. Para el tratamiento con inyección se numeraban las jeringas, se preparaba la hormona GnRH (LHRHa, des-Gly10, [D-Ala6]-Sigma®-Aldrich, St. Louis, MO, USA) a una dosis de 20 µg por kg<sup>-1</sup>, tanto para las hembras como para los machos (Fernández-Palacios *et al.*, 2013), se diluía con solución salina (Suero Fisiológico® Vitula 0,9% Lab. Ernesto S.A., Barcelona,

España) y se ponía la solución en la jeringa con el número correspondiente al pez; se guardaban bolsas y jeringas en una nevera hasta al día siguiente.

El día de la inducción, a primeras horas de la mañana se bajaba el nivel de los tanques de estabulación, y se transferían los peces uno a uno al tanque de anestesia; circular de 500 l con agua de mar y aceite de clavo, a una concentración de  $0,04 \text{ ml l}^{-1}$ . Los peces del tratamiento con implantes se pinchaban intramuscularmente, con una pistola para implantes “Ralgun®” (Syndel, International Co. Vancouver, Canadá.) (Fig. 15) desinfectando al final la herida con Betanine® (Meda Pharma SAU, Madrid, España), los peces del tratamiento con inyección se pinchaban con la jeringa correspondiente (Fig. 16).

Los peces una vez inducidos se devolvían a su tanque de origen, se reabría el circuito y se observaban hasta su total recuperación.



**Figura. 15. Inducción con implante.**





Figura. 16. Inducción con jeringa.

### 3.4. Control de las puestas

Los huevos se clasificaron, según los criterios definidos por Kjorsvik *et al.* (1990) en las siguientes categorías:

**Huevos vivos:** huevos flotantes, con morfología normal, transparente, perfectamente esférica, y con blastómeros claros y simétricos. Estas características continúan a lo largo de todo el desarrollo hasta la eclosión.

**Huevos muertos:** huevos no flotantes, con vitelo opaco o con perforaciones en la membrana que permite la penetración del medio exterior haciendo que el vitelo se condense y precipite.

**Huevos no fecundados:** huevos con forma esférica, consistencia blanda, de aspecto general incoloro y traslúcido. La gota de grasa se aprecia de forma difuminada. Con arrugas en la superficie del corion que le dan un aspecto mate. Con un espacio perivitelino bien aparente a nivel de polo animal.

Trascurridas 24 horas desde la inducción, los recolectores de huevos fueron inspeccionados cada 10 minutos, hasta observar huevos en los mismos, para determinar así la hora de puesta y poder calcular el tiempo de latencia (intervalo de tiempo transcurrido entre la inducción y la puesta).

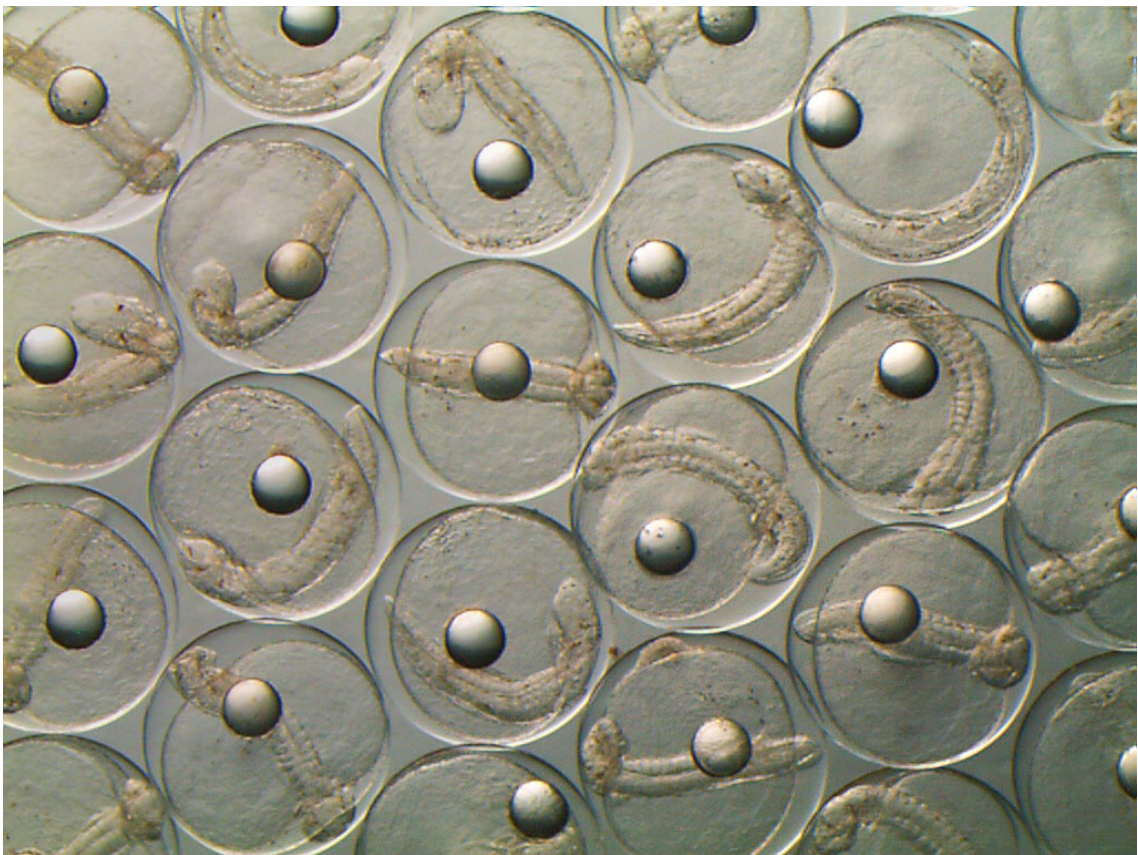
Una vez recogida, la puesta se trasería a un tanque de 500 l, circular, troncocónico, equipado con un incubador de huevos con malla de 500  $\mu\text{m}$  de luz, aireación suave y central, y baja tasa de renovación (Fig. 17). Los huevos se incubaban 24 horas, para facilitar así la distinción entre los huevos vivos y los muertos. El mismo día de la puesta se recogía una muestra para determinar el % de huevos fertilizados, esta se ponía en un vaso de precipitado de 1 l, con aireación constante y con una pipeta graduada se sacaban 5 ml de muestra y se contaba en una cámara de Bogorov, con la ayuda de una lupa binocular (Leica-S6E, Wetzlar, Alemania) distinguiéndose los huevos fertilizados y los no fertilizados, esta operación se repetía cinco veces, una vez calculado el % de fertilización, la muestra de 1 l se devolvía al incubador (Fernández-Palacios *et al.*, 2005).



Figura. 17. Tanque con incubador de malla de 500  $\mu\text{m}$ .



El día siguiente de la puesta, se cerraban la aireación y el flujo de agua en los tanques de incubación, y se esperaba una hora a que los huevos se separasen; con un sifón se aspiraba la fracción no flotante y se ponía en un cubo de 10 litros con aireación, la fracción flotante (Fig. 18) se ponía en otro cubo de 10 litros con aireación. En los dos cubos se contaban los huevos vivos, los muertos, sacando de cada cubo 5 ml de muestra, poniéndola en cámara de Bogorov y contando bajo la lupa binocular, también en este caso la operación se repetía cinco veces. El número total de huevos de la puesta se calculaba según Fernández-Palacios *et al.* (2005).



**Figura 18.** Huevos de la fracción flotante a las 36 horas da la puesta.

Para determinar los porcentajes de eclosión y supervivencia larvaria, tres cantidades conocidas de huevos, se incubaban en tres vasos de precipitado de cristal de 250 ml, estos vasos se colocaban en bandejas, con recirculación de agua de mar, de manera que la temperatura de los vasos se mantenía a la misma temperatura que la del agua de mar en las instalaciones (Fig. 19).



Después de cinco días de la siembra (3 días post eclosión, 3 dpe), cuando el saco vitelino de la larva se ha reabsorbido, se contaban las larvas vivas, las larvas muertas y los huevos no eclosionados (Fernández-Palacios *et al.*, 2005).



Figura. 19. Vasos de precipitado con los huevos en bandejas, con recirculación de agua de mar.

### 3.5. Parámetros controlados

**Eficacia de la inducción** (Fernández-Palacios *et al.*, 2009):

- N° de hembras inducidas que tuvieron puesta
- N° de puestas por inducción
- Periodo de latencia para cada puesta

**Calidad de la puesta** (Fernández-Palacios *et al.*, 2005):

- Porcentaje de huevos fecundados
- Porcentaje de huevos vivos
- Porcentaje de eclosión
- Porcentaje de supervivencia (larvas de 3 dpe)

**Producción por puesta** (Fernández-Palacios *et al.*, 2005):

- N° de huevos fecundados
- N° de huevos vivos
- N° de larvas eclosionadas
- N° de larvas supervivientes (3 dpe)

**Producción por inducción** (Fernández-Palacios *et al.*, 2011):

- N° de huevos fecundados
- N° de huevos vivos
- N° de larvas eclosionadas
- N° de larvas supervivientes (3 dpe)

**Producción por kg de hembra y por puesta** (Fernández-Palacios *et al.*, 2005):

- N° de huevos fecundados
- N° de huevos vivos
- N° de larvas eclosionada
- N° de larvas superviviente (3 dpe)

**Producción por kg de hembra y por inducción** (Fernández-Palacios *et al.*, 2011):

- N° de huevos fecundados
- N° de huevos vivos
- N° de larvas eclosionadas
- N° de larvas supervivientes (3 dpe)

**Eficacia económica de la inducción** (Hakuć-Błażowska *et al.*, 2009)

- Coste por kg de hembra inducida
- Coste de 1000 huevos por kg de hembra y por puesta
- Coste de 1000 larvas por kg de hembra y por puesta
- Coste de 1000 huevos por Kg de hembra y por inducción
- Coste de 1000 larvas por Kg de hembra y por inducción

### 3.6. Análisis de datos

Los resultados se han expresado como media  $\pm$  desviación estándar. Todos los datos recogidos, fueron estadísticamente tratados con el test de la t de *Student's*  $p < 0,05$ , usando el programa de análisis estadístico SPSS v.22.0 (versión 22.0 por Windows) (®IBM, Chicago, IL, USA).

### 3.7. Nombres vulgares de las especies utilizados

Los nombres vulgares de las especies, utilizados en este trabajo fueron tomados del “Diccionario multilingüe de especies marinas para el mundo hispano” (Vera, 1992). En caso de no figurar, la especie, en dicho diccionario se utilizó la denominación FAO en español de la base de datos “Fishbase” (Froese y Pauly, 2014) y en el caso de no existir el nombre en español, se utilizó la denominación FAO en inglés de esa base de datos.

## 4. Resultados

### 4.1. Parámetros abióticos del agua durante el experimento

La Fig. 20, indica los valores de temperatura del agua durante el periodo experimental.

La temperatura más baja se registró en el mes de mayo, con una temperatura media de  $20,83 \pm 0,32$  C°, mientras que la más alta fue en el mes de septiembre con un valor medio de  $23,84 \pm 0,18$  C°.

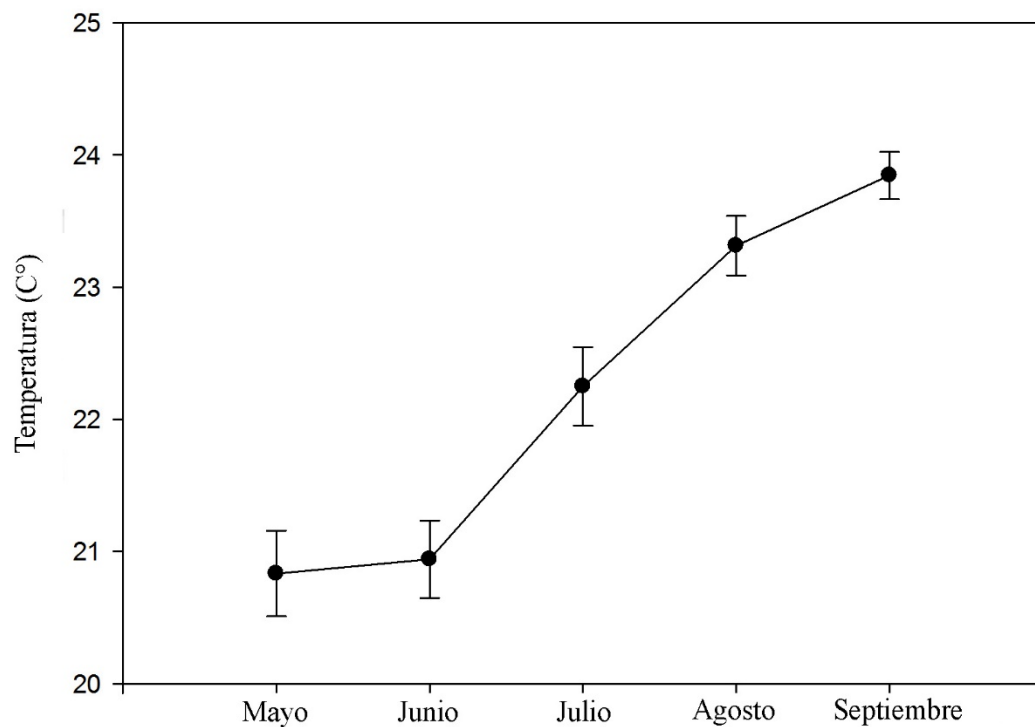


Figura. 20. Valores de la temperatura del agua, durante el periodo experimental.

Los valores de concentración de oxígeno disuelto, representados en la Fig. 21, varían entre  $7,05 \pm 0,15$  ppm en el mes de septiembre, y  $7,33 \pm 0,14$  ppm en el mes de mayo.

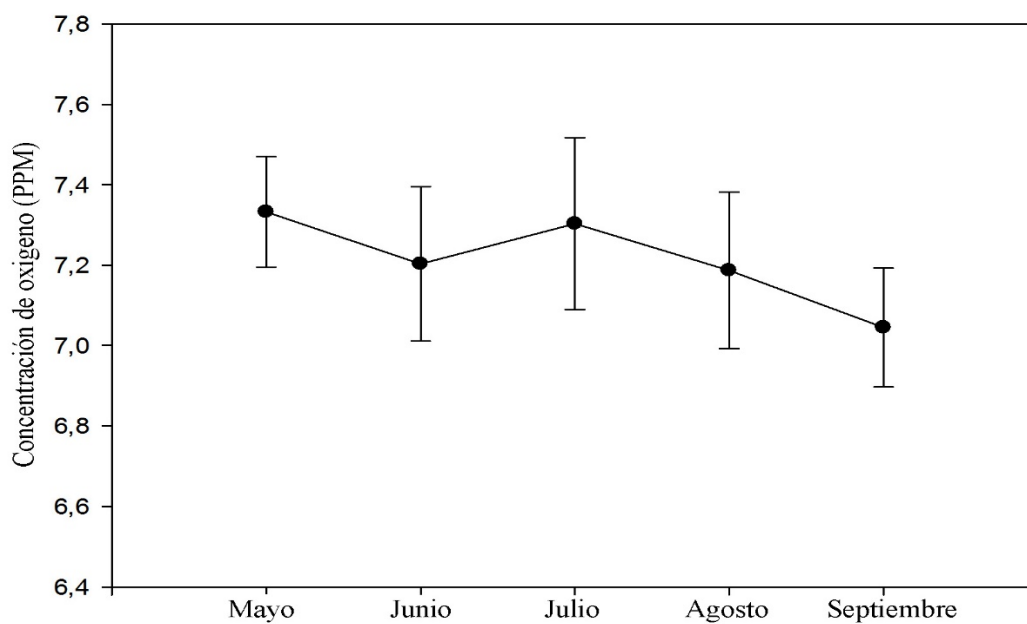


Figura. 21. Valores de oxígeno disuelto, a lo largo del periodo experimental.

#### 4.2. Evolución biométrica de los reproductores

En la Tabla IV se indican las características biométricas de los reproductores utilizados en el experimento. Las Figs. 22, 23 y 24 muestran la evolución del peso, longitud total y furcal de todo el stock capturado en el 2011, desde la llegada a las instalaciones del GIA hasta el inicio del experimento. Las hembras han multiplicado su peso por casi 2,5, y los machos por casi 3,8, pasando desde  $3,44 \pm 1,32$  Kg hasta  $8,18 \pm 1,09$  Kg las hembras, y desde  $2,35 \pm 0,97$  Kg hasta  $8,86 \pm 1,69$  Kg los machos.

