



II MASTER OFICIAL EN CULTIVOS MARINOS

Las Palmas de Gran Canaria, España

2011-2012

EFICACIA DE LA INDUCCIÓN HORMONAL, CON DISTINTAS DOSIS DE GnRH_a, EN REPRODUCTORES DE CORVINA (*Argyrosomus regius*). EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN Y LA CALIDAD DE LAS PUESTAS.

CRISTINA SABATER PASCUAL

TESIS PRESENTADA Y PUBLICAMENTE DEFENDIDA PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MASTER OFICIAL EN CULTIVOS MARINOS

Las Palmas de Gran Canaria
a 15 de Junio del 2012.



II MASTER OFICIAL EN CULTIVOS MARINOS

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)

EFICACIA DE LA INDUCCIÓN HORMONAL, CON DISTINTAS DOSIS DE GnRH α , EN REPRODUCTORES DE CORVINA (*Argyrosomus regius*). EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN Y LA CALIDAD DE LAS PUESTAS.

CRISTINA SABATER PASCUAL

Trabajo realizado en el Instituto Canario de Ciencias Marinas de Gran Canaria España, bajo la dirección del Dr. Hipólito Fernández- Palacios Barber y de la Dra. Dominique Schuchardt Lenoir.

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 y del Diploma de Master of Science en Acuicultura otorgado por el Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos (CIHEAM).

Directores

Fdo. Dr. Hipólito Fernández-Palacios Barber.

Autor

Fdo. Cristina Sabater Pascual.

Fdo. Dra. Dominique Schuchardt Lenoir.

AGRADECIMIENTOS

A mis directores Pipo y Dominique. Gracias por la invaluable ayuda prestada, la orientación que fue vital para la realización de este trabajo. Igualmente les agradezco la confianza depositada en mí a lo largo de este proceso.

A todo el equipo de técnicos de Taliarte, Ada, Eyad, Lorena, Desi, Ruben, no se alcanzan a imaginar lo importante que fue su apoyo incondicional en los días de trabajo.

A todos los compañeros del máster con los que pasamos buenos momentos, espero que no perdamos el contacto.

A todos aquellos que pasaron por mi camino tanto en Taliarte como en el IUSA a lo largo de este trabajo.

A todos los miembros del GIA y a la organización del Master, gracias por esta oportunidad y todas las enseñanzas impartidas.

Finalmente los que para mi son los más importantes.

A mi Familia, GRACIAS, definitivamente por su apoyo incondicional por que sin ustedes nada de esto se hubiera podido hacer, y que a pesar de la distancia en este proceso siempre estuvieron presentes.

Y en especial a mis dos Tias M^a Carmen y Quini que me han apoyado, incondicionalmente día a día, y que desde el primer momento me ayudaron en este mi sueño, nunca podre agradeceréselo lo suficiente.

Y a Mohamed, que suerte haber encontrado una persona como tu, gracias por estar a mi lado apoyándome todo este tiempo, te aseguro que nada nos podrá detener en la búsqueda de nuestros sueños.

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	I
LISTA DE FIGURAS	II
LISTA DE TABLAS	III
RESUMEN	IV
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. ESTADO DE LA ACUICULTURA Y LA PESCA MUNDIAL.....	1
1.2. DIVERSIFICACIÓN.....	3
1.3. INDUCCIÓN A LA PUESTA	5
1.3.1. Técnicas hormonales utilizadas en el control de la reproducción.	8
1.3.2. Métodos de aplicación hormonal.....	10
1.4. CALIDAD DE PUESTA.....	11
1.5. INDUCCIÓN HORMONAL Y CALIDAD DE PUESTA	14
1.6. ACUICULTURA DE ESCIÉNIDOS	15
1.7. EL CULTIVO DE LA CORVINA	16
2. OBJETIVOS.....	19
3. MATERIAL Y MÉTODOS	21
3.1. ESPECIE OBJETO DE ESTUDIO	21
3.1.1. Descripción.....	23
3.1.2. Distribución y Hábitat.....	24
3.1.3. Reproducción Natural	26
3.2. CONDICIONES DE CULTIVO	26
3.2.1. Tanques Experimentales	26
3.2.2. Reproductores.....	28
3.2.3. Determinación del estado de maduración de los reproductores	31
3.3. INDUCCIÓN HORMONAL DE LOS REPRODUCTORES.	31
3.4. CONTROL DE LAS PUESTAS.....	32
3.5. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS	36
3.6. NOMBRES COMUNES DE LAS ESPECIES UTILIZADOS.....	36
4. RESULTADOS.....	38

4.1. MADUREZ SEXUAL.....	38
4.2. EFICACIA DE LAS DOSIS.....	39
4.3. EFECTO DE LAS DOSIS SOBRE LA CALIDAD DE LAS PUESTAS.....	43
4.4. EFECTO DE LAS DOSIS SOBRE LAS PRODUCCIONES	45
4.4.1. Producciones por kg de hembra y por puesta.....	45
4.2.2. Producciones por kg de hembra e inyección.....	45
5. DISCUSIÓN	49
6. CONCLUSIONES.....	60
7. BIBLIOGRAFÍA.....	62

ABREVIATURAS

ANOVA Análisis de Varianza

APROMAR Asociación Empresarial de Productos Marinos de España

CASA Computer Assisted Sperm Analysis

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

FEAP The Federation of European Aquaculture Producers

FISHBASE Relational database with information to cater to different professionals such as research scientists, fisheries managers, and zoologists

FOM Maduración Final de los oocitos

FF Fracción Flotante de los huevos

FNF Fracción no Flotante de los huevos

FSH Hormona Folículo Estimulante o gonadotropina

GnRH Hormona Liberadora de gonadotropina

GnRH_a Análogo de la Hormona Liberadora de gonadotropina

GtH Gonadotropina producida en la Hipófisis

HCG Gonadotropina Corionica Humana

ICCM Instituto Canario de Ciencias Marinas (Gran Canaria)

INIA Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria

IFAPA Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (Puerto de Santa María, Cádiz)

IRTA Instituto de Investigación de la Generalitat de Cataluña (Tarragona)

LH Hormona Luteinizante o gonadotropina

LHRH Hormona liberadora de la Hormona Luteinizante

LHRH_a Análogo de la Hormona liberadora de la hormona Luteinizante

LIMIA Laboratorio de Investigación Marina y Acuícola (Mallorca)

Ovaprim Agente inductor de la ovulación y espermiación en peces

PLANACOR Plan Nacional de Cría de Corvina (*Argyrosomus regius*)

PIT Passive Integrated Transponder

sGTH Gonadotropina producida en el Hipotálamo isoforma de salmón

SS Sin Inyectar

SI Inyectadas con solución Salina

UE Unión Europea

UI Unidades Internacionales

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1.- Evolución de la producción de la pesca y de la acuicultura en la última década (FAO, 2011).	1
Fig. 2.- Capturas mundiales de peces, moluscos y crustáceos en la última década (FAO, 2010).	2
Fig. 3.- Evolución de la producción de halibut y bacalao en el norte de Europa (FEAP, 2011).....	4
Fig.4.- Evolución, por Comunidades Autónomas, de la producción de acuicultura de corvina en España (APROMAR, 2004, 2009, 2010, 2011).	18
Fig.5.- Corvina, (pescasubdelmediterraneo, 2012).	22
Fig.6.- Mapa de distribución de algunos de los Esciénidos criados en el mundo. Los números indican la década de crianza de cada especie (Cárdenas, 2010).	25
Fig.7. - Tanques de reproductores, con colectores de huevos.	27
Fig.8.- (A) Biometría y marcaje (B) Canulación (C) Proyector de perfiles utilizado para la medida de los oocitos (D) Hemocitómetro.	30
Fig.9.- Inducción hormonal de los reproductores mediante inyección intramuscular.	32
Fig.10.- Material utilizado para el control de las puestas.....	35
Fig.11.- Recipientes utilizados para la incubación de los huevos y contaje de las larvas con el saco vitelino reabsorbido.	35
Fig.12.- Relación entre las dosis ensayadas y el periodo de latencia hasta la primera puesta.	41
Fig.13. -Relación entre las dosis ensayadas y el periodo de latencia hasta la segunda puesta.....	41
Fig. 14.- Relación entre las dosis empleadas y el nº de puestas por inyección.	42
Fig.15.- Relación entre las dosis utilizadas y los porcentajes de huevos viables.	44
Fig.16.- Relación entre las dosis utilizadas y los porcentajes de huevos fecundados.	44
Fig.17. Producciones (por kg de hembra y por puesta) de los grupos experimentales.	46
Fig.18. Producciones (por kg de hembra y por inyección) de los grupos experimentales.	47

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Indicadores de la calidad de la puesta	13
Tabla II. Histórico de la producción mundial de la corvina en acuicultura (FEAP, 2011).....	17
Tabla III. Características biométricas de los reproductores utilizados en el experimento	29
Tabla IV. Medida de los oocitos de las hembras utilizadas en el experimento (SI =Sin inyectar; SS = Inyectadas con solución salina).....	38
Tabla V. Parametros de calidad del espermatozoides de los machos utilizados en el experimento (SI =Sin inyectar; SS = Inyectados con solución salina)	39
Tabla VI. Efecto de las dosis inyectadas sobre las puestas	40
Tabla VII. Índices de calidad de las puestas.....	43

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la eficacia, y el efecto sobre la puesta, de distintas dosis de GnRHa, en la inducción de reproductores de corvina (*Argyrosomus regius*), nacidos en cautividad.

En el trabajo, se utilizaron corvinas nacidas en cautividad, procedentes del stock del ICCM y marcados con PIT (TROVAN Ltd. Reino Unido), los cuales se detectaron usando el lector Power Tracker V (AVID, Reino Unido). Los ejemplares fueron anestesiados utilizando aceite de clavo, y se tomaron las siguientes medidas: longitud total y peso. Las biopsias ováricas se llevaron a cabo utilizando un catéter, con un diámetro interno de 1.3 mm (Kruuse, Dinamarca), introduciéndolo por el poro genital. Cada muestra de ovario se observó en un proyector de perfiles (Mitutoyo PJ-3000A, Kanagawa, Japón) para estimar el diámetro de 100 ovocitos seleccionados al azar. Solamente hembras con oocitos mayores de 500 μ fueron escogidas para el experimento. El esperma de cada macho se obtuvo por masaje y presión abdominal. La densidad del esperma de cada macho fue determinada, por triplicado, en un hematocimetro Neubauer (HHH, Germany), utilizando un microscopio Leica DM 2500 (Wetzlar, Germany) a 400 aumentos. El porcentaje de movilidad, y el tiempo de actividad del semen de cada macho se determinaron, por triplicado, siguiendo la metodología descrita por Mylonas *et al.* (2004b).

Se constituyeron seis grupos experimentales, y dos grupos de control: uno no fue inyectado y el otro lo fue con una solución salina (9g ClNa/100ml agua destilada). Se estabularon en 8 tanques de 10m³ a razón de 3♀ y 3♂ en cada uno, y con un peso medio de 8,93 \pm 1,36 y 8,80 \pm 1,58 kg, y una talla media de 93,81 \pm 5,43 y 93,41 \pm 6,64 cm, respectivamente. A lo largo del periodo experimental que fue de 9 semanas (Mayo-Junio), se inyectó semanalmente, de forma alternativa, una hembra y un macho de cada grupo experimental y del grupo control inyectado con solución salina, de tal manera que cada hembra y cada macho fue inyectado a lo largo del periodo experimental un total de 3 veces. Cada uno de seis grupos experimentales fue inducido mediante una inyección de GnRHa (Sigma-Aldrich Co. St. Louis, Missouri, USA) con dosis de 1, 5, 10, 15, 20 y 25 μ g.kg⁻¹, respectivamente. En todos los casos el diluyente utilizado fue solución salina (9g ClNa/100ml agua destilada), las inyecciones se pusieron en la musculatura dorsal.

Como parámetros de la eficacia de la inducción se determinaron: el porcentaje de hembras inyectadas que pusieron, el periodo de latencia (tiempo transcurrido entre la inyección y el momento de la puesta o puestas, en los cuales con una misma inyección se obtuvieron 2 puestas), el porcentaje de puestas (n° puestas/ n° inyecciones $\times 100$) (Fernández-Palacios *et al.*, 2009). La calidad y producción de los grupos experimentales se determinó siguiendo la metodología descrita por Fernández-Palacios *et al.* (2005, 2011). Los mejores resultados en cuanto a todos los parámetros de calidad y producción se obtuvieron en los reproductores inducidos con la dosis de $15 \mu\text{g.kg}^{-1}$. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas, en ninguno de los parámetros de madurez sexual calculados: diámetro de los oocitos, densidad espermática (espermatozoides/ ml^{-1}), % Motilidad del espermatozoides y Actividad espermática (min). No se obtuvieron puestas en ninguno de los dos grupos control. En cuanto a los parámetros de calidad de las puestas, el periodo de latencia de la primera puesta (tiempo que transcurre desde la inyección hasta la obtención de la puesta), osciló entre 30 y 32 horas, siendo muy similar al obtenido en otras especies de la misma familia de Sciénidos. Encontrándose diferencias estadísticamente, entre los periodos de latencia entre la primera y la segunda puesta. Observándose la existencia, de una correlación negativa entre las diferentes dosis ensayadas, y el periodo de latencia tanto en la primera puesta como en la segunda puesta. Analizando los índices de calidad de las puestas, solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al % de huevos viables. Encontrándose correlaciones polinomiales significativas, entre la dosis empleada y el % de huevos viables ($R = 0,88$, $P < 0,05$) y el % de huevos fecundados ($R = 0,82$, $P < 0,1$).

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. ESTADO DE LA ACUICULTURA Y LA PESCA MUNDIAL

La pesca y la acuicultura suministraron al mundo, unos 162,8 millones de toneladas de productos acuáticos en 2009 (Fig. 1). De ellos, 138 millones de toneladas se destinaron al consumo humano, y proporcionaron un suministro per cápita aproximado de 17,2 kg, lo que constituye un máximo histórico. La acuicultura generó el 52,89 % del suministro total de productos acuáticos, destinados al consumo humano. Aunque la producción de la acuicultura ha crecido de manera espectacular desde los 0,6 millones de toneladas en 1950, a 73 millones de toneladas en 2009, se percibe una reducción en el crecimiento que ha pasado de una media anual del 9% al 6% en la última década (APROMAR, 2011).

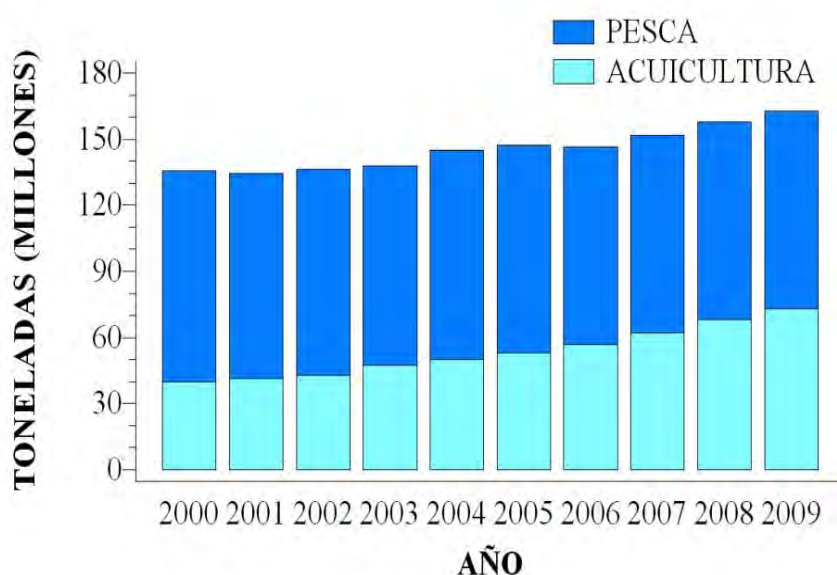


Fig. 1.- Evolución de la producción de la pesca y de la acuicultura en la última década (FAO, 2011).

Aun así, la acuicultura sigue creciendo más rápido que cualquier sector de producción de alimentos de origen animal, y a mayor ritmo que la población, con un incremento del suministro acuícola (pesca y acuicultura) per cápita desde 9,9 kg en 1960 hasta los mencionados 17,2 kg en 2009.

Considerando que el 70% de los caladeros internacionales se encuentran en estado de sobreexplotación, y que el nivel de capturas actual es prácticamente el máximo que puede alcanzarse, permaneciendo prácticamente constante en este siglo (Fig. 2), el aumento del consumo de productos acuícolas, debido al incesante incremento de la población mundial en los últimos años, y a su necesidad natural de alimentarse, debe fundamentarse en la acuicultura, lo que confirma las altas expectativas de crecimiento para las producciones acuícolas en un futuro próximo.

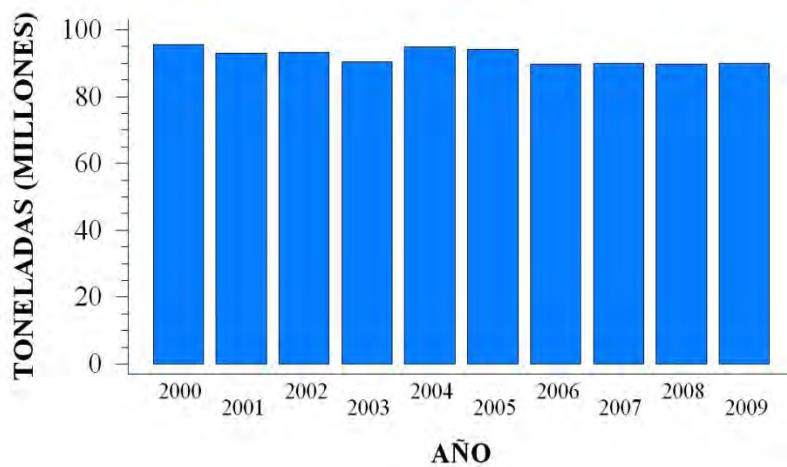


Fig. 2.- Capturas mundiales de peces, moluscos y crustáceos en la última década (FAO, 2010).

El aumento de la disponibilidad de pescado de acuicultura tiene dos fuentes, la primera es el incremento de producción de especies establecidas en acuicultura, y la segunda es la ampliación del cultivo a especies que son nuevas para la acuicultura, con gran potencial de crecimiento. Desde 1980 a 2005, el número de especies de peces con una producción de más de 10.000 toneladas (t) pasó de 28 a 67 (FAO, 2005a).

1.2. DIVERSIFICACIÓN

La acuicultura marina se ha desarrollado concentrando su actividad en unas pocas especies, por lo que se hace necesario desarrollar técnicas que permitan la diversificación, buscando aquellas que reúnan una serie de requisitos tanto económicos como biológicos, entre los que destacan los siguientes: estudios preliminares económicos y de mercado, para la evaluación de los precios (actuales y posible evolución), demanda de la especie y evolución de los mercados.

Estudios de las condiciones biológicas básicas que conciernen el cultivo de la especie: reproducción, crecimiento y adaptación a los sistemas de cultivo existentes. Posteriormente suministro de juveniles y/o reproductores, rapidez de crecimiento, tamaño, fecundidad, viabilidad del cultivo larvario y engorde, eficacia de conversión del alimento, resistencia a enfermedades y estrés, mortalidad, edad de maduración, etc. (Basurco y Abellán, 1999). Desde el punto de vista medioambiental las especies candidatas a ser seleccionadas y con el fin de minimizar los efectos ambientales adversos y de proteger la diversidad biológica acuática, deben ser especies locales, evitando la tentación de introducir especies exóticas (Bartley, 1993,1998).

Basurco y Abellán (1999), señalan que esta primera "selección" normalmente se lleva a cabo por instituciones públicas y se centran en "Estudios experimentales de un stock proveniente del medio natural, adaptación al cautiverio, y definición del ciclo biológico de vida". En cuanto a las empresas privadas, el criterio principal a seguir a la hora de seleccionar una especie marina para el cultivo, se orienta hacia la posibilidad de poder llevar a cabo ensayos pilotos experimentales, teniendo en cuenta el interés económico y comercial del mercado, el grado alcanzado en la tecnología del cultivo de la especie en cuestión y su similitud con otras especies de cultivo.

En los últimos años se han realizado, alrededor del mundo, múltiples estudios para el desarrollo del 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 limón, *Seriola dumerili* (Caruso *et al.*, 2011) y el pez gato asiático, *Pangasius bocourti* (Hung *et al.*, 2002), entre otros.

En el norte de Europa, se han consolidado en los últimos 10 años las producciones de bacalao (*Gadus morhua*), y de halibut (*Hypoglossus hypoglossus*) (Fig.3), con Noruega e Islandia como principales países productores.

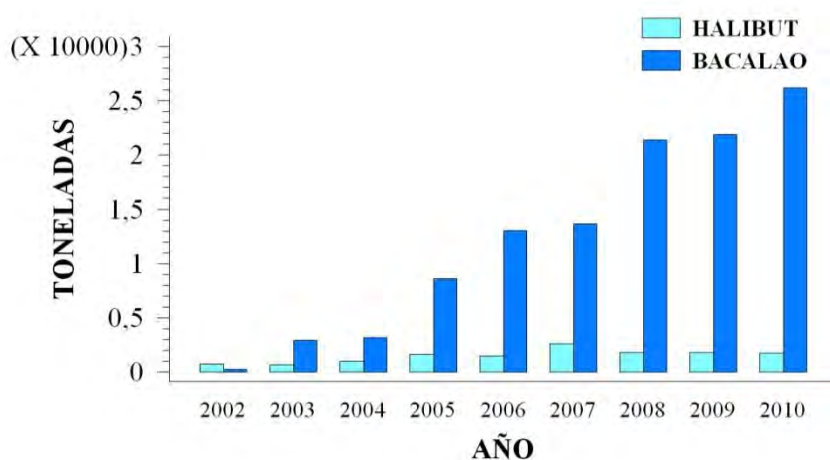


Fig. 3.- Evolución de la producción de halibut y bacalao en el norte de Europa (FEAP, 2011).

