

Maduración y desove en cautiverio del pargo rojo *Lutjanus peru* en la zona norte del Perú

Maturation and spawning in captive of the red snapper *Lutjanus peru* in the north of Peru

Edissa Palacios^{1,*}; Neil Duncan²

Resumen

El grado de maduración de los individuos de pargo *Lutjanus peru* fueron evaluados mensualmente para determinar el desarrollo ovocitario y el valor de respuesta de reproducción de los individuos. Como la maduración de los ejemplares en cautividad está determinada por diversos componentes que inciden de manera directa en este proceso, se controlaron los factores de alimentación, calidad de agua, horas de luz, temperatura y ruido. Los pargos fueron alimentados con dietas frescas, la calidad de agua fue monitoreada diariamente para evitar que algún desorden incida negativamente en el desarrollo de la maduración. Para determinar el grado de madurez de los individuos se realizaron muestreos biométricos mensuales y canulación. Las muestras de los ovocitos que se obtuvieron a través de la cánula por succión, se colocaron sobre láminas porta objeto y se observaron en un microscopio digital con un software de medición, con la finalidad de identificar los distintos tipos de ovocitos o espermatozoides y medirlos. Se obtuvieron muestras de ovocitos maduros y en estado avanzado de madurez, no se evidenció el estado de atresia en ningún individuo muestreado lo que sugiere que la evolución de la maduración no fue perturbada por algún componente intrínseco o extrínseco, ni tampoco provocó un retroceso en el proceso de maduración de los individuos. Se utilizaron implantes hormonales Aralelin® en los individuos con desarrollo de madurez en estado avanzado y las puestas ocurrieron 48 horas después de la colocación del implante.

Palabras clave: *Lutjanus peru*; pargo; ovocitos; espermatozoides.

Abstract

The maturation degree of the individuals red snapper *Lutjanus peru* were evaluated monthly to determine oocyte development and reproductive response value of individuals. As the maturation of the captive specimens is determined by several components that directly affect this process, the factors of feeding, water quality, hours of light, temperature and noise were controlled. Red snappers were fed fresh diets, water quality was monitored daily to prevent any disorder from adversely affecting the development of spawning. To determine the degree of maturity of the individuals, monthly biometric sampling and cannulation were performed. Samples of the oocytes that were obtained through the suction cannula were placed on object slide and were observed in a digital microscope with a measurement software, in order to identify the different types of oocytes or spermatozoa and measure them. Samples of mature oocytes were obtained and at an advanced stage of maturity, the state of atresia was not evidenced in any sampled sample, suggesting that the evolution of maturation was not disturbed by some intrinsic or extrinsic component, nor did it provoke a regression in the process of maturation of individuals. Aralelin® hormonal implants were used in individuals with advanced maturity development and spawning occurred 48 hours after implant placement.

Key words: *Lutjanus peru*; snapper; oocytes; spermatocytes.

¹ MARINASOL, Rio Tumbes y Boca Grande S/N Terreno Ribereno, Tumbes - Perú.

² IRTA, Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentarias, Torre Marimon 08140 Caldes de Montbui (Barcelona). España.

*Autor correspondiente: epalacios@marinasol.com.pe (E. Palacios).

Introducción

El pargo rojo *Lutjanus peru*, es una especie que habita aguas someras de arrecifes coralinos, pero también están presentes en las cercanías de fondos rocosos a más de 90 m de profundidad (Allen, 1987). Se distribuyen desde el Golfo de California, México hasta Tumbes, Perú.

Son peces de gran demanda y alcanzan un alto precio a nivel mundial. Por su importancia como recurso pesquero y deportivo las poblaciones naturales se encuentran explotadas. Sin embargo, la producción en acuicultura aun es incipiente, varias de las especies de pargo se cultivan a nivel comercial, mayoritariamente en Asia y Oceanía, siendo Malasia el principal productor (Allen, 1995). A pesar de que se han llevado a cabo estudios sobre la inducción del desove y la cría de larvas desde finales de la década de los setenta, recientemente en México se ha logrado estandarizar una metodología de cultivo larvario de reproductores del medio natural.