Tabla IV. Datos biométricos de los reproductores utilizados en el experimento

Tratamiento	Hembras			Biomasa kg/m <sup>3</sup>
	Peso (Kg) (P)	Longitud total (cm) (LT)	Longitud furcal (cm) (LF)	
Implante	8,74±1,29	87,50±3,90	77,73±4,90	5,31
Inyeccion	7,78±0,97	84,25±4,44	73,87±4,75	4,68
Control	8,04±1,03	85,56±3,89	75,36±4,05	5,06
Machos				
Implante	8,98±2,08	87,83±7,78	74,76±4,90	5,31
Inyeccion	7,85±1,77	83,66±7,78	73,27±6,50	4,68
Control	8,75±1,23	85,65±6,48	75,36±5,54	5,06

\*Diferencias en los superíndices de la misma columna indican diferencias significativas (P<0,05).

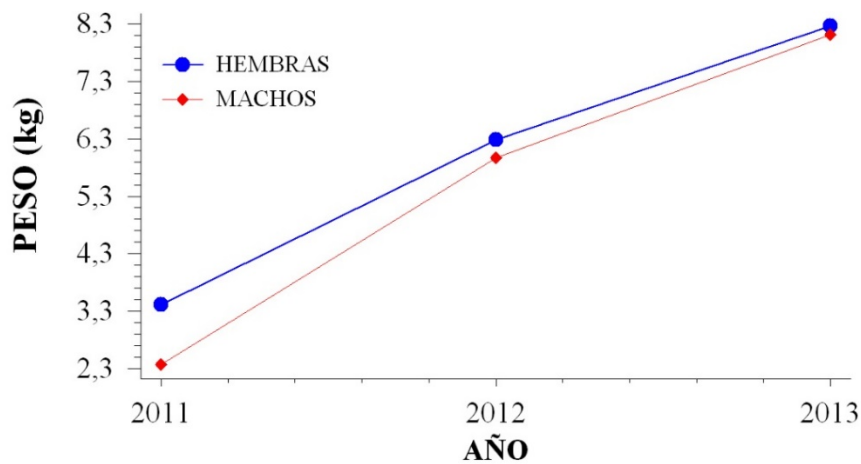


Figura. 22. Evolución del peso del stock capturado en el 2011, desde la llegada a la instalación hasta el inicio del experimento.

En el año 2011, cuando los reproductores fueron capturados en la naturaleza, el peso total de los 22 ejemplares fue de 63,6 Kg y la biomasa en el tanque de 10m<sup>3</sup> donde se estabularon fue de 6,36/m<sup>3</sup>.

En el 2012 el peso total de los ejemplares fue de 134,89 Kg y la biomasa en los dos tanques donde se mantuvieron fue de 6,74 Kg/m<sup>3</sup>.

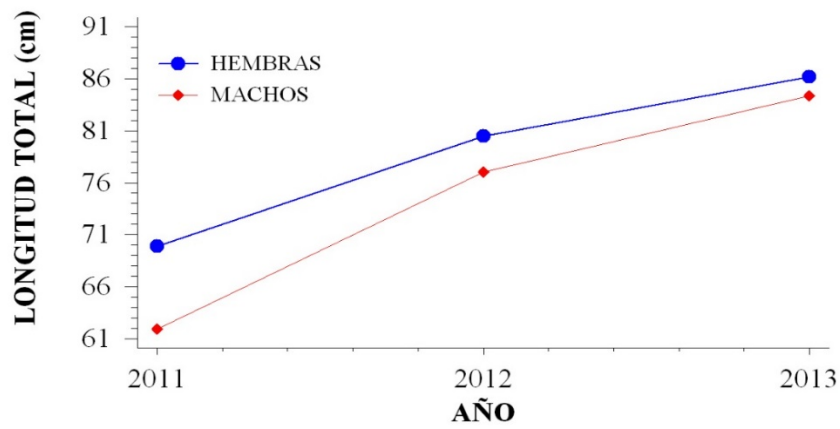


Figura. 23. Evolución de la longitud total del stock capturado en el 2011, desde la llegada a la instalación hasta el inicio del experimento.

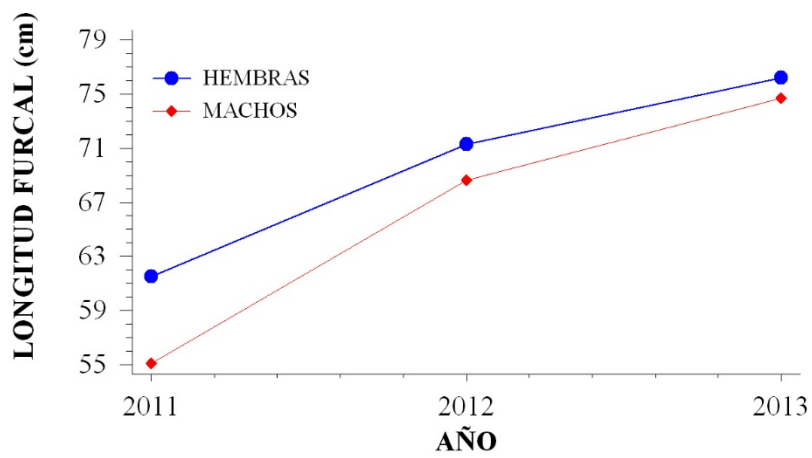


Figura. 24. Evolución de la longitud furcal del stock capturado en el 2011, desde la llegada a la instalación hasta el inicio del experimento.

#### 4.2.1. Diámetro de los oocitos

En la Tabla V, se indican las medidas del diámetro de los oocitos, de las hembras de los tres tratamientos, antes del inicio del experimento. El análisis estadístico de los datos,

indica que no hay diferencias significativas en el diámetro de los oocitos de los tres tratamientos.

**Tabla V. Valores medios del diámetro de los oocitos de las hembras de cada tratamiento, antes del inicio del experimento**

Tratamiento	N° hembras inducidas	Oocitos (mm)
Implante	3	0,679±0,087
Inyeccion	3	0,666±0,065
Control	0	0,677±0,076

\*Diferencias en los superíndices de la misma columna indican diferencias significativas (P<0,05)

### 4.3. Eficacia de la inducción

No se obtuvieron puesta en el grupo control. En la Tabla VI, se representan los datos de la eficacia de la inducción hormonal. En los dos tratamientos experimentales, todas las hembras tuvieron puestas en todas las inducciones, el número de puestas fue de 19 en el tratamiento con implante y de 10 en el tratamiento con inyección. El tiempo de latencia medio en los dos casos es similar. No hubo diferencias estadísticamente significativas en ningunos de los parámetros considerados para la eficacia de la puesta.

**Tabla VI. Eficacia de la inducción hormonal**

Tratamiento hormonal	N° hembras inducidas	N° inducciones	% Hembras con puesta	N° Puestas	N° Puestas por inducción	Periodo de latencia
Implante de GnRHa	3	9	100	19	2,11± 2,26	41,12 ± 2,08
Inyección de GnRHa	3	9	100	10	1,11± 0,33	42,37± 1,34

\*Diferencias en el superíndices de la misma columna indican diferencias significativas (P<0,05).



#### 4.4. Efecto de los tratamientos sobre la calidad de la puesta

La Tabla VII muestra los datos de los parámetros de calidad de puesta. El porcentaje de huevos fecundados fue alto en los dos casos, y entre los dos tratamientos no hubo diferencias significativas en este parámetro, sin embargo, el bajo porcentaje de huevos viables en las inducciones con implantes (15,10), fue estadísticamente menor de que el de tratamiento con inyección (42,01).

En cuanto a porcentaje de eclosión de los huevos y supervivencia de las larvas hasta la reabsorción del saco vitelino (3 dpe), el tratamiento con inyección tuvo mejores resultados en comparación con los implantes. En estos dos parámetros el análisis estadístico también relevó diferencias significativas.

Tabla VII. Parámetros de la calidad de la puesta

Tratamiento hormonal	% huevos fecundados	% Huevos viables	% Eclosión	% Supervivencia larvaria (3 dpe)
Implante de GnRHa	96,99±4,29	15,10±19,18 <sup>a</sup>	37,36±41,92 <sup>a</sup>	31,43±36,63 <sup>a</sup>
Inyección de GnRHa	98,83±1,43	42,01±31,65 <sup>b</sup>	73,33±39,47 <sup>b</sup>	81,56±29,56 <sup>b</sup>

\*Diferencias en el superíndice de la misma columna indican diferencias significativas (P<0,05).

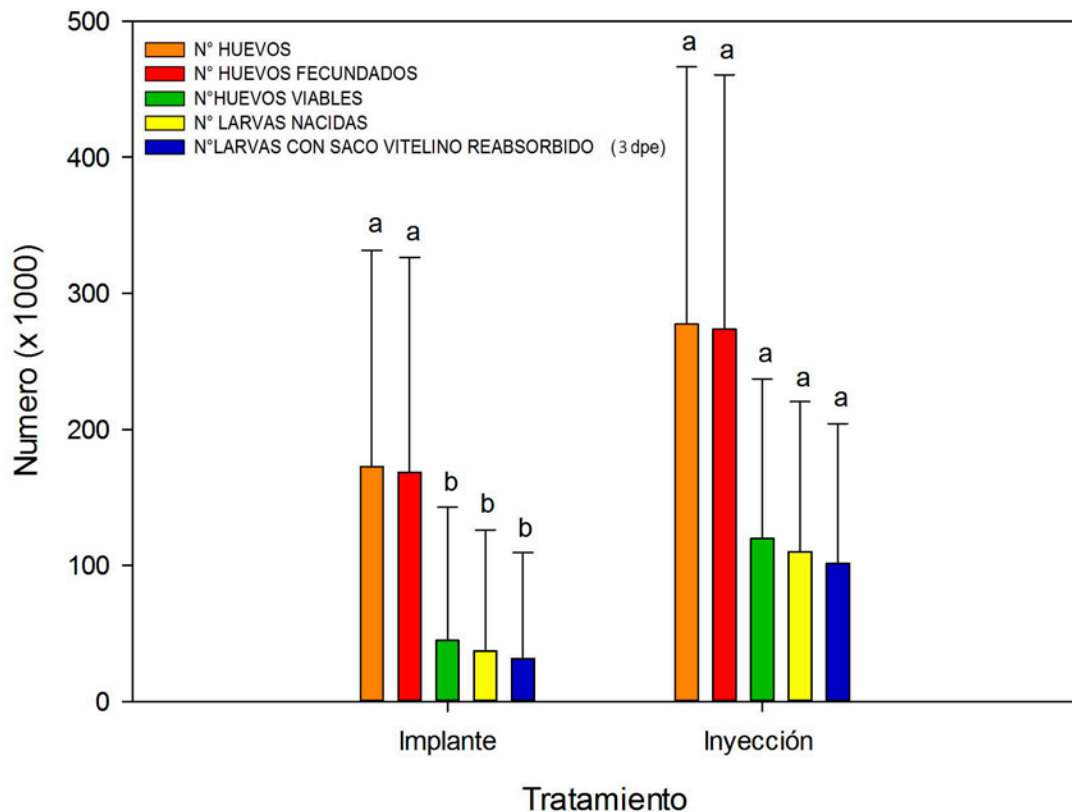
#### 4.5. Efecto de los tratamientos en la producción

##### 4.5.1 Producción por puesta

La Fig. 25 representa los valores, en los dos tratamientos, de las producciones por puesta de: número de huevos, número de huevos fecundados, número de huevos viables, número de larvas nacidas y número de larvas con saco vitelino reabsorbido (3 dpe).

En el tratamiento con implantes la producción de huevos por puesta fue de 172.537 y de estos 168.349 fueron fecundados, mientras que en el tratamiento con inyección la producción fue de 277.040 huevos por puesta, de los cuales 273.349 eran fecundados. En estos dos parámetros, (número de huevos y número de huevos fecundados por puesta) no hubo diferencias estadísticamente significativas.

En cuanto a número de huevos viables, número de larvas nacidas y número de larvas con saco vitelino reabsorbido (3 dpe) por puesta, la producción fue significativamente diferente entre los dos tratamientos, la mayor producción se encontró en las hembras inducidas mediante inyección, con respectivamente 119.879 huevos viables por puesta, 110.149 larvas nacidas por puesta y 101.491 larvas con saco vitelino reabsorbido (3 dpe).

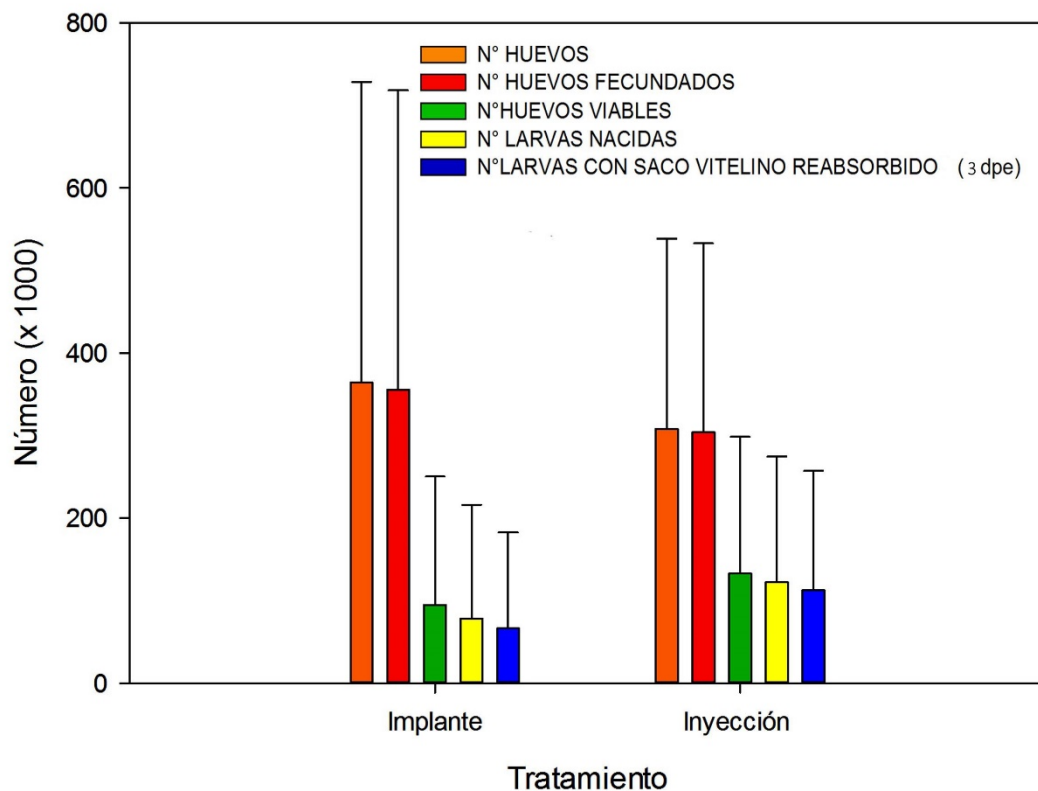


Diferencias en el superíndice de las barras, indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

**Figura. 25. Producción por puesta de cada tratamiento.**

#### 4.5.2. Producción por inducción

Los datos de producción por inducción en los dos tratamientos se indican en la Fig. 26, en ninguno de los parámetros considerado en este experimento hubo diferencias significativas. En cuanto a número de huevos viables, larvas nacidas y larvas con saco vitelino reabsorbido (3 dpe), se encontraron valores mayores en el tratamiento con inyección.