En cuanto a la acuicultura marina mediterránea, en la actualidad la producción sigue centrada en la dorada (*Spaurus aurata*) y en la lubina (*Dicentrarchus labrax*), ambas especies representan el 97,87% de dicha producción. También hay que destacar los engordes de atún rojo (*Thunnus thynnus*), que se realizan desde hace unos años en Malta, Croacia, Chipre y España (12.000 t en el año 2010, FEAP, 2011). Una parte importante de la investigación está enfocada hacia la diversificación, tanto en España como en otros países mediterráneos (principalmente Francia, Italia y Grecia), los estudios de nuevas especies susceptibles de ser cultivadas se centran en el lenguado senegalés (*Solea senegalensis*), el medregal limón o negro (*Seriola rivoliana*), el mero moreno (*Epinephelus marginatus*), el dentón (*Dentex dentex*), el sargo picudo (*Puntazzo puntazzo*), el pargo o bocinegro (*Pagrus pagrus*), el besugo (*Pagellus bogaraveo*), el jurel dentón (*Pseudocarax dentex*) y la corvina (*Argyrosomus regius*), con resultados muy variables.

Así, hay especies que se encuentran ya en producción como es el caso del besugo en España (185 t en 2010), del lenguado senegalés y de la corvina en varios Países mediterráneos (408 t y 3897 t, respectivamente, FEAP, 2011), y otras en fase de investigación avanzada como el pargo y el pez limón.

La base del cultivo de cualquier especie es el control de la reproducción, para el desarrollo de la producción industrial. La producción sostenible de una nueva especie para la acuicultura, no es posible sin un buen entendimiento y control de la reproducción, en las condiciones de cautividad. Por ejemplo, la panga (*Pangasius spp*) cultivada en Vietnam no maduraba naturalmente en cautividad, y la industria estaba limitada por la recolección de juveniles salvajes del medio natural. Durante la década de los 90, se desarrolló el control hormonal de la puesta, lo cual resultó en el control de reproducción, necesario para aumentar producción acuícola, y de 1997 a 2005 el volumen de producción en Vietnam aumentó de 40.000 a 376.000 t (Duncan, 2008).

1.3. INDUCCIÓN A LA PUESTA

La acuicultura industrial requiere un alto desarrollo tecnológico, y un amplio conocimiento biológico de las especies que se cultivan, ello exige un adecuado control de los procesos reproductivos de los peces (Zohar y Mylonas, 2001). En los inicios de la década de los 80, Harvey y Hoar (1980), plantearon que una actividad acuícola comercial no se podía sostener con la captura de larvas o juveniles del medio natural. Por ello, una vez controlada la reproducción de una especie acuática en un sistema de cultivo, se pueden producir descendientes que permitirán iniciar nuevos ciclos y mantener una producción. Asociado a ello se podrían aplicar programas de selección de estirpes de mejor crecimiento, e incluso modificar su época de reproducción (Davy y Chouinard, 1980; Billard y Breton, 1985; Bromage, 1995). Aplicar programas de selección genética con el fin de mejorar la supervivencia y la calidad de la carne (Thorgaard, 1995). Reducir los problemas de la maduración sexual, generar poblaciones monosexo y por último producir organismos genéticamente modificados (Donaldson *et al.*, 1996; Donaldson, 1997; Solar, 2002).

En muchas ocasiones, las especies acuícolas en cautividad sufren disfunciones reproductivas importantes. Las hembras inician el desarrollo gonadal de forma natural, pero no alcanzan la maduración final del oocito (FOM), la ovulación y/o la puesta (Zohar, 1988; Peter *et al.*, 1993). Por otra parte los machos, aunque más resistentes que las hembras al estrés ocasionado por las condiciones de cultivo, también sufren disfunciones reproductivas, produciendo menor volumen de semen, o bien este es de baja calidad (Billard, 1986, 1989).

Las alteraciones en el proceso reproductivo de los peces en cautividad, pueden deberse a diferentes factores tales como: condiciones ambientales inadecuadas, manejo impropio, alimentación incorrecta o estrés producido por las condiciones de cultivo. Todos estos factores pueden ocasionar alteraciones en el proceso normal de reproducción (Zohar y Mylonas, 2001). Así la anguila europea (*Anguilla anguilla*), en condiciones de cultivo, no alcanza la vitelogénesis-espermatogénesis (Fontaine, 1975; Zohar y Mylonas, 2001). De la misma manera reproductores capturados de la naturaleza del pez limón parecen iniciar el proceso de vitelogénesis, pero sólo un pequeño porcentaje de hembras desarrolla oocitos que sobrepasen los 200 – 300 μ de diámetro, los cuales inician un proceso de atresia y son absorbidos al final de la época de puesta (Zohar y Mylonas, 2001).

Los mencionados factores también pueden causar la falta de maduración final de los oocitos, que es uno de los problemas más frecuentemente observados en las especies en cautiverio. Las hembras parecen iniciar normalmente el proceso de vitelogénesis, pero al comienzo de la estación de puesta los oocitos postvitelogénicos detienen su maduración final y se transforman en atrésicos. Este tipo de alteración se ha observado en algunas especies de Serránidos (Tucker, 1994), en el lenguado de Canada, *Paralichthys dentatus* (Berlinsky *et al.*, 1997), y en la limanda, *Pleuronectes ferrugineus* (Larsson *et al.*, 1997).

También, la cautividad puede provocar en algunos casos la ausencia del desove. Así, las especies que presentan este problema pueden desarrollar normalmente la vitelogénesis, la maduración final de los oocitos y la ovulación, pero no son capaces de realizar la puesta (Gordon *et al.*, 1987; Mylonas y Zohar, 2001a,b), y los oocitos maduros deben ser extraídos manualmente desde la cavidad abdominal de la hembra (Edwards, 1978; Gordon *et al.*, 1987; Estay *et al.*, 1994, 1995a,b). Esto ha sido observado, por ejemplo, en el rodaballo *Scophthalmus maximus* (Kjorsvik *et al.*, 1990).

La viabilidad de los oocitos, mientras se encuentran en la cavidad abdominal, depende fundamentalmente de la temperatura.

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 (Foo y Lam, 1993; Campbell *et al.*, 1992; Pankhurst y Van der Kraak, 1997; Schreck *et al.*, 2001; Wagner *et al.*, 2002). Según Schreck *et al.* (2001), en la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) 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.

En la mayoría de especies piscícolas, los machos se adaptan mejor que las hembras a las condiciones de cultivo, y son capaces de madurar y producir gametos viables con mayor facilidad. Con la excepción de la anguila europea, las alteraciones reproductivas de los machos se centran en una reducción de la cantidad y calidad de los gametos producidos (Mylonas y Zohar, 2001 a,b).

En cautiverio los machos de lubina estriada (*Morone saxatilis*) exhiben una reducción significativa en la cantidad de semen producido (Mylonas *et al.*, 1998a,b). También, ejemplares de salmón Atlántico (*Salmo salar*), seleccionados genéticamente por su rápido crecimiento, producen muy poca cantidad de semen (Zohar, 1996). Reproductores de peces planos, capturados en la naturaleza y mantenidos en cautividad, producen un semen de alta viscosidad que es difícil de mezclar en el medio acuoso en el que se realiza la fertilización artificial (Vermeirssen *et al.*, 1998, 2000).

Como hemos visto anteriormente, muchas especies de peces exhiben disfunciones reproductoras cuando son estabuladas en cautividad por ello los tratamientos hormonales son 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; Mylonas y Zohar, 2001a,b). Estos métodos comenzaron a ser usados en 1930, utilizando inyecciones de extracto crudo de hipófisis de peces maduros (Zohar y Mylonas, 2001).

Actualmente, son utilizados varios compuestos sintéticos de alta potencia de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRHa), que aplicados desde simples inyecciones en suero fisiológico, hasta en microesferas han solucionado numerosos problemas reproductivos en numerosas especies (Zohar, 1988; Van Winkoop *et al.*, 1994; Donaldson *et al.*, 1996; Montero y Dufour, 1996; Estay *et al.*, 1996; Donaldson, 1997; Kitahashi *et al.*, 1998; Yambe *et al.*, 1999; Forniés *et al.*, 2001; Solar, 2002; Mata *et al.*, 2004; Garzón *et al.*, 2008).

1.3.1. Técnicas hormonales utilizadas en el control de la reproducción.

Hipófisis

El uso de extractos de hipófisis, para la inducción a la puesta en peces, comenzó a finales de la década de los 1930 en Brasil (Zohar y Mylonas, 2001). Actualmente este método es utilizado masivamente en la producción de carpas en los países asiáticos.

Los primeros estudios sobre la utilización de hormonas exógenas, para inducir la maduración final del oocito y la ovulación en peces, fueron realizados por B. Houssay (Harvey y Hoar, 1980; Zohar y Mylonas, 2001). El método consistía en inyectar hembras con hipófisis de otras especies.

Gonadotropinas exógenas

Las preparaciones purificadas de gonadotropinas de salmón real (*Salmo tshawytscha*) y de carpa común (*Cyprinus carpio*), fueron utilizadas hace algún tiempo. Sin embargo, debido a la alta especificidad de las gonadotropinas, se han obtenido escasos resultados con gonadotropinas heterólogas, aun en peces filogenéticamente cercanos (Zohar 1988; Estay *et al.*, 1996; Peter y Yu, 1997; Patiño, 1997; Mylonas y Zohar, 2001b).

Las Gonadotropinas purificadas

La gonadotropina parcialmente purificada de salmón (SG-G100), fue muy usada pero las altas dosis requeridas (aprox. 10 mg/kg de pez), incrementaban los costes; además de provocar el desarrollo de la respuesta inmune en el pez receptor. Su sensibilidad térmica y el bajo efecto del producto redujeron sus aplicaciones productivas.

La Gonadotropina Coriónica Humana (hCG)

La hCG ha sido utilizada en la inducción al desove de algunas especies cultivadas hoy en día, y su éxito es debido a similitud con la Hormona Luteinizante (LH) (Hoar, 1969; Harvey y Hoar, 1980). La ventaja de esta hormona es que actúa directamente sobre la gónada y no requiere la activación de la glándula hipofisaria, actuando así mucho más rápido, induciendo la maduración final del oocito, la espermiación y la puesta. Sin embargo, la hCG puede causar inmunorreacciones en el pez receptor, reduciendo o eliminando el efecto de la hormona en inyecciones posteriores (Patiño, 1997).

Las hormonas liberadoras de gonadotropinas

Las hormonas liberadoras de gonadotropinas (GnRH y LH-RH), y sus análogos (GnRHa y LH-RHa); son unos de los métodos más modernos de inducción a la ovulación. Las gonadotropinas son moléculas pequeñas (decapéptidos), que realizan el control de la glándula hipófisis en su producción de gonadotropinas (LH y FSH o GtH-1 y GtH-II) (Montero y Dufour, 1996; Patiño, 1997). Con la creación de análogos sintéticos (LH-RHa y GnRHa), que resultaron más potentes y de mayor duración que los nativos, se generó su masificación (Zohar, 1988; Peter y Yu, 1997; Patiño, 1997). Los preparados sintéticos o análogos son nonapéptidos (Estay *et al.*, 1996; Donaldson, 1997), en la mayoría se sustituyen los aminoácidos de las posiciones 6,7 u 8 en relación a la molécula de GnRH de mamíferos, y carecen de glicina en la posición 10; son utilizados en numerosas especies (Billard *et al.*, 1983; Carrillo *et al.*, 1995). Zohar y Mylonas (2001) resumen las ventajas de la aplicación de hormonas liberadoras (GnRH) en la inducción a la puesta en peces:

- Las GnRH son pequeñas moléculas que no generan respuestas inmunes en el receptor, por ello pueden utilizarse repetidamente.
- Las GnRH reparan las alteraciones endocrinas producidas por el cautiverio, y llevan al pez a su maduración sexual plena.
- Las GnRH se producen a nivel del hipotálamo, que controla la secreción de otras hormonas importantes en la homeostasis del pez, como son la prolactina, somatotropina y tirotropina.
- El poder sintetizarlas y obtenerlas en forma pura evita el riesgo de transmitir enfermedades a los peces receptores.
- La estructura molecular de estas hormonas es muy similar en muchos peces, lo que permite su uso en un gran número de especies con gran efectividad.

Una inyección de GnRH induce un incremento inmediato en los niveles plasmáticos de GtH en peces, pero durante un periodo corto de tiempo, durante el cual se debe activar la maduración final de los oocitos, la espermiación o la puesta. La corta vida de las GnRH es producto de la acción de las endopeptidasas, ubicadas en la hipófisis, hígado y riñón (Peter y Yu, 1997), que actúa en los enlaces peptídicos en posición 5-6 y 9-10, transformándola en pequeños fragmentos inactivos. En los análogos sintéticos, se han sustituido en esas posiciones con aminoácidos D y con etilamina, respectivamente, que los hace más resistentes a la acción enzimática, y poseen una vida media mucho mayor que las hormonas nativas (aprox. 23 y 5 min, respectivamente), y la calidad de las puestas no difiere de la obtenida en los peces controles (Carrillo *et al.*, 1995; Peter y Yu, 1997; Zohar y Mylonas, 2001; Mylonas y Zohar, 2001b).

De esta manera, la GnRHa permanece en circulación mucho más tiempo, y puede inducir una mayor producción de GtH durante más tiempo, además de presentar mayor afinidad por los receptores de la hipófisis (Zohar y Mylonas, 2001; Mylonas y Zohar, 2001b). Estos factores dan como resultado una acción de 30 a 100 veces más potente en los análogos, lo que hace que estas hormonas sustituyan a prácticamente todas las otras sustancias utilizadas en las terapias hormonales aplicadas en peces.

Por otro lado, hay que considerar que los análogos requieren dosis mucho más bajas que las hormonas nativas, como 1 a 15 mg de GtH/kg de pez frente a 1 a 100 µg de GnRHa/ kg de pez.

1.3.2. Métodos de aplicación hormonal

Los métodos de aplicación de estos productos ha 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.*, 1988 a, b; Yu y Shen, 1989; Swanson, 1991; Lin *et al.*, 1992; Koide *et al.*, 1993; Copeland y Thomas, 1993; Okada *et al.*, 1994; García-Hernández *et al.*, 1997; Elizur *et al.*, 1996; Kajimura *et al.*, 2001; Mateos *et al.*, 2003; Han *et al.*,

2003; Weltzien *et al.*, 2003; Hellqvist *et al.*, 2004). El medio líquido ha sido aplicado a partir del uso de la hipofisación, su mayor desventaja es que toda la hormona se incorpora directamente al torrente sanguíneo del pez, por lo que su entrega es durante un breve periodo de tiempo, por lo que es necesaria más de una inyección para inducir a la ovulación en la mayoría de especies.

En cuanto a los medios sólidos o sistemas de liberación lenta, los primeros sistemas en aparecer fueron los implantes preparados a base de colesterol (Weil y Crim, 1983; Crim *et al.*, 1988; Sherwood *et al.*, 1986; García, 1989, 1993). Actualmente se preparan mezclados con celulosa y sus proporciones determinan que sean implantes de liberación lenta (durante ocho semanas) o rápida (durante ocho días). Generalmente cada pellet, contiene entre 25 y 250 μg de hormona, se aplican tanto intramuscularmente como intraperitonealmente (Crim *et al.*, 1988; Sherwood *et al.*, 1988; Mylonas y Zohar, 2001b). En la actualidad, otro de los métodos de aplicación hormonal más utilizada, son las microesferas, estas poseen alta rigidez, baja degradabilidad y acelerada entrega de la hormona. Están realizadas de polímeros biodegradables, de pequeño tamaño y gran flexibilidad. Sus mayores ventajas son el prolongado tiempo de liberación de la hormona, su biodegradabilidad, y su facilidad de fabricación y aplicación (Barbaro *et al.*, 2002; Breton *et al.*, 1991; Mylonas y Zohar, 2001a).

1.4. CALIDAD DE PUESTA

Las poblaciones de peces, tanto naturales como cultivadas, dependen de la producción de huevos de buena calidad. Las puestas de baja calidad constituyen uno de los mayores impedimentos para la expansión de la acuicultura, tanto marina como de agua dulce. En la industria de la acuicultura los huevos de buena calidad han sido definidos como aquellos que tienen baja mortalidad en la fecundación, formación del embrión, eclosión, y antes de la primera alimentación exógena, cuando la larva ha reabsorbido el saco vitelino (Bromage *et al.*, 1992). La morfología de las larvas se ha usado como indicador de la calidad del gameto en algunas especies de peces (Kjørsvik, 1994). Otros autores sugieren que la apariencia de la zona pelúcida, la esfericidad del huevo, su transparencia, y el número y distribución de las gotas de grasa, pueden relacionarse con la calidad del huevo (Kjørsvik *et al.*, 1990; Bromage *et al.*, 1994).

En los criaderos de especies marinas a menudo se distingue entre huevos de buena calidad y huevos de mala calidad en función, respectivamente, de si flotan o no en la superficie del agua (McEvoy, 1984; Carrillo *et al.*, 1989; Kjørsvik *et al.*, 1990). Sin embargo, la correlación positiva entre la flotación y buena calidad de los huevos no es cierta para varias especies marinas, por ejemplo para el halibut. En esta especie el único indicador de la calidad del huevo establecido hasta ahora, está basado en la valoración de la simetría celular en las fases tempranas del desarrollo embrionario (Bromage *et al.*, 1994; Shields *et al.*, 1997). Otros indicadores de la calidad de la puesta que se han utilizado son el tamaño y la composición bioquímica del huevo. Aunque es conocido que huevos grandes producen también larvas más grandes, no existen evidencias de que el diámetro del huevo sea un aspecto determinante de su calidad (Kjørsvik *et al.*, 1990). En trucha arco iris el tamaño de los huevos no aparece como un importante indicador de la calidad de la puesta (Springate y Bromage, 1984; Bromage *et al.*, 1992). En cuanto a la composición bioquímica del huevo, en principio podría esperarse que ese fuera el componente más determinante de la calidad de este.

Sin embargo, los resultados obtenidos en varias especies tanto marinas como dulce acuícolas, no han mostrado una clara relación entre la composición bioquímica del huevo y la posterior supervivencia de huevos y larvas (Craik y Harvey, 1984; Kjørsvik *et al.*, 1990).

En la mayoría de los trabajos de investigación sobre la calidad de la puesta, las tasas de fecundación y de eclosión han sido utilizadas como criterios importantes (Kjørsvik *et al.*, 2003). La supervivencia hasta un determinado estadio de desarrollo y la producción final de larvas, también se han utilizado como medida de la calidad (Fernández-Palacios *et al.*, 2005).

En los últimos años, se ha propuesto la utilización de nuevos indicadores de la calidad de la puesta: 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).

Puesto que entre los diversos parámetros y características de los huevos que han sido propuestos como indicadores de la calidad de la puesta en peces, ninguno de ellos por si mismo parece capaz de definir completamente la calidad de la puesta, una combinación de ellos proporcionaría mejores resultados.

A continuación se enumeran los comúnmente utilizados en los trabajos de investigación referentes a la calidad de la puesta:

- Medidas de huevos y larvas
- Esfericidad y transparencia del huevo
- Flotabilidad del huevo
- Número y distribución de las gotas lipídicas
- Composición bioquímica de los huevos
- Tasa de fecundación
- Apariencia del corion
- Simetría de los blastómeros
- Fecundidad
- Tasa de eclosión
- Tasa de supervivencia
- Morfología

Tabla I. Indicadores de la calidad de la puesta

INDICADORES CALIDAD PUESTA	AUTORES
Medidas de huevos y larvas	Kjorsvik <i>et al.</i> (1990)
Esfericidad y transparencia del huevo	Kjorsvik <i>et al.</i> (1990); Bromage <i>et al.</i> (1994)
Flotabilidad del huevo	McEvoy (1984); Carrillo <i>et al.</i> (1989); Kjorsvik <i>et al.</i> (1990).
Número y distribución de las gotas lipídicas	Kjorsvik <i>et al.</i> (1990); Bromage <i>et al.</i> (1994)
Composición bioquímica de los huevos	Kjorsvik (1990)
Tasa de fecundación	Kjorsvik <i>et al.</i> (2003)
Apariencia del corion	Kjorsvik <i>et al.</i> (1990); Bromage <i>et al.</i> (1994)
Simetría de los blastómeros	Bromage <i>et al.</i> (1994); Shields <i>et al.</i> (1997)
Fecundidad	Fernández- Palacios <i>et al.</i> (2005)
Tasa de eclosión	Fernández- Palacios <i>et al.</i> (2005)
Tasa de supervivencia	Fernández- Palacios <i>et al.</i> (2005)
Morfología	Kjorsvik (1994)
Marcadores genéticos	Ketesmont <i>et al.</i> (1999); Carnevali <i>et al.</i> (2000, 2001)
Peso de cenizas del huevo	Trippel <i>et al.</i> (2000)
PH del fluido ovárico	Lahnsteiner <i>et al.</i> (2000); Denson <i>et al.</i> (2001)

1.5. INDUCCIÓN HORMONAL Y CALIDAD DE PUESTA

Los métodos más modernos de inducción a la puesta se han centrado en la aplicación de hormonas liberadoras de gonadotrofinas. Sin embargo, hay diferencias en la respuesta de las diferentes especies a la inducción hormonal. En el caso de del lenguado de Florida (*Paralichthys lethostigma*), las puestas naturales producen más huevos por hembra y mayor porcentaje de fecundación y de eclosión, que puestas obtenidas mediante inducción hormonal (Watanabe y Carrol, 2001). En el lenguado de Canadá, encuentran una menor calidad de los huevos en puestas inducidas que en puestas naturales (Watanabe y Carrol, 2001). En el medaka (*Oryzias latipes*) las puestas inducidas originan un menor número de huevos y tasas de eclosión más bajas que las naturales (Shioda y Wakabayashi, 2000). En lubina, indicadores de la calidad de puesta tales como las tasas de flotabilidad y de eclosión, aparecen más bajas en peces tratados que en puestas naturales (Fornies *et al.*, 2001). En salmón Atlántico, tanto la supervivencia como el porcentaje de fecundación fueron más altos en los peces no inducidos (Crim y Glebe, 1984). En perca canadiense (*Perca flavescens*) se señalan mayores supervivencias larvarias en los peces no manipulados hormonalmente (Dabrowski *et al.*, 1994).

En el mero lutria (*Epinephelus tauvina*), los huevos obtenidos mediante inducción hormonal fueron de muy baja calidad en cuanto a fecundación y flotabilidad en comparación con las puestas naturales (Lim, 1991). En la limanda, puestas inducidas y no inducidas presentan los mismos parámetros de calidad (Lush y Crim, 2000).

Similares resultados se reportan para el cherne americano, *Morone chrysops* (Mylonas *et al.*, 1997) y la lubina estriada, (Hodson y Sullivan, 1993; Woods y Sullivan, 1993).