En 1999, Leu *et al.* (2003) trabajaron con el pargo rojo de mangle en tanques de 4m³ con técnicas semi intensivas de agua verde y lograron supervivencias de 11-32% a los 50 días, lo que constituyo la primera tecnología a escala piloto de producción masiva de juveniles con resultados consistentes.

En México se han estado realizando pruebas de engorda en varios estados del Pacifico mexicano basadas en la captura de juveniles silvestres (50-200 g) tanto del pargo flamenco como del huachinango del Pacifico *Lutjanus peru*; sin embargo, estos trabajos han estado limitados por no disponer de las cantidades necesarias de juveniles de calidad, por lo que se hace indispensable obtener huevos de reproductores en cautiverio que aseguraran la viabilidad necesaria para realizar el cultivo larvario (Alvarez-Lajonchere, 2007).

Como no existen estudios en el Perú acerca de estimación de la talla de primera madurez y desove, cambios en el ciclo reproductivo o estados de madurez gonadal de la especie, se realizaron los estudios acerca del desarrollo ovocitario de *Lutjanus peru* en las instalaciones del laboratorio de peces marinos de la empresa MARINASOL, ubicado en Tumbes. Igualmente, se determinó los cambios en el ciclo reproductivo de acuerdo al comportamiento de maduración en correlación con el fotoperiodo y temperatura. Se describen los procesos de determinación de la madurez gonadal y espermatogénico de *Lutjanus peru* estableciendo las dosis de implante hormonal necesaria para el desove.

Materiales y métodos

Manejo de reproductores

Se seleccionaron 21 ejemplares adultos de pargo *Lutjanus peru* de peso y talla reproductiva (3,2 kg y 52 cm en promedio) previamente sexados (8 hembras y 13 machos) que fueron estabulados en tanques de fibra de vidrio de 80000 L, con 2 m de profundidad. A los pargos se les coloco un microchip intramuscular de identificación (FDX-b) leídos por un scanner Petscan RT100 V5 (Real Trace, USA). El tanque de 8 m de diámetro de fibra de vidrio fue recubierto con geomembrana de HDPE de color negro y en forma de triángulo sostenidos con varillas de aluminio con el

objeto de proporcionar una condición de oscuridad. En el interior se acondicionaron 8 luces de 200 W con un dispositivo de control horario automático (temporizador), exponiendo los peces a 13 horas de luz y 11 de oscuridad.

Los pargos *Lutjanus peru* (Figura 1) fueron alimentados con dietas frescas en base a Anchoveta *Engraulis ringens*, Calamar *Loligo gahi* y langostino *Litopennaeus vannamei*, a los trozos de pescado y calamar se les adiciono una capsula de un mix de vitaminas Algamax®. La ración diaria fue del 3% de la biomasa total, registrándose el alimento ingerido y el residual. La

frecuencia de alimentación diaria fue de 1 vez por día. La calidad de agua del cultivo fue monitoreada diariamente usando un Fotómetro 9500 (YSI USA), para la medición de amonio, alcalinidad, dureza, nitrito y nitrato. El pH se monitoreo usando un pHmetro portátil (Hanna Instrument, USA). La Salinidad fue evaluada con un refractómetro (Aqua fauna, USA). La temperatura y oxígeno fueron evaluados con un Oxímetro 550A (YSI, USA) y se registraron 6 veces al día. El recambio de agua diario fue 6 veces el volumen total del tanque.

Para determinar el grado de madurez de los individuos se realizaron muestreos biométricos mensuales y canulación. Los individuos fueron anestesiados previamente en una solución de agua de mar filtrada y esterilizada mediante un ultravioleta 100 W usando TRICAINES®-S - MS-222 a una concentración de 80 mg/L exponiendo a los ejemplares durante 5 minutos. La talla y el peso fueron registrados con un ictiometro graduado a intervalos de 0 - 5 cm y una balanza electrónica Sartorius Weighing Technology GmbH, Alemania.

La determinación del sexo y medición de los ovocitos se realizaron usando la técnica de canulación (Watanabe y Carroll, 2000). Se introdujo una cánula de plástico grado medico de 0,2 mm de diámetro interno en el poro genital del individuo (Figura 2) y mediante succión de una jeringa se extrajo las células sexuales para su identificación en un microscopio.