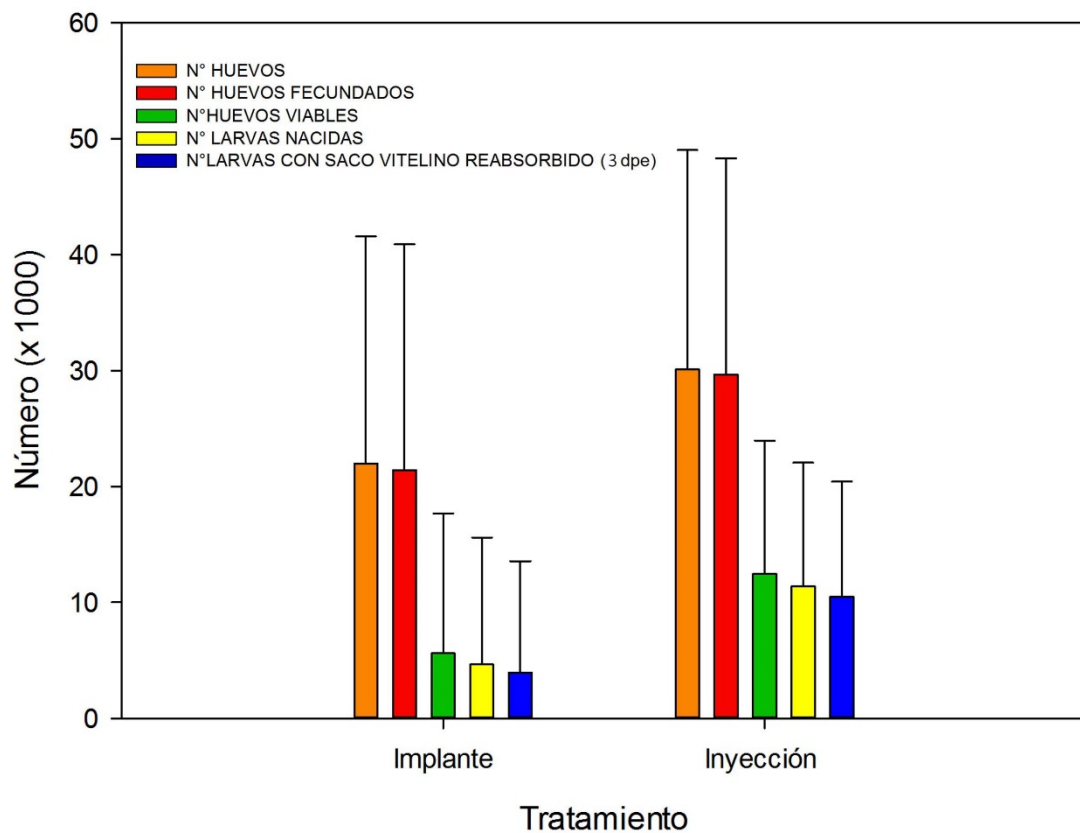
Diferencias en el superíndice de las barras, indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Figura. 26. Producción por inducción de cada tratamiento.

#### 4.5.3. Producción por kg de hembra y por puesta

La Fig. 27 presenta los datos de la producción por cada kg de hembra inducida y por puesta. Los datos muestran, que en todos los parámetros considerados, se obtuvo una mayor producción en las hembras inducidas mediante inyección.

Sin embargo, el análisis estadístico muestra que no hubo diferencias significativas entre los dos tratamientos.



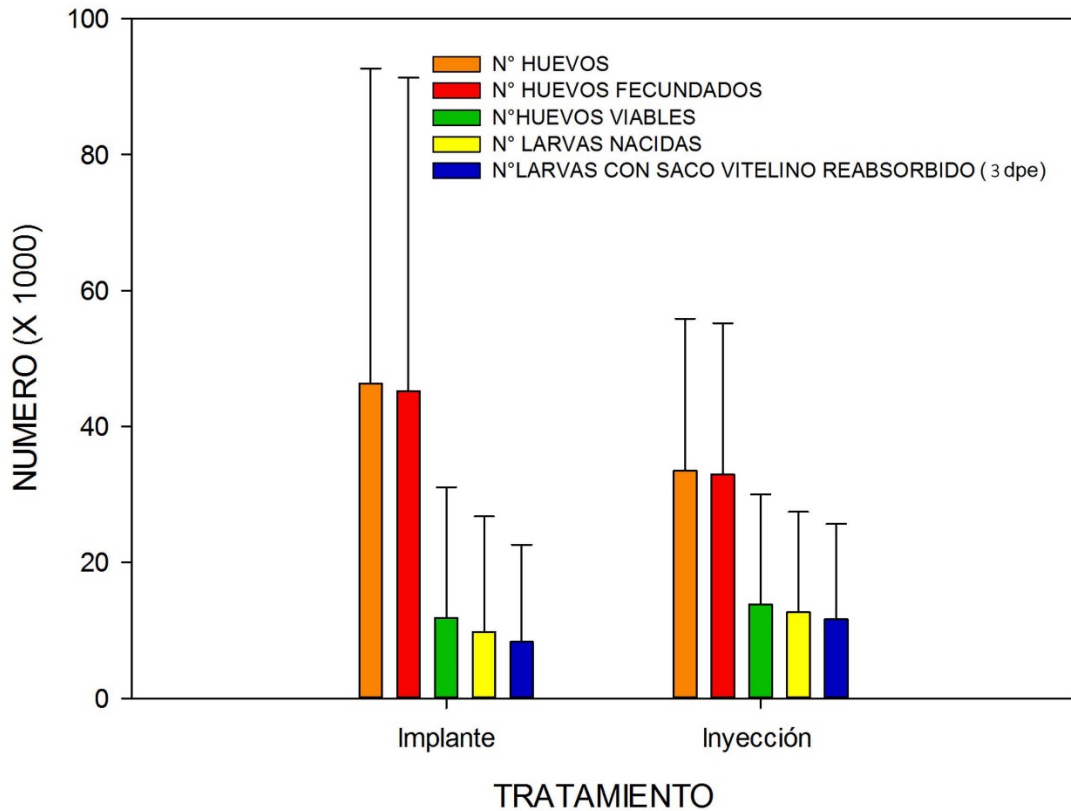
Diferencias en el superíndice de las barras, indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Figura. 27. Producción por Kg de hembra y por puesta de cada tratamiento.

#### 4.5.4. Producción por kg de hembra y por inducción

Los datos de producción por kg de hembra y por inducción señalados en la Fig. 28, muestran que la mayor cantidad en número de huevos y número de huevos fecundados se obtuvo en el tratamiento con implante, pero, en cuanto a número de huevos viables, número de larvas nacidas, y número de larvas con saco vitelino reabsorbido se obtuvo una mayor producción en las hembras inducidas con inyección.

El análisis estadístico evidencia, que no hay ninguna diferencia significativa en ninguno de los parámetros de producción analizados en este experimento.



Diferencias en el superíndice de las barras, indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Figura. 28. Producción por Kg de hembra y por inducción de cada tratamiento.

#### 4.6. Eficacia económica de los tratamientos hormonales

En la Tabla VIII, se presentan los resultados de la eficacia económica de las inducciones hormonales de los dos tratamientos. El coste de los implantes es de 0,062 €/µg, por lo que una dosis de 40 µg por kg de pez supone un coste de 2,48 € por cada kg de hembra inducida; sin embargo, aunque el precio por µg de la hormona inyectada es muy similar al anterior (0,063 €/µg), una dosis menor, de 20 µg por kg de pez, supone un coste por kg de hembra inducida de 1,26 €, siendo casi la mitad de la del tratamiento con implantes.

Al ser la producción de huevos viables por kg y por puesta, mayor en las hembras inyectadas, los costes de 1000 huevos por kg de hembra y por puesta son menores en este tratamiento, de hecho con un coste de  $0,101 \pm 0,110$  € este tratamiento es más económico que el tratamiento con implantes, en el que el coste de 1000 huevos por kg y por puesta es de  $0,443 \pm 0,205$  €. El análisis estadístico muestra que hay diferencias

significativas en los costes de 1000 huevos por kg de hembra y por puesta entre los dos tratamientos.

En cuanto a coste de 1000 larvas por kg de hembra y por puesta, coste de 1000 huevos por kg de hembra y por inducción, y coste de 1000 larvas por kg de hembra y por inducción, el análisis estadístico no evidencia ninguna diferencia significativa, sin embargo los costes son siempre más altos en el tratamiento con implante.

Tabla VIII. Eficacia económica de la inducción en los dos tratamientos

Tratamiento hormonal	Dosis por Kg ♀	Precio por unidad de hormona (€)	Coste por kg ♀ (€)	Coste 1000 huevos/♀ y por puesta (€)	Coste 1000 larvas/♀ y por puesta (€)	Coste 1000 huevos/Kg ♀ y por inducción (€)	Coste 1000 larvas/Kg ♀ y por inducción (€)
<b>Implante</b>	40 µg	0,062 €/µg	2,48 €	0,443±0,205 <sup>a</sup>	0,536±0,226	0,210±0,129	0,254±0,146
<b>Inyección</b>	20 µg	0,063 €/µg	1,26 €	0,101±0,110 <sup>b</sup>	0,111±0,118	0,091±0,078	0,100±0,085

\*Diferencias en el superíndice de la misma columna indican diferencias significativas (P<0,05)

## 5. Discusión

Los resultados obtenidos, muestran que el pez de limón presenta una muy buena aclimatación a las condiciones de cultivo, que resultó en una supervivencia del 100% tras tres años de confinamiento. El peso medio inicial de  $3,37 \pm 1,21$  kg para hembras y  $2,61 \pm 0,86$  kg para machos, se incrementó hasta los  $8,19 \pm 1,13$  y  $8,41 \pm 1,83$  kg, respectivamente, en el momento del inicio del presente estudio. Los ejemplares salvajes utilizados para la reproducción, se aclimatan bien a las condiciones de cautividad, e inician el desarrollo gonadal, y aunque Lee y Ostrowski (2001), indican la obtención de puestas sin inducir en EEUU, Kawabe *et al.* (1996, 1998) en Japón, y Jerez *et al.* (2006) en España, en general la vitelogénesis final y la maduración final del oocito se inhiben en cautividad, apareciendo atresia folicular generalizada en la época natural de puesta (Micale *et al.*, 1999). Este fracaso para completar la maduración del oocito, y la dificultad de obtener puestas en cautividad, ha sido señalado por diversos investigadores del área Mediterránea (Lazzari y Barbera, 1989a,b; Manganaro *et al.*, 1993; Lazzari *et al.*, 2000; Pastor *et al.*, 2000; Mazzola *et al.*, 2000). Marino, *et al.* (1995), Díaz *et al.* (1997) y Micale *et al.* (1999), sugieren una insuficiente estimulación de gonadotropina en cautividad, debido al estrés producido por el confinamiento. Esta disfunción no permite la puesta de forma natural en esta especie, y hoy en día la única solución encontrada es la de inducir hormonalmente la puesta. Así Lazzari *et al.* (2000), obtuvieron puestas viables de esta especie tras la aplicación de sucesivas inyecciones de un análogo de LH-RH, pero el estrés inducido en los peces debido al excesivo manejo para el tratamiento hormonal fue elevado. La colocación de implantes de liberación lenta de GnRHa, resultó una práctica más efectiva en esta especie, a la vez que disminuyó ostensiblemente la necesidad de manejo, así, tras la colocación de implantes hormonales, Mylonas *et al.* (2004) describen la obtención de puestas viables.

Después del descubrimiento en los primeros años '70, de que la hormona hipotalámica de mamíferos estaba controlada por la hormona LH (LH-RH o mammalian GnRH), los investigadores marinos comenzaron a usar esta hormona para la inducción a la puesta en peces (Zohar y Mylonas, 2001). Actualmente, las técnicas más modernas de inducción a la puesta en peces, se basan en el uso de hormonas liberadoras de gonadotropinas y sus

análogos (Valdebenito, 2008). Estas hormonas han sido utilizadas en muchas especies, tanto en especies ya producidas a nivel industrial, como en especies emergentes: lenguado senegalés (Agulleiro *et al.*, 2006; Guzman *et al.*, 2009, 2011), corvina (Cárdenas *et al.*, 2009), mero moreno, *Epinephelus marginatus* (Marino *et al.*, 2003; Conceição *et al.*, 2008; Reñones *et al.*, 2010), bocinegro (Büke *et al.*, 2005; Aristizabal *et al.*, 2009; Mylonas *et al.*, 2011), atún rojo (Mylonas *et al.*, 2007; Corriero *et al.*, 2009), dentón (Mylonas *et al.*, 2011), pez de limón (Mylonas *et al.*, 2004; Fernández-Palacios *et al.*, 2013) o medregal negro (Fernández-Palacios *et al.*, in press).

En *S. dumerili*, los mejores resultados se han obtenido utilizando GnRH $\alpha$ , induciendo los reproductores, tanto por medio de inyección, con una dosis de 20  $\mu\text{g Kg}^{-1}$  (Fernández-Palacios *et al.*, 2013), como por medio de implante, con una dosis de 40  $\mu\text{g Kg}^{-1}$  (Mylonas *et al.*, 2004). En este estudio se compararon los dos métodos de aplicación de la hormona (inyección e implante), utilizando las dosis indicadas anteriormente.

Un factor de importancia a considerar en cualquier tipo de alternativa elegida para la reproducción, es el comportamiento que *S. dumerili* tiene durante el cortejo nupcial previo al desove, esta especie se reúne en cardúmenes más o menos amplios donde predomina el número de machos (De La Gandara, 2004). Evidentemente, la posibilidad de desarrollar el cortejo nupcial de una forma más eficaz aumenta conforme las dimensiones del tanque de cultivo son mayores. En este sentido, Jerez *et al.* (2006) describen la reproducción natural de *S. dumerili* en tanques de 500 m<sup>3</sup>. De la misma forma se han obtenido puestas inducidas utilizando tanques de gran capacidad: Mylonas *et al.* (2004) en tanques de 30-40 m<sup>3</sup>, García *et al.* (2001) de 40 m<sup>3</sup>, Hamasaki *et al.* (2009) de 60 m<sup>3</sup>, Lazzari *et al.* (2000) y Kozul *et al.* (2001) de 70 m<sup>3</sup>. También se han utilizado tanques de gran capacidad con otras especies del género *Seriola*: con *S. lalandi*, 70 m<sup>3</sup> (Moran, 2007), 140 m<sup>3</sup> (Stuart y Drawbridge, 2012) y 160 m<sup>3</sup> (Sylvia *et al.*, 2006). Con *S. quinqueradiata*, tanques de 90 m<sup>3</sup> (Matsunari *et al.*, 2006) y de 110 m<sup>3</sup> (Mushiake, 1996). En *S. rivoliana* tanques de 18 m<sup>3</sup> (Blacio, 2004) y de 25 m<sup>3</sup> (Laidley *et al.*, 2004). En nuestro estudio, las puestas inducidas se obtuvieron de reproductores estabulados en un tanque de 10 m<sup>3</sup>, lo que indica la posibilidad de utilizar tanques de menor volumen para la inducción y puesta del pez de limón, con el consiguiente ahorro de espacio, y con un manejo más sencillo de los reproductores a la hora de realizar muestreos e inducciones.



Marino *et al.* (1995), indican que, en el pez de limón, la diferenciación sexual comienza a expresarse con claridad a partir de los 24-25,5 cm de longitud, en el cuarto-quinto mes de vida, y que en ejemplares salvajes la madurez sexual no empieza antes de los cuatro-cinco años de vida. Micale *et al.* (1999), describen ovarios desarrollados en mayo para hembras de 80 cm, que tenían cinco años de edad, mientras que Marino *et al.* (1995) encontraron niveles similares de desarrollo ovárico en hembras salvajes de 81,5 cm de longitud, pero con edades de tres y cuatro años. Estos resultados apuntan a que la talla del pez es un factor más importante que la edad, en la maduración gonadal de esta especie. Por otra parte Micaele *et al.* (1993), observaron una completa diferenciación sexual, al final del segundo año de vida, en peces cultivados. En nuestro caso, pensamos que los ejemplares estaban en el segundo año de vida en el momento de su captura, y que por lo tanto tenían cinco años al comienzo del experimento.

En el Mediterráneo, Marino *et al.* (1995) señalan que el 50% de los ejemplares del pez de limón, alcanzan la madurez sexual con 109 cm las hembras, y con 113 cm los machos, y que el 100% de la madurez se alcanza con al menos 128 cm de longitud total (LT), Micale *et al.* (1999) indican una LT de  $80 \pm 3.5$  cm. En las islas Hawái, Kikkawa y Everson (1984), indican una longitud furcal (LF) de 72 cm, y en las costas de Florida se señala una LF de 85-90 cm para alcanzar la madurez sexual (Murie y Parkyn, 2010; SEDAR, 2011). En las Islas Canarias, con individuos mantenidos en cautividad, se observaron ejemplares maduros de *S. dumerili* con 75 cm de LT (Roo *et al.*, 2009). En nuestro estudio las LT de los reproductores fue de  $85,64 \pm 4,23$  cm para las hembras, y de  $85,75 \pm 6,54$  cm para los machos y la LF fue de  $75,35 \pm 4,76$  y de  $75,58 \pm 5,65$  cm para hembras y machos, respectivamente.