La inducción a la ovulación y puesta, en dorada produce huevos de baja calidad (Zohar y Gordin 1979; Ortega *et al.*, 1983; Devauchelle, 1983), sin embargo Francescon *et al.* (1987), encuentran para la misma especie, mejores rendimientos en cuanto a la fecundidad relativa, tasa de viabilidad y tamaño de huevo y gota de grasa, en puestas inducidas que en normales. Barbaro *et al.* (1997) señalan, en dorada, que no hay diferencia en la supervivencia larvaria entre puestas de reproductores inducidos y los controles sin inducir, pero si un mayor número de huevos puestos por los inducidos

hormonalmente. En la gran boga (*Chondrostoma nasus*), señalan una buena calidad de las puestas obtenidas mediante inducción hormonal, mientras que los controles no llegaron a ovular (Szabo *et al.*, 2001).

En el pez gato africano (*Clarias batrachus*), tampoco los controles ovularon y las puestas inducidas mostraron una buena calidad, en cuanto a porcentajes de fecundación y de supervivencia larvaria (Manickam y Joy, 1989). Igual sucede con la lucioperca (*Sander lucioperca*), en la que los reproductores no inyectados no ovularon, obteniéndose una buena supervivencia larvaria en las puestas inducidas (Zakes y Szczepkowski, 2004).

Otros estudios realizados por Policar *et al.* (2008), sobre la inducción mediante tratamientos hormonales con análogos de GnRHa, en la perca de río (*Perca fluviatilis*), mostraron que la administración de altas dosis de GnRHa eran necesarias para provocar la ovulación, y que estas altas dosis de hormonas estaba relacionadas con periodos de latencia (tiempo transcurrido entre la inyección y el momento de la puesta) cortos. Resultados similares fueron observados por Kouril *et al.* (1997).

1.6. ACUICULTURA DE ESCIÉNIDOS

Dentro de la Familia Sciaenidae se cultivan a nivel comercial y/o experimental, en varios países las siguientes 8 especies: verrugato del Sur (*Argyrosomus japonicus*) en Australia (Silberschneider y Gray, 2008), Sudafrica (Bernatzeder y Britz, 2007; Musson, 2010) y Taiwan (Ueng *et al.*, 2007), la corvina (*Argyrosomus regius*) en España (Mateos, 2007), Egipto, Francia, Italia, Marruecos y Turquía (Jimenez *et al.*, 2005), la corvinilla (*Cilus gilberti*) en Chile (Aburto, 2005), el corvinón rayado (*Micropogonias furnieri*) en Uruguay (García-Alonso y Vizziano, 2004), la corvina japonesa (*Larimichthys crocea*) en China (Chen *et al.*, 2003).

El corvallo (*Sciaena umbra*) en Grecia (Chatzifotis *et al.*, 2006) y Turquía (Claki *et al.*, 2006), el corvinón ocelado (*Sciaenops ocellatus*) en China (Xu *et al.*, 2007), EE.UU. (Henderson-Arzapalo, 1995), Ecuador (Rajoy, 2003), Francia (Dao, 2003; Gardes *et al.*, 2000; Soletchnik *et al.*, 1989), México (García-Ortega y Lazo, 2004; Goffings, 2010) y Taiwan (Liao *et al.*, 2001), el verrugato

(*Umbria cirrosa*) en Chipre (Mylonas *et al.*, 2000), España (Arizcun *et al.*, 2009), Grecia (Mylonas *et al.*, 2004b), Italia (Barbaro *et al.*, 2002) y Turquía (Basaran *et al.*, 2009).

De todas ellas, el corvinón ocelado y la corvina japonesa son las especies con mayor producción, que alcanzó en el año 2009: 51.476 y 66.021 t, respectivamente (FAO 2011).

1.7. EL CULTIVO DE LA CORVINA

En la acuicultura mediterránea se ha optado por el desarrollo del cultivo de la corvina por las siguientes razones (Mateos, 2007):

1.- Buscar una nueva especie que pudiera contribuir a diversificar los cultivos existentes en el área Mediterránea, dorada y lubina, ya que por un gran aumento de la producción de estas especies, el mercado se encontraba en una situación de precios bajos y de no incremento de consumo. Desde muchos foros distintos se apostaba por la diversificación de cultivo como un remedio a la crisis existente.

2.- Buscar una especie que tuviera un mejor comportamiento que las ya cultivadas, mayor crecimiento en menor tiempo y mejores índices de conversión que ayudaran a disminuir los costes de producción.

3.- Buscar una especie similar al salmón, que al tener mejor crecimiento hiciera viable obtener animales de una talla grande para un procesado con bajas pérdidas, cosa que no era posible con la dorada y la lubina. De esta forma se podría ofrecer al consumidor nuevos productos (eviscerados, filetes, precocinados, etc).

4.- Esta nueva especie debería ser conocida y apreciada por el consumidor para que la campaña de introducción fuera más sencilla y menos costosa.

5.- Por último y lo más importante, que fuera una especie apta para realizar su cría integral, desde el huevo a la talla comercial adaptándose a los sistemas de cultivo existentes.

La historia de la acuicultura de la corvina es bastante reciente, la corvina es cultivada en Europa desde finales de los 90. Esta actividad comenzó simultáneamente en Francia e Italia, obteniéndose

las primeras producciones comerciales (30 t; FAO, 2002) en el sur de Francia en 1977, donde se logró por primera vez su reproducción en cautividad (Quémener, 2002), la producción se expandió lentamente a las regiones cercanas, especialmente en el lado Tirreno de la costa italiana y en Córcega. La producción española comenzó en el 2003, seguida por la de Portugal en 2005, empezando posteriormente las de Grecia, Turquía, Malta y Egipto, y muy recientemente se incorporaron Croacia y Chipre (Tabla I).

Tabla II. Histórico de la producción mundial de la corvina en acuicultura (FEAP, 2011)

	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
FRANCIA	30 ¹	30 ¹	30 ¹	33	35	165	100	147	267	282	235	206	121	258
ITALIA						231	0	696	320	280	335	300	320	350
ESPAÑA						3	16	347	489	251	1300	1660	3180	
PORTUGAL								47	23	27	15	20	20	
MALTA												12	47	47
EGIPTO												2031 ¹	2200 ¹	#
TURQUIA												512 ²	#	#
GRECIA												240 ²	#	#
CHIPRE														12
CROACIA														20

*Las cifras de producción son en toneladas

¹FAO (2011); ²Monfort (2010); # Sin datos.

La producción española de corvina, en el año 2010, representó el 98,52% de la producción de la UE. En la Fig. 4, se observa la evolución de la producción española por Comunidades Autónomas.

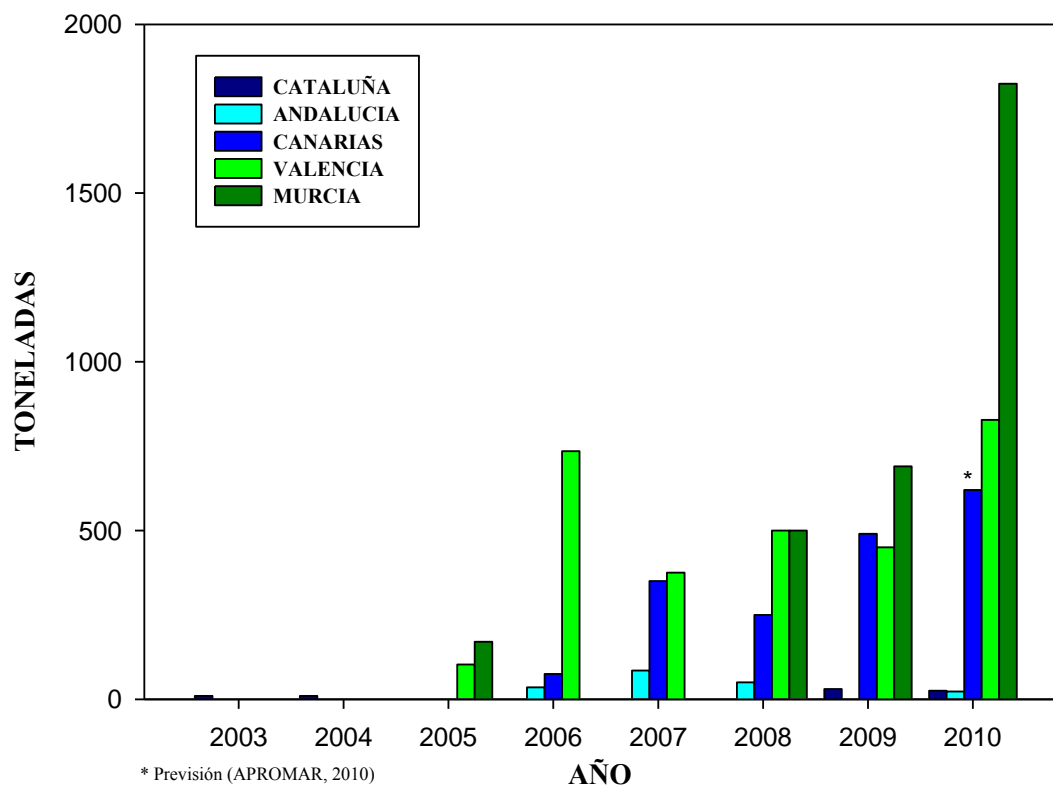


Fig.4.- Evolución, por Comunidades Autónomas, de la producción de acuicultura de corvina en España (APROMAR, 2004, 2009, 2010, 2011).

Originalmente toda la producción de juveniles de corvina provenía de un criadero en Francia (Le poisson du soleil), y la mayoría de la industria acuícola y los centros de investigación desconocían la biología reproductiva de la corvina, y consecuentemente los protocolos para la obtención de puestas en condiciones de cautividad. El presente trabajo se enmarca dentro del proyecto RTA 2008-00107-00-00 “Investigación del control de la reproducción de la corvina (*Argyrosomus regius*) mantenida en cautividad”, financiado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), y cuyo objetivo principal es describir el protocolo, condiciones ambientales y tratamiento hormonal, para la obtención de puestas de huevos de buena calidad de la corvina mantenida en cautividad. Entre sus objetivos parciales figura “Identificar un protocolo, tamaño mínimo de oocito y dosis para la inducción hormonal (GnRHa) de la puesta de la corvina”.

2. OBJETIVOS

La corvina, es una de las especies que está contribuyendo a la diversificación de la acuicultura Mediterránea, es una especie de gran interés debido a su rápido crecimiento y a la buena calidad de su filete. Al igual que cualquier otra especie, el éxito de su producción depende de la obtención de semillas de buena calidad, y en número suficiente. Desafortunadamente, la corvina no pone en cautividad de forma espontánea, por ello el tratamiento hormonal es el único medio de asegurar la puesta. En la actualidad, una de las técnicas más utilizadas para la inducción de la puesta, es el uso de análogos de hormonas liberadoras de gonadotropina, y han sido utilizadas en corvina tanto por medio de inyección como de implantes.

El objetivo principal del presente estudio fue determinar la eficacia y el efecto sobre la puesta, de diferentes dosis de GnRHa, en la inducción de reproductores de corvina nacidos en cautividad. Para ello se establecieron como objetivos secundarios:

- Determinar la eficacia de la inducción hormonal en la obtención de las puestas.
- Determinar el efecto de las distintas dosis ensayadas sobre la calidad de la puesta.
- Determinar el efecto de las distintas dosis sobre la producción de los reproductores.

MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. ESPECIE OBJETO DE ESTUDIO

Phyllum: *Chordata*

Superclase: *Gnathostomata*

Clase: *Actinopterygii*

Orden: *Perciformes*

Suborden: *Percoidei*

Familia: *Scianidae*

Género: *Argyrosomus*

Especie: *Argyrosomus regius* (Fig.5).

El género *Argyrosomus* (De La Pylaie, 1835) que viene del griego argyros: plateado y soma: cuerpo; está formado por 9 especies: *A. regius* (Asso, 1801), *A. japonicus* (Temminck y Schlegel, 1843), *A. amoyensis* (Blecker, 1863), *A. hololepidotus* (Lacepède, 1801), *A. coronus* (Griffiths y Heemstra, 1995), *A. heinii* (Steindachner, 1902), *A. thorpei* (Smith, 1977), *A. inodorus* (Griffiths y Heemstra, 1995) y *A. beccus* (Sasaki, 1994).

La familia Sciaenidae incluye 70 géneros y 270 especies (Nelson, 1994), que se distribuyen en regiones templadas y tropicales del mundo (Fig.6). Se les conoce con el nombre de tambores o roncadores, nombre que proviene de los sonidos que estos peces producen al usar su desarrollada vejiga natatoria como cámara de resonancia, y a las vibraciones de unos músculos especiales insertados en sus paredes, lo que permite localizar los bancos de corvina a grandes distancias (Lagardère y Mariani, 2006; Prista *et al.*, 2007). Ueng *et al.* (2007) han señalado que los sonidos emitidos por los machos y las hembras del verrugato del sur, durante la época reproductiva, difieren en el número de pulsos y porcentaje de ronquidos, así mientras los machos emiten un 84% de los ronquidos, las hembras solo emiten el 16%. Los Esciénidos son especies euritermas y eurihalinas que resisten cambios bruscos de temperatura desde 2 a 38 °C, y de salinidad desde 5 a 39 ‰, esta facultad les permite penetrar en la desembocadura de ríos y estuarios, donde realizan la puesta.



Fig.5.- Corvina, (pescasubdelmediterraneo, 2012).

3.1.1. Descripción

La corvina presenta un cuerpo alargado, casi fusiforme y ligeramente comprimido, cabeza grande con hocico alargado y boca grande en posición terminal, provista de dientes pequeños y puntiagudos; ojos pequeños y línea lateral claramente visible. El dorso de color gris verdoso o azulado y el vientre blanquecino. Es una especie corpulenta y ágil (Piccolo *et al.*, 2008; Poli *et al.*, 2001). Posee por todo el cuerpo iriscencias y brillos dorados y plateados. La talla máxima registrada, ha sido de 203 cm y 103 kg (Froese y Pauly, 2012), pero lo más habitual es capturar individuos de entre 0,5 y 1 m de longitud.

Esta especie presenta un otolito de gran tamaño, que se utiliza como amuleto por los pescadores del sur de la Península Ibérica. Las escamas son grandes y cicloideas, y su línea lateral es curva, con aproximadamente 50 escamas ctenoideas que destacan por su brillo intenso. Las aletas son de color pardo-rojizo, y tienen una mancha oscura poco diferenciada sobre el opérculo. Presenta dos aletas dorsales, la primera se inserta sobre la vertical que pasa por la base de las aletas pectorales, con forma aproximadamente triangular y consta de 9 a 10 radios duros; la segunda aleta dorsal es mucho más larga, consta de un radio duro y 26 radios blandos. La aleta anal es corta y está formada por 2 radios duros, y entre 7 u 8 radios blandos. Las aletas pelvianas están situadas en posición torácica, y tienen un tamaño similar al de las pectorales. La aleta caudal tiene el perfil distal más o menos recto.

Presenta una boca terminal, grande con dientes pequeños dispuestos en varias series, con el maxilar ensanchado en su zona posterior y premaxilar prolongado. La mandíbula contiene dientes en serie de diferente tamaño, los más grandes y fuertes situados en la zona externa, y en la zona central (parte superior) e interna (parte inferior). No posee dientes en el paladar. El interior de la boca es de color amarillo dorado, por ello en Italia se le llama *boccardo*.

La evolución de la organogénesis del sistema digestivo de la corvina, ha sido descrito durante los 30 primeros días de vida por Cruz *et al.* (2007), y hasta los 60 días de vida por Abreu *et al.* (2009). Estos autores señalan que la corvina es una especie de rápido desarrollo larvario, y muy susceptible a los parámetros de cultivo, durante la fase larvaria, condicionando estos su crecimiento.

En edad adulta presenta un tracto digestivo corto (típico de peces carnívoros), un esófago corto y amplio con paredes musculosas; a continuación se observa el estómago en forma de pequeño saco, en cuya porción anterior se insertan tanto la porción esofágica como la intestinal, originándose un saco ciego o estómago posterior.

El intestino es corto y el grosor de sus paredes varía, siendo más fina en la zona intermedia que en la zona anterior y en la anal. En la porción anterior del intestino, cercanas a la zona pilórica del estómago hay 9 prolongaciones ciegas o ciegos pilóricos, que tienen junto con el intestino una función secretora-absortiva (Oliva *et al.*, 2005; Gil *et al.*, 2009).

3.1.2. Distribución y Hábitat

La corvina se distribuye por todo el mar Mediterráneo, aunque de forma escasa (Chao, 1986). Los peces más grandes se encuentran a lo largo de la costa de África del Oeste. En Senegal, en la bahía de Dakar parece estar el límite sur de la especie; grandes cardúmenes de corvina se encuentran alrededor de buques desechados que fueron hundidos para crear hábitat para varias especies comerciales. *A. regius* se distribuye, desde el sur de Suecia y Noruega hasta la desembocadura del Congo (Poli *et al.*, 2003). La corvina también está presente en las islas Canarias (Dooley *et al.*, 1985; Lloris *et al.*, 1991; Floeter *et al.*, 2008).

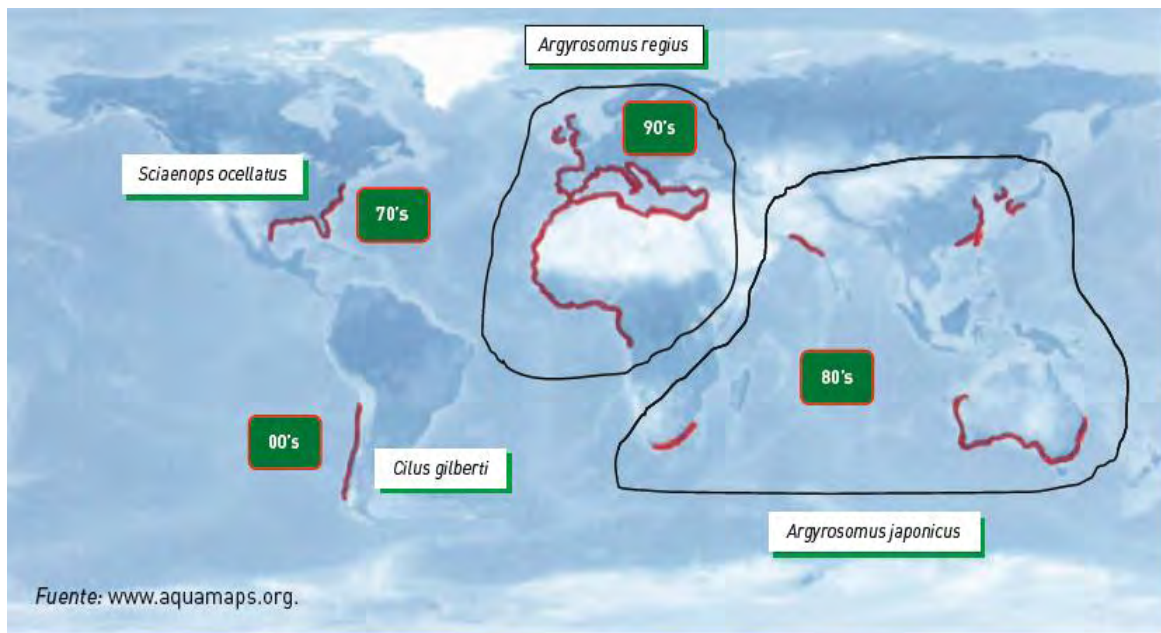


Fig.6.- Mapa de distribución de algunos de los Esciénidos criados en el mundo. Los números indican la década de crianza de cada especie (Cárdenas, 2010).

Es una especie litoral demersal (nectobentónica), que habita en fondos rocosos o campos de *Posidonia*. Se encuentra a profundidades de 15 a 200 m. Es una especie gregaria, que se desplaza en pequeños grupos, y suelen localizarse en la desembocadura de ríos y estuarios. (Pasquaud, 2006; Prista *et al.*, 2007; Catalán *et al.*, 2006). Las lagunas estuáricas sirven como zonas de desarrollo de los individuos más jóvenes (Catalán *et al.*, 2006; Fernández- Delgado *et al.*, 2000; Sobrino *et al.*, 2005).

El crecimiento tiene lugar principalmente durante el verano; la actividad de alimentación se reduce substancialmente cuando las temperaturas del mar caen bajo 13-15 °C. Es una especie muy voraz, que se alimenta de poliquetos, crustáceos, equinodermos y moluscos, además de otras especies de peces más pequeños (clupeidos y mugílidos) (Jiménez *et al.*, 2005). Los juveniles de esta especie poseen baja diversidad de presas, alimentándose esencialmente de misidáceos y quisquillas.

3.1.3. Reproducción Natural

Los Sciénidos son gonocóricos, con sexos separados. El periodo de diferenciación sexual fue descrito en corvina, a la edad de 10-12 meses, los machos alcanzan la pubertad a los 2 años ($26,8 \pm 07$ cm, 920 ± 75 g), mientras que las hembras lo hacen a los 3 años de edad ($35,8 \pm 0,8$ cm, 1610 ± 89 g) (Schiavone *et al.*, 2012).

En primavera coincidiendo con los periodos de descarga de agua dulce (Hall, 1984), la corvina entra en los estuarios en grupos para desovar.

En Europa las áreas más importantes para el desove son, el estuario de la Gironda y el golfo de Vizcaya, en Francia (Quéméner *et al.*, 2002), y las desembocaduras del rio Tajo en Portugal, y del rio Guadiana en el Sur de la península Ibérica (Gonzalez-Quiros *et al.*, 2011). Durante el invierno la corvina adulta, vuelve a mar abierto, a la costa Africana para alimentarse (Quéméner *et al.*, 2002). Los juveniles viven en los estuarios hasta que finaliza el verano, y se mantienen 2 o 3 años en aguas costeras hasta que finalmente migran a áreas en mar abierto. La temperatura es uno de los factores determinantes en la migración y reproducción de la corvina (FAO, 2005b).

3.2. *CONDICIONES DE CULTIVO*

3.2.1. Tanques Experimentales

Los tanques donde se llevo a cabo la experiencia, estaban fabricados en poliéster reforzado con fibra de vidrio, y eran de sección cuadrada de $3 \times 3 \times 1.5$ m (Fig.7), con una capacidad individual de unos 10.000 l. Disponían de una abertura lateral superior, en uno de los lados, provista de un tubo que desemboca en un colector de huevos, constituido por un bastidor de PVC de 0,5 m de lado, del que pendía una malla de 500μ de luz. Cada colector descansaba sobre un tanque de plástico de sección rectangular y 500 l de capacidad, con salida por rebosadero en la parte superior, que aseguraba que los huevos no quedaran en seco, aun en el caso de fallo del suministro de agua.