Determinación de la maduración gonadal
Las muestras de los ovocitos que se obtuvieron a través de la cánula por succión, se colocaron sobre láminas porta objeto y se observaron en un microscopio digital con un software de medición, con la finalidad de identificar los distintos tipos de ovocitos o espermatoцитos y medirlos. En el caso de las hembras se realizó el conteo por el tipo de ovocitos, que se catalogaron como previtelogenados, vitelogenados, maduros, maduro avanzado, hidratados y atresicos de acuerdo a la clasificación hecha por Hunter y Golberg (1980). En el caso de

los machos se estimó el índice de madurez, basado en una escala cualitativa a la cual se le asigno valores de 0 a 100, con intervalos de 25 de acuerdo a la proporción de cada tipo de célula sexual masculina (25: muy poco; 50: poco; 75: abundante; 100: muy abundante) (Perea, 2012).

Inducción al desove mediante implantes hormonales

De acuerdo a los resultados del seguimiento del estado de madurez de los peces, se seleccionaron hembras y machos en proceso de maduración, en el caso de las hembras se seleccionaron las que tenían el ovocito $\geq 460 \mu$ y se les colocó el implante hormonal a razón de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ por hembra. En los machos, se seleccionaron aquellos que tenían abundante esperma de acuerdo a la escala descrita anteriormente, se utilizó la dosis de implante hormonal de 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ por macho (Duncan et al., 2003). Los implantes hormonales contienen GnRHa, con nombre comercial Aralelin®, Bachem, son de 2 mm de tamaño y se aplican en una jeringa esterilizada de 12 G (la misma jeringa de los chips intramusculares), se colocan subcutáneamente por debajo de la aleta dorsal.

Desove

Las puestas se obtuvieron a las 48 horas después de colocado el implante (Dumas et al., 2004; Boza-Abarca et al., 2011). Los huevos fueron colectados manualmente con la ayuda de una malla de 300 μ , posteriormente fueron desinfectados y lavados con abundante agua de mar esterilizada mediante radiación ultravioleta (UV); luego, se eliminaron los huevos no viables mientras que los huevos fértiles fueron estabulados en tanques cilindro-cónicos de 400 L con agua de mar esterilizada y aireación suave que permita la distribución uniforme y homogénea de los huevos en la columna de agua. La temperatura registrada al momento del desove fue de 27,8 °C. Los huevos colectados fueron observados al microscopio digital identificándose el espacio perivitelinico, como indicador de que se encontraban fertilizados.

Resultados

Los individuos fueron marcados con chips intramusculares que fueron leídos por un escáner lo cual permitió tener un registro de la madurez de cada individuo y del desarrollo gonadal. Al sexar todos los individuos se identificaron 8 hembras y 13 machos que se colocaron en un tanque de maduración.

Seguimiento de la madurez gonadal

En las hembras, en el análisis de las muestras obtenidas por canulación se pudo diferenciar los ovocitos con vitelo y sin vitelo, igualmente los ovocitos clasificados como previtelogenados, vitelogenados y maduros de acuerdo a la clasificación realizada por Hunter y Golberg, 1980.

De acuerdo a la cantidad o proporción de los ovocitos muestreados se determinó a las hembras en cinco estadios gonadales de maduración: 1. Inmaduro, 2. En madurez, 3. Maduro, 4. Maduro avanzado y 5. En recuperación. Como resultado de estos muestreos de seguimiento de la madurez gonadal las hembras muestran una progresiva maduración de las gónadas determinada por la presencia de ovocitos maduros y maduros avanzados.