La época de puesta en el medio natural tiene lugar con el aumento primaveral de la temperatura, aunque varía en función del área geográfica (Lazzari y Barbera, 1988). En el Mediterráneo, tiene lugar entre mayo y julio (Lazzari y Barbera, 1988; Grau *et al.*, 1992). Mandich *et al.* (2004), describen las primeras ovulaciones de *S. dumerili* en el mes de mayo, presentando además información relativa a la existencia de un pico de vitelogenina, simultáneamente al de otros esteroides sexuales, en el mes de junio, pasando a no detectarse en agosto, cuando el desove había terminado. Los machos presentan un máximo de testosterona en plasma coincidiendo con la espermatogénesis,

mientras que la 11-keto-testosterona, es la hormona que más incrementa su nivel entre los meses de mayo y junio, cuando los machos producían semen activamente. Las hembras presentan un ovario en el que maduran múltiples grupos de oocitos de naturaleza sincrónica (Marino *et al.*, 1995; Micale *et al.*, 1999; Mylonas *et al.*, 2004). Dada la amplia distribución geográfica de esta especie, tanto el periodo natural de puesta como su duración, varía según la localidad, estando asociado este periodo fundamentalmente al incremento en la temperatura del agua producido en primavera (Grau *et al.*, 1992).

La temperatura del agua, a lo largo del periodo reproductivo, es un factor de gran relevancia en el proceso de la reproducción de los peces, y tiene efectos sobre la maduración final del oocito (FOM), la ovulación y la puesta (Bromage *et al.*, 2000).

La práctica totalidad de los eventos reproductores, y muy particularmente la maduración, ovulación o la liberación de los gametos, requieren de temperaturas óptimas de ejecución para así lograr el éxito reproductor. En caso contrario, la temperatura actúa como un factor limitante del mismo. Además, los valores térmicos que bloquean determinados procesos reproductivos son específicos de cada especie y es necesario caracterizarlos cada vez que se estudia una nueva especie. Carrillo *et al.* (1993) señalan en reproductores de lubina europea, inducidos mediante manipulación del fotoperiodo la no obtención de puestas con temperaturas por encima de 16 °C. En la trucha alpina (*Salvelinus alpinus*), temperaturas entre 12 °C y 16 °C retrasan la maduración de los oocitos (Jobling *et al.*, 1995), y en el halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), temperaturas por debajo de 6 °C reducen la producción de huevos y la supervivencia de las larvas (Brown *et al.*, 1995).

El periodo natural de puesta de esta especie en Hawái abarca de febrero a junio, con un pico en marzo-abril (Kikkawa y Everson, 1984), en el sur de Florida de marzo a junio, con un pico en abril-mayo (Burch, 1979), de febrero a abril en el Golfo de Méjico (Wells y Rooker, 2004; Thompson *et al.*, 1998), en Carolina del Norte durante los meses de verano (Hildebrand y Cable, 1930). Thompson y Munro, (1974), encuentran hembras maduras en el Caribe a finales del mes de Noviembre, y Erdman (1977) las encuentra durante todo el año. En este mismo sentido, Leak (1981), encuentra hembras maduras en todas las estaciones del año en los cayos de Florida. Micale *et al.* (1993), comparando el tamaño

entre peces salvajes y cultivados con edad conocida, indican que la madurez sexual parece ocurrir al mismo tiempo en el medio natural que en cautividad.

En algunas especies de género *Seriola*, la temperatura es clave en la obtención de puestas espontáneas en cautividad, y esta varía según la especie, Benetti (2008), señala que la temperatura es la llave para la puesta natural, y difiere con las especies, señalando una temperatura de 17 °C en *S. lalandi* y de 26°C para *S. rivoliana*, de hecho los reproductores de esta especie dejan de poner cuando la temperatura sube de 27°C o baja de 25°C, y retornan a poner cuando la temperatura vuelve a los 26°C (Benetti, 1997). Sin embargo Kawabe *et al.* (1997), obtienen puestas naturales, de esta especie, con temperaturas entre 21.4 y 28.1°C, y estiman que la temperatura óptima para la puesta del medregal negro es de 24,1- 27°C. Jerez *et al.* (2006) obtuvieron puestas espontáneas de *S. dumerili* en las Islas Canarias (España), con temperaturas desde 19,7 hasta 24,5 °C, a lo largo del ciclo reproductivo. En este estudio, los reproductores de *S. dumerili* fueron mantenidos bajo condiciones naturales (temperatura y fotoperiodo), siendo Canarias un lugar de distribución de esta especie. Los valores de temperaturas registrados a lo largo de nuestro experimento, oscilaron entre 20,83±0,32 °C en mayo y 23,84±0,18 °C en septiembre. La mayor amplitud del periodo de puesta registrado en Canarias, en comparación con los obtenidos en otras regiones, parece estar relacionada con este prolongado periodo con temperaturas del agua entre 19 °C y 24 °C, intervalo en el que se produce la puesta natural, en cautividad de esta especie.

El tamaño de los oocitos es una condición muy importante, para que la inducción hormonal tenga éxito, y se produzcan huevos viables. El tamaño mínimo para la inducción es característico para cada especie, y varía de una a otra. En algunos casos inducciones hormonales tempranas, en la que el oocito no ha alcanzado el tamaño adecuado, pueden producir huevos de baja calidad y elevada mortalidad larvaria, como en el caso del salmón Atlántico, donde se observó una elevada proporción de huevos anormales y una mortalidad del 100%, 24h después de la fertilización (Crim y Geble, 1984).

El diámetro mínimo de los oocitos, para que las inducciones hormonales tenga éxito, ha sido estudiado en varias especies: en la lubina europea el tamaño mínimo señalado es superior a 600 µm (Alvariño *et al.*, 1992; Asturiano, 1999; Moretti *et al.*, 1999; Prat *et al.*,

2001); en la dorada 500  $\mu\text{m}$  (Moretti *et al.*, 1999); en rodaballo, Mugnier *et al.* (2000) señalan un diámetro mayor de 600  $\mu\text{m}$ , como el mínimo para la obtención de puestas viables; en la corvina debe de ser mayor de 500  $\mu\text{m}$ , tanto en reproductores capturados en la naturaleza (Duncan *et al.*, 2007), como en reproductores nacidos en cautividad (Fernández-Palacios *et al.*, 2009).

En cuanto a la especie objeto de este estudio, Mylonas *et al.* (2004) indican un tamaño de 650  $\mu\text{m}$  para que la inducción mediante implantes tenga éxito. Si la inducción se realiza mediante inyección, se señalan tamaños del oocito de 550-600  $\mu\text{m}$  (Kozul *et al.*, 2001), o mayor de 600  $\mu\text{m}$  (De la Gandara *et al.*, 2004). El diámetro de los oocitos de los reproductores de este experimento, fue suficiente para inducir hormonalmente la puesta, como ha ocurrido con ejemplares de esta misma especie (García *et al.*, 2001), y de otras especies de esta misma familia como el jurel dentón, *Pseudocaranx dentex* (Roo *et al.*, 2011) o el medregal negro (Roo *et al.*, 2012; Fernández-Palacios, *et al.*, in press). En *S. quinqueradiata*, el tamaño del oocito aparece como un factor importante a la hora de realizar las inducciones, Chuda *et al.* (2005) encuentran que hembras con oocitos superiores a 700  $\mu\text{m}$  ponen el doble de huevos que hembras con oocitos entre 650 y 700  $\mu\text{m}$ , y que el porcentaje de eclosión aumenta con el tamaño del oocito en el momento de la inducción, aunque el tamaño de este no influye sobre el porcentaje de fertilización.

Las canulaciones realizadas periódicamente al stock de reproductores, mostraron, hembras con oocitos superiores a 500  $\mu\text{m}$  y machos fluyentes a finales del mes de mayo del 2013, comenzando las inducciones a principios del mes de junio. Las inducciones se realizaron semanalmente, en función de lo señalado por Jerez *et al.* (2006): puestas naturales, en cautividad, del pez de limón presentaron una periodicidad de siete días en los primeros meses de la época de puesta. Marino *et al.* (1995) en base a un análisis histológico, postularon que el intervalo de tiempo entre puestas, en esta especie, es superior al de otras especies acuícolas.

En el presente estudio se han obtenido puestas en todas las hembras inducidas, por el contrario no se obtuvo ninguna puesta en el tanque de control no inducido. Esto puede indicar, que en las condiciones experimentales como las usadas en este estudio, las inducciones hormonales son la única forma para la obtención de puestas. Jerez *et al.*

(2006), obtienen puestas naturales después de mantener seis años los reproductores en cautividad, en tanques tipo race-way, de 500 m<sup>3</sup> de capacidad.

En este estudio el periodo de latencia medio fue de 41,12 ± 2,08 h, en los reproductores tratados con implante, y de 42,37 ± 1,34 h, en los tratados con inyección. El análisis estadístico muestra que no hay diferencias significativas en el periodo de latencia entre los dos tratamientos. Fernández-Palacios *et al.* (2013), indican que el periodo de latencia osciló entre las 40 y las 46 horas, con una media de aproximadamente 43 horas y media, en puestas de reproductores de esta misma especie, inyectados con GnRHa. García *et al.* (2001) señalan un periodo de latencia de 30 horas inyectando reproductores de esta misma especie con 50 µg.kg<sup>-1</sup> de LHRHa, Mylonas *et al.* (2004) indican un periodo de latencia de 36 horas en una hembra de 12.5 kg, implantada con 500 µg de GnRHa, lo que implica una dosis de 40 µg.kg<sup>-1</sup>. Estos diferentes periodos de latencia podrían ser debidos a las diferentes dosis empleadas. En este sentido Fernández-Palacios *et al.* (2011), encuentran una correlación negativa altamente significativa (P < 0,01) entre la dosis empleada y el periodo de latencia en corvina. Por otra parte Kozul *et al.* (2001) señalan periodos de latencia de 46-66 horas utilizando HCG. Para *S. quinqueradiata* Chuda *et al.* (2001), señalan un periodo de latencia de entre 36 y 54 horas, la inducción se realizó mediante inyección de HCG (500UI/kg). Roo *et al.* (2012), indican un periodo de latencia de 32 horas en *S. rivoliana*.

Totsui *et al.* (1979) y Tachihara *et al.* (1993), señalan periodos de latencia de 36-52 horas, dependiendo de la temperatura. La similitud entre los valores del presente estudio y los señalados por Fernández-Palacios *et al.* (2013), muestran como en similares condiciones de temperaturas los periodos de latencia son similares, Fernández-Palacios *et al.* (in press), encontraron una correlación negativa, altamente significativa, entre la temperatura y el periodo de latencia, en puestas de *S. rivoliana*.

El número de puestas por inducción, es una variable usada en la evaluación de la eficacia de la inducción (Fernández-Palacios *et al.*, 2009,2013). Lazzari *et al.* (2000) señalan que el tratamiento hormonal mediante implante o inyección generalmente, no inducen más que una única puesta en esta especie, posiblemente debido al excesivo estrés provocado por las inducciones. En el presente estudio, se obtuvieron 2,11 ± 2,26 puestas por

inducción (19 puestas en 9 inducciones), en el tratamiento con implante, y  $1,11 \pm 0,33$  en el tratamiento con inyección (10 puestas por 9 inducciones). Fernández-Palacios *et al.* (2013), obtuvieron 22 puestas con 15 inyecciones de GnRH $\alpha$  a lo largo de 123 días, una media de 1,46 puestas por inducción, inyectando los reproductores de esta especie cada 10 días. En el caso de los implantes la liberación de la hormona es más lenta y esto puede aumentar el número de puestas por inducción, como consecuencia de la menor manipulación de los reproductores y el menor estrés generado, aunque como han descrito Carolsfeld *et al.* (1988), el tiempo de liberación de la hormona GnRH $\alpha$  de cada implante es muy variable.

Es posible que el número de puestas por inducción, pueda variar en función del intervalo entre inducciones sucesivas, Mylonas *et al.* (2004) obtuvieron una puesta en la primera inducción con implante de GnRH $\alpha$ , en el pez de limón, y tres puestas en la segunda inducción con el mismo tratamiento 15 días después, a la 36 horas y el 4° y 5° día después de la inducción. El número de puestas por inducción parece depender de la especie y del método utilizado. En la lubina europea, una inyección de GnRH $\alpha$  induce una sola puesta (Alvariño *et al.*, 1992), mientras que el uso de sistemas a liberación lenta induce puestas múltiples en el 60 % de las hembras (Forniés *et al.*, 2001); en la dorada, una sola inyección de GnRH $\alpha$  produce puestas múltiples en el 20% de las hembras, y la utilización de sistemas de liberación lenta induce puestas múltiples en el 80% de las hembras (Zohar *et al.*, 1995b); en el lenguado del Canadá (*Paralichthys dentatus*), un solo implante de GnRH $\alpha$  induce ocho puestas, mientras que el control sin tratamiento no tiene puesta (Berlinsky *et al.*, 1997).

Para la evaluación de la calidad de la puesta, se determinaron los porcentajes de fecundación, de huevos viables, de eclosión, y de supervivencia de las larvas hasta la reabsorción del saco vitelino (3 días después de la eclosión, 3dpe), usando el protocolo descrito por Fernández-Palacios *et al.* (2005)

En este experimento se encontraron altas tasas de fertilización, tanto en el tratamiento con implante, donde se obtuvo un 96,99 %, como en el tratamiento con inyección donde el porcentaje de huevos fertilizados fue del 98,83, el análisis estadístico mostró que no hay diferencias significativas entre los dos tratamientos. Estos datos están de acuerdo

con lo indicado por Fernández-Palacios *et al.* (2013), que obtiene una tasa de fertilización del 92,28 en reproductores de *S. dumerili* inducidos con GnRH $\alpha$ , y mantenidos en condiciones similares a las de este estudio. Tanto los peces utilizados en este estudio como los utilizados por Fernández-Palacios *et al.* (2013) fueron alimentados con alimento fresco y pienso de alta calidad, específico para reproductores. La alimentación, en reproductores de peces, puede influenciar tanto la calidad de los huevos como la producción de estos, deficiencias nutricionales pueden afectar el sistema cerebro-pituitaria-gónadas, o afectar la producción, y la disponibilidad de algún componente bioquímico, necesario para la formación de los huevos (Izquierdo *et al.*, 2001). La obtención de estas altas tasas de fertilización, puede ser debida, también, a otros factores como: una buena selección de los reproductores, utilizando solo hembras con oocitos mayor de 500  $\mu$ m y machos con esperma fluyente y una escrupulosa atención en los manejos de los peces, que limita los factores estresantes.

Varios autores, han encontrado bajas tasas de fertilización, en puestas en cautividad de *S. dumerili*, tanto naturales como inducidas. Mylonas *et al.* (2004) indicaron una tasa de fertilización del 22 %, en reproductores salvajes inducidos con implantes de GnRH $\alpha$ , resultados similares (16-50 %) fueron obtenidos en inducciones con HGC (Kozul *et al.*, 2001). Una tasa de fertilización del 61,75 % fue descrita en puestas espontáneas (Jerez *et al.*, 2006). En otras especies del género *Seriola* los resultados son similares a los descritos anteriormente, Muncaster *et al.* (2012) reportan una tasa del 74% de fertilización, en reproductores inducidos con implantes de GnRH $\alpha$  en *S. lalandi*, y en *S. quinqueradiata*, Mushiake (1996), obtuvo tasas de fertilización entre 49,1 y 54,9 %, en reproductores inducidos con HGC.

El porcentaje de flotabilidad, de los huevos pelágicos es utilizado normalmente como un índice de la calidad de la puesta (Kjørsvik *et al.*, 1990). No obstante este índice no es utilizable en todas las especies (Kjørsvik *et al.*, 1990; Brooks *et al.*, 1997; Barbaro *et al.*, 1999; Bobe y Labbé, 2010). Además, la estimación de la calidad de la puesta mediante este criterio es complicada, porque los huevos con viabilidad reducida siguen siendo flotantes, o en todo caso se hunden muy lentamente (Barbaro *et al.*, 1999). En nuestro estudio hemos utilizado como uno de los indicadores de la calidad de la puesta el porcentaje de huevos viables, definidos como huevos con morfología normal,

transparentes, perfectamente esféricos, y con blastómeros claros y simétricos (Kjørsvik *et al.*, 1990), este porcentaje es utilizado como un indicador de la calidad de la puesta por numerosos autores (Bromage *et al.*, 1994; Fernández-Palacios *et al.*, 1995; Shields *et al.*, 1997). En el tratamiento con implante, el porcentaje de huevos viables fue bajo (15,10), en comparación con lo obtenido con el tratamiento de inyección (42,01). Fernández-Palacios *et al.* (2013) indican un  $55,46 \pm 26,91\%$ , Kawabe *et al.* (1996), señalan un porcentaje de huevos flotantes del 65,8-76% y del 89%, dependiendo del origen de los reproductores, salvajes o nacidos en cautividad, en puestas naturales de esta especie. Para otras especies del género se han señalado porcentajes del  $60 \pm 37$ - $81 \pm 17\%$  (Stuart y Drawbridge, 2012), 18-100% con una media del 43% (Sylvia *et al.*, 2006) y del  $74 \pm 17\%$  (Moran, 2007) en *S. lalandi*. En *S. rivoliana* el porcentaje medio de huevos viables fue de  $77,19 \pm 72$  (Fernández-Palacios *et al.*, in press), similar al obtenido para esta misma especie por Roo *et al.* (2012), que fue del  $72,6 \pm 17,2$  para puestas inducidas, y muy superior al obtenido por Kawabe *et al.* (1997) que fue del 46.68-48,48%, y por Laidley *et al.* (2004), que fue de aproximadamente el 30%, para puestas no inducidas utilizando, estos autores, como criterio de viabilidad el porcentaje de huevos flotantes.