En el lado opuesto a la abertura, se encontraba una entrada múltiple de agua de mar, en sistema de circuito abierto, con un flujo de unos 1600 l/h, lo que aseguraba una renovación diaria de aproximadamente 4 veces el volumen del tanque, y que además establecía una corriente superficial que ayudaba al depósito de los huevos en el colector.



Fig.7. - Tanques de reproductores, con colectores de huevos.

Agua de mar

La toma de agua de mar se realizaba a través de un pozo de captación, excavado en el espigón del Muelle de Taliarte. El agua era elevada mediante un grupo de bombas que suministraba un caudal de 180 m³/h, y era conducida hasta un depósito regulador principal, situado en el exterior en una zona anexa a las instalaciones propias de la planta. Todo el sistema de conducción de agua de mar estaba montado en PVC. Desde este depósito el agua de mar era distribuida directamente, por gravedad, a los tanques experimentales de reproductores. La salinidad y el pH del agua de los tanques de reproductores se mantuvieron siempre constantes ($S \text{ ‰} = 36,70 \pm 0,001$ y $\text{pH} = 8,14 \pm 0,03$). La temperatura osciló entre 17 y 24 °C y se mantuvo un Fotoperiodo de 12 horas.

Aireación

El suministro de aire a toda la instalación, para conseguir una oxigenación adecuada del agua, se realizaba mediante tres turbinas ventiladores (Siemens-Elmo, Alemania), de funcionamiento continuo que suministran aire a baja presión. El sistema de aireación tenía además la función de crear una corriente de abajo hacia arriba, y desde el centro a la periferia de los tanques, para evitar así la sedimentación de los huevos y ayudar a la recolección de los mismos por los sistemas ya descritos.

3.2.2. Reproductores

Se utilizaron ejemplares de corvina, nacidos en cautividad en la hachery Francesa “Le poisson du soleil”(www.poissons-soleil.com), posteriormente el engorde se realizó en una empresa de jaulas situada en la isla de Tenerife, desde donde fueron trasladadas a nuestras instalaciones de la isla de Gran Canaria, en el Buque Oceanográfico “Profesor Ignacio Lozano” del Instituto Canario de Ciencias Marinas. Dicho buque está equipado con tanques para carnada viva de 12 m³ donde se transportaron. Posteriormente se formó, el stock de reproductores del ICCM, con edades comprendidas entre 5 y 6 años, todos ellos marcados con PIT (TROVAN Ltd. Reino Unido), los cuales se detectaron usando el lector Power tracker V (AVID, Reino Unido). Previo al inicio del experimento y tras pesar y medir los animales (Fig.8A), una vez anestesiados con una solución de aceite de clavo, en una proporción de 50% de aceite de clavo natural y 50% Etanol absoluto, fueron distribuidos en 8 tanques de 10 m³ a razón de 3♀ y 3♂ cada uno. Las características biométricas de los reproductores utilizados se indican en la Tabla III.

Durante el periodo experimental (Mayo a Junio), los reproductores se alimentaron (1% de su biomasa) con un pienso comercial (Vitalis Cal, Skretting®) dos veces a la semana, y con alimento fresco Sepia (*Sepia officinalis*) y mejillón (*Mytilus edulis*), una vez a la semana, en este caso la alimentación fue ad libitum. Los restos de comida y residuos fecales eran limpiados periódicamente del fondo de los tanques por aspiración.

Tabla III. Características biométricas de los reproductores utilizados en el experimento

Dosis ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	PESO (kg)		TALLA (cm)	
	♀	♂	♀	♂
1	9,54 \pm 1,22	9,62 \pm 2,73	94,33 \pm 1,75	90,63 \pm 12,91
5	9,66 \pm 1,16	9,74 \pm 1,70	94,66 \pm 6,78	96,3 \pm 7,97
10	8,80 \pm 0,81	8,28 \pm 1,44	91,67 \pm 2,02	90,86 \pm 4,73
15	10,29 \pm 2,21	10,05 \pm 0,99	98,6 \pm 8,02	96,16 \pm 5,21
20	9,11 \pm 1,11	9,37 \pm 0,32	90,93 \pm 6,88	96 \pm 0,264
25	8,95 \pm 0,29	6,92 \pm 1,10	96,16 \pm 2,36	87,83 \pm 8,28
SI	7,93 \pm 0,64	8,27 \pm 1,44	94,33 \pm 2,30	92,83 \pm 5,53
SS	7,21 \pm 1,09	8,78 \pm 1,02	89,83 \pm 8,69	96,66 \pm 3,21

*SI = Sin inyectar, SS = Inyectadas con solución salina.

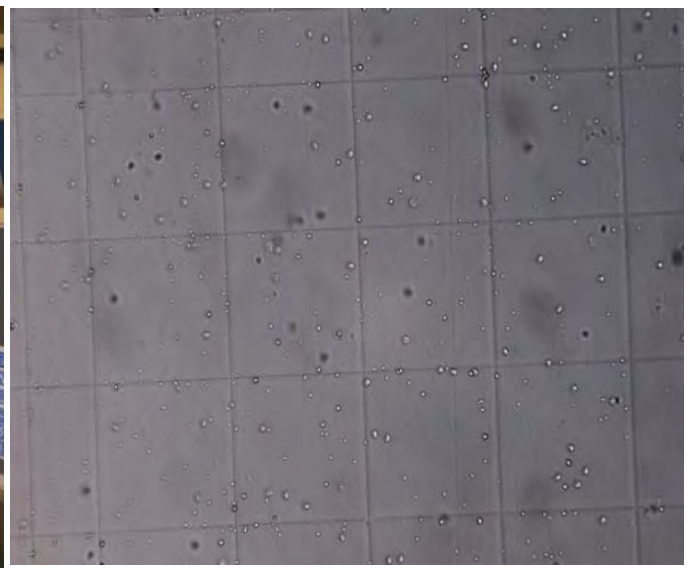
A



B



C



D

Fig.8.- (A) Biometría y marcaje (B) Canulación (C) Proyector de perfiles utilizado para la medida de los oocitos (D) Hemocitómetro.

3.2.3. Determinación del estado de maduración de los reproductores

Previamente al inicio de las inducciones, y en el momento del muestreo inicial de los reproductores, se comprobó el estado de madurez sexual de los reproductores midiendo el tamaño de 100 oocitos de cada hembra (canulación ovárica) y la actividad del esperma (obtenido mediante presión abdominal). Las biopsias ováricas se llevaron a cabo utilizando un catéter, con un diámetro interno de 1.3 mm (Kruuse, Dinamarca), introduciéndolo por el poro genital (Fig.8B). Cada muestra de ovario se depositaron sobre un portaobjetos, añadiéndole una solución salina (Suero fisiológico comercial), se observó en un proyector de perfiles (Mitutoyo PJ-3000A, Kanagawa, Japón) (Fig.8C) para estimar el diámetro de 100 ovocitos elegidos al azar, solamente hembras con oocitos de 500 μ m fueron seleccionadas para el experimento. Y por otra parte, se le añadió líquido Serra, para la clarificación del citoplasma, durante 5 minutos para poder determinar la posición del núcleo de los ovocitos, y determinar así el estadio de desarrollo de los ovocitos. El esperma de cada macho se obtuvo por masaje y presión abdominal. La densidad del esperma de cada macho fue determinada, por triplicado, en un hemocitómetro Neubauer (HHH, Germany) (Fig.8D), utilizando un microscopio Leica DM 2500 (Wetzlar, Germany), a 400 aumentos. El porcentaje de movilidad, y el tiempo de actividad del semen de cada macho se determinaron, por triplicado, siguiendo la metodología descrita por Mylonas *et al.* (2004a).

3.3. INDUCCIÓN HORMONAL DE LOS REPRODUCTORES.

Con los 48 reproductores seleccionados, se constituyeron seis grupos experimentales, y dos grupos de control: uno no fue inyectado y el otro lo fue con una solución salina (9g Cl Na/100ml agua destilada o Suero fisiológico comercial). A lo largo del periodo experimental que fue de 9 semanas, se inyectó semanalmente (Fig.9), de forma alternativa, una hembra y un macho de cada grupo experimental, y del grupo control inyectado con solución salina, de tal manera que cada hembra y cada macho fue inyectado, a lo largo del periodo experimental un total de 3 veces. Cada uno de seis grupos experimentales fue inducido mediante una inyección de GnRH α (Sigma-Aldrich Co. St. Louis, Missouri, USA), con dosis de 1, 5, 10, 15, 20 y 25 μ g.kg⁻¹, respectivamente. En todos los casos el diluyente utilizado fue solución salina (9g Cl Na/100ml agua destilada), las inyecciones se pusieron en la musculatura dorsal.

Los costes de la Hormona ascendieron a 234,71€ los 5 mg de GnRHa en polvo, utilizándose una media de 2,5 mg por inducción, al final del experimento se utilizaron unos 20 francos de 5mg de GnRHa, el coste final de la inducción mediante GnRHa ascendió a 4.694,2€.



Fig.9.- Inducción hormonal de los reproductores mediante inyección intramuscular.

3.4. CONTROL DE LAS PUESTAS

Las puestas tuvieron lugar entre las 11:00 y las 22:00, y se recogieron siempre a las 07:30 del día siguiente, se actuó igual, transcurridas 24 horas, cuando hubo una segunda puesta con la misma inyección. Una vez transferidos los huevos a un cubo de plástico de 13 l de capacidad, se dejaban reposar aproximadamente 20 minutos y una vez decantados se procedía a separar la fracción flotante (FF) de la no flotante (FNF), esta obtenida mediante aspiración del fondo era transferida a un vaso de precipitado de plástico de 5 l. Por último, se completaban los volúmenes con agua de mar de tal manera que los huevos quedaban en 10 l los de la FF y en 5 l los de la FNF. Manteniendo en todo momento las puestas con aireación continua, y posteriormente se procedían al conteo de la puesta tanto de la Fracción flotante (FF) como de la Fracción no flotante (FNF), para proceder al cálculo de los parámetros de calidad de la puesta.

Los huevos se clasificaron, siguiendo los criterios definidos por Divanach (1985) y por Kjørsvik *et al.* (1990) en las siguientes categorías:

Huevos vivos o Viables: huevos morfológicamente normales, transparentes, perfectamente esféricos, y con blastómeros claros y simétricos. Estas características continúan a lo largo de todo el desarrollo hasta la eclosión.

Huevos muertos: huevos con iridisaciones en el vitelo, 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 translúcido. 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. Estas características continúan a lo largo de todo el desarrollo (Fig. 10 a las 0 horas).

Huevos anormales: huevos con morfología irregular no esférica, condensaciones parciales del vitelo en forma de manchas opalescentes excéntricas. Con cuñas citoplasmáticas entre el polo animal y vegetal. Con aberraciones de segmentación o blastómeros irregulares. Huevos con más de una gota de grasa.

Como parámetros para determinar la eficacia de la inducción se utilizaron los siguientes:

- Número de hembras inducidas que tuvieron puesta.
- Número de puestas por inyección.
- Periodo de latencia (tiempo transcurrido entre la inducción y el momento de la puesta, o puestas en los casos que con una misma inyección hubo dos puestas).

El cálculo de estos parámetros se realizó siguiendo la metodología descrita por Fernández-Palacios *et al.* (2009).

Como parámetros para determinar la calidad de las puestas experimentales se utilizaron los siguientes:

Índices de las puestas

- % de huevos fecundados
- % de huevos vivos
- % de eclosión
- % de supervivencia larvaria (3 días)

Producciones relativas por puesta

- Número de huevos fecundados por kg de hembra y por puesta
- Número de huevos vivos por puesta y por kg de hembra
- Número de larvas eclosionadas por puesta y por kg de hembra
- Número de larvas con el saco vitelino reabsorbido por puesta y por kg de hembra.

El cálculo de estos parámetros se realizó siguiendo la metodología (Fig.10 y 11) descrita por Fernández-Palacios *et al.* (2005).

Producciones relativas por inyección

- Número de huevos fecundados por kg de hembra y por inyección.
- Número de huevos vivos por puesta y por inyección
- Número de larvas eclosionadas por puesta y por inyección
- Número de larvas con el saco vitelino reabsorbido por puesta y por inyección.

El cálculo de estos parámetros se realizó según Fernández-Palacios *et al.* (2011).



Fig.10.- Material utilizado para el control de las puestas.

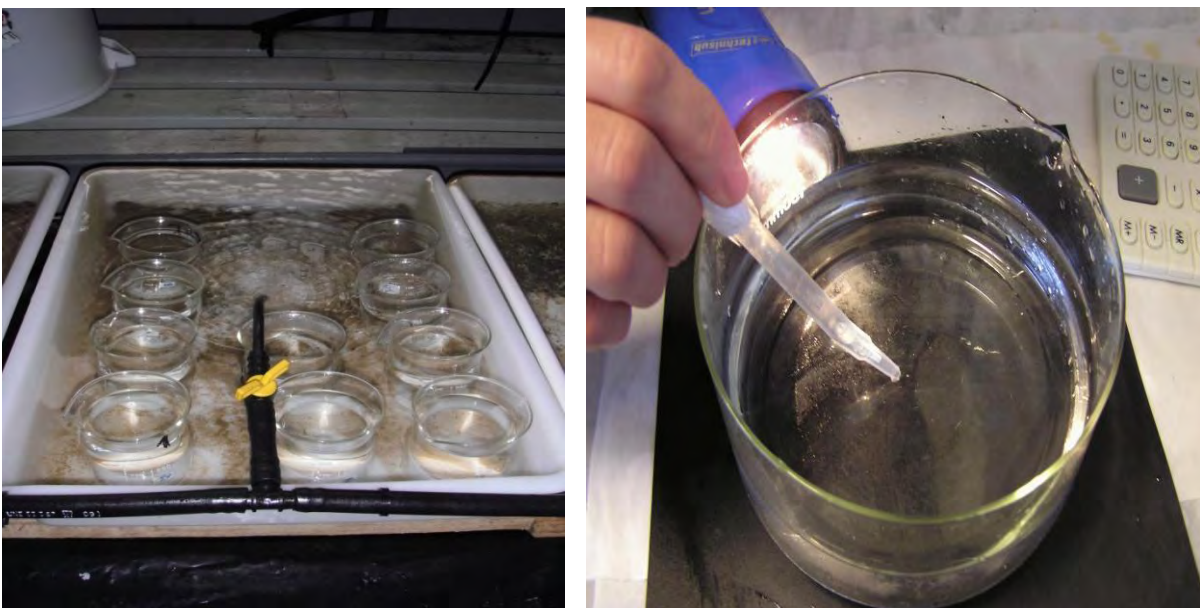


Fig.11.- Recipientes utilizados para la incubación de los huevos y contaje de las larvas con el saco vitelino reabsorbido.

3.5. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Los resultados obtenidos se han expresado siempre como media \pm desviación estándar de la media. Los datos de un mismo experimento se compararon estadísticamente utilizando el análisis de la varianza (ANOVA) (Sokal y Rohlf, 1996). Una vez habían sido detectadas diferencias estadísticamente significativas con el ANOVA, las diferencias entre medias fueron puestas de manifiesto mediante el test de comparación múltiple de las medias de Duncan.

Para determinar el grado de asociación entre variables dependientes, se calculó el coeficiente de correlación y esta relación se representó en forma de regresión (Sokal y Rohlf, 1996).

Los datos se analizaron utilizando el programa estadístico STATGRAPHICS (versión 3.1 Plus for Windows; Graphic Software Systems, Inc.USA).

3.6. NOMBRES COMUNES 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” de 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, 2012) y en el caso de no existir el nombre en español, se utilizó la denominación FAO en inglés de esa base de datos.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. MADUREZ SEXUAL

Los resultados obtenidos respecto al estado de madurez sexual de los reproductores: medida de los oocitos y densidad, motilidad y actividad del espermatozoide, se indican en las Tablas IV y V, observándose que no hubo diferencias significativas en ninguno de los parámetros controlados.

Tabla IV. Medida de los oocitos de las hembras utilizadas en el experimento (SI = Sin inyectar; SS = Inyectadas con solución salina)

Dosis ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Nº Hembras	Diámetro oocitos
1	3	0,525±0,016
5	3	0,537±0,024
10	3	0,511±0,010
15	3	0,519±0,007
20	3	0,527±0,001
25	3	0,515±0,016
SI	3	0,516±0,005
SS	3	0,521±0,014

*Filas de una misma columna sin o con superíndices iguales no presentan diferencias significativas. Superíndices distintos indican diferencias significativas.

Tabla V. Parametros de calidad del espermato de los machos utilizados en el experimento (SI =Sin inyectar; SS = Inyectados con solución salina)

Dosis($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	N° Machos	Densidad espermato.(Cel/ ml^{-1})	% Movilidad espermato	Tiempo actividad (min)
1	3	19,00 \pm 7,00	67,81 \pm 6,61	6,98 \pm 0,39
5	3	24,66 \pm 2,08	73,67 \pm 12,26	6,97 \pm 0,47
10	3	25,00 \pm 6,08	80,02 \pm 6,84	6,79 \pm 0,57
15	3	26,66 \pm 3,21	78,53 \pm 1,86	6,59 \pm 0,44
20	3	23,66 \pm 4,50	68,89 \pm 1,86	7,18 \pm 0,14
25	3	28,00 \pm 2,64	72,69 \pm 7,31	7,18 \pm 0,65
SI	3	19,66 \pm 7,09	67,64 \pm 2,29	6,94 \pm 0,65
SS	3	20,66 \pm 6,80	70,06 \pm 2,22	6,22 \pm 0,13

*Filas de una misma columna sin o con superíndices iguales no presentan diferencias significativas. Superíndices distintos indican diferencias significativas.

4.2. EFICACIA DE LAS DOSIS

Al analizar los resultados obtenidos (Tabla VI), se observa que no existen diferencias estadísticamente significativas en el % de hembras con puestas. En cuanto al periodo de latencia hasta la primera puesta, este es mayor cuanto menor es la dosis ensayada, encontrándose una correlación negativa altamente significativa entre los dos parámetros (Fig.12). Existen diferencias estadísticamente significativas entre los periodos de latencia de los reproductores inyectados con las dosis mayores de 15, 20, y 25 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, y los de los inyectados con las dosis menores 1 y 5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. El periodo de latencia de las puestas de los reproductores inyectados con la dosis de 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ es intermedio entre estos dos grupos y no se diferencia significativamente de ninguno de ellos. No se obtuvieron puestas en los grupos control.

Tabla VI. Efecto de las dosis inyectadas sobre las puestas

Dosis ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	Nº hembras inyectadas	Nº inyecciones	% Hembras con puestas	Nº puestas	Periodo latenc. (h) 1ª puesta	Periodo latenc. (h) 2ª puesta	Nº puestas por inyección
1	3	9	100	5	32,15 \pm 1,14 ^b	60,38 \pm 0,47 ^c	0,55 \pm 0,19 ^d
5	3	9	100	10	32,33 \pm 1,21 ^b	59,52 \pm 0,78 ^{bc}	1,11 \pm 0,19 ^c
10	3	9	100	14	31,13 \pm 1,04 ^{ab}	58,20 \pm 2,81 ^{abc}	1,55 \pm 0,19 ^b
15	3	9	100	18	30,26 \pm 1,24 ^a	58,25 \pm 1,76 ^{abc}	2,00 \pm 0,00 ^a
20	3	9	100	12	29,59 \pm 1,70 ^a	57,18 \pm 0,53 ^a	1,33 \pm 0,33 ^{bc}
25	3	9	100	11	29,53 \pm 1,68 ^a	57,58 \pm 1,67 ^{ab}	1,22 \pm 0,19 ^{bc}

*Filas de una misma columna sin o con superíndices iguales no presentan diferencias significativas. Superíndices distintos indican diferencias significativas.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas, entre los periodos de latencia hasta la segunda puesta de los reproductores inducidos con las dosis mayores 20 y 25 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, y los de la dosis menor 1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. También entre los de la dosis de 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ y los de la dosis de 5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Los periodos de latencia hasta la segunda puesta de las dosis de 10 y 15 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ son intermedios entre los de 1-5 y 20-25 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, no diferenciándose estadísticamente de ninguno de ellos. Tal como sucedió con el periodo de latencia hasta la primera puesta, existe una correlación negativa, altamente significativa, entre la dosis y el periodo de latencia hasta la segunda puesta (Fig. 13).

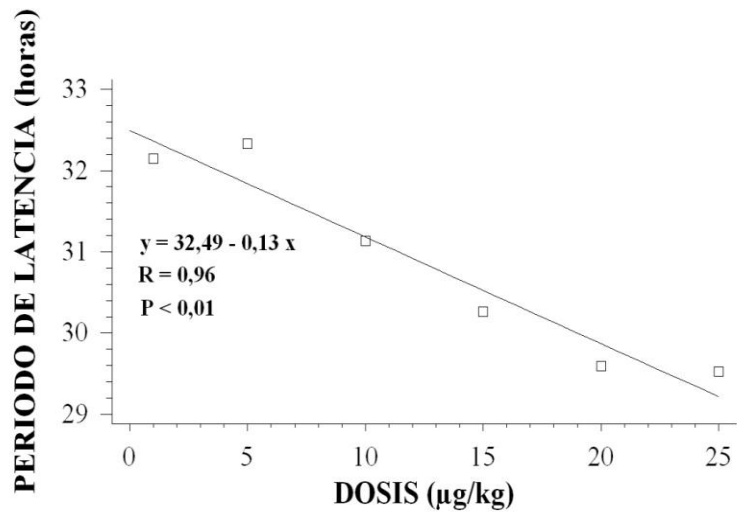


Fig. 12.- Relación entre las dosis ensayadas y el periodo de latencia hasta la primera puesta.

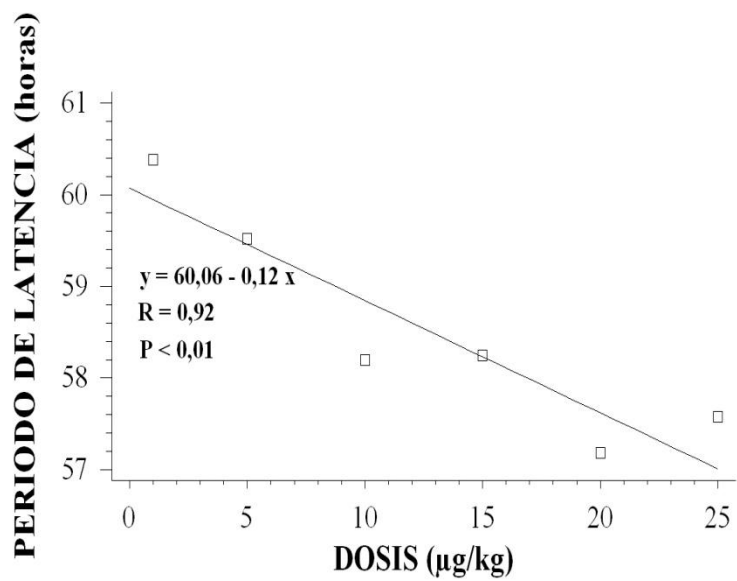


Fig. 13. -Relación entre las dosis ensayadas y el periodo de latencia hasta la segunda puesta.