El estado de atresia no se observó en los ejemplares muestreados, este factor indica que la evolución de la maduración puede ser perturbada por un componente intrínseco o extrínseco que provoque un retroceso en el proceso de maduración de los individuos. En los machos, la determinación del estado de madurez se realizó cuantitativamente mediante la observación directa al microscopio digital, de acuerdo a la revisión y proporción visual se tomó en cuenta la predominancia de las células sexuales masculinas que se identificaron como: espermatogonios, espermatozoides o espermatozoides (Figura 3). De acuerdo a estas consideraciones se pudo clasificar a los machos en los siguientes estados de madurez: 1. Inactivo, 2. Maduro, 3. Maduro avanzado. Después de este proceso ocurrió 48 horas después de colocado el implante hormonal, los huevos tuvieron un promedio de 0,87 mm de diámetro. La fecundidad

estimada fue de 73,56% calculándose un porcentaje de viabilidad de 73,56%. Los huevos fértiles se desinfectaron, se contabilizaron y fueron incubados a una densidad de 100 huevos/L. Los huevos no viables de color blanquecino perdieron la capacidad de flotación, precipitándose en el fondo del tanque, por lo que fueron removidos con facilidad.



Figura 1. Reproductores de *Lutjanus peru* con microchips de identificación en el tanque de maduración.



Figura 2. Visualización del poro genital en reproductor de *Lutjanus peru*.



Figura 3. Células sexuales masculinas de *Lutjanus peru* (40x) se utilizó microscopio digital.

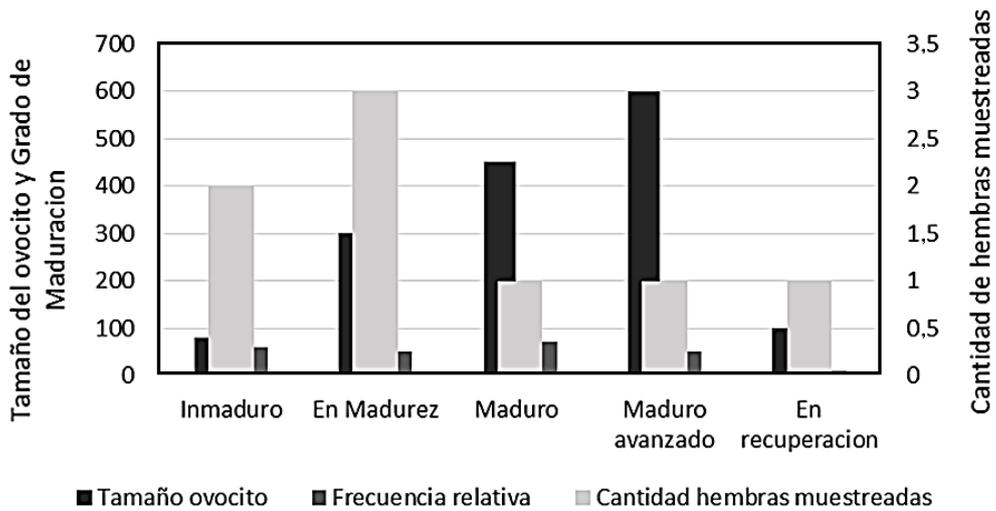


Figura 4. Relación del grado de maduración y cantidad de hembras muestreadas de *Lutjanus peru*, en cautiverio.

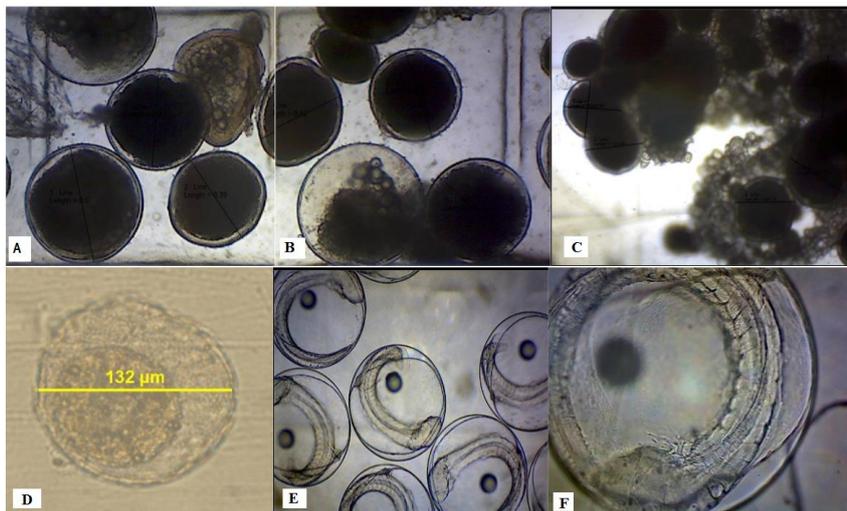


Figura 5. Ovocitos de hembras de *Lutjanus peru*, se observan: A ovocitos maduros de 560µ; B ovocitos maduros y en recuperación; C ovocitos maduros, inmaduros 100µ y en desarrollo 320µ; D ovocito en desarrollo; E embrión en estadio de desarrollo; F embrión con vesícula vitelina. Se utilizó microscopia invertida 100x.