La supervivencia embrionaria, hasta una etapa específica del desarrollo, es uno de los métodos más comunes para caracterizar la capacidad del huevo fertilizado, de desarrollarse con éxito. La supervivencia se puede determinar así, en momentos específicos tales como la eclosión, o la reabsorción del saco vitelino (Bonnet *et al.*, 2007). Además, el porcentaje de larvas con el saco vitelino reabsorbido, es un indicador de la calidad de las reservas endógenas contenidas en el saco vitelino, y del potencial intrínseco de supervivencia de la larva (Giménez *et al.*, 2006).

En nuestro experimento, obtuvimos una media del 37,36% de eclosión, en las puestas de los reproductores tratados con implante, y del 73,33% en los tratados con inyección. En cuanto al porcentaje de supervivencia de las larvas hasta la reabsorción del saco vitelino (3 dpe), fue del 31,43 con implante y del 81,56 con inyección. Estos datos, los obtenidos mediante inyección, son similares a los indicados por Fernández-Palacios *et al.* (2013), inyectando reproductores de esta misma especie con la misma hormona y dosis,  $80,32 \pm 20,45$  y  $68,39 \pm 14,77\%$ , respectivamente.



El porcentaje de eclosión en esos dos experimentos, fue muy superior al señalado en puestas no inducidas de *S. dumerili* por Jerez *et al.* (2006) que fue del 16,49. Estos autores relacionan este bajo índice con la alimentación de los reproductores, que ese caso, fueron alimentados a saciedad 5 días a la semana, con peces de bajo valor comercial principalmente caballa. En el Mediterráneo, el principal alimento de juveniles y adultos de *S. dumerili* consiste en: jurel (*Trachurus trachurus*), boqueron (*Engraulis encrasicolus*), sardina (*Sardina pilchardus*) y merluza (*Merluccius merluccius*), acompañados frecuentemente de cefalópodos, calamar europeo (*Loligo vulgaris*) y de sepias (*Sepioloa sp.*) y ocasionalmente de crustáceos, galera (*Squilla mantis*) (Lazzari y Barbera, 1988, 1989b; Matallanas *et al.*, 1995). En nuestro caso la alimentación consistió en caballa, una vez a la semana, y un pienso basado en harina de calamar Vitalis Cal (Skretting) dos veces a la semana.

Varios estudios han puesto de manifiesto el efecto beneficioso, en la calidad de la puesta de la alimentación de los reproductores con sepia, calamar o las harinas preparadas de estos cefalópodos (Watanabe *et al.*, 1984a,b; Mourente *et al.*, 1989; Zohar *et al.*, 1995a; Fernández-Palacios *et al.*, 1997; Vassallo-Agius *et al.*, 2001).

En el estudio realizado por Fernández-Palacios *et al.* (1997) se vio una mejora en la calidad, en términos de número de puestas, porcentaje de huevos fecundados, de huevos viables y de eclosión, cuando los reproductores de dorada fueron alimentados con una dieta basada en la harina de calamar Vitalis Cal (Skretting), comparada con los resultados obtenidos con otra dieta basada en harina de pescado Vitalis Repro (Skretting), complementada con mejillón y choco frescos.

En otras especies del mismo género Fernández-Palacios *et al.* (in press) indican un  $96.20 \pm 5.62$  y un  $82.49 \pm 11.86$ , en los porcentajes de eclosión y larvas con el saco vitelino reabsorbido respectivamente en puestas inducidas de *S. rivoliana*. Roo *et al.* (2012), con la misma especie obtiene un  $79,03 \pm 11,37\%$  de eclosión y un  $52,39 \pm 19,14\%$  de supervivencia larvaria. Kawabe *et al.* (1997), señalan un porcentaje de eclosión del 66,06-72,53 con medregal negro. En puestas inducidas de *S. quinqueradiata* fue del 18,20-25,60% (Mushiake, 1996), o del 36-43,1%, dependiendo del alimento suministrado a los reproductores, pescado de desecho o pienso húmedo, respectivamente (Mushiake *et al.*,

1995). En *S. lalandi*, fue del 77-100% (Tachihara *et al.*, 1997) o del 80-90% (Sylvia *et al.*, 2006).

En cuanto al porcentaje de larvas de 3dp, Hamasaki *et al.* (2009), señalan entre el 47,1 y el 78,00, en el pez de limón. En *S. lalandi*, Stuart y Drawbridge (2012), indican una supervivencia a día 3 del  $63\pm 22$ - $64\pm 18\%$ .

En todos los índices de calidad, los mejores resultados se encontraron en el tratamiento con inyección, una de las posibles causas de la baja calidad de la puesta en el tratamiento con implante, puede ser el estrés causado por la inducción con la pistola para implantes, la herida provocada, por esta herramienta, es más traumática que la provocada por la inyección, además de una posible no sincronización entre las inducciones con implante, y el natural desarrollo de los oocitos, puede ser que afecte la calidad de los huevos.

Los datos de producción siguen el mismo patrón de la calidad de la puesta, las mayores producciones se obtienen en el tratamiento con inyección.

En la producción por puesta, no hay diferencias estadísticamente significativas en el número total de huevos y en el número de huevos fecundados, sin embargo, la producción total de huevos en el tratamiento con inyección (277.040 huevos/puesta), fue de un 38% mayor que con el implante (172.537 huevos/puesta), y el número de huevos fecundados fue un 38,5% más en el tratamiento con inyección (273.349 huevos fecundados/puesta) que en el tratamiento con implante (168.349 huevos fecundados/puesta). En cuanto a número de huevos viables, número de larvas nacidas, y número de larvas con saco vitelino reabsorbido (3 dpe), el análisis estadístico muestran diferencias significativas a favor del tratamiento con inyección.

En la producción por inducción, no hay diferencias significativas en ningunas de las variables consideradas, sin embargo en todas, el tratamiento con inyección obtuvo mejores resultados .

En las producciones relativas, tanto por kg de hembra y por puesta, como por kg de hembra e inducción, los análisis estadísticos no relevaron diferencias significativas en ningunas de las variables. En el tratamiento con implante se obtuvo un número mayor de huevos por kg de hembra y por inducción, esto es debido al mayor número de puestas

por inducción obtenido con este tratamiento. Fernández-Palacios *et al.* (2013) indican entre 4.500-41.500 huevos kg hembra/inducción, con inyecciones de GnRHa, García *et al.* (2001), obtienen entre 2.000 y 25.000 huevos kg/hembra/inducción con inyecciones de LHRHa y HGC, y Mylonas *et al.* (2004), obtuvieron entre 3.000 y 51.000 huevos por Kg hembra/inducción con implante de GnRHa, en la misma especie. En este estudio se obtuvieron entre 7.000 y 150.000 huevos por kg de hembra/inducción, en el tratamiento con implante, y entre 6.000 y 65.000 huevos por kg de hembra/inducción en el tratamiento con inyección, a pesar del mayor número de huevos por kg de hembra/inducción, obtenidos con el tratamiento con implante, el número de: huevos viables, larvas nacidas, larvas 3 dpe, por kg de hembra/inducción fue más bajo en este tratamiento en comparación con el tratamiento con inyección, debido a la más baja calidad de las puestas obtenidas con implante.

Los costes de las hormonas y la eficacia de estas, juegan un papel importante en los gastos de producción de una empresa (Valdebenito, 2008). En una producción industrial de alevines, hay que tener en cuenta varios factores económicos, entre los que están los costes de las inducciones hormonales. Algunos autores han señalado que no solo es el coste de la hormona lo económicamente importante, sino también la eficacia de esta en la producción y la calidad de las puestas obtenidas (Adebayo y Popoola, 2008; Olumuji y Mustapha, 2012).

En este estudio fueron evaluados los costes de, 1000 huevos/kg de hembra inducida/puesta, de 1000 larvas/kg de hembra inducida/puesta, de 1000 huevos por kg de hembra inducida/inducción y de 1000 larvas/Kg de hembra inducida/inducción (Hakuć-Błażowska *et al.*, 2009).

A pesar de un coste por  $\mu\text{g}$  de hormona similar en los dos tratamientos, (0,062 €/ $\mu\text{g}$  para los implantes y 0,063 €/ $\mu\text{g}$  para las inyección), los resultados de este estudio, evidencian una clara ventaja económica en las inducciones con inyección. El coste por kg de hembra inducida fue casi el doble en el tratamiento con implantes (2,48 € implantes y 1,26 € inyección), esto es debido evidentemente a la dosis utilizada, necesaria para la obtención de puestas (20  $\mu\text{g}/\text{Kg}^{-1}$  inyección y 40  $\mu\text{g}/\text{Kg}^{-1}$  implante).

Los datos económicos, fueron claramente influenciados no solo por las dosis de la hormona utilizada, sino también por la calidad de las puestas obtenidas mediante ambos métodos de aplicación. Los mejores índices de calidad de las puestas en el tratamiento con inyección, implican que el coste de 1000 huevos/kg de hembra/puesta fue más de cuatro veces inferior con este tratamiento ( $0,101 \pm 0,11$  € con inyección y  $0,443 \pm 0,205$  € con implante), y el coste de 1000 larvas /kg de hembra por puesta, casi cinco veces inferior ( $0,111 \pm 0,118$  € con inyección y  $0,536 \pm 0,226$  € con implantes).

Así mismo, tanto los costes de 1000 huevos/kg de hembra/ inducción ( $0,210 \pm 0,129$  € con implante y  $0,091 \pm 0,078$  € con inyección), como de 1000 huevos/kg de hembra/ inducción ( $0,254 \pm 0,146$  € con implante y  $0,100 \pm 0,085$  € con inyección) fueron más del doble en el tratamiento con implante.

## 6. Conclusiones

1. La supervivencia durante tres años, del 100% de los ejemplares capturados en el medio natural, y su rápida adaptación al alimento inerte, indican que es una especie resistente y que se aclimata con facilidad a las condiciones de cautividad.
2. En nuestro estudio, no hubo diferencias significativas entre ninguno de los parámetros de madurez de los reproductores, por lo que estos no debieron ejercer ninguna influencia en las diferencias estadísticas encontradas entre los parámetros de eficacia, calidad y producción, que debieron ser consecuencia de los diferentes tratamientos ensayados.
3. Hembras con oocitos con diámetro superior a las 500  $\mu$  son aptas para la inducción hormonal y obtención de puestas viables.
4. En nuestras condiciones experimentales, no se obtuvieron puestas en el grupo control sin inducir, lo que indica que es necesario inducir hormonalmente los reproductores de pez de limón, para la producción en Canarias de semilla de esta especie, y contribuir así a la diversificación de las especies cultivadas en el Archipiélago.
5. La obtención de puesta en todas las hembras inducidas, indica que la utilización de la hormona GnRH $\alpha$ , tanto en forma de implante, como en la de inyección, es un método adecuado para la obtención de puestas de esta especie.
6. Aunque el implante resultó más eficaz, en el número de puestas obtenido por inducción, tanto en la calidad de la puesta, como en las producciones, los mejores resultados se obtienen con inyección.
7. La necesidad de una mayor dosis, y una más baja calidad y producción en el tratamiento con implante, implica una mejor eficiencia económica en el tratamiento con inyección.

## 7. Bibliografía

- Adebayo, O. y Popoola, O. 2008. Comparative evaluation of efficacy and cost of synthetic and non-synthetic hormones artificial breeding of african catfish (*Claris gariepinus* Burchell, 1822). *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 3:66–71.
- Agulleiro, M., Anguis, V., Cañavate, J., Martínez-Rodríguez, G., Mylonas, C. y Cerda, J. 2006. Induction of spawning of captive-reared Senegal sole (*Solea senegalensis*) using different administration methods for gonadotrophin–releasing hormone agonist. *Aquaculture*, 257: 511–524.
- Alvariño, J. M., Carrillo, M., Zanuy, S., Prat, F. y Mañanòs, E. 1992. Pattern of sea bass oocyte development after ovarian stimulation by LHRHa. *Journal of Fish Biology*, 41: 965–970.
- APOMAR 2013. La Acuicultura en España, 97 pp. <http://www.apomar.es/content/la-acuicultura-en-esp%C3%B1a-2013>.
- Aristizabal, E., Suárez, J., Vega, A. y Bargas, R. 2009. Egg and larval quality assesment in the Argentinian Red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture*, 287: 329–334.
- Asturiano, J. F. 1999. El proceso reproductivo de la lubina europea (*Dicentrarchus labrax*, L). Efectos de los ácidos grasos de la dieta: estudios in vivo e in vitro. Tesis doctoral. Universidad de Valencia, 251 pp.
- Barbaro, A., Francescon, A. Y Bertotto, D., 1999. Criteri per valutare la qualità delle uova in tre specie di pesci marini di allevamento. Il Prodotto Ittico. Consumo, Qualità, Commercializzazione. Cafoscarina, Venezia, pp. 351-361
- Barbieri, R. 1992. Clinical applications of GnRH and its analogues. *Trends Endocrinology Metabolism*, 3: 30–34.

- Bartley, D. M. 1998. Notes on biosafety and aquatic ecosystems. *FAO Aquaculture Newsletter*, 19: 23–25.
- Basurco, B. y Abellan, E. 1999. Finfish diversification in the context of Mediterranean Marine fish farming development. In *Marine Finfish Diversification: Current Status and Prospects in Mediterranean Aquaculture* (ed. by E. Abellan & B. Basurco), *Options Méditerranéennes Serie B* 24, 9–25.
- Battaglione, S. C. y Selosse, P. M. 1996. Hormone-induced ovulation and spawning of captive and wild broodfish of the catadromous Australian bass, *Macquaria novemaculeata* (Steindachner), (Percichthyidae). *Aquaculture Research*, 27: 191–194.
- Bauchot, M.-L. 1987. Poissons osseux. Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. (Révision 1). Méditerranée et mer Noire. Vertébrés. 2: 892–1423.
- Ben Khemis, I., Zouiten, D., Besbes, R. y Kamoun, F. 2006. Larval rearing and weaning of thick lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) in mesocosm with semi-extensive technology. *Aquaculture*, 259: 190–201.
- Benetti, D. 1997. Spawning and larval husbandry of flounder (*Paralichthys woolmani*) and Pacific yellowtail (*Seriola mazatlanica*), new candidate species for aquaculture. *Aquaculture*, 155: 307-318
- Benetti, D. 2008. Review of *Seriola* spp. *Aquaculture*. Developing a sustainable aquaculture industry in the Azores, 7: 81.
- Berlinsky, D. L., William, K., Hodson, R. G. y Sullivan, C. V. 1997. Hormone induced spawning of summer flounder *Paralichthys dentatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28: 79–86.
- Blacio, E. 2004. Outdoor tank culture of almaco jacks in Ecuador. *Global Aquaculture Advocate*, 7: 38–39.

- Bobe, J. y Labbé, C. 2010. Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology.*, 165:535-548
- Bonaldo, A., Parma, L., Badiani, A., Serratore, P. y Gatta, P. 2011. Very early weaning of common sole (*Solea solea* L.) larvae by means of different feeding regimes and three commercial microdiets: Influence on performances, metamorphosis development and tank hygiene. *Aquaculture*, 321: 237–244.
- Bonnet, E., Fostier, A. y Bobe, J. 2007. Characterization of rainbow trout egg quality: A case study using four different breeding protocols, with emphasis on the incidence of embryonic malformations. *Theriogenology*, 67: 786-794.
- Breton, B., Weil, C., Sambron, E. y Zohar, Y. 1990. Effects of acute versus sustained administration of GnRHa on GtH release and ovulation in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 91: 371–383.
- Brooks, S., Tyler, C.R. y Sumpter, J.P. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg? *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7: 387–416
- Bromage, N., Jones, C. J., Randall, M., Thrush, B. D., Springate, J., Duston, J. y Barker, G. 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 100: 141–166.
- Bromage, N., Bruce, M., Basavaraja, N. y Rana, K. 1994. Egg quality determinants in finfish: the role of overripening with special reference to the timing of stripping in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Journal of the World Aquaculture Society*, 25: 13–21.
- Bromage, N., Mazorra, C., Bruce, M. y Brown, N. 2000. Halibut culture. In *Encyclopedia of Aquaculture*. Edited by R. R. Stickney. John Wiley and Sons Ltd, 425-432.
- Brown, N., Siemer, L., Munoz, C., Edelman, E. y Langer, R. 1986. Controlled release of insulin from polymer matrices: control of diabetes in rats. *Diabetes*, 35: 692–697.