El mayor número de puestas por inyección se obtuvo con la dosis de $15 \mu\text{g.kg}^{-1}$ que se diferenció estadísticamente del resto de las dosis ensayadas. El número de puestas por inyección de la dosis de $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ no se diferenció estadísticamente del de las de 20 y $25 \mu\text{g.kg}^{-1}$, pero si del de 1 y $5 \mu\text{g.kg}^{-1}$. A su vez el número de puestas por inyección de las dosis de 20 y $25 \mu\text{g.kg}^{-1}$ no se diferenció del de $5 \mu\text{g.kg}^{-1}$, pero si del de las de $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Por último, el de la dosis de $5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ se diferencia estadísticamente del de $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Se encontró una correlación polinomial estadísticamente significativa entre la dosis y el número de puestas por inyección (Fig. 14).

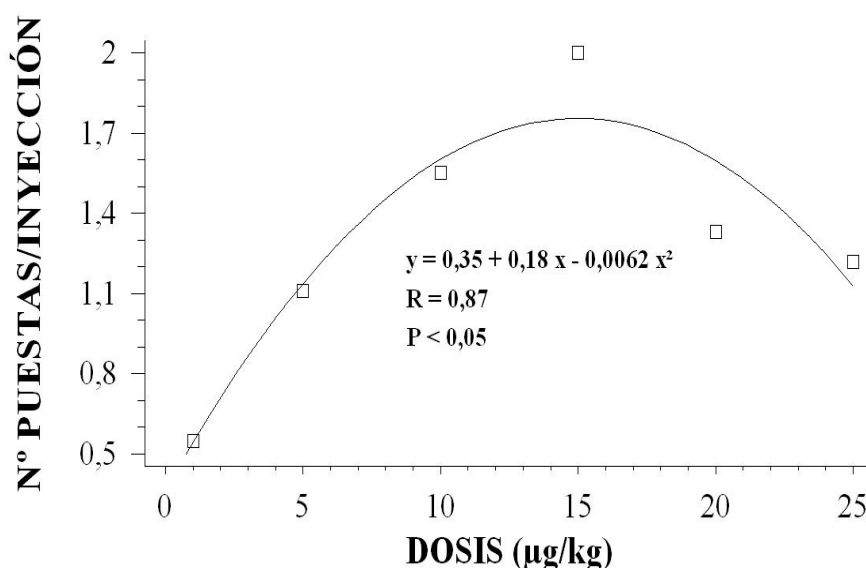


Fig. 14.- Relación entre las dosis empleadas y el nº de puestas por inyección.

4.3. EFECTO DE LAS DOSIS SOBRE LA CALIDAD DE LAS PUESTAS

Los resultados obtenidos en cuanto a los índices de calidad de las puestas, se señalan en la Tabla VII. Los mejores resultados, en todos los índices, corresponden a las puestas de reproductores inducidos con la dosis de 15 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Sin embargo, solo existen diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de huevos viables. Así, el porcentaje de huevos viables obtenidos con la dosis de 15 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ se diferencia estadísticamente del obtenido con el resto de las dosis, excepto de la dosis 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, este a su vez se diferencia únicamente del obtenido con la dosis más baja de 1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Los huevos viables obtenidos con las dosis de 5, 10 y 25 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ no se diferencian entre sí. Sin embargo, estas dosis, si se diferencian de la dosis de 1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Se encontraron correlaciones polinomiales, estadísticamente significativas, entre las dosis empleadas y los porcentajes de huevos viables (Fig. 15) y fecundados (Fig. 16).

Tabla VII. Índices de calidad de las puestas

Dosis ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	% Huevos fecundados	% Huevos viables	% Eclósión	% Larvas saco vitelino reabsorbido
1	93,70±10,24	50,72±16,27 ^d	88,02±4,58	84,37±9,64
5	92,90±16,62	71,67±25,71 ^{bc}	90,71±16,72	89,24±12,31
10	98,14±3,64	73,31±18,52 ^{bc}	91,07±6,12	89,17±17,27
15	99,33±1,00	92,41±4,16 ^a	95,14±3,63	92,33±6,35
20	98,98±2,18	84,46±16,27 ^{ab}	85,39±16,73	91,51±10,17
25	98,57±1,71	70,67±14,83 ^c	94,58±5,20	80,58±15,42

*Filas de una misma columna sin o con superíndices iguales no presentan diferencias significativas. Superíndices distintos indican diferencias significativas.

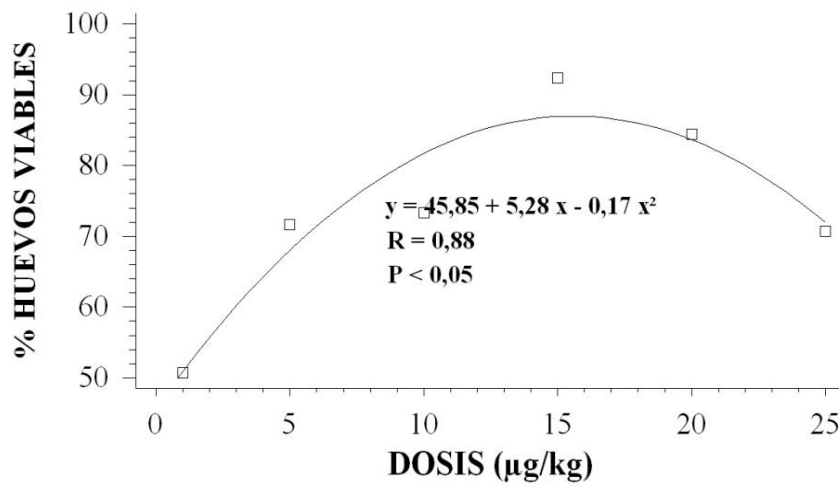


Fig.15.- Relación entre las dosis utilizadas y los porcentajes de huevos viables.

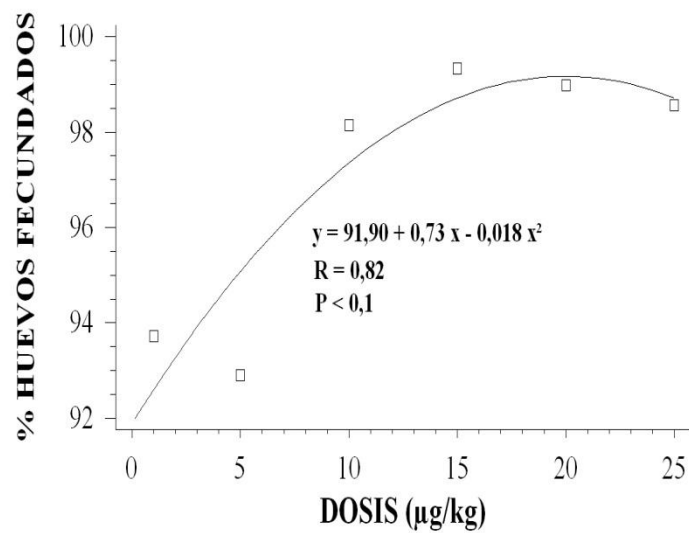


Fig.16.- Relación entre las dosis utilizadas y los porcentajes de huevos fecundados.

4.4. EFECTO DE LAS DOSIS SOBRE LAS PRODUCCIONES

4.4.1. Producciones por kg de hembra y por puesta

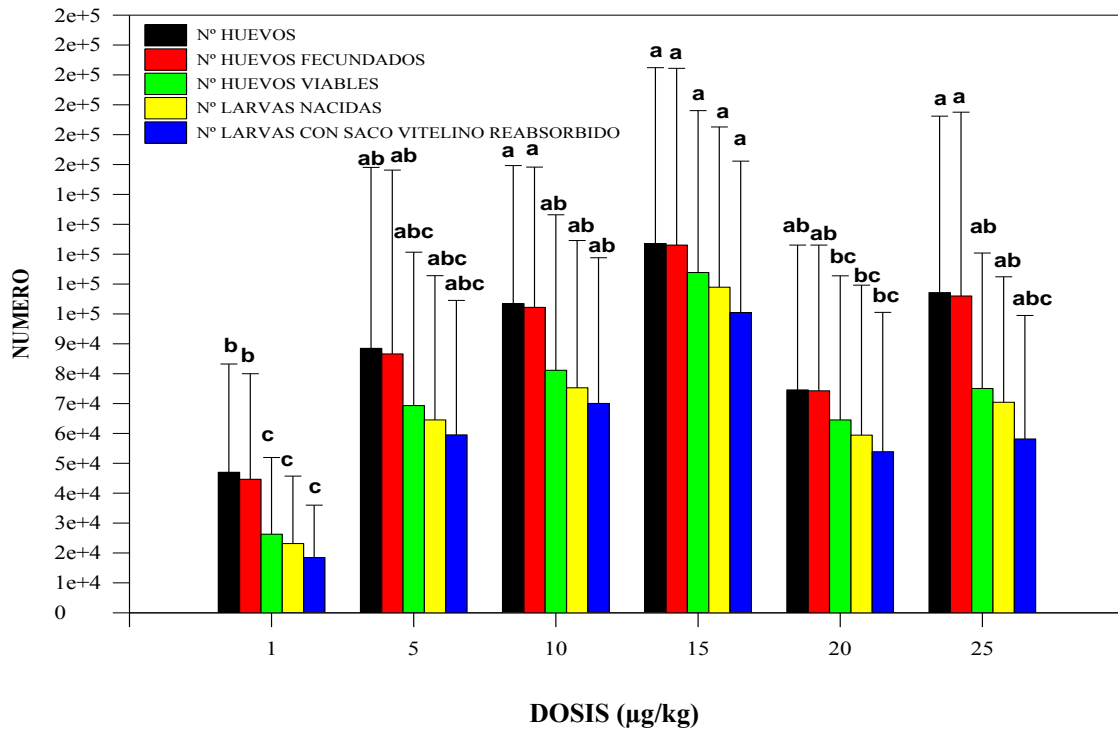
En referencia a las producciones (por kg de hembra y por puesta) de los grupos experimentales, (Fig.17) se observa que las mayores producciones, en todos los parámetros controlados, corresponden a la dosis de $15 \mu\text{g.kg}^{-1}$. En el número de huevos y de huevos fecundados, no existen diferencias estadísticamente significativas entre los producidos por los reproductores inducidos con las dosis de 5, 10, 15, 20 y $25 \mu\text{g.kg}^{-1}$, existiendo diferencias estadísticamente significativas, entre estas dosis y los inducidos con las dosis más baja de $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

En cuanto al número de huevos vivos y de larvas eclosionadas, tampoco existen diferencias estadísticamente significativas entre los producidos por los reproductores inducidos con las dosis de 5, 10, 15, 20 y $25 \mu\text{g.kg}^{-1}$, existiendo diferencias significativas de los inducidos con $15 \mu\text{g.kg}^{-1}$ con los inyectados con 1 y $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$, a su vez los inducidos con 10 y $25 \mu\text{g.kg}^{-1}$ se diferencian de los de la dosis más baja de $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$. No existiendo diferencias estadísticas entre los inducidos con 1 y $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

En referencia al número de larvas con saco vitelino reabsorbido, sucede lo mismo que en cuanto los huevos vivos y larvas eclosionadas, pero en este caso además no existen diferencias entre las puestas de los reproductores inducidos con las dosis en 1 y $25 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

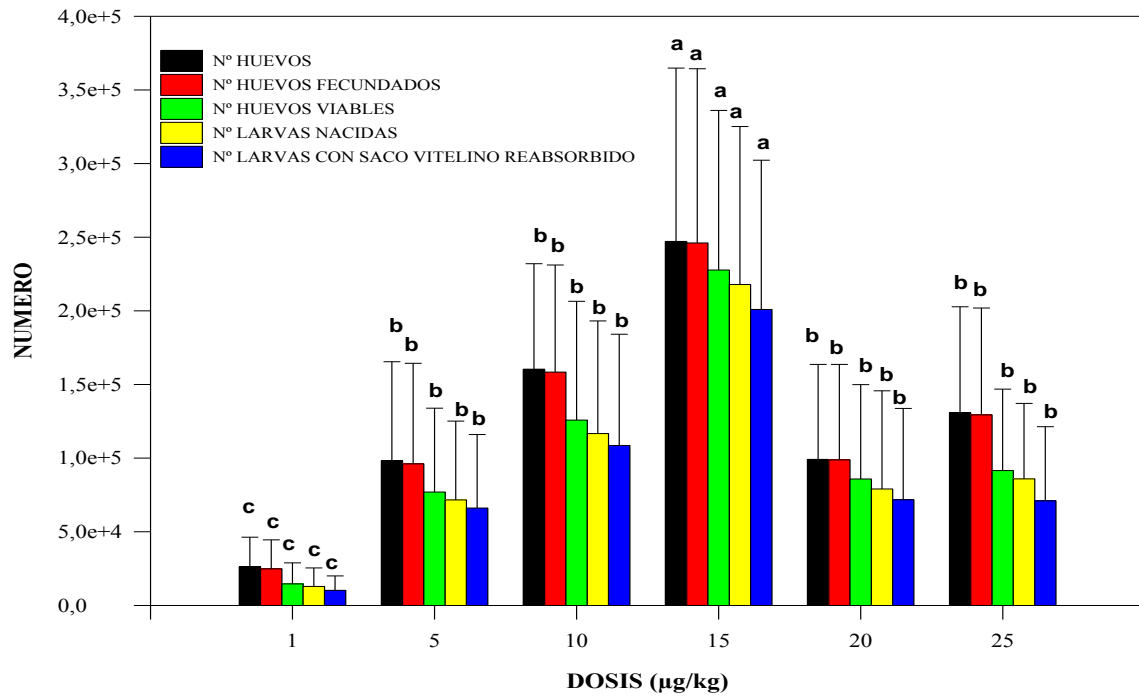
4.2.2. Producciones por kg de hembra e inyección

En cuanto a las producciones (por kg de hembra e inyección) de los grupos experimentales, (Fig. 18) se observa de nuevo, que las mayores producciones, en todos los parámetros controlados, corresponden a la dosis de $15 \mu\text{g.kg}^{-1}$, existiendo diferencias significativas, en todos los parámetros con el resto de reproductores inducidos con el resto de las dosis. Observándose, que las producciones de los grupos experimentales inducidos con las dosis de 5, 10, 20 y $25 \mu\text{g.kg}^{-1}$ no se diferencian entre sí, pero sí con las producciones de los reproductores inducidos con la dosis más baja de $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$.



*Barras, del mismo color, sin o con una misma letra no presentan diferencias significativas. Barras, del mismo color, con diferentes letras presentan diferencias significativas.

Fig.17.- Producciones (por kg de hembra y por puesta) de los grupos experimentales.



*Barras, del mismo color, sin o con una misma letra no presentan diferencias significativas. Barras, del mismo color, con diferentes letras presentan diferencias significativas.

Fig.18.- Producciones (por kg de hembra y por inyección) de los grupos experimentales.

DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

Los métodos más modernos de inducción a la ovulación, se han centrado en la aplicación de hormonas liberadoras de gonadotrofinas GnRH (Valdebenito, 2008). Los preparados sintéticos o análogos han sido utilizados en las principales especies de la acuicultura europea (FEAP, 2011): dorada (Barbaro *et al.*, 1997), lubina (Fornies *et al.*, 2001; Mylonas *et al.*, 2003; Firat *et al.*, 2005; Prat *et al.*, 2001), trucha arcoíris (Arabaci *et al.*, 2004; Vazirzadeh *et al.*, 2008), salmón Atlántico (Vikingstad *et al.*, 2008), rodaballo (Mugnier *et al.*, 2000), halibut (Mazorra *et al.*, 2000), bacalao (Garber *et al.*, 2009), carpa común, (Vazirzadeh *et al.*, 2011) y anguila europea (Peñaranda *et al.*, 2010).

Así mismo han sido utilizados en especies emergentes de la acuicultura europea (Abellan y Basurco, 1999), especies tales como: el verrugato (Mylonas *et al.*, 2000; Barbaro *et al.*, 2002; Komoundouros *et al.*, 2005), lenguado senegalés (Agulleiro *et al.*, 2006; Guzman *et al.*, 2009, 2011), corvina (Cárdenas *et al.*, 2009), medregal o pez limón (Mylonas *et al.*, 2004a), mero moreno (Marino *et al.*, 2003; Conceição *et al.*, 2008; Reñones *et al.*, 2010), pargo o bocinegro (Büke *et al.*, 2005; Aristizabal *et al.*, 2009; Mylonas *et al.*, 2011), atún rojo (Mylonas *et al.*, 2007; Corriero *et al.*, 2009) y dentón (Mylonas *et al.*, 2011).

El tamaño de oocito para que la inducción tenga éxito y se produzcan huevos viables es muy importante. Por ejemplo en el salmón Atlántico una inducción excesivamente temprana produce huevos anormales y una mortalidad del 100% de los huevos a las 24 horas de la fertilización (Crim y Geble, 1984). Este tamaño varía entre las especies, así en el caso de la lubina se señala que el diámetro debe ser superior a las 600 μ (Alvariño *et al.*, 1992; Asturiano, 1999; Moretti *et al.*, 1999; Prat *et al.*, 2001). En rodaballo, Mugnier *et al.* (2000) señalan este mismo diámetro como el mínimo para la obtención de puestas inducidas viables. En el pejerrey de Argentina (*Odontesthes bonariensis*), el tamaño mínimo de los oocitos, para la inducción, oscila entre los 800 y 900 μ (Miranda y Somoza, 2009). En dorada el tamaño mínimo señalado es de 500 μ (Moretti *et al.*, 1999), mientras que para la perca gigante (*Lates calcarifer*), es de 400 μ (García 1989; Schipp *et al.*, 2007). En el pez limón, la inducción se realiza cuando el diámetro del oocito es de 550-600 μ (Kozul *et al.*, 2001), y en el pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*), cuando el diámetro supera las 430 μ (Ibarra-Castro y Duncan, 2007).

En nuestro estudio, todas las hembras seleccionadas para el experimento tenían oocitos mayores de 500 μ . No hubo diferencias estadísticamente significativas en el tamaño de los oocitos entre los grupos experimentales ni tampoco con los grupos control. El diámetro de los oocitos de los reproductores de este experimento, fue suficiente para inducir hormonalmente la puesta, como ha ocurrido con ejemplares capturados en la naturaleza (Duncan *et al.*, 2007), o con reproductores nacidos en cautividad (Fernández-Palacios *et al.*, 2009) de esta misma especie, y otras especies de la misma familia: corvina del Sur, *Argyrosomus hololepidotus*, (Battaglione y Talbot, 1994) y verrugato (Libertini *et al.*, 1998; Mylonas *et al.*, 2004b; Basaran *et al.*, 2009; Grau *et al.*, 2009).

En la corvina pintada (*Cynoscion nebulosus*) los oocitos se consideran maduros, para ser inducidos, con un diámetro de 375 μ m (Thomas y Boyd, 1989), y en el corvino rayado hembras con oocitos superiores a 400 μ tratadas con 300-500 UI de hGC, responden en un 75-80% de los casos (García-Alonso y Viziano, 2004).

La densidad espermática puede indicar si el pez está o no en el momento óptimo para reproducirse, ya que unos valores bajos pueden reflejar que la muestra ha sido cogida fuera del periodo reproductor, y por lo tanto el semen podría ser de baja calidad (Glogoswsky *et al.*, 1996). En nuestro caso tampoco hubo diferencias significativas en la densidad del espermatozoides, que varió entre $19,00 \pm 7,00$ y $28,00 \pm 2,64 \times 10^9$ espermatozoides. ml^{-1} . Los valores observados en este estudio son muy similares a los indicados para esta misma especie por Fernández-Palacios *et al.* (2009), que oscilaron entre $19,50 \pm 7,76$ y $25,74 \pm 4,64$ y para otros miembros de la misma familia, como la corvina amarilla (*Nibea albiflora*), que fue de $23,7 \pm 0,64$ espermatozoides. ml^{-1} (He *et al.*, 2012) y en verrugato los valores oscilaban entre $13-26 \times 10^9$ espermatozoides. ml^{-1} (Mylonas *et al.*, 2004b).

Los valores encontrados por nosotros, son similares a los indicados en varias especies de teleósteos, en pez conejo (*Signatus guttatus*) $5-20 \times 10^9$ espermatozoides. ml^{-1} (García, 1993), en carpa común $25-30 \times 10^9$ espermatozoides. ml^{-1} , en salmón Atlántico $12-24 \times 10^9$ espermatozoides. ml^{-1} (Estévez, 1991), en lubina de $10-40 \times 10^9$ espermatozoides. ml^{-1} (Villani y Catena, 1991) y en trucha arcoíris $10-20 \times 10^9$ espermatozoides. ml^{-1} (Billard y Cosson, 1988).

Por el contrario son mayores que los observados en otras especies como el bacalao con valores entre $3.3 - 13.4 \times 10^9$ espermatozoides. ml^{-1} (Butts *et al.*, 2009), en el lenguado senegalés con valores entre $0.5-3 \times 10^9$ espermatozoides. ml^{-1} (Cabrita *et al.*, 2006), y en el coregano (*Coregonus clupeaformis*) 7×10^9 espermatozoides. ml^{-1} (Ciereszko y Dabrowski, 1993). Sin embargo, son menores que en halibut con valores superiores a 100×10^9 espermatozoides. ml^{-1} (Cosson *et al.*, 2008), o en perca de río con valores entre $2,75 \pm 0,51 - 29,19 \pm 15 \times 10^{10}$ espermatozoides. ml^{-1} (Alavi *et al.*, 2007).