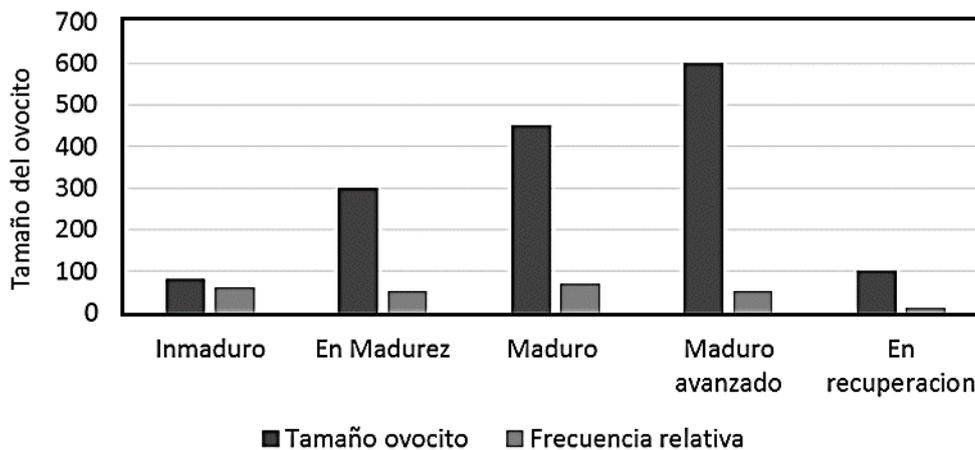


Figura 6. Grado de maduración de *Lutjanus peru*, en cautiverio.

Discusión

El proceso de reproducción se ve afectado por factores que pueden perturbar a los reproductores, entre ellos el tipo de dieta es un gran factor de gran influencia en este proceso (Navas et al., 1993). Siendo muchos los factores desencadenantes de la maduración y desove.

Este trabajo nos permite describir el comportamiento de maduración y desoves de los pargos *Lutjanus peru* en cautiverio, al referirnos al desarrollo ovocitario in vivo y realizarlo de una manera simple y rápida sin necesidad de sacrificar al animal para establecer el momento oportuno de colocación del implante hormonal sin alterar ni perturbar a los ejemplares.

El seguimiento del desarrollo ovocitario de cada hembra identificada, registrando y contabilizando los tipos de ovocitos, constituye un aporte valioso para reconocer el estado de madurez gonadal de los reproductores vivos. Igualmente, la ausencia o presencia de atresia ovocitaria

es un buen indicador del estado en el que se encuentra un ejemplar en cautiverio.

En los individuos muestreados no se observó la condición de atresia, esto confirma que la evolución de la maduración en los pargos del laboratorio se encuentra en óptimas condiciones y sin ningún factor que los perturbe o altere el proceso de maduración.

La técnica de la biopsia por canulación se convierte en una herramienta de diagnóstico eficaz para proporcionar datos sobre los efectos de factores internos y externos sobre la maduración en cautividad y en consecuencia la respuesta reproductiva de cada individuo. Se pudo observar en los ejemplares muestreados que ningún factor perturbo la condición de maduración durante todo el experimento, se determinó el grado de madurez gonadal progresivamente encontrándose ovocitos maduros y en desarrollo por lo que se logró colocar los implantes hormonales y obtener los desoves viables.

Agradecimiento

La ejecución del estudio fue financiado por la empresa PACIFICO AZUL S.A.C de la empresa MARINAZUL S.A. y el Programa

Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad - INNÓVATE PERÚ.