- Brown, N., Bromage, N. y Shields, R. J. 1995. The effect of spawning temperature on eggs viability in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Reproductive Physiology of Fish. V Symposium, pp. 181.
- Büke, E., Akpınar, Z., Ayekin, B. y Dereli, H. 2005. Spawning performance and Larval rearing of Red Porgy (*Pagrus pagrus*) under culture conditions. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 22: 303–309.
- Burch, R. 1979. The greater amberjack, *Seriola dumerili*: Its biology and fishery off S.E. Florida. M.S. Thesis, Rosenstein School of Marine and Atmospheric Sciences, University of Miami, Miami, Florida. 133 p.
- Caggiano, M., Campana, M., Moscato, M., Corriero, A., Deflorio, M., Grilli, G., Intini, A., Valenza, M. A. y De Metrio, G. 2009. Recent developments in larval and juvenile rearing of Atlantic bluefin tuna *Thunnus thynnus*. 2nd Global COE Program, Symposium of Kinki University 2009, pp. 25-30.
- Campbell, P., Pottinger, T. y Sumpter, J. 1992. Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. Biology Reproduction, 47: 1140–1150.
- Cárdenas, S., Duncan, N., Fernández-Palacios, H., Pastor, E., Rodríguez-Rúa, A., Estévez, A., Schuchardt, D. y Grau, A. 2009. Larvicultura en el Plan Nacional de Cría de Corvina *Argyrosomus regius* (PLANACOR) de JACUMAR. Foro de los Recursos de Marinos y de la Acuicultura de las Rías Gallegas, 11: 497–504.
- Carnevali, O., Meiri, I., Polzonetti, V., Cambi, A. y Ridolfi, S. 2000. *Sparus aurata* eggs: Maturation and quality. Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish, 312–313.
- Carnevali, O., Mosconi, G., Cambi, A., Ridolfi, S., Zanuy, S. y Polzonetti-Magni, A. 2001. Changes of lysosomal enzyme activities in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) eggs and developing embryos. Aquaculture, 202: 249–256.
- Carolsfeld, J., Sherwood, N., Kreiberg, H. y Soawer, S. 1988. Induced sexual maturation of herring using GnRHa “quick-release” cholesterol pellets. Aquaculture, 70: 169–181.

- Carrillo, M., Bromage, N., Zanuy, S., Serrano, R. y Prat, F. 1989. The effects of modifications in photoperiod on spawning time, ovarian development and egg quality in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 81: 351–365.
- Carrillo, M., Zanuy, S., Prat, F., Serrano, R. y Bromage, N. 1993. Environmental induction of spawning in sea bass. *Recent advance in aquaculture*, 4: 43–54.
- Cataudella, S. y Mazzola S. 2013. Industrialization della produzione dei Grandi Pelagici in Sicilia attraverso tecniche di acquacoltura responsabile pp. 185.
- Chasin, M. y Langer, R. 1990. Biodegradable polymers as drug delivery systems. In: Swarbrick, J. (Ed.), *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, Marcel Dekker, New York, 45: 347–365.
- Chuda, H., Nakao, T., Arakawa, T. y Matsuyama, M. 2001. Relationship between post-ovulation time and fertilization rate of eggs in artificial insemination of yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 67: 874–880.
- Chuda, H., Nakao, T., Arakawa, T. y Matsuyama, M. 2005. Effects of oocyte diameter on ovulation time, quantity and quality of eggs in yellowtail *Seriola quinqueradiata* in inducing ovulation with HCG. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 71: 942–946.
- Conceição, L., Cabrita, L., Engrola, S., Lacuisse, M., Pousão-Ferreira, P. y Dinis, M. 2008. Hormonal induction of Atlantic dusky grouper (*Ephinephelus marginatus*) broodstock. *Cybium*, 32: 324–325.
- Corriero, A., Desantis, S., Deflorio, M., Acone, F., Bridges, C. R., De la Serna, J. M., Megalofonou, P. y De Metrio, G. 2003. Histological investigation on the ovarian cycle of the eastern Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.). *Journal of Fish Biology*, 63: 108–120.
- Corriero, A., Medina, A., Mylonas, C., Abascal, F., Deflorio, M., Aragón, L., Bridges, C., Santamaria, N., Heinisch, G., Vassallo-Agius, R., Belmonte, A., Fauvel, C., Garcia, A., Gordin, H. y De Metrio, G. 2007. Histological study of the effects of treatment with gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH<sub>a</sub>) on the reproductive maturation

- of captive-reared Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.). *Aquaculture*, 272: 675–686.
- Corriero, A., Medina, A., Mylonas, C. ., Bridges, C. ., Santamaria, N., Deflorio, M., Losurdo, M., Zupa, R., Gordin, H., De la Gandara, F., Belmonte Rios, A., Pousis, C. y De Metrio, G. 2009. Proliferation and apoptosis of male germ cells in captive Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.) treated with gonadotropin releasing hormone agonist (GnRH<sub>a</sub>). *Animals Reproduction Science*, 116: 346–357.
- Crim, L. y Geble, B. 1984. Advancement and synchrony ovulation in Atlantic salmon with pelleted LHRH analogue. *Aquaculture*, 43: 47–56.
- Crim, L. y Bettles, S. 1997. Use of GnRH analogues in fish culture. In: Fingerma, M., Nagabhushanam, R., Thompson, M.F. (Eds). *Recent Advances in Marine Biotechnology*, Vol. 1: Endocrinology and Reproduction. Oxford and IBH Publishing, New Delhi, 1: 369–382.
- Crim, L., Nestor, J. J. y Wilson, C. 1988a. Studies of the biological activity of LHRH analogs in the rainbow trout, landlocked salmon, and the winter flounder. *General Comparative Endocrinology*, 71: 372–382.
- Crim, L., Sherwood, N. y Wilson, C. 1988b. Sustained hormone release. II. Effectiveness of LHRH analog (LHRH<sub>a</sub>) administration by either single time injection or cholesterol pellet implantation on plasma gonadotropin levels in a bioassay model fish, the juvenile rainbow trout. *Aquaculture*, 74: 87–95.
- Dabrowski, K., Ciereszko, A., Ramseyer, L., Culver, D. y Kestemont, P. 1994. Effects of hormonal treatment on induced spermiation and ovulation in the yellow perch (*Perca flavescens*). *Aquaculture*, 120: 171–180.
- De la Gandara, F., Alonso, I. y Garcia-Gomez, A. 2004. Constitution and management of a Mediterranean yellowtail (*Seriola dumerili*) broodstock in land based facilities: problematic and perspectives. *European Aquaculture Society Special Publication*, 34: 282–283.

- De Metrio, G., Deflorio, M., Mylonas, C., Bridges, C., Vassallo-Agius, R., Gordin, H., Caggiano, M., Caprioli, R., Santamaria, N., Zupa, R., Pousis, C., Di Gioia, T., Losurdo, M., Spedicato, D. y Corriero, A. 2009. The Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) spawning in captivity. 2nd Global COE Program, Symposium of Kinki University 73–78.
- De Metrio, G., Bridges, C., Mylonas, C., Caggiano, M., Deflorio, M., Santamaria, N., Zupa, R., Pousis, C., Vassallo-Agius, R., Gordin, H. y Corriero, A. 2010. Spawning induction and large-scale collection of fertilized eggs in captive Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.) and the first larval rearing efforts. *Journal of Applied Ichthyology*, 26: 596–599.
- Denson, M., Smith, T. I. y Berlinsky, D. 2001. Ovarian fluid pH, an indicator of egg quality in southern flounder *Paralichthys lethostigma* and Black Sea bass *Centropristis striata*. Lago Buenavista, Florida, EEUU. Book of Abstracts, Conference Aquaculture, 181–182.
- Díaz, M., García, A. y Agulleiro, B. 1997. Características histológicas del ovario de la seriola mediterránea (*Seriola dumerili*, Risso, 1810) mantenida en cautividad, durante su ciclo reproductivo anual. Actas del VI Congreso Nacional de Acuicultura España, 389–394.
- Donaldson, E. 1973. Reproductive endocrinology of fishes. *American Zoologist Journal*, 13: 909–927.
- Donaldson, E. 1997. The role of biotechnology in sustainable aquaculture. In: Bardach, J.E. (Ed). *Sustainable aquaculture*. New York: John Wiley y Sons, 101–126.
- Donaldson, E. y Hunter, G. 1983. Induced final maturation, ovulation and spermiation in cultured fishes. *Fish Physiology and Reproduction*, 9: 351–403.
- Duncan, N., Estevez, A. y Mylonas, C. 2007. Efecto de la inducción hormonal mediante implante o inyección de GnRH $\alpha$  en la cantidad y calidad de puestas de corvina

- (*Argyrosomus regius*). Libro de Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura. Xunta de Galicia, Vigo, España,, 731–734.
- Duncan, N., Estevez, A., Porta, J., Carazo, I., Norambuena, F., Aguilera, C., Gairin, I., Bucci, F., Valles, R. y Mylonas, C. 2012. Reproductive development, GnRHa-induced spawning and egg quality of wild meagre (*Argyrosomus regius*) acclimatised to captivity. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38: 1273–1286.
- Edrman, D. S. 1977. Spawning patterns of fish from the northeastern Caribbean. In: H.B. Stewart, ed Symposium on progress in marine research in the Caribbean and adjacent regions. Caracas, Venezuela, 12-16 Julio 1976. FAO Roma, Dec 1977, 457 pp.
- Elizur, A., Meiri, I., Rosenfeld, H., Zmora, N., Knibb, W. y Zohar, Y. 1995. Seabream gonadotropins: sexual dimorphism in gene expression. *Reproductive Physiology of Fish*. Fish Symposium 95, Austin, Texas, 13–15.
- Elizur, A., Zmora, N., Rosenfeld, H., Meiri, I., Hassin, S., Gordin, H. y Zohar, Y. 1996. Gonadotropins beta-GtHI and beta-GtHII from the gilthead seabream, *Sparus aurata*. *General and Comparative Endocrinology*, 102: 39–46.
- Emons, G. y Schally, A. 1994. The use of luteinizing hormone releasing hormone agonists and antagonists in gynaecological cancers. *Human Reproduction*, 9: 1364–1379.
- FAO 2012. The State of World Fisheries and Aquaculture 2012. Food and Agriculture Organisation, Rome, 230 p.
- Faulk, C. K., Kaiser, J. B. y Holt, G. J. 2007. Growth and survival of larval and juvenile cobia *Rachycentron canadum* in a recirculating raceway system. *Aquaculture*, 270: 149–157.
- FEAP. 2011. European Aquaculture Production Report (2003-2010) 36 p. Web
- FEAP. 2013. European Aquaculture Production Report (2003-2012) 56 p. Web

- Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M., Robaina, M., Valencia, L., Salhi, A., y Vergara, J. M. 1995. Effect of n – 3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 132: 325–337.
- Fernández-Palacios H., Izquierdo M.S., Robaina L., Valencia A., Salhi M. y Montero D. 1997 The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 148, 233–246.
- Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M., y Robaina, L. 2005. Efecto de distintas dietas para reproductores de dorada (*Sparus aurata*) sobre la calidad de sus puestas. *Informes Técnicos del Instituto Canario de Ciências Marinas*, 12: 200 pp.
- Fernández-Palacios, H., Schuchardt, D., Roo, J., Hernández-Cruz, C. y Duncan, N. 2009. Efecto de distintas dosis de GnRHa sobre la calidad de la puesta de corvina (*Argyrosomus regius*). Libro de Actas, XII Congreso Nacional de Acuicultura, Madrid, España, 24-26 Noviembre 2009, 554–555.
- Fernández-Palacios, H., Schuchardt, D., Roo, J., Hernandez-Cruz, C. y Duncan, N. 2011. Effectiveness of hormonal induction with different GnRHa dosis in meagre (*Argyrosomus regius*). Book of Abstracts, Aquaculture Europe, Prague, Czech Republic, 18–21.
- Fernández-Palacios, H., Schuchardt, D., Roo, J., Hernández-Cruz, C. M. y Izquierdo, M. 2013. Multiple GnRHa injections to induce successful spawning of wild caught greater amberjack (*Seriola dumerili*) matured in captivity. *Aquaculture Research*, 2013: 1–12.
- Fernández-Palacios, H., Schuchardt, D., Roo, J., Hernández-Cruz, C. M. y Izquierdo, M. Spawn quality and GnRHa induction efficiency in longfin yellowtail (*Seriola rivoliana*) broodstock kept in captivity. *Aquaculture* (in press).
- Fischer, W., I., Sousa, C., Silva, A., De Freitas, J., Poutiers, W., Schneider, T. y Borges, J. 1990. Fichas FAO de identificação de espécies para actividades de pesca. Guia de

- campo das espécies comerciais marinhas e de águas salobras de Moçambique, 424 p.p.
- Fontaine, M. 1975. Physiological mechanisms in the migration of marine and amphihaline Fish *Advances in Marine Biology Journal*, 13: 241–355.
- Fontenele O. 1955. Injecting pituitary (hypophyseal) hormones into fish to induce spawning. *Fish Culture*, 18: 71–75.
- Foo, J. y Lam, J. 1993. Retardation of ovarian growth and depression of serum steroid levels in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*, by cortisol implantation. *Aquaculture*, 115: 133–143.
- Forniés, M., Mañanós, E., Carrillo, M., Rocha, A., Laureau, S., Mylonas, C., Zohar, Y. y Zanuy, S. 2001. Spawning induction of individual European sea bass females (*Dicentrarchus labrax*) using different GnRHa-delivery systems. *Aquaculture*, 202: 221–234.
- Froese R. y Pauly D. 2014. Editas. Fishbase. World Wide Web electronic publication. [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org), version (04/2014).
- Fujino, M., Kobayashi, S., Obayashi, M., Shinagawa, S., Fukuda, T., Kitada, C., Nakayama, R., Yamazaki, I. y White, W.F. y Rippel, R. H. 1972. Structure-activity relationships in the C-terminal part of luteinizing hormone releasing hormone. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 49: 863–869.
- García, A., Díaz, M. y Agulleiro, B. 2001. Inducción hormonal de la puesta y desarrollo embrionario de la seriola Mediterranea (*Seriola dumerilii*, Risso). *Monografias Instituto Canario Ciencias Marinas*, 4: 561– 566.
- García-Gomez, A. y De la Gándara, F. 2003. Observations on the embryonic and larval development of Mediterranean yellowtail (*Seriola dumerili*). *Special Publication No. 32*. In: Basurco, B., Saroglia, M. (Eds.), *Seafarming Today and Tomorrow*. European Aquaculture Society, Belgium, 246–247.

- Garcia-Hernandez, M., Koide, Y., Diaz, M. y Kawauchi, H. 1997. Isolation and characterization of two distinct gonadotropins from the pituitary gland of Mediterranean yellowtail, *Seriola dumerilii* (Risso, 1810). *General and Comparative Endocrinology*, 106: 389–399.
- Gimenez, G., Estévez, A., Lahnsteiner, F., Zecevic, B., Bell, J.G., Henderson, R.J., Piñera J.A. y Sanchez-Prado, J.A. 2006. Egg quality criteria in common dentex (*Dentex dentex*), *Aquaculture*, 260: 232-243
- Goren, A., Zohar, Y., Fridkin, M., Elhanati, E. y Koch, Y. 1990. Degradation of gonadotropin releasing hormone in the gilthead seabream, *Sparus aurata*: I. Cleavage of native salmon GnRH, mammalian LHRH and their analogs in the pituitary. *General and Comparative Endocrinology*, 79: 291–305.
- Gothilf, Y. y Zohar, Y. 1991. Clearance of different forms of GnRH from the circulation of the gilthead seabream, *Sparus aurata*, in relation to their degradation and bioactivities. In: Scott, A.P., Sumpter, J.P., Kime, D.E., Rolfe, M.S. (Eds.). *Reproductive Physiology of Fish. Fish Symposium 91*, Sheffield, 35–37.
- Grau, A., Crespo, S., Sarasquete, M. C. y González de Canales, M. L. 1992. The digestive tract of the amberjack *Seriola dumerili*, Risso: a light and scanning electron microscope study. *Journal of Fish Biology*, 41: 287–303.
- Guzmán, J., Ramos, J., Mylonas, C. y Mañanós, E. 2009. Spawning performance and plasma levels of GnRH $\alpha$  and sex steroids in cultured female Senegalese sole (*Solea senegalensis*) treated with different GnRH $\alpha$ -delivery systems. *Aquaculture*, 291: 200–209.
- Guzmán, J., Ramos, J., Mylonas, C. y Mañanós, E. 2011. Comparative effects of human chorionic gonadotropin (HCG) and gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRH $\alpha$ ) treatments on the stimulation of male senegalensis sole (*Solea senegalensis*) reproduction. *Aquaculture*, 316: 121–128.