En la mayoría de peces teleósteos, de fecundación externa, los espermatozoides se encuentran inmóviles en el fluido seminal, y una vez que han tomado contacto con el medio externo, mantienen la motilidad por un breve espacio de tiempo (Ginzburg, 1972; Morisawa, 1994). La motilidad del espermatozoide, es uno de los parámetros más utilizados para determinar la calidad del semen. Levanduski y Cloud (1988), Turner (1986), Billard (1988), Trippel *et al.* (1991), Zavos *et al.* (1996). Woolsey *et al.* (2006) y Rudolfsen *et al.* (2008) entre otros autores, señalan que la motilidad es el mejor indicador de la capacidad fecundante del espermatozoide, además de ser un parámetro de fácil evaluación, mediante el uso de un microscopio óptico y de escalas preestablecidas, tales como la de Sanchez-Rodriguez y Billard (1977), la de Aas *et al.* (1991), y la de Estay *et al.* (1994). Actualmente se utilizan sistemas computerizados de análisis de imagen como CASA (Computer Assisted Sperm Analysis), o el NIH image (Rurangwa *et al.*, 2004).

En nuestro trabajo no hubieron diferencias significativas en el % de movilidad del esperma, estos datos son similares a los obtenidos por Duncan *et al.* (2007), para corvinas salvajes que fueron del 60-90%, y a los obtenidos por Fernández-Palacios *et al.* (2009) y Schiavone *et al.* (2012), para reproductores, de esta misma especie, nacidos en cautividad, que oscilaron entre el 77 y 89 % y el 53-74%, respectivamente. También son similares a los indicados para otros miembros de la misma familia, como la corvina amarilla, 58-69% por He *et al.* (2012). Mylonas *et al.* (2004b), señalan una motilidad de alrededor del 80 % en reproductores de verrugato.

En otras especies tales como el sargo picudo, el medaka, el lenguado senegalés y la perca de río, la motilidad fue superior al 80 % (Alavi *et al.*, 2007; Papadaki *et al.*, 2008; Yang y Tiersch, 2009; Guzmán *et al.*, 2009).

Valores más bajos ha sido observados por Ottesen *et al.* (2009) que señalan una motilidad del 30-88% en reproductores del halibut. Huang *et al.* (2003), señalan una motilidad del $78\pm 3\%$ para el xifo de Couch (*Xiphophorus couchianus*).

En cuanto al tiempo de actividad, tampoco existieron diferencias significativas en este estudio. Es similar al indicado por Duncan *et al.* (2007) para corvinas salvajes que fue de 3-5 min, y a los obtenidos por Fernández-Palacios *et al.* (2009), para reproductores nacidos en cautividad que fue de 6-7 minutos. También es similar al indicado para otros miembros de la misma familia como la corvina amarilla, 7-7,5 minutos (He *et al.*, 2012) o para el corvinon ocelado que fue de $6\pm 0,75$ minutos (Wayman y Tiersch, 1998).

Schiavone *et al.* (2012), indican una duración de la actividad flagelar entre 0,5 y 1,20 minutos, para esta misma especie. La menor duración de la actividad flagelar en este caso, puede ser debida a la menor edad de los machos que en este experimento fue de 2-3 años, en nuestro experimento los machos tenían 6 años. La edad de los reproductores tiene una significativa influencia en la calidad del esperma (Vuthiphandchai y Zohar, 1999; Bastardo *et al.*, 2004; Hajirezaee *et al.*, 2010). Así, Büyükhatipoglu y Holtz (1984), observan que reproductores de trucha arcoíris, en su segundo periodo de puesta producen mayor volumen y concentración de espermatozoides, que en su primer periodo de puesta, Gjerde (1984), señala en salmón Atlántico y en trucha arcoíris, una correlación positiva entre el volumen de semen producido y el tamaño del reproductor, en términos de peso y talla.

El tiempo de actividad flagelar de los espermatozoides, está dentro del rango observado para peces que desovan en agua marina. Así, en la lubina es de 0,5-1 minuto (Dreanno *et al.*, 1999), en halibut es de 1-2 minutos (Billard *et al.*, 1993), en la merluza (*Merluccius merluccius*) oscila entre 11 y 13,5 minutos (Cosson *et al.*, 2008), en rodaballo es de 10-13,5 minutos (Dreanno *et al.*, 1999). El tiempo de actividad flagelar, es más largo en peces que desovan en agua salada que los que lo hacen en agua dulce (Ginzburg 1972, Billard *et al.*, 1995). En la trucha arcoíris es de 0,15-0,30 minutos, en el lucio (*Esox lucius*) es de 0,30-1 minutos (Billard, 1986), y en la carpa común de 0,40-1 minuto (Billard *et al.*, 1986).

La única especie de la familia Scienidae, con puestas espontáneas en cautividad es el corvino ocelado (Davis, 1990, Dao, 2002). El resto de las especies de Esciénidos, incluyendo la corvina, a pesar de presentar excelentes condiciones para el cultivo, necesitan de la inducción de la puesta mediante tratamientos hormonales (Cardenas, 2010). En nuestro experimento, no se obtuvieron puestas en los grupos control sin inducir. Tampoco controles sin inducir, de reproductores salvajes de esta misma especie tuvieron puesta (Grau *et al.*, 2007). En este mismo sentido Mylonas *et al.* (2004b) tampoco obtienen puestas en los controles, inyectados con una solución salina, de verrugato. Basaran *et al.* (2009) tampoco obtienen puestas en los controles no inducidos de verrugato. Los controles sin inducir del mero moreno, no tuvieron puestas (Marino *et al.*, 2003). Agulleiro *et al.* (2006), no obtienen puestas en los controles inyectados con una solución salina, de reproductores de lenguado senegalés.

En nuestro caso, todas las hembras que se inyectaron tuvieron puesta, también Fernández-Palacios *et al.* (2009), obtienen puestas en todas las hembras inyectadas con 10, 20, 30, 40 y 50 $\mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$ de GnRH α . Por el contrario, Thomas y Boyd (1989), no obtienen puestas en todas las hembras, de la corvina pintada inyectadas con diferentes dosis de LHRH α . En este mismo sentido Libertini *et al.* (1998), solo obtienen puestas en el 69% de los grupos de reproductores de verrugato, inducidos con GnRH α .

Mikolajczyk *et al.* (2008), obtienen puestas en todos los reproductores del timalo (*Thymallus thymallus*) inyectados con dosis de 16, 32 y 48 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ del análogo de la GnRH GonazonTM. Ritar y Pribadi (2006) obtienen puestas en todos los reproductores de la nacar australiana (*Cheilodactylus spectabilis*) implantados con 100, 200 y 400 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ de LHRH α .

El periodo de latencia, hasta la primera puesta osciló entre la 30 y 32 horas y media, y es muy similar al señalado para otras especies de la familia Sciaenidae. Así, Battaglione y Talbot (1994), señalan un periodo de latencia de 30-35 horas en reproductores de corvina del Sur, inducidos con hGC. El mismo periodo de latencia, ha sido observado en puestas inducidas con diferentes dosis de LHRH, en reproductores de corvina pintada, corvino ocelado y corvina de boca amarilla (*Cynoscion xanthulus*) (Thomas y Boyd, 1988). Un periodo de latencia de 24-36 horas, en puestas inducidas de reproductores de corvino brasileño (*Micropogonias undulatus*), ha sido observado por Gwo *et al.* (1993).

Sin embargo, periodos más cortos de 28 ± 3 y de $22,5\pm 3$, han sido indicados por Gardes *et al.* (2000), para reproductores de corvinón ocelado, inyectados con 20 y $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de LHRHa. Y otros más largos de 70 a 90 horas han sido señalados en puestas inducidas de reproductores de verrugato (Basaran *et al.*, 2009).

En otras familias se han observado varios rangos de periodos de latencia, entre 24-48 horas en puestas inducidas mediante GnRHa en anchoveta peruana (*Engraulis ringens*) (Espinoza *et al.*, 2010), o entre 20-21 horas en puestas inducidas mediante sGTH, en anguila del Japón, (*Anguilla japonica*) (Sato *et al.*, 2000). También, se observaron diferencias en los periodos de latencia de lenguado senegalés, dependiendo del método de inducción utilizado, 32 horas para la inyección, y de 37 a 39 horas para los implantes (Agulleiro *et al.*, 2006). Weirich y Riley (2007), observaron en hembras de pámpano amarillo (*Trachinotus carolinus*), inducidas mediante implantes de GnRHa, periodos de latencia de 30 a 36 horas.

En cuanto al periodo de latencia hasta la segunda puesta, es semejante al obtenido para la primera puesta de reproductores salvajes de esta misma especie, inyectados con $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$, por Duncan *et al.* (2007) que fue de unas 60 horas, este periodo de latencia fue prácticamente el doble que el obtenido por nosotros para la primera puesta. Esto podría ser debido a que en el trabajo de Duncan *et al.* (2007), se utilizaron reproductores salvajes, recién pescados en el Algarve (Portugal), y trasladados por carretera hasta las instalaciones de IRTA (Tarragona, España), mientras que en nuestro caso los reproductores estaban acondicionados en nuestras instalaciones desde hacía 5 años, y ya habían sido inducidos en periodos de puesta anteriores. La captura y el manejo de peces silvestres pueden retrasar la maduración final y la ovulación incrementándose el periodo de latencia (Bromage, 1995).

En nuestro trabajo, la correlación negativa entre dosis y periodo de latencia, tanto en la primera puesta como en la segunda, parece mostrar una clara interacción entre la dosis inyectada y la respuesta fisiológica de la corvina, a mayor dosis de GnRHa se obtiene un más rápida respuesta en la obtención de la puesta. En el mismo sentido, Wang *et al.* (2010) encuentran diferencias significativas en el periodo de latencia de yellow catfish (*Pelteobagrus fluvidraco*), inyectados con 10, 20, 40 y $80 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de GnRHa, existiendo además una correlación negativa significativa entre la dosis empleada y el periodo de latencia.

También Boza-Abarca *et al.* (2011) señalan una disminución del periodo de latencia a medida que aumenta la dosis de hGC en puestas inducidas del pargo lunarejo.

Nosotros encontramos diferencias estadísticamente significativas en los periodos de latencia, tanto hasta la primera como hasta la segunda puesta. Estos datos contrastan con otros estudios, por ejemplo en esta misma especie, Fernández-Palacios *et al.* (2009), no encuentran diferencias estadísticamente significativas en el periodo de latencia de reproductores inyectados con dosis de 10, 20, 30, 40 y 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de GnRHa. En silver perch (*Bydianus bidyanus*) no se encontraron diferencias significativas en el periodo de latencia de reproductores inducidos con dosis de 10, 20, 30 y 40 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de GnRHa (Levavi-Sivan *et al.* 2004).

El mayor porcentaje de puestas corresponde a la dosis de 15 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, existiendo diferencias significativas con el resto de las dosis ensayadas. Se encontró una correlación polinomial significativa ($p < 0.05$), entre la dosis empleada y el porcentaje de puestas. En este mismo sentido García (1989), trabajando con reproductores de la perca gigante, inyectados con dosis de 37.5, 75, 150 y 300 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de LHRHa, encuentra diferencias significativas en el porcentaje de puestas, e indican un mayor porcentaje de puestas en los peces inyectados con la dosis intermedia de 75 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Por el contrario Cerqueira y Canarin (2007) señalan un mayor porcentaje de puestas con dosis altas que con bajas en puestas de hembras de robalo chucumite (*Centropomus parallelus*) inyectados con dosis de 15, 35 y 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de LHRHa.

Respecto a los índices de la calidad de la puesta, los mejores resultados se obtienen con los reproductores inducidos con 15 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, siendo el porcentaje de huevos viables el único índice dónde se observan diferencias estadísticamente significativas. Estos datos coinciden con los señalados por Fernández-Palacios *et al.* (2009), que también encuentran diferencias significativas en el porcentaje de huevos viables, en reproductores de esta especie inducidos con 10, 20, 30, 40 y 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de GnRHa. En ese estudio se obtuvo la mejor calidad de puesta con la dosis de 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, y se señala que la dosis óptima para la mayor producción de semilla debiera estar entre 10 y 30 $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

El porcentaje de huevos viables obtenido, con las dosis de $15 \mu\text{g.kg}^{-1}$, es mayor que el obtenido por Grau *et al.* (2007), en corvinas salvajes inyectadas con una dosis de $0,50 \text{ ml.kg}^{-1}$ de Ovaprim. Barbaro *et al.* (1997) señalan un mayor porcentaje de huevos viables, en reproductores de dorada inyectados con una dosis de $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de longactin GnRH α , que los inyectados con dosis de 40 y $80 \mu\text{g.kg}^{-1}$, indicando diferencias significativas entre los obtenidos con 20 y $80 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Agulleiro *et al.* (2006), utilizando dosis de 1, 5, $30 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de GnRH en lenguado senegalés observaron que la dosis óptima, para la obtención de un mayor porcentaje de huevos viables fue la intermedia. En pargo lunarejo se ha observado que los implantes de $25 \mu\text{g.kg}^{-1}$ producen mejores resultados que los de 50 y de $100 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Ibarra-Castro y Duncan, 2007).

Los resultados obtenidos en nuestro experimento, coinciden con los reportados por Fernández-Palacios *et al.* (2009), con esta misma especie, donde indican que dosis tanto bajas como altas, pueden ocasionar un deterioro de la calidad de la puesta. En general, la tendencia a la reducción de calidad de huevos con altas dosis (García, 1989), puede ser explicada por la aceleración del desarrollo de los oocitos, proporcionalmente a la dosis empleada, implicando una puesta anticipada y una reducción en la calidad de los huevos Mylonas *et al.* (1992).

Aunque los porcentajes de huevos fecundados, eclosión y larvas con el saco vitelino reabsorbido fueron más elevados con las dosis de $15 \mu\text{g.kg}^{-1}$, no se encontraron diferencias significativas con las dosis más altas o más bajas. Gardes *et al.* (2000), también encuentran mejores resultados en los porcentajes de fecundación, eclosión y supervivencia larvaria, en puestas de corvinón ocelado inyectados con $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$, que en los inyectados con $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de LHRH α . Wang *et al.* (2009) tampoco encuentran diferencias significativas, en los porcentajes de fecundación y de eclosión en reproductores del misgurno de Asia (*Misgurnus anguillicaudatus*) inyectados con GnRH α en dosis de 10, 20, 40 y $60 \mu\text{g.kg}^{-1}$. En este mismo sentido Yang y Chen (2004), no encuentran diferencias significativas en los porcentajes de fecundación y eclosión, en puestas de reproductores del obscure puffer (*Takifugu obscurus*), inyectados con dosis de 40, 60 y $80 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de LHRH α . Tampoco Nazari y Ghomi (2010), encuentran diferencias significativas, en los porcentajes de fecundación y supervivencia larvaria hasta la reabsorción, en puestas del Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) inyectados con dosis crecientes de 3, 5, 7, 8 y $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de LHRH-A $_2$.

El porcentaje de fertilización es un índice importante para mostrar la sincronización entre machos y hembras. Los porcentajes obtenidos en este estudio (93-99%), son similares a los obtenidos para puestas de reproductores nacidos en cautividad, de esta misma especie por Fernández-Palacios *et al.* (2009), para la corvina pintada por Thomas y Boyd (1989), y para el verrugato (Libertini *et al.* 1998).

Y son bastante altos en comparación con otros experimentos, en los cuales se utilizaban métodos de inducción hormonal, en la misma especie Duncan *et al.* (2012), encontraron fertilizaciones que no superan el 70 %, en reproductores salvajes de corvina, implantados con una dosis de 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, o inyectados con 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. En corvinón brasileño, inducido con LHRHa este porcentaje es del 56% (Sink *et al.*,2010).

La tasa de eclosión, que varió en nuestro trabajo, entre 85 y 95%, fue ligeramente superior que la señalada por Fernández-Palacios *et al.* (2009), para esta misma especie, en puestas inducidas de reproductores nacidos en cautividad, y que osciló entre el 61 y 90 %, y más alta en comparación con datos publicados por Cárdenas *et al.* (2009), sobre esta misma especie, usando diferentes dosis de sGnRH y lGnRH. En verrugato, se ha observado una tasa de eclosión variable entre 45 y 95% según el experimento y el tipo de GnRH usado (Barbaró *et al.*, 2002; Mylonas *et al.*, 2004b).

La tasa de supervivencia de las larvas que todavía no se han alimentado del exterior, tal como ocurre a los 3 días (apertura de la boca), puede ser un indicador de calidad muy útil, esto es debido a que puede indicar el potencial de supervivencia intrínseco de la larva (Giménez *et al.*, 2006). En este trabajo el porcentaje de larvas con el saco vitelino reabsorbido supera en todas las dosis ensayadas el 80%, y es muy superior al obtenido en otras especies, en el verrugato Mylonas *et al.* (2004b) observaron una tasa de supervivencia a los 4 días entre 46 y 80 %. En la misma familia de los Esciénidos, en el corvinón brasileño, Sink *et al.* (2010), encontraron una tasa aun más baja del 37%.

En cuanto a las producciones de los grupos experimentales, las mayores en todos los parámetros controlados: número de huevos, número de huevos fecundados, número de huevos viables, número de larvas nacidas y número de larvas con el saco vitelino reabsorbido, por kg de hembra y por puesta, corresponden a las puestas de los reproductores inyectados con la dosis de 15 $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

Levavi-Sivan *et al.* (2004) indican una mayor volumen de huevos por kg de hembra del silver perch, cuando son inyectadas con dosis de $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$, que cuando lo son dosis de 20, 30 y $40 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de GnRH α . En este mismo sentido, Bertotto *et al.* (2006) indican una producción de casi el doble de huevos, en puestas de reproductores de lenguado inyectados con $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de longactin GnRH α , que los inyectados con $40 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

Por el contrario, Luckenbach y Sullivan (2004) señalan una fecundidad total creciente en reproductores de lenguado de Florida con implantes de 4, 20 y $100 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de GnRH α . Berlinsky *et al.* (2005), obtienen una mayor fecundidad relativa en puestas del serrano estriado (*Centropristis striata*) inyectados con $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$ que cuando lo son con $100 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de LHRH α .

La fecundidad relativa obtenida con la dosis de $15 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (123.517 huevos), fue más del doble de la obtenida (50.208 huevos) en la hatchery del IFAPA, Puerto de Santa María (Cádiz, España), inyectando reproductores salvajes de esta misma especie con $150 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de hormonas liberadoras (LHRH). Y de casi el cuádruple, que la obtenida (32.246 huevos) en la hatchery del LIMIA en Port d'Andratx (Mallorca, España), inyectando reproductores salvajes de esta misma especie con 0.5ml.kg^{-1} de Ovaprim. La fecundidad relativa de todos los grupos experimentales, del presente experimento, fue mayor que la obtenida en la hatchery del LIMIA (Cárdenas *et al.*, 2008). Por el contrario, la fecundidad relativa más alta obtenida en el presente experimento, es menor que la indicada por Duncan *et al.* (2007), para reproductores salvajes de esta misma especie inyectados con $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de GnRH α (200.340 huevos), o con implantes de GnRH α de $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (282.430 huevos).

En lo que se refiere a la producción por kg de hembra y por inyección, el obtenido con la dosis de $15 \mu\text{g.kg}^{-1}$ es casi el triple que el obtenido inyectando reproductores salvajes de esta misma especie con 0.5ml.kg^{-1} de Ovaprim, el obtenido con todos los grupos del presente experimento, excepto el inyectado con $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$, fue mayor que el señalado para reproductores salvajes de corvina inyectados con $0.15 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de GnRH α (Grau *et al.*, 2007). En este mismo sentido García (1989) obtiene una mayor producción por inyección en puestas de reproductores de perca gigante inyectados con una dosis de $75 \mu\text{g.kg}^{-1}$ que los inducidos con 37,5, 150 o $300 \mu\text{g.kg}^{-1}$.



CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1. En este estudio se ha demostrado, a diferencia de lo que sucede con otras especies, la posibilidad de obtener puestas viables inducidas, con reproductores nacidos en cautividad (Generación F1).
2. En nuestro estudio, no hubieron 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 las diferencias dosis de GnRHa ensayadas.
3. Hembras con oocitos con diámetro superior a las 500 μ son aptas para la inducción hormonal y obtención de puestas viables.
4. En nuestro experimento, no se obtuvieron puestas en los grupos control sin inducir, lo que indica que es necesario inducir hormonalmente los reproductores de corvina, para la producción en el Mediterráneo y Canarias de semilla de corvina, y contribuir así a la diversificación de las especies cultivadas.
5. Este estudio ha demostrado que la inducción hormonal con GnRHa, es una herramienta útil para la obtención de puestas viables de la corvina. Todas las hembras inyectadas han tenido puesta, existiendo una relación polinomial, entre el número de puestas obtenido por inyección y la dosis empleada.
6. El periodo de latencia (periodo de tiempo transcurrido entre la inyección y el momento de la puesta o puestas) es inversamente proporcional a la dosis utilizada.

7. La dosis de $15 \mu\text{g.kg}^{-1}$, ha sido la más efectiva de las ensayadas en este trabajo, en lo que se refiere a los índices de calidad de las puestas, encontrándose relaciones polinomiales significativas, entre la dosis ensayada y los porcentajes de huevos viables y de huevos fecundados.

8. La dosis de $15 \mu\text{g.kg}^{-1}$, ha sido la más efectiva de las ensayadas en este trabajo, en lo que se refiere a las producciones de huevos, huevos fecundados, huevos viables, larvas eclosionadas y larvas con el saco vitelino reabsorbido por kg de hembra, tanto por puesta como por inyección.

7. BIBLIOGRAFÍA

Aas, G.H., Refstie, T. y Gjerde, B. 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture* 95, 125-132.

Abreu, N., Socorro, J., Betancor, M., Caballero, M.J., Fernández-Palacios, H., Hernández-Cruz, C.M., Roo, J. y Schuchardt, D. 2009. Nuevas aportaciones al estudio de la organogénesis en larvas de corvina (*Argyrosomus regius* Asso, 1801). En D. Beaz, M. Villaroel y S. Cradenas (Eds): Madrid, España. *Actas del XII Congreso Nacional de Acuicultura*, 510-511.

Aburto, G.A. 2005. Estimación de los parámetros ecofisiológicos críticos (oxígeno y amonio) para la determinación de la capacidad de carga en el cultivo de juveniles de corvina (*Cilus gilberti*). Tesis de Grado, Universidad Católica de Temuco, Chile, 76 pp.

Agulleiro, M.J., Anguis, V., Cañavate, J.P., Martínez-Rodríguez, G., Mylonas, C.C. y Cerdà, 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.

Alavi, S.M.H., Rodina, M., Policar, T., Kozak, P., Psenicka, M. y Linhart, O. 2007. Semen of *Perca fluviatilis*: sperm volume and density, seminal plasma indices and effects of dilution ratios and osmolality on sperm motility. *Theriogenology* 68, 273-283.