Conclusiones

Se estableció que el 70% de las hembras en cautiverio y bajo el ciclo de fotoperiodo estuvieron en estado de madurez al momento de colocar el implante hormonal. Esto sugiere que el desarrollo ovocitario fue posible sin perturbación ambiental. Se contabilizaron los tipos de ovocitos y se tuvo un registro de la maduración. Al momento del desove, los individuos fueron muestreados y presentaron un peso y longitud promedio de $4,14 \pm 1,27$ kg y $60,1 \pm 4,34$ cm, respectivamente. El número de huevos producidos por desove fue de 238,6

huevos /g pez. Los huevos producto de la fecundación tenían un diámetro de $794,5 \pm 5,16$ y el tamaño de la gota de aceite oscilo de $1,1 \pm 0,5$ mm. El porcentaje de fertilización de los huevos fue de 61,5 %. Todos los individuos fueron marcados con un microchip en la base de la aleta dorsal, para su identificación individual y facilitar el seguimiento de su descendencia.

Referencias bibliográficas

- Allen G.R., 1987. Synopsis of the circumtropical fish genus *Lutjanus* (Lutjanidae). En J.J. Polovina and S. Ralston (Eds.), Tropical snappers and grupers. Biology and Fisheries management 2: 33-88.
- Allen G.R., 1995. Lutjanidos (Peces óseos). En Fischer, W., I. Krupp, W. Schueider, C. Somer, K.E. Carpenter and V.H. Niem (Eds), Guía FAO para la identificación de peces Pacífico Centro-Oriental. Vol. III, Vertebrados parte 2: 1231-1244.
- Alvarez-Lajonchere, L, Ibarra Castro, L; Garcia Aguilar, N, Ibarra Zatarain, Z. 2007. Manipulación y nutrición de reproductores de peces marinos. Panorama Acuicola Magazine 13: 10-24.
- Aviles-Quevedo, A. Castillo i Orvay, F. 2003. Avances en el cultivo experimental de pargos (*Pisces Lutjanidae*) en Bahía de la Paz, Mexico. III Simposio Nacional de Acuicultura y Pesca, noviembre 2003. Antigua, Guatemala.
- Boza-Abarca, J.; Valverde-Chavarria, S.; Calvo, E.; Ramirez, M.; Rodriguez, E. 2011. Hormone-induced spawning of wild and captive-grown spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* using carp pituitary suspension and human chorionic gonadotropin. Ciencias Marinas 37(2): 125-139.
- Dumas, S.; Rosales-Velazquez, M.; Contreras-Olguin, M.; Hernandez-Ceballos, D.; Silverberg, D. 2004. Gonadal maturation in captivity and hormonal induced spawning of the Pacific Red Snapper *Lutjanus peru*. Aquaculture 234: 615- 623.
- Duncan, N.; Rodriguez, M.; Alok, D.; Zohar, Y. 2003. Effects of controlled delivery and acute injections of LHRHa on bullseye puffer fish *Sphoeroides annulatus* spawning. Aquaculture 218: 625- 635.
- Hunter, J.; Goldberg, S. 1980. Spawning incidence and batch fecundity in norther anchovy, *Engraulis mordax*. Fish. Bull. U.S. 77: 641-652.
- Leu, M.; Chen, I.; Fang, L. 2003. Natural spawning and rearing of mangrove red snapper, *Lutjanus Agentimaculatus*, Larvae in captivity. The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh 55(1): 22-30.
- Navas, J.; Thrush, M.; Ramos, J.; Zanuy, S.; Carrillo, M.; Bromage, N. 1993. Calidad de puesta y niveles plasmáticos de vitelogenina en reproductores de *Lubina Dicentrarchus labrax* mantenidos con diferentes dietas. Actas IV Congreso Nacional de Acuicultura: 19-24.
- Perea, A.; Carrera, L. 2012. Seguimiento en cautiverio de la maduración gonadal y desove del lenguado *Paralichthys adspersus* (Steindachner). Instituto del Mar del Perú. Informe 39: N 1-2.
- Watanabe, W.; Carrick, P. 2000. Recent progress in controlled reproduction of southern flounder *Paralichthys lethostigma*. UJNR. Technical Report 28: 141-148.