- Hakuć-Błażowska, A., Kuprem, K., Turkowski, K., Targońska, K., Jamróz, M., Krejszeff, S., Kwiatkowski, M., Żarski, D. y Kucharczyk, D., 2009. Comparison of economic effectiveness of applying different hormonal agents in asp *Aspius aspius* (L.) and ide *Leuciscus idus* (L.). Polish Journal of Natural Sciences. 24:224-234.
- Hamasaki, K., Tsuruoka, K., Teruya, K., Hashimoto, H., Hamada, K., Hotta, T. y Mushiake, K. 2009. Feeding habits of hatchery-reared larvae of greater amberjack *Seriola dumerili*. Aquaculture, 288: 216–225.
- Han, Y., Liao, I., Huang, Y., Tzeng, W. y Yu, J. 2003. Profiles of PGH-alpha, GtH I-beta, and GtH II-beta mRNA transcript levels at different ovarian stages in the wild female Japanese eel *Anguilla japonica*. General and Comparative Endocrinology, 133: 8–16.
- Harvey, B. y Hoar, W. S. 1980. Teoría y práctica de la reproducción inducida en los peces. International Development Research Center, 21: 48 pp.
- Hassin, S., De Monbrison, D., Hanin, Y., Elizur, A., Zohar, Y. y Popper, D. M. 1997. Domestication of the white grouper, *Epinephelus aeneus*. Growth and reproduction. Aquaculture, 156: 305–316.
- Hellqvist, A., Bornestaf, C., Borg, B. y Schmitz, M. 2004. Cloning and sequencing of the FSH- beta and LH beta-subunit in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, and effects of photoperiod and temperature on LH-beta and FSH-beta mRNA expression. General and Comparative Endocrinology, 135: 167–174.
- Hildebrand, S. y Cable, L. E. 1930. Development and life history of fourteen teleostean fishes at Beaufort, NC. Bulletin of the Bureau of Fisheries, 46: 383–488.
- Hoar, W. 1969. Reproduction. In: Hoar WS, Randall dJ (eds). Fish Physiology. Vol. III. Academic Press Inc, USA, 1–59.
- Hodson, R. y Sullivan, C. 1993. Induced maturation and spawning of domestic and wild striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum), broodstock with implanted GnRH analogue and injected HCG. Aquaculture Fish Management, 24: 389–398.

- Hsu, T. T. y Langer, R. 1985. Polymers for the controlled release of macromolecules: Effect of molecular weight of ethylene–vinyl acetate copolymer. *Journal of Biomedical Materials Research*, 19: 445–460.
- Hung, L. T., Tuan, N. A., Cacot, P. y Lazard, J. 2002. Larval rearing of the Asian Catfish, *Pangasius bocourti* (Siluroidei, Pangasiidae): alternative feeds and weaning time. *Aquaculture*, 212: 115–127.
- Izquierdo, M., Fernández-Palacios, H. y Tacon, A. G. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197: 25–42.
- Jerez, S., Samper, M., Santamaria, F. J., Villamandos, J. E., Cejas, J. y Felipe, B. C. 2006. Natural spawning of greater amberjack (*Seriola dumerili*) kept in captivity in the Canary Islands. *Aquaculture*, 252: 199–207.
- Jobling, M., Johnsen, H. K., Pettersen, G. W. y Henderson, R. J. 1995. Effect of temperature on reproductive development in Arctic charr *Sevelinus alpinus*. *Journal of Thermal Biology*, 20: 157–165.
- Kajimura, S., Yoshiura, Y., Suzuki, M. y Aida, K. 2001. cDNA cloning of two gonadotropin beta subunits (GtH-Ibeta and -IIbeta) and their expression profiles during gametogenesis in the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *General and Comparative Endocrinology*, 122: 117–129.
- Kawabe, K., Kato, K., Kimura, J., Okamura, Y., Ando, K., Saito, M. y Yoshida, K. 1996. Rearing of broodstock fish and egg-taking from amberjack *Seriola dumerili* in Chichi-Jima, Ogasawara Islands, southern Japan. *Suisanzoshoku*, 44: 151–157.
- Kawabe, K., Kato, K., Kimura, J., Okamura, J., Takenouchi Y. y Yoshida, K. 1997. Rearing of brood fish and egg-taking from the carangid fish *Seriola rivoliana* in Chichi-Jima, Ogasawara Islands, southern Japan. *Suisanzoshoku* 45: 201-206.
- Kawabe, K., Kimura, J., Ando, K. y Kakiuchi, K. 1998. Natural spawning from 2- year-old reared amberjack, *Seriola dumerili* in Chichijima Ogasawara Islands, southern Japan. *Suisanzoshoku*, 46: 31–36.

- Kestemont, P., Cooremans, J., Abi-Ayad, S.-M. E.-A. y Mélard, C. 1999. Cathepsin L in eggs and larvae of Perch (*Perca fluviatilis*): variations with developmental stage and spawning period. *Fish Physiology and Biochemistry*, 21: 59–64.
- Kikkawa, B. y Everson, A. 1984. Gonada1 maturation, fecundity, and spawning of the greater amberjack, *Seriola dumerili* (Risso), in Hawaiian waters with references to ciguatoxin incidences. Second Symposium on Resource Investigations in the North westem Hawaiian Islands, 2: 161-178.
- Kjørsvik, E. 1994. Egg quality in wild and broodstock cod *Gadus morhua* L. *Journal of World Aquaculture Society*, 25: 22–29.
- Kjørsvik, E., Mangor-Jensen, A. y Holmefjord, I. 1990. Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology*, 26: 71–113.
- Kjørsvik, E., Hoenhe-Reitan, K. y Reitan, K. 2003. Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 227: 9–20.
- Koide, Y., Itoh, H. y Kawauchi, H. 1993. Isolation and characterization of two distinct gonadotropins, GtHI and GtHII, from bonito (*Katsuwonus pelamis*) pituitary glands. *International Journal of Peptide Protein Research*, 41: 52–65.
- Kožul, V., Skaramuca, B., Glamuzina, B., Glavic, N. y Tuman, P. 2001. Comparative gonadogenesis and hormonal induction of spawning of cultured and wild mediterranean amberjack (*Seriola dumerili*, Risso 1810). *Scientia Marina*, 65: 215–220.
- Lahnsteiner, F., Urbanyi, B., Weisman, T. y Horvath, A. 2000. Possibilities for egg quality determination on salmonids and cyprinids. *Osterreichs Fischerei Salzburg*, 53: 224–233.
- Laidley, C., Shields, R. y Ostrowski, A. 2004. Progress in amberjack culture at the Oceanic Institute in Hawaii. *Global Aquaculture Advocate*, 7: 42–43.

- Lam, T. 1982. Applications of endocrinology to fish culture. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 39: 11–137.
- Langer, R. 1991. Polymer implants for drug delivery in the brain. *Journal Controlled Release*, 16: 53–60.
- Lazzari, A. 1991. Some notes to the aquaculture to the aquaculture development of the new mediterranean species: the yellowtail (*Seriola dumerilii*). Case and strategy to come. *Aquaculture and the Environment. European Aquaculture Society*, 14: 183–184.
- Lazzari, A. y Barbera, G. 1988. First data on the fishing of yellowtail (*Seriola dumerilii*) spawners in the Mediterranean basin. *Journal of Aquatic Products Istanbul* 2:133–142.
- Lazzari, A. y Barbera, G. 1989a. Prime osservazione sulla pesca di riproduttori di ricciola, *Seriola dumerili*, nelle isole pelagie. *Oebalia*, 2: 645–652.
- Lazzari, A. y Barbera, G. 1989b. Farming the Mediterranean yellowtail, *Seriola dumerili* (Risso, 1810) in concrete ponds: result and perspectives. *Aquaculture: A Biotechnology in Progress*, 209–213.
- Lazzari, A., Fusari, A., Boglione, C., Marino G, y Di Francesco, M. 2000. Recent advances in reproductional and rearing aspect of *seriola dumerilii*. *CIHEAM Options Méditerranèennes*, 47: 241–247.
- Leak, J. C. 1981. Distribution and abundance of carangid fish larvae in the eastern Gulf of Mexico, 1971–1974. *Journal of Marine Biology and Oceanography*. 1:1–28.
- Lee, C.S. y Ostrowski, A.C., 2001. Current status of marine finfish larviculture in the United States. *Aquaculture*, 200: 89–109.
- Lim, L. 1991. Larviculture of the greasy grouper (*Epinephelus tauvina* F.) and brown-marbled grouper (*E. fuscoguttatus* F.) in Singapore. *European Aquaculture Society Special Publication*, 15: 321–322.

- Lin, X.-W., Rupnow, B., Price, D., Greenberg, R. y Wallace, R. 1992. *Fundulus heteroclitus* gonadotropins. Cloning of gonadotropic hormone (GtH) I and II  $\beta$  subunits using the polimerase chain reaction. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 85: 127–139.
- Lush, P. y Crim, L. 2000. Advancement of ovulation in yellowtail flounder (*Pleuronectes ferrugineus*) using environmental manipulation with gonadotropin hormone releasing hormone analogue (GnRH-a). 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish, 434-435.
- Mandich, A., Massari, A. Bottero, S. Pizzicori, P. Goos, H. y Marino, G. 2004 Plasma sex steroid and vitellogenin profiles during gonad development in wild Mediterranean amberjack (*Seriola dumerilii*). *Marine Biology*, 144: 127-138.
- Manganaro, A., Barbera, G., Cammaroto, S. y Greco, S. 1993. Fishing amberjack, *Seriola dumerilii*, spawners. *Biologia Marina, suplemento al Notiziario*, 1: 245–249.
- Marino, G., Porrello, S., Andaloro, F., Massari, A. y Mandich, A. 1995. Aspect of reproductive biology of mediterranean amberjack (*Seriola dumerilii*, Risso 1810) Gonadal development. Zaragoza : CIHEAM Options Méditerranèennes, 16: 115-124.
- Marino, G., Panini, E., Longobardi, A., Mandich, A., Finoia, M., Zohar, Y. y Mylonas, C. 2003. Induction of ovulation in captive-reared dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), with a sustained-release GnRH $\alpha$  implant. *Aquaculture*, 219: 841–858.
- Masuma, S., Kanematu, M. y Teruya, K. 1990. Embryonic and morphological development of larvae and juveniles of the amberjack, *Seriola dumerili*. *Japanese Journal of Ichthyology*, 37: 164–169.
- Matallanas, J., Casadevall, M., Carrasson, M., Boix, J. y Fernandez, V. 1995. The food of *Seriola dumerili* (Pisces: Carangidae) in the Catalan Sea (western Mediterranean). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 75: 257–260.
- Mateos, A. V. 2007. Una nueva especie para la acuicultura marina, la corvina, (*Argyrosomus regius*). *Actas XI Congreso del Nacional de Acuicultura*, 519–522.

- Matsunari, H., Hamada, K., Mushiake, K. y Takeuchi, T. 2006. Effects of taurine levels in broodstock diet on reproductive performance of yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Fisheries Science*, 72: 955–960.
- Mazzola, A., Lopiano, L., Sarà, G. y D' Anna, G. 1993. Sistemi di pesca, cattura ed abitudini alimentari di *Seriola dumerili* (Risso 1810). *Natura Siciliana*, 16: 137–148.
- Mazzola, A., Favalaro, E. y Sara, G. 2000. Cultivation of the Mediterranean amberjack, *Seriola dumerili* (Risso, 1810), in submerged cages in the Western Mediterranean Sea. *Aquaculture*, 181: 257–268.
- McEvoy, L. 1984. Ovulatory rhythms and over-ripening of eggs in cultivated turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Journal of Fish Biology*, 24: 437–448.
- Merinero, S., Martínez, S. y Tomás, A. 2005. Análisis económico de alternativas de producción de dorada en jaulas marinas en el litoral Mediterráneo español Introducción. *AquaTic*, 23: 1–19. [http://www.revistaaquatic.com/aquatic/pdf/23\\_01.pdf](http://www.revistaaquatic.com/aquatic/pdf/23_01.pdf)
- Micaele, V., Genovese, L., Greco, S. y Perdichizzi, F. 1993. Aspect of the reproductive biology of the amberjack *Seriola dumerili* (Risso, 1810). In *From Discovery to Commercialization*. European Aquaculture Society, 19: 413 pp.
- Micaele, V., Maricchiolo, G. y Genovese, L. 1999. The reproductive biology of the amberjack, *Seriola dumerilii* (Risso 1810). Oocyte development in captivity. *Aquaculture Research*, 30: 349–355.
- Moran, D. 2007. Metabolism and physiology during ontogeny of cultured yellowtail kingfish (*Seriola lalandi* Carangidae). Thesis Doctoral, University of Auckland, New Zeland, 132 p.
- Moretti, A., Pedini, M., Cittolin, G. y Guidastrri, R. 1999. Manual on Hatchery Production of Seabass and Gilthead Seabream. Vol.1. FAO, Roma, Italia. 194 pp

- Moro, L., Martín, J.L., Garrido, M.J. y Izquierdo, I. 2003. Lista de especies marinas de Canarias (algas, hongos, plantas y animales). Consejería de Política Territorial y Medio Ambiente. Gobierno de Canarias: 248 pp.
- Mourente, G., Carrascosa, M., Velasco, C., Odriozola, J., Billard, R. y De Pauw, N. 1989. Effect of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) broodstock diets on egg lipid composition and spawning quality. European Aquaculture Society Special Publication, 10: 179–180.
- Mugnier, C., Guennoc, M., Lebegue, E., Fostier, A. y Breton, B. 2000. Induction and synchronisation of spawning in cultivated turbot (*Scophthalmus maximus*) broodstock by implantation of a sustained-release GnRHa-pellet. Aquaculture, 181: 241–255.
- Muncaster, S. 2012. Effects of gonadotropin releasing hormone analogue and diet on spawning in captive reared yellowtail kingfish, *Seriola lalandi*. World Aquaculture Society Conference, Prague, Czech Republic, 1 – 5 September 2012.
- Murie, D. J. y Parkyn, D. C. 2010. Age, growth and sex maturity of greater amberjack (*Seriola dumerili*) in the Gulf of Mexico. Marine Fisheries Initiative 18th Annual Conference, San Petersburgo (Florida), April 6–7. <http://sero.nmfs.noaa.gov/grants/MARFIN%20conference%20book.pdf>
- Mushiake, K. 1996. Achieved advanced maturation and spawning in yellowtail, *Seriola quinqueradiata*, by the manipulation of photoperiod and water temperature. UJNR Technical Report, 28: 61–67.
- Mushiake, K., Kawano, K., Verakunpiriya, W., Watanabe, T. y Hasegawa, I. 1995. Egg collection from brood- stocks of yellowtail fed commercial soft dry pellets. Nippon Suisan Gakkaishi, 61: 540–546.
- Mylonas, C. y Zohar, Y. 2001. Endocrine regulation and artificial induction of oocyte maturation and spermiation in basses of the genus *Morone*. Aquaculture, 202: 205–220.