Alvariño, J.M.R., Carrillo, M., Zanuy, S., Prat, F. y Mañanós, E. 1992. Pattern of sea bass oocyte development after ovarian stimulation by LHRHa. *Journal of Fish Biology* 41, 965-970.

APROMAR. 2004. La acuicultura marina de peces en España. 27pp.

APROMAR. 2009. La acuicultura marina de peces en España. 68pp.

APROMAR. 2010. La acuicultura marina de peces en España. 69pp.

APROMAR. 2011. La acuicultura marina de peces en España. 77pp.

Arabaci, M., Diler, I. y Sari, M. 2004. Induction and synchronisation of ovulation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by administration of emulsified buserelin (GnRHa) and its effects on egg quality. *Aquaculture* 237, 475-484.

Aristizabal, E., Suárez, J., Vega, A. y Bargas, R. 2009. Egg and larval quality assesement in the Argentinian Red porgy (*Pagrus pagrus*). *Aquaculture* 287, 329-334.

Arizcun, M., Abellán, E. y García-Alcázar, A. 2009. Primeros resultados sobre reproducción y cultivo larvario de verrugato (*Umbrina cirrosa* L.). En D. Beaz, M. Villaroel y S. Cardenas (Eds.): Madrid, España. *Actas del XII Congreso Nacional de Acuicultura*, 518-519.

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. Valencia, España, 251 pp.

Barbaro, A., Francescon, A., Bozzato, G., Merlin, A., Belvedere, P. y Colombo, L. 1997. Induction of spawning in gilthead seabream *Spaurus aurata* by long-acting GnRH antagosnist and its effects on egg quality and daily timing and spawning. *Aquaculture* 154, 349-359.

Barbaro, A., Francescon, A., Bertotto, D., Bozzato, G., Di maria, I., Patarnello, P., Furlan, F. y Colombo, L. 2002. More efective induction of spawning with long-acting GnRH agonista in the shi drum, *Umbrina cirrosa* L. (Sciaenidae, Teleostei), a valuable candidate for Mediterranean mariculture. *Journal of Applied Ichthyology* 18, 192-199.

Bartley, D.M. 1993. An application of international codes of practice on introductions of aquatic organisms: assessment of a project on the use of Chinese carps in Mozambique. *FAO Fisheries Circular N° 863*, 21pp.

Bartley, D. M. 1998. Notes on biosafety and aquatic ecosystems. *FAO Aquaculture Newsletter* 19, 23–25.

Basaran, F., Muhtaroglu, C.G., Özden, O. y Özkizilcik, S. 2009. Spawning behaviour of shi drum (*Umbrina cirrosa*) after hormone administration. *Journal of Fisheries Science* 32, 124–133.

Bastardo, H., Guedez, C. y León, M. 2004. Características del semen de trucha arco iris de diferentes edades, bajo condiciones de cultivo en Mérida, Venezuela. *Zootecnia Tropical* 22, 277-288.

Basurco, B. y Abellan, E. 1999. Finfish diversification in the context of Mediterranean Marine fish farming development. In Abellan, E., Basurco, B. (Eds), *Marine Finfish Diversification: Current Status and Prospects in Mediterranean Aquaculture. Options Méditerranéennes, Serie B n° 24*, 9-25.

Battaglione, S.C. y Talbot, R.B. 1994. Hormone induction and larval rearing of mullet *Argyrosomus hololepidotus* (Pisces: Sciaenidae). *Aquaculture* 126, 73-81.

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.

Berlinsky, D., King, W., Hodson, R. y Sullivan, C. 1997. Hormone induced spawning of summer flounder *Paralichthys dentatus*. *Journal of World Aquaculture Society* 28, 79–86.

Berlinsky, D.L., King, W. y Smith, T.I.J. 2005. The use of luteinizing releasing hormone analogue for ovulation induction in black sea bass (*Centropristis striata*). *Aquaculture* 250, 813-822.

Bernatzeder, A. y Britz, P.J. 2007. Temperature preference of juvenile dusky kob *Argyrosomus japonicus* (Pisces: Sciaenidae). *African Journal of Marine Science* 29, 539–543.

Bertotto, D., Barbaro, J., Francescon, A., Richard, J., Libertini, A. y Barbaro, A. 2006. Induced spawning in common sole (*Solea solea* L.). *Aquaculture Research* 37, 423-427.

Billard, R. 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reproduction Nutrition Development* 26, 877-920.

Billard, R. 1988. Artificial insemination and gamete management in fish. *Marine Behavior Physiology* 14, 3-21.

Billard, R. 1989. Endocrinology and fish culture. *Fish Physiology and Biochemistry* 7, 49–58.

Billard, R. y Breton, B. 1985. Control of reproduction and fish farming. In: Lofts B, Holmes WN (eds). *Comparative endocrinology*. Hong Kong, Hong Kong University Press, 1221–1229.

Billard, R. y Cosson, M.P. 1988. Sperm motility in rainbow trout, *Parasalmo mykiss*: effect of pH and temperature. *Les Collegues de l'INRA* 44, 161-167.

Billard, R., Weil, C. y Barnabe, G. 1983. Induction de l'ovulation et stimulation de la spermiation par le LHRH ou un analogue de LHRH associe ou non au pimozide chez quelques espe`ces de poissons teleosteens. Bases Biologiques de l'Aquaculture. Montpellier. *IFREMER. Acte de Colloques* 1, 321–332.

Billard, R., Gatty, J.L., Hollebecq, M., Marcel, J. y Saad, A. 1986. Biology of gametes eggs and embryos. In: R. Billard, J. Marcel eds. *Aquaculture of Cyprinids*. INRA. 151-163.

Billard, R., Cosson, J. y Crim, W. 1993. Motility of fresh and aged halibut sperm. *Aquatic Living Resources* 6, 67-75.

Billard, R., Cosson, G., Perchec, G. y Linhart, O. 1995. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture* 129, 95-112.

Bonaldo, A., Parma, L., Badiani, A., Serratore, P. y Gatta, P.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.

Boza-Abarca, J., Valverde-Chavarría, S., Calvo-Vargas, E., Ramírez-Alvarado, M. y Rodríguez-Gómez, E. 2011. Hormone- induced spawning of wild and captive-grow spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* using carp pituitary suspensión and human chorionic gonadotropin. *Ciências Marinas* 37, 125–139.

Breton, B., Micolajczyk, T., Poppek, W., Bienarz, K. y Epler, P. 1991. Neuropeptide Y stimulates in vitro gonadotropin secretion in teleost fish. *General and Comparative Endocrinology* 84, 277–283.

Bromage, N.R. 1995. Broodstock management and seed quality-general considerations. In: N.R. Bromage and R.J Roberts (Eds.), *Broodstock management and egg and larval quality*. Blackwell Science Ltd., Oxford, 1–24.

Bromage, N., Jones, J., Randall, C., Trush, M., Davies, B., Springate, J., Duston, J. y Barker, G. 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of 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.

Büke, E., Akpınar, Z., Ayekin, B. y Dereli, H. 2005. Spawning performance and Larval rearing of Red Porgy (*Pagrus pagrus*) under culture conditions. *E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 22, 303-309.

Butts, I.A.E., Trippel, E.A. y Litvak, M.K. 2009. The effect of sperm to egg ratio and gamete contact time on fertilization success in Atlantic cod *Gadus morhua* L. *Aquaculture* 286, 89-94.

Buyukhatipoglu, S. y Holtz, W. 1984. Sperm output in rainbow trout (*Salmo gairdneri*): effect of age, timing and frequency of stripping and presence of females. *Aquaculture* 37, 63-71.

Cabrita, E., Soares, F. y Dinis, M.T. 2006. Characterization of Senegalese sole, *Solea senegalensis*, male broodstock in terms of sperm production and quality. *Aquaculture* 261, 967-975.

Campbell, P.M., Pottinger, T.G. y Sumpter, J.P. 1992. Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. *Biology Reproduction* 47, 1140–1150.

Cárdenas, S. 2010. Crianza de la corvina (*Argyrosomus regius*). Fundación Observatorio Español de Acuicultura Consejo Superior de Investigaciones Científicas Ministerio de Medioambiente y Medio Rural y Marino. 96pp.

Cárdenas, S., Duncan, N., Pastor, E., Fernández-Palacios, H., Rodríguez-Rúa, A., Estévez, A., Grau, A. y Schuchardt, D. 2008. Meagre (*Argyrosomus regius*) broodstock management in the spanish r&d Project ‘‘ Planacor’’ (Jacumar): *European Aquaculture Society Special Publication 37*, 126-127.

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. En Norberg, B., Kjesbu, O.S., Taranger, G.L., Andersson, E., Stefansson, S.O. (Eds): Bergen, Norway. *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.M. 2001. Changes of lysosomal enzyme activities in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) eggs and developing embryos. *Aquaculture*, 202, 249–256.

Carrillo, M., Bromage, N.R., 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., Cerda, J., Ramos, J., Mañanos, E. y Bromage, N. 1995. Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). In: Bromage N, Roberts FJ (eds). *Broodstock management and egg and larval quality*. Blackwell Science Ltd, Cambridge, UK, 138–168.

Caruso, G., Caruso, R., Denaro, M.G. y Genovese, L. 2011. Non-Specific immune parameters in some new candidate species for Mediterranean aquaculture: Results of first Studies. *The Open Marine Biology Journal* 5, 3–11.

Catalán, I.A., Jiménez, M.T., Alconchel, J.I., Prieto, L. y Muñoz, J.L. 2006. Spatial and temporal changes of coastal demersal assemblages in the Gulf of Cadiz (SW Spain) in relation to environmental conditions. *Deep-Sea Research II* 53, 1402–1419.

Cerqueira, V.R. y Canarin, M. 2007. Multiple spawning of the fat snook *Centropomus parallelus* using different dosages of LHRH. In: Roudaut G, Labbe' C, Bobe J (eds): Saint-Malo, France. *Abstract Book of the 8th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish*, p 331.

Chao, L.N. 1986. Sciaenidae. In : P.J.P. Whitehead, M.L. Bauchot, J.C. Hureau, J. Nielsen y E. Tortonese (eds.) *Fishes of the north-eastern Atlantic and the Mediterranean*. Volumen 2. Unesco, Paris. 865-874.

Chatzifotis, S., Villamor, A., Limberis, N., Papandroulakis, N. y Divanach, P. 2006. First data on growth of cultured brown meagre *Sciaena umbra* using diets with different protein and fat contents. *Fisheries Science* 72, 83–88.

Chen, X.H., Liu, K.B. y Wang, X.W. 2003. Outbreaks of an iridovirus in maricultured large yellow croaker, *Larimichthys crocea* (Richardson) in China. *Journal of Fish Diseases* 26, 615-619.

Ciereszko, A. y Dabrowski, K. 1993. Estimation of sperm concentration of rainbow trout, whitefish and yellow perch using spectrophotometric technique. *Aquaculture* 109, 367-373.

Claki, S., Dincer, T., Cadun, A., Saka, S. y Firat, K. 2006. Nutrient content comparison of the new cultured species brown meagre (*Sciaena umbra*). *Archive fur Lebensmittelhygiene* 57, 80–84.

Conceição, L., Cabrita, L., Engrola, S., Lacuisse, M., Pousão-Ferreira, P. y Dinis, M.T. 2008. Hormonal induction of Atlantic dusky grouper (*Ephinephelus marginatus*) broodstock. *Cybium* 32, 324-325.

Copeland, P. A. y Thomas, P. 1993. Isolation of gonadotropin subunits and evidence for two distinct gonadotropins in Atlantic Croaker (*Micropogonias undulatus*). *General and Comparative Endocrinology* 91, 115–125.

Corriero, A., Medina, A., Mylonas, C.C., Bridges, C.R., Santamaria, N., Deflorio, M., Losurdo, M., Zupa, R., Gordin, H., de la Gándara, F., Belmonte Ríos, A., Pousis, C. y De Metrio, G. 2009. Proliferation and apoptosis of male germ cells in captive Atlantic bluefin Tuna (*Thunnus thynnus*) treated with gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa). *Animal Reproduction Science* 116, 346-357.

Cosson, J., Groison, A.L., Suquet, M., Fauvel, C., Dreanno, C. y Billard, R. 2008. Studing sperm motility in marine fish: an overview on the state of the art. *Journal of Applied Ichthyology* 24, 460-486.

Craik, J.C.A. y Harvey, S.M. 1984. Egg quality in rainbow trout: The relation between egg viability, selected aspects of egg composition, and time of stripping. *Aquaculture* 40, 115 –134.

Crim, L.W. y Geble, B.D. 1984. Advancement and synchrony ovulation in Atlantic Salmon with pelleted LHRH analog. *Aquaculture* 43, 47–56.

Crim, L.W., Sherwod, N.M. y Wilson, C.E. 1988. Sustained hormone release. II. Effectiveness of LHRH analog (LHRHa) administration by either single time injection or cholesterol pellet implantation on plasma gonadotropin levels in a bioassays model fish, the juvenile rainbow trout. *Aquaculture* 74, 87–95.

Cruz, W., Grau, A., Pastor, E., Crespo, S. y Sala, R. 2007. Desarrollo ontogénico de la larva de corvina (*Argyrosomus regius*): estudio preliminar. En A. Cerviño, A. Guerra y C. Perez (Eds): Vigo. España. *Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura*, 24–28.

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.

Dao, J.C. 2003. Aquaculture development of red drum (*Sciaenops ocellatus*) in Martinique and the French West Indies. *FAO Fisheries Report* 704, 74–85.

Davis, J.T. 1990. Red drum. Broodstock and hatchery production. *SRAC Publication* 323, 1-4.

Davy, F.B. y Chouinard, A. 1980. Induced breeding in South East Asia. Report of a workshop held in Singapore IDRC-178e. 48pp.

Denson, M.R., Smith, T.I.J. 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 2001*, 181-182.

Devauchelle, N. 1983. Reproduction décalée du bar (*Dicentrarchus labrax*) et de la daurade (*Sparus aurata*). In: *L'Aquaculture du bar et des Sparidés*. G. Barnabé, R. Billard Eds., INRA Publications, Paris, 53–62.

Donaldson, E.M. 1997. The role of biotechnology in sustainable aquaculture. In: Bardach, J.E. (Ed). *Sustainable aquaculture*. New York: John Wiley & Sons. 101–126.

Donaldson, E.M. y Hunter, G.A. 1983. Induced final maturation, ovulation and spermiation in cultured fishes. In: Hoar WS, Randall dJ, donaldson EM (eds). *Fish Physiology and Reproduction*. Vol. 9B. Academic Press, Orlando, USA, 351–403.

Donaldson, K., Beswick, P.H. y Gilmour, P.S. 1996. Free radical activity associated with the surface of particles: A unifying factor in determining biological activity. *Toxicology Letters* 88, 293–298.

Dooley, J.K., Van Tasell, J., y Brito, A.1985. An Annotated Checklist of the Shore Fishes of the Canary Islands. *American Museum Novitates*, 2824, 1-49.

Dreanno, C., Cosson, J., Suquet, M., Seguin, F., Dorange, G. y Billard, R. 1999. Nucleotides content, oxidative phosphorylation, morphology and fertilizing capacity of turbot (*Psetta maxima*) spermatozoa during the motility period. *Molecular Reproductive Development* 53, 230-243.

Duncan, N.2008. Memoria Científico Técnica del Proyecto “ Investigación del control de la reproducción de la reproducción de la corvina (*Argyrosomus regius*) mantenida en cautividad”. RTA-2008-00107-00-00. 32 pp.

Duncan, N., Estévez, A. y Mylonas, C.C. 2007. Efecto de la inducción hormonal mediante implante o inyección de GnRHa en la cantidad y calidad de puestas de corvina (*Argyrosomus regius*). En A. Cerviño, A. Guerra y C. Perez (Eds.): Vigo, España. *Libro de Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura*, 731-734.

Duncan, N., Estévez, A., Porta, J., Carazo, I., Norambuena, F., Aguilera, C., Gairin, I., Bucci, F., Valles, R. y Mylonas, C.C. 2012. Reproductive development, GnRHa-induced spawning and egg quality of wild meagre (*Argyrosomus regius*) acclimatised to captivity. *Fish Physiology and Biochemistry*, DOI 10.1007/s10695-012-9615-3.

Edwards, D.J. 1978. Salmon and trout farming in Norway. Fishing News Books Limited, Farnham, Surrey, England. 195pp.

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.

Espinoza, C., Perea, A., Buitrón, B., Cisneros, P., Catcoparco, C., Alberro, A. y Vizziano, D. 2010. Inducción del desove y espermiación de anchoveta peruana *Engraulis ringens* (Jenyns, 1842) en cautiverio mediante la inyección de un análogo de GnRH. *Latino American Journal Aquatic Research* 38, 234-241.

Estay, F., Cerisola, H. y Téllez, V. 1994. Biología del desarrollo y reproducción artificial en la trucha arcoiris. CONICYT-FONDEF, *Serie Publicaciones para la Acuicultura* N° 1, 28 pp.

Estay, F., Díaz, N., Neira, R. y García, X. 1995a. Reproductive performance of cultured female coho salmon in Chile. *The Progressive Fish- Culturist* 59, 36–40.

Estay, F., Díaz, N., Valladares, L. y Dazarola, G. 1995b. Manejo reproductivo de salmónidos. CONICYT-FONDEF, *Serie Publicaciones para la Acuicultura* N° 2, 61 pp.

Estay, F.J., Ronco, A.M. y Cáceres, L.G. 1996. Respuesta ovulatoria y niveles séricos de GtH II alcanzados en hembras de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) inducidas a ovular con GnRH_a d-Ala₆. *Archivos de Medicina Veterinaria* 38, 73–78.

Estévez, A. 1991. Reproducción en peces cultivados. Editorial Clave-A Coruña. España. 36 pp.

FAO.2002. The State of World Fisheries and Aquaculture. Fisheries Department, Fishery information, Data and Statistics FISHSTAT Plus: Universal software for Fishery Statistical time series. Version 2.3. 2000. Data Sets: Aquaculture production.

FAO.2005a. The State of World Fisheries and Aquaculture. Fisheries Department, Fishery information, Data and Statistics FISHSTAT Plus: Universal software for Fishery Statistical time series. Version 2.3. 2000. Data Sets: Species Aquaculture production: quantities and values 1980 – 2005.

FAO.2005b. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Argyrosomus regius*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Stipa, P; Angelini, M In: FAO Fisheries and Aquaculture Department (Online). Rome. Updated 10 February 2005. (Cited 24 713 September 2011). http://fao.org/fishery/culturedspecies/Argyrosomus_regius/en.

FAO. 2010. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2010 (SOFIA) 242 pp.

FAO.2011. Fisheries Department, Fishery information, Data and Statistics Unit FISHSTAT Plus: Universal Software for Fishery Statistical time series. Version 2.3. 2000. Data Sets: Aquaculture production quantities and values 1950 – 2009; Capture production 1950 –2009.

Faulk, C. K., Kaiser, J. B. y Holt, G. J. 2007. Growth and survival of larval and juvenile coibia *Rachycentron canadum* in a recirculating raceway system. *Aquaculture* 270, 149–157.

FEAP 2011. Federation of European Aquaculture Producers. Production report by FEAP Members (2002 -2010), 58 pp.

Fernández-Delgado, C., Drake, P., Arias, A.M. y García-González, D. 2000. Peces de Doñana y su entorno. Ministerio de Medio Ambiente. Madrid. 272 pp.

Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M.S. y Robaina, L. 2005. Efecto de distintas dietas para reproductores de dorada (*Spaurus aurata*) sobre la calidad de sus puestas. *Informes Técnicos del Instituto Canario de Ciencias Marinas*, nº 12, 200 pp.

Fernández-Palacios, H., Schuchardt, D., Roo, J., Hernández, C.M. y Duncan, N. 2009. Eficacia de la inducción hormonal con distintas dosis de GnRH α en corvina (*Argyrosomus regius*). En: D. Beaz, M. Villaroel y S. Cardenas (Eds): Madrid, España. *Actas del XII Congreso Nacional de Acuicultura*, 556-557.

Fernández-Palacios, H., Schuchardt, D., Roo, J., Hernández-Cruz, C.M. y Duncan, N. 2011. Effect on the spawning quality in broodstock of meagre (*Argyrosomus regius*) induced with different dosis of GnRH α . In: Aquaculture Europe, 2011. *European Aquaculture Society* (Rhodes, Greek), 290-292.

Firat, K., Saka, S. y Suzer, C. 2005. Gonadal oocyte development in LHRH hormone treated Europeann Sea Bas (*Dicentrarchus labrax L., 1758*) broodstock. *Turkey Journal of Veterinary and Animal Sciencies* 29, 83-87.

Floeter, S. R., Rocha, L.A., Robertson, D.R., Joyeux, J.C., Smith-Vaniz, W.F., Wirtz, P., Edwards, A.J., Barreiros, J.P., Ferreira, C.E.L., Gasparini, J.L., Brito, A., Falcon, J.M., Bowen, B.W. y Bernardi, G. 2008. Atlantic reef fish biogeography and evolution. *Journal of Biogeography* 35, 22-47.

Fontaine, M. 1975. Physiological mechanism in the migration of marine and amphihaline fish. *Advances in Marine Biology* 13, 241–355.

Foo, J.R. 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.A., Mañanós, E., Carrillo, M., Rocha, A., Laureau, S., Mylonas, C.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.

Francescon, A., Barbaro, A., La Rocca, A. y Bertaggia, R. 1987. Stima quantitativa Della dieta naturale dell'orata (*Sparus aurata*) in ambiente salmastro. *Archives Oceanography Limnology* 21, 45-61.

Froese, R. y Pauly, D. 2012. Editors, FishBase. www.fishbase.org. Versión (12/2012).

Garber, A.F., Fordham, S.E., Symonds, J.E., Trippel, E.A y Berlinsky, D.L. 2009. Hormonal induction of ovulation and spermiation in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*, 296, 179-183.

García, L. 1989. Dose - dependent spawning response of mature female sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch), to pelleted luteinizing hormone releasing hormone analogue (LHRHa). *Aquaculture* 77, 85-96.

García, L. 1993. Sustained production of milt in rabbitfish, *Siganus guttatus* Bloch, by weekly injection of luteinizing hormone- releasing hormone analogue (LHRHa). *Aquaculture* 113, 261-267.

García-Alonso, J. y Vizziano, D. 2004. Induction of oocyte maturation in the white croaker *Micropogonias furnieri* (Pisces: Sciaenidae) by human chorionic gonadotropin. *Brazilian Journal of Biology* 64, 73-80.