- Mylonas, C., Magnus, Y., Gissis, A., Klebanov, Y. y Zohar, Y. 1997. Reproductive biology and endocrine regulation of final oocyte maturation of captive white bass. *Journal of Fish Biology*, 51: 234–250.
- Mylonas, C., Woods, L., Thomas, P., Schulz, R. y Zohar, Y. 1998. Hormone profiles of captive striped bass (*Morone saxatilis*) during spermiation, and long-term enhancement of milt production. *Journal of World Aquaculture Society*, 29: 379–392.
- Mylonas, C., Papandroulakis, N., Smboukis, A., Papadaki, M. y Divanach, P. 2004. Induction of spawning of cultured greater amberjack (*Seriola dumerili*) using GnRH $\alpha$  implants. *Aquaculture*, 237: 141-154
- Mylonas, C., Bridges, C., Gordin, H., Ríos, A., Garcia, A., De la Gándara, F., Fauvel, C., Suquet, M., Medina, A., Papadaki, M., Heinich, G., De Metrio, G., Corriero, A., Vasallo-Agius, R., Guzmán, J., Mañanós, E. y Zohar, Y. 2007. Preparation and administration of Gonadotropin- Releasing Hormone Agonist (GnRH $\alpha$ ) implants for the artificial control of reproductive maturation in captive-reared Atlantic Bluefin Tuna (*Thunnus thynnus thynnus*). *Reviews in Fisheries Science*, 15: 183–210.
- Mylonas, C., Zohar, Y., Pankrust, N. y Kagawa, H. 2011. Reproduction and broodstock management. In: Pavlidis, M., Mylonas, C.C. (Eds.), *Sparidae: Biology and Aquaculture of Gilthead Seabream and Related Species*. Blackwell Science Publishers, London, 95 p.
- Nakada, M. 2000. Yellowtail and related species culture. Stickney, R.R. (Ed.), *Encyclopedia of Aquaculture*. Wiley, London, 1007–1036.
- Okada, H., Doken, Y., Ogawa, Y. y Toguchi, H. 1994a. Preparation of three-month depot injectable microspheres of leuprorelin acetate using biodegradable polymers. *Pharmaceutical Research*, 11: 1143–1147.



- Okada, H., Yamamoto, M., Heya, T., Inoue, Y., Kame, S., Ogawa, Y. y Toguchi, H. 1994b. Drug delivery using biodegradable microspheres. *Journal Control Release*, 28: 121–129.
- Olumuji, O. y Mustapha, M. 2012. Induced Breeding of African Mud Catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822), using Different Doses of Normal Saline Diluted Ovaprim. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 3: 4–6.
- Omeljaniuk, R., Shih, S. y Peter, R. 1987. In vivo evaluation of dopamine receptor-mediated inhibition of gonadotropin secretion from the pituitary gland of the goldfish, *Carassius auratus*. *Journal Endocrinology*, 144: 449–458.
- Pankhurst, N. W. y Van der Kraak, G. 1997. Effects of stress on reproduction and growth of fish. In: *Fish stress and health in aquaculture*. G.K. Iwama, A.D. Pickering, J.P. Sumpter, C.B. Schreck eds., Cambridge - University, 73–94.
- Papandroulakis, N., Suquet, M., Spedicato, M., Machias, A., Fauvel, C. y Divanach, P. 2004. Feeding rates, growth performance and gametogenesis of wreckfish (*Polyprion americanus*) kept in captivity. *Aquaculture International* 3: 1–13.
- Pastor, E., Grau, A., Riera, F., Pou, S., Massuti, E. y Grau, A. 2000. Experiences in the culture of new species in the Estacion de Acuicultura of the Balearic Government (1980-1998). *Cahiers Options Mediterrannes*, 47: 371–379.
- Patiño, R. 1997. Manipulations of the reproductive system of fishes by means of exogenous chemicals. *The Progressive Fish-Culturist*, 59: 118–128.
- Peter, R. y Yu, K. 1997. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7: 173–197.
- Peter, R., Nahorniak, C., Sokolowska, M., Chang, J., Rivier, J., Vale, W., King, J. y Millar, R. 1985. Structure-activity relationships of mammalian, chicken, and salmon gonadotropin releasing hormones in vivo in goldfish. *General and Comparative Endocrinology*, 54: 231–242.

- Peter, R., Lin, H. y Van Der Kraak, G. 1988. Induced ovulation and spawning of culture freshwater fish in China: advances in application of GnRH analogues and dopamine antagonists. *Aquaculture*, 74: 1–10.
- Pipitone, C. y Andaloro, F. 1995. Food and feeding habits of juvenile greater amberjack, *Seriola dumerili* (Osteichthyes, Carangidae) in inshore waters of the central Mediterranean Sea. *Cybium*, 19: 305–310.
- PIRSA, 2002. Yellowtail Kingfish Aquaculture in SA. Fact Sheet. Primary Industries and Resources South Australia, 10 pp.
- Prat, F., Zanuy, S. y Carrillo, M. 2001. Effect of gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRH $\alpha$ ) and pimozide on plasma levels of sex steroids and ovarian development in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 198: 325–338.
- Reñones, O., Grau, A., Mas, X., Riera, F. y Saborido-Rey, F. 2010. Reproductive pattern of an exploited dusky grouper (*Ephinephelus marginatus*), (Pisces:Serranidae) population in the Western. Mediterranean. *Scientia Marina*, 74: 523–537.
- Rhine, W., Hsieh, D. S. y Langer, R. 1980a. Polymers for sustained macromolecule release: procedures to fabricate reproducible delivery systems and control release kinetics. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 69: 256–269.
- Rhine, W., Sukhatme, V., Hsie, D. S. y Langer, R. 1980b. A new approach to achieve zero-order release kinetics from diffusion-controlled polymer matrix system. *Control Release Bioactive Materials*, pp. 177–186.
- Roo, J., Schuchardt, D., Socorro, J., Guirao, R., Hernandez-Cruz, C. y Fernández-Palacios, H. 2009. Evolucion de la maduración gonadal de ejemplares de *Seriola dumerili* mantenidos en cautividad. *Actas del XII Congreso Nacional de Acuicultura*, 596–597.
- Roo, J., Mesa, A., Hernandez-Cruz, C., Guirao, R., Socorro, J., Schuchardt, D. y Fernández-Palacios, H. 2011. Estado actual y avances en el cultivo de jurel denton (*Pseudocaranx dentex*) en Canarias. *Actas del XIII Congreso Nacional de Acuicultura Barcelona, Spain*, 82–83.

- Roo, J., Fernández-Palacios, H., Hernandez-Cruz, C., Mesa-Rodriguez, A., Schuchardt, D. y Izquierdo, M. 2012. First results of spawning and larval rearing of longfin yellowtail *Seriola rivoliana* as a fast-growing candidate for European marine finfish aquaculture diversification. *Aquaculture Research*, DOI: 10.1111/are.12007.
- Schally, A. 1978. Aspects of hypothalamic regulation of the pituitary gland. *Science*, 202: 18–28.
- Schreck, C., Contreras-Sanchez, W. y Fitzpatrick, M. S. 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture*, 197: 3–24.
- SEDAR. 2011. Southeast Data, Assessment, and Review (SEDAR) 9 Stock Assessment Update Report: Gulf of Mexico Greater Amberjack. <http://www.sefsc.noaa.gov/sedar/download/SEDAR%202010%20GAJ%20Stock%20Assessment%20Update%20FINAL%20plus%20Appendix%202.pdf?id=DOCUMENT>.
- Sherwood, N., Crim, L., Carolsfeld, J. y Walters, S. 1988. Sustained hormone release. I. Characteristics of in vitro release of gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRH-A) from pellets. *Aquaculture*, 74: 75–86.
- Shields, R.J., Brown, N.P. y Bromage, N.R. 1997. Blastomere morphology as a predictive measure of fish egg viability. *Aquaculture*, 155: 1-12.
- Shioda, T. y Wakabayashi, M. 2000. Effect of certain chemicals on the reproduction of medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*, 40: 239–243.
- Smith, C. L. 1997. National Audubon Society field guide to tropical marine fishes of the Caribbean, the Gulf of Mexico, Florida, the Bahamas, and Bermuda. Alfred A. Knopf, New York, 720 p.
- Smith-Vaniz, W. F. 1986. Carangidae. Springer-Verlag, Berlin. 638–661.
- Stuart, K. y Drawbridge, M. 2012. Spawning and larval rearing of california yellowtail (*Seriola lalandi*) in Southern California. *Bulletin of Fisheries Research Agency*, 35: 15–21.

- Sumpter, J. P., Pottinger, T. G., Rand-Weaver, M. y Campbell, P. M. 1994. The wide-ranging effects of stress in fish. In: Davey, K.G., Peter, R.E., Tobe, S.S. (Eds)., *Perspectives in Comparative Endocrinology*, 535–538.
- Suquet, M., Normant, Y., Sevère, A., Barone, H., Fostier, A., Delliou, H. y Fauvel, C. 2001. Growth performance of the wreckfish (*Polyprion americanus*) in captivity. *EAS Special Publications*, 30: 586–589.
- Suzuki, K., Kawauchi, H. y Nagahama, Y. 1988a. Isolation and characterization of two distinct gonadotropins from chum salmon pituitary glands. *General and Comparative Endocrinology*, 71: 292–301.
- Suzuki, K., Kawauchi, H. y Nagahama, Y. 1988b. Isolation and characterization of subunits from two distinct salmon gonadotropins. *General and Comparative Endocrinology*, 71: 302–306.
- Swanson, P. 1991. Salmon gonadotropins: Reconciling old and new ideas. In: A.P. Scott, J.P. Sumpter, D.E. Kime y M.S. Rolfe (Eds): *Norwich, UK. Fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, 2–7.
- Sylvia, P., Drawbridge, M., Greathouse, R., Hughes, S., Maull, K., Goldie, L. y Jirsa, D. 2006. Spawning and larval rearing of California yellowtail *Seriola lalandi*. *Aquaculture America 2006 -Meeting Abstract, Las Vegas, Nevada, USA*, 298 p.
- Tachihara, K., Ebisu, R. y Tukashima, Y. 1993. Spawning, eggs, larvae and juvenile of the purplish amberjack *Seriola dumerili*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59: 1479–1488.
- Tachihara, K., Khalil El-Zibdeh, M., Ishimatsu, A. y Tag, M. 1997. Improved seed production of gold- striped amberjack *Seriola lalandi* under hatchery. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28: 34–44.
- Thompson, R. y Munro, J. 1974. The biology, ecology and bionomics of the jacks, Carangidae. *Caribbean Coral Reef Fishery Resources* (ed. Munro), ICL- ARM, *Studies and Reviews* 7: 276.

- Thompson, B., Beasley, M. y Wilson, C. 1998. Age distribution and growth of greater amberjack, *Seriola dumerili*, from the north-central Gulf of Mexico. *Fishery Bulletin*, 97: 362–371.
- Totsui, N., Fukumi, T. y Hasegawa, Y. 1979. Stocking, gonadal maturation, artificial spawning and larval rearing of Kampachi. *Saibai Giken*, 8: 95–103.
- Trippel, E., Castell, J., Neil, S. R. y Blair, T. 2000. Assessment of egg quality of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) in paired matings. En Norberg, B., Kjesbu, O.S., Taranger, G.L., Andersson, E., Stefansson, S.O. (Eds): Bergen, Norway. Norway. *Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, 405–407.
- Valdebenito, I. 2008. Terapias hormonales utilizadas en el control artificial de la madurez sexual en peces de cultivo: una revisión. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 40: 115–123.
- Van der Kraak, G., Lin, H., Donaldson, E., Dye, H. y Hunter, G. 1983. Effects of LH-RH and des-Gly10-[D-Ala6]-LH-RH ethylamide on plasma gonadotropin levels and oocyte maturation in adult female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *General and Comparative Endocrinology*, 49: 470–476.
- Vassallo-Agius, R., Imaizumi, H., Watanabe, T., Satoh, S. y Kiron, V. 2001. Effect of squid meal in dry pellets on the spawning performance of striped jack *Pseudocaranx dentex*. *Fisheries science*, 67: 271–280.
- Vera K. J. 1992. Diccionario multilingue de especies marinas para el mundo hispano. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Secretaría General Técnica, 1282 pp.
- Von Ihering, R. 1937. A method for inducing spawning in fish. *Fish Culture*, 34: 15–16.
- Wagner, E., Arndt, R. y Hilton, B. 2002. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. *Aquaculture*, 211: 353–366.

- Watanabe, T. y Carrol, P. 2001. Progress in controlled breeding of summer flounder *Paralichthys dentatus* and southern flounder *P. lethostigma*. Journal of Applied Aquaculture, 11: 89–111.
- Watanabe, T., Arakawa, T., Kitajima, C. y Fujita, S. 1984a. Effect of nutritional quality of broodstock diet on reproduction of red seabream. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 50: 495–501.
- Watanabe, T., Itoh, A., Murakami, A., Tsukashima, Y., Kitajima, C. y Fujita, S. 1984b. Effect of nutritional composition of diets on chemical components of red seabream broodstock and eggs produced. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 50: 503–515.
- Weil, C. y Crim, L. 1983. Administration of LHRH analogues in various ways: effect on the advancement of spermiation in prespawning landlocked salmon, *Salmo salar*. Aquaculture, 35: 103–115.
- Weil, C., Breton, B., Sambroni, E., Zmora, N. y Zohar, Y. 1991. Bioactivity of various forms of GnRH in relation to their resistance to degradation at the pituitary level in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Reproductive Physiology of Fish. Fish Symposium 91, Sheffield pp. 51–53.
- Weil, C., Breton, B., Sambroni, E., Zmora, N. y Zohar, Y. 1992. In vitro bioactivities of various forms of GnRH in relation to their resistance to degradation at the pituitary level in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. General Comparative Endocrinology, 87: 33–43.
- Wells, R. J. y Rooker, J. 2004. Distribution, age, and growth of young of the-year greater amberjack (*Seriola dumerili*) associated with pelagic Sargassum. Fishery Bulletin, 102: 545–554.
- Weltzien, F., Kobayashi, T., Andersson, E., Norberg, B. y Andersen, O. 2003. Molecular characterization and expression of FSHbeta, LHbeta, and common alpha subunit in

- male Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *General and Comparative Endocrinology*, 131: 87–96.
- Woods, L. y Sullivan, C. 1993. Reproduction of striped bass (*Morone saxatilis*) brood stock: monitoring maturation and hormonal induction of spawning. *Journal of Aquaculture and Fisheries Management*, 24: 213–224.
- Yaron, Z. 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*, 129: 49–73.
- Yu, J. Y. L. y Shen, S. T. 1989. Isolation of pituitary glycoprotein gonadotropins from the grass carp (*Ctenopharyngodon idell*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 7: 177–183.
- Zohar, Y. 1988. Gonadotropin releasing hormone in spawning induction in teleosts: basic and applied considerations. *Reproduction in Fish: Basic and Applied Aspects in Endocrinology and Genetics*, pp. 47–62.
- Zohar, Y. 1989a. Fish reproduction: its physiology and artificial manipulation. *Fish Culture in Warm Water Systems: Problems and Trends*. CRC Press, Boca Raton, 65–119.
- Zohar, Y. 1989b. Endocrinology and fish farming: aspects in reproduction growth, and smoltification. *Fish Physiology and Biochemistry*, 7: 395–405.
- Zohar, Y. y Mylonas, C. 2001. Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10: 463–491.
- Zohar, Y., Goren, A., Tosky, M., Pagelson, G., Leibovitz, D. y Koch, Y. 1989a. The bioactivity of gonadotropin-releasing hormones and its regulation in the gilthead seabream, *Sparus aurata*: in vivo and in vitro studies. *Fish Physiology and Biochemistry*, 7: 59–67.
- Zohar, Y., Tosky, M., Pagelson, G. y Finkelman, Y. 1989b. Induction of spawning in the gilthead seabream, *Sparus aurata*, using (D-Ala<sup>6</sup>-Pro<sup>9</sup>Net)-LHRH: comparison with the use of HCG. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 41: 105–113.

- Zohar, Y., Goren, A., Fridkin, M., Elhanati, E. y Koch, Y. 1990. Degradation of gonadotropin-releasing hormones in the gilthead seabream *Sparus aurata*: II. Cleavage of native salmon GnRH, mammalian LHRH and their analogs in the pituitary, kidney and liver. *General and Comparative Endocrinology*, 79: 306–331.
- Zohar, Y., Elizur, A., Sherwood, N., Powell, J. F., Rivier, J. y Zmora, N. 1995a. Gonadotropin releasing activities of the three native forms of gonadotropin-releasing hormones present in the brain of gilthead seabream, *Sparus aurata*. *General and Comparative Endocrinology*, 97: 289–299.
- Zohar, Y., Elizur, A., Sherwood, N., Rivier, J. y Zmora, N. 1995b. Gonadotropin-releasing potencies of the three native forms of gonadotropin-releasing hormones present in the brain of gilthead seabream, *Sparus aurata*. *General and Comparative Endocrinology*, 97: 289–299.