García-Hernandez, M.P., Koide, Y., Diaz, M.V. 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.

García-Ortega, A. y Lazo, J.P. 2004. Marine fish larviculture in Mexico: advances and challenges in nutrition and feeding. *Aquaculture* 218, 479–490.

Gardes, L., Villanove, P., Buchet, V. y Fauvel, C. 2000. Induced spawning of red drum, *Sciaenops ocellatus*. Use of multivariate and univariate analysis methods in the search for side effects of Laar treatments and ovarian development state upon Shawn quality. *Aquatic Living Resources* 13, 19–27.

Garzón, D.L., Peñaranda, D.S., Pérez, L., Marco-Jiménez, F., Espert, X., Müller, T., Jover, M. y Asturiano, J.F. 2008. Effects of pH, Sodium Bicarbonate, Cryoprotectants and Foetal Bovine Serum on the Cryopreservation of European Eel Sperm. *Reproduction in Domestic Animals* 43, 99–105.

Gil, M.M., Grau, A. y Riera, I. 2009. Atlas histológico del tracto digestivo de la corvina de cría, *Argyrosomus regius*. En D. Beaz, M. Villaroel y S. Cardenas (Eds): Madrid, España. *Actas del XII Congreso Nacional de Acuicultura*, 150-151.

Giménez, G., Estévez, A., Lahsnteiner, F., Zecevic, B., Bell, J.G., Henderson, R.J., Piñera, J.A. y Sánchez-Prado, J.A. 2006. Egg quality criteria in common dentex (*Dentex dentex*). *Aquaculture* 260, 232-243.

Ginzburg, A.S. 1972. Fertilization in fishes and the problem of polyspermy. United States Department of Commerce, National Technical Information Service, Springfield. 366pp.

Gjerde, B. 1984. Variation in semen production of farmed Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture* 40, 109-114.

Glogoswsky, J., Babiak, I., Goryczko, K. y Dobosz, S. 1996. Activity of aspartate aminotransferase and acid phosphate in cryopreserved trout sperm. *Reproduction Fertility and Development* 8, 1179-1184.

Goffings, J.P. 2010. First Mexican marine red fish hatchery. *Hatchery International* 11, 24-25.

González – Quiros, R., Del Árbol, J., García-Pacheco, MM., Silva-García, A.J., Narajo, J.M. y Morales-Nin, B. 2011. Life-history of meagre *Argyrosomus regius* in the gulf of Cádiz (SW Iberian Peninsula). *Fisheries Research* 109, 140-149.

Gordon, M.R., Klotins, K.C., Campbell, V.M. y Cooper, M.N. 1987. Farmed salmon broodstock management. Ministry of Environment Victoria, B.C. Industrial Research Assistance Program National Research Council of Canada, Sea-1 Aquafarms Ltd, Vancouver, BC, Canada. 145pp.

Grau, A., Rodríguez-Rúa, A., Masutti-Pascual, E., Jiménez, M.T., Durán, J., Jiménez-Cantizano, R.M., Pastor, E. y Cárdenas, S. 2007. Spawning of meagre *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) using GnRHa. *Aquaculture Europe 2007*. In: *Aquaculture Europe 2007*. European Aquaculture Society (Istanbul, Turkey), 24-27.

Grau, A., Linde, M. y Grau, A.M. 2009. Reproductive biology of the vulnerable species *Sciaena umbra* Linnaeus, 1758 (Pisces: Sciaenidae). *Scientia Marina* 73, 67-81.

Guzmán, J.M., Ramos, J., Mylonas, C.C. y Mañanós, E.L. 2009. Spawning performance and plasma levels of GnRHa and sex steroids in cultured female Senegalese sole (*Solea senegalensis*) treated with different GnRHa delivery systems. *Aquaculture* 291, 200-209.

Guzmán, J.M., Ramos, J., Mylonas, C.C. y Mañanós, E.L. 2011. Comparative effects of human chorionic gonadotropin (hCG) and gonadotropin-releasing hormone agonist (GnRHa) treatments on the stimulation of male senegalensis sole (*Solea senegalensis*) reproduction. *Aquaculture* 316, 121-128.

Gwo, J.C., Strawn, K. y Arnold, C.R. 1993. Induced ovulation in Atlantic Croaker (Sciaenidae) using hGC and an LHRH analog: A preliminary study. *Theriogenology* 39, 353-361.

Hajirezaee, S., Mojazi, B. y Mirvaghefi, A. 2010. Fish milt quality and major factors influencing the milt quality parameters: A review. *African Journal of Biotechnology* 9, 9148-9154.

Hall, D.N. 1984. The Coorong: Biology of the major fish species and fluctuations in catch rates 1976-1983. *SAFIC* 8, 3-16.

Han, Y.S., Liao, I.C., Huang, Y.S., Tzeng, W.N. y Yu, J.Y. 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. 1980. Teoría y práctica de la reproducción inducida en los peces. International Development Research Center-Ts21. Canada, 48 pp.

He, G., Zhao, E., Lu, Y., Yan, M., Huang, C. y Dong, Q. 2012. Evaluation of activation and storage conditions for sperm of yellow drum *Nibea albiflora*. *Aquaculture* 324-325, 319-322.

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.

Henderson-Arzapalo, A. 1995. Review of nursery and grow out culture techniques for red drum (*Sciaenops ocellatus*). In Main KL and Rosenfeld c. (Eds). *Culture of high-value marine fishes in Asia and the United States*. The Oceanic Institute, Honolulu, Hawaii, USA. 67–79.

Hoar, W. 1969. Reproduction. In: Hoar WS, Randall dJ (eds). *Fish Physiology*. Vol. III. Academic Press Inc, USA, 1–59.

Hodson, R.G. y Sullivan, C.V. 1993. Induced maturation and spawning of domestic and wild striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum), broodstock with implanted GnRH analogue and injected hCG. *Aquaculture* 24, 389–388.

Huang, C., Donq, Q. y Tierch, T.R. 2003. Sperm cryopreservation of live-bearing fish the platyfish (*Xiphophorus couchianus*). *Theriogenology* 62, 971-989.

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.

Ibarra-Castro, L. y Duncan, N.J. 2007. GnRHa-induced spawnings of wild-caught spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*. *Aquaculture* 272, 737-746.

Jiménez, M. T., Pastor, E., Grau A., Alconchel J. I., Sánchez, R. y Cárdenas, S. 2005. Revisión del cultivo de esciéndidos en el mundo, con especial atención a la corvina *Argyrosomus regius* (Asso, 1801). *Boletín del Instituto Español de Oceanografía* 21, 169–175.

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.

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.

Kitahashi, T., Alok, D., Ando, H., Kaeriyama, M., Zohar, Y., Ueda, H. y Urano, A. 1998. GnRH analog stimulates gonadotropin II gene expression in maturing sockeye salmon. *Zoology Science* 15, 761–765.

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.I. 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.

Komoundouros, G., Kouttouki, S., Georgakopoulou, E., Papadakis, I., Maingot, E., Kaspiris, P., Kiriakou, Y., Georgiou, G., Divanach, P., Kentouri, M. y Mylonas, C.C. 2005. Ontogeny on the shi drum *Umbria cirrosa* (Linnaeus 1758), a candidate new species for aquaculture. *Aquaculture Research* 36, 1265-1272.

Kouril, J., Linhart, O. y Relot, P. 1997. Induced spawning in perch by means of a GnRH α analogue. *Aquaculture International* 5, 375-377.

Kozul, V., Skaramuca, B., Glamuzina, B., Glavic, B. y Tutman, P. 2001. Comparative gonadogenesis and hormonal induction of spawning of cultured and wild Mediterranean amberjack (*Seriola dumerilli*, Risso 1810). *Scientia Marina* 65, 215-220.

Lagardère, J.P. y Mariani, A. 2006. Spawning sounds in meagre *Argyrosomus regius* recorded in the Gironde estuary, France. *Journal of Fish Biology* 69, 1697–1708.

Lahnsteiner, F., Urbanyi, B., Weisman, T.H. y Horvath, A. 2000. Possibilities for egg quality determination on salmonids and cyprinids. *Osterreichs Fischerei Salzburg* 53, 224–233.

Larsson, D.G.J., Mylonas, C.C., Zohar, Y. y Crim, L.W. 1997. Gonadotropin releasing hormone-analogue (GnRH-A) advances ovulation and improves the reproductive performance of a cold-water batch-spawning teleost the yellowtail flounder (*Pleuronectes ferrugineus*). *Canadian Journal of Aquatic Fishery Science* 54, 1957–1964.

Levanduski, M.J. y Cloud, J.G. 1988. Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen: Effect of non-motile sperm on fertility. *Aquaculture* 75, 171-179.

Levavi-Silvan, B., Vaiman, R., Sachs, O. y Tzchetxiri, I. 2004. Spawning induction and hormonal levels during final oocyte maturation in the Silver perch (*Bydianus bydianus*). *Aquaculture* 229, 419-431.

Liao, I.C., Su, H.M. y Chang, E.Y. 2001 Techniques in finfish larviculture in Taiwan. *Aquaculture* 200, 1–31.

Libertini, A., Francescon, A., Bozzato, G. y Barbaro, A. 1998. The shi drum, *Umbria cirrosa* (L.), an unexploited resource for Mediterranean aquaculture: recent advances in captive reproduction and applied cytogenetics. *Proceedings of the XXXII International Symposium on New Species for Mediterranean Aquaculture, Alghero*, 237-244.

Lim, L.C. 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.P., Rupnow, B.A., Price, D.A., Greenberg, R.M. y Wallace, R.A. 1992. *Fundulus heteroclitus* gonadotropins. Cloning of gonadotropic hormone (GTH) I and II β subunits using the polimerase chain reaction. *Molecular and Cellular Endocrinology* 85, 127–139.

LLoris, D., Rucabado, J. y Figueroa, H. 1991. Biogeography of the Macaronesian ichthyofauna. *Boletín do Museo Municipal de Funchal*, 43, 191-241.

Luckenbach, J.A. y Sullivan, C.V. 2004. Effective GnRH α dose and gamete ratio for reproduction of southern flounder, *Paralichthys lethostigma* (Jordan and Gilbert 1884). *Aquaculture Research* 35, 1482-1486.

Lush, P.L. y Crim, L.W. 2000. Advancement of ovulation in yellowtail flounder (*Pleuronectes ferrugineus*) using environmental manipulation with gonadotropin hormone releasing hormone analogue (GnRH-a). In Norberg, B., Kjesbu, O.S., Taranger, G.L., Anderson, E., Stefansson, S.O. (Eds): Bergen, Norway. *Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish* 434-435.

Manickam, P. y Joy, K.P. 1989. Induction of maturation and ovulation by pimozone –LHRH analogue treatment and resulting high quality egg production in the Asian Catfish, *Clarias batrachus*. *Aquaculture* 83, 193-199.

Marino, G., Panini, E., Longobardi, A., Mandich, A., Finioia, M.G., Zohar, Y y Mylonas, C.C. 2003. Induction of ovulation of captive-reared dusky-grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) with a sustained-release GnRH α implant. *Aquaculture* 219, 841-858.

Mata, E., Rosas, J., Velasquez, A. y Cabrera, T. 2004. Hormone to induce spawning and larval description of corocoro, *Orthopristis ruber* Cuvier (Pisces: Haemulidae). *Journal of Marine Biology and Oceanography* 39, 21–29.

Mateos, A. V. 2007. Una nueva especie para la acuicultura marina, la corvina, (*Argyrosomus regius*). En A. Cerviño, A. Guerra y C. Perez (Eds): Vigo. España. *Actas XI Congreso del Nacional de Acuicultura*. 519–522.

Mateos, J., Mañanos, E., Martinez-Rodriguez, G., Carrillo, M., Querat, B. y Zanuy, S. 2003. Molecular characterization of sea bass gonadotropin subunits (alpha, FSHbeta, and LHbeta) and their expression during the reproductive cycle. *General and Comparative Endocrinology* 133, 216–232.

Mazorra de Quero, C., Shields, R.J., Scott, A.P., Mylonas, C.C., Zohar, Y. y Bromage, N. 2000. Effects of GnRH α implants on female Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* spawning performance. In: Flos, R., Creswell, L. (Compilers), Aqua 2000, Responsible Aquaculture in the new Millenium. *European Aquaculture Society, Special Publication* 28, 454.

McEvoy, L.A. 1984. Ovulatory rhythms and over-ripening of eggs in cultivated turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Journal of Fish Biology* 24, 437–448.

Mikolajczyk, T., Sokolowska-Mikolajczyk, M., Szczerbik, P., Duc, P., Goryczko, K., Dobosz, S., Glogowski, J., Epler, P. y Enright, W.J. 2008. The effects of the GnRH agonist, azagly-nafarelin (GonazonTM), on ovulation and egg viability in the European grayling (*Thymallus thymallus* L.). *Aquaculture* 281, 126–130.

Miranda, L.A. y Somoza, G.M. 2009. Spawning induction of pejerrey *Odontesthes bonariensis* in captivity using sustained-release gonadotropin releasing hormone agonist implants. *Aquaculture Research* 41, 129–134.

Monfort M.C. 2010. Present market situation and prospects of meagre (*Argyrosomus regius*), as an emerging species in Mediterranean aquaculture. General Fisheries Commission for the Mediterranean, *Studies and Reviews*, No.89. FAO, Roma. 28pp.

Montero, M. y Dufour, S. 1996. Gonadotropin-releasing hormones (GnRH) in fishes: evolutionary data on their structure, localization, regulation and function. *Zoological Studies* 35, 149–160.

Morisawa, M. 1994. Cell signalling mechanism for sperm motility. *Zoological Science* 11, 647–662.

Moretti, A., Pedini, M., Cittolin, G. y Guidastrì, R. 1999. Food and Agriculture Organization of the United Nations 1, Manual on Hatchery Production of Seabass and Gilthead Seabream, 650-700.

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.

Musson, G. 2010. New South African hatchery to produce Dusky kob. *Hatchery International* 11, 28pp.

Mylonas, C.C. y Zohar, Y. 2001a. Endocrine regulation and artificial induction of oocyte maturation and spermiation in basses of the genus *Morone*. *Aquaculture* 202, 205-220.

Mylonas C.C. y Zohar, Y. 2001b. Use of GnRHa-delivery systems for the control of reproduction in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 10, 463-491.

Mylonas, C.C., Hinshaw, J.M. y Sullivan, C.V. 1992. GnRha-induced ovulation of Brown trout (*Salmo trutta*) and its effects on egg quality. *Aquaculture* 106, 379-392.

Mylonas, C.C., Gissis, A., Magnus, Y. y Zohar, Y. 1997. Hormonal changes in male white bass and evaluation of milt quality after treatment with a sustained-release GnRHa- delivery system. *Aquaculture* 153, 301–313.

Mylonas, C.C., Woods, L.C., Thomas, P., Schulz, R.W. y Zohar, Y. 1998a. 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.C., Woods, L.C., Thomas, P. y Zohar, Y. 1998b. Endocrine profiles of female striped bass (*Morone saxatilis*) during post-vitellogenesis, and induction of final oocyte maturation via controlled-release GnRHa- delivery systems. *General and Comparative Endocrinology* 110, 276–289.

Mylonas, C., Georgiou, C., Stephanou, D., ATack, T., Afonso, A. y Zohar, Y. 2000. Preliminary data on the reproductive biology and hatchery productions of shi drum (*Umbrina cirrosa*) in Cyprus. *Cahiers Options Méditerranéennes* 47, 303–312.

Mylonas, C.C., Sigelaki, I., Divanach, P., Mañanos, P., Carrillo, M. y Afonso-Polyviou, A. 2003. Multiple spawning and egg quality of individual European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) females alter repeated injections of GnRHa. *Aquaculture* 221, 605-620.

Mylonas, C.C., Papandroulakis, N., Smboukis, A., Papadaki, M y Divanach, P. 2004a. Induction of spawning of cultured greater amberjack (*Seriola dumerili*) using GnRHa implants. *Aquaculture* 237, 141-154.

Mylonas, C.C., Kyriakou, Y., Sigelaki, I., Georgiou, G., Stephanou, D. y Divanach, P. 2004b. Reproductive biology of the of shi drum (*Umbrina cirrosa*) in captivity and induction of spawning using GnRHa. *The Israeli Journal of Aquaculture* 56, 75–92.

Mylonas, C.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.M., Mañanós, E. y Zohar, Y. 2007. Preparation and administration of Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist (GnRHa) 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.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, 95pp.

Nazari, R.M. y Ghomi, M.R. 2010. Relationship between steroid hormones and maternal characteristics and larvae in Persian sturgeon *Acipenser persicus*. *Italian Journal of Zoology* 77, 492-494.

Nelson, J.S. 1994. *Fishes of the world*. Third edition. John Wiley & Sons, Inc., New York. 600pp.

Okada, T., Kawazoe, I., Kimura, S., Sasamoto, Y., Aida, K. y Kawauchi, H., 1994. Purification and characterization of gonadotropin I and II from pituitary glands of tuna (*Thunnus obesus*). *International Journal of Peptide Protein Research* 43, 69–80.

Oliva, M., Muñoz-Cueto, J.A. y González de Canales, M.L. 2005. Contribución preliminar a la histiofisiología de la corvina, *Argyrosomus regius* (Asso 1801). En Universidad Politécnica de Valencia (ed.): Valencia, España. *Actas del X Congreso Nacional de Acuicultura*, 406-408.

Ortega, A., Santaella, E., Carica, A., Olmedo, M. y Peleteiro, I.B. 1983. Cultivo de dorada, *Sparus aurata* L. En el centro costero del mar menor durante la temporada 1978-79. *Informes Tecnicos del Instituto Español de Oceanografía* 5, 29pp.

Ottesen, O.H., Babiak, I. y Dahle, G. 2009. Sperm competition and fertilization success of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus L.*). *Aquaculture* 286, 240-245.

Pankhurst, N.W. y Van der Kraak, G. 1997. Effects of stress on reproduction and growth of fish. In: Iwama GK, Pickering Ad, Sumpter JP, Schreck CB (eds). *Fish stress and health in aquaculture*. Cambridge University Press, UK, 73–93.

Papadaki, M., Papadopoulou, M., Siggelaki, I. y Mylonas, C.C. 2008. Egg and sperm production and quality of sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*) in captivity. *Aquaculture* 267, 187-197.

Pasquaud, S. 2006. Les relations trophiques: elements de structuration des peuplements ichthyologiques en milieu estuarien. These Doctorale. Université de Bordeaux, France, 359 pp.

Patiño, R. 1997. Manipulations of the reproductive system of fishes by means of exogenous chemicals. *The Progressive Fish-Culturist* 59, 118–128.

Peñaranda, D.S., Perez, L., Gallego, V., Barrera, R., Jover, M. y Asturiano, J.F. 2010. European Eel Sperm Diluent for Short-term Storage. *Reproduction in Domestic Animals* 45, 407-415.

Pescasubdelmediterraneo.2012.[http://pescasubdelmediterraneo.blogspot.com/2010/08/corvina - Argyrosomus-regius.html](http://pescasubdelmediterraneo.blogspot.com/2010/08/corvina-Argyrosomus-regius.html).

Peter, R.E. y Yu, K.L. 1997. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 7, 173–197.

Peter, R.E., Lin, H.R. y Van der Kraak, G. 1988. Induced ovulation and spawning of cultured freshwater fish in China: Advances in application of GnRH analogues and dopamine antagonists. *Aquaculture* 74, 1–10.

Peter, R.E., Lin, H.R., Van Der Kraak, L.G. y Little, M. 1993. Releasing hormones, dopamine antagonists and induced spawning. *Recent Advances in Aquaculture* 4, 25–30.

Piccolo, G., Bovera, F., De Riu, N., Marono, S., Salati, F., Cappuccinelli, R. y Moniello, G. 2008. Effect of two different protein/fat ratios on the diet on meagre (*Argyrosomus regius*) traits. *Italian Journal of Animal Science* 7, 363–371.

Poli, B.M., Parisi, G., Mecatti, M., Lupi, P., Iurzan, F., Zampacavallo, G. y Gilmozzi, M. 2001. The meagre (*Argyrosomus regius*), a new species for Mediterranean aquaculture. 1. Morphological, merchantable and nutritional traits in a commercial wide size-range. *EAS Special Publication* 29, 209-210.

Poli, B.M., Parini, G., Zampacavallo, G., Inszan, F., Mecatti, M., Lupi, P. y Bonelli, A. 2003. Preliminary results on quality and quality changes in reared meagre (*Argyrosomus regius*): body and fillet traits and freshness changes in refrigerated commercial-size fish. *Aquaculture International* 11, 301-311.

Policar, T., Kouril, J., Stejskal, V. y Hamackova, J. 2008. Induced ovulation of perch (*Perca fluviatilis* L.) by preparations containing GnRHa with and without metoclopramide. *Cybium* 32,(2) Supplement, 308-309.

Prat, F., Zanuy, S. y Carrillo, M. 2001. Effect of gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRHa) and pimozide on plasma levels of sex steroids and ovarian development in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 198, 325-338.

Prista, N., Lino-Costa, J., Jones, C., Costa, M.J. y Amorim, C. 2007. Using sound production to identify *Argyrosomus regius* (Sciaenidae) in european estuaries. In: M.A. Dounelly (comp.): *Abstracts of the Annual Meeting of the American Society of Ichthyologists and Herpetologists*. 123-124.

Quémener, L. 2002. Le maigre común (*Argyrosomus regius*). Biologie, pêche, marché et potentiel aquicole. Éditions Ifremer, Plouzané, Francia. 31pp.

Quémener, L., Suquet, M., Mero, D. y Gaignon, J.L. 2002. Selection method of new candidates for finfish aquaculture: the case of the French Atlantic, the Channel and the North Sea coasts. *Aquatic Living Resource* 15, 293-302.

Rajoy, C.R. 2003. Larvicultura del american red drum (*Scaenops ocellatus*) bajo un régimen foto-halino controlado, en Ecuador. Disponible en: <http://www.mispecies.com/reportajes/2003/nov/red-fish.asp>.

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.

Ritar, A.J. y Pribadi, T.A. 2006. Hormonally Induced Spawning, Embryonic Development, and Larval Rearing of the Southern Temperate Banded Morwong, *Cheilodactylus spectabilis*. *Journal of the World Aquaculture Society* 37, 397- 406.

Rudolfson, G., Figenschou, L., Folstad, I. y Kleven, O. 2008. Sperm velocity influence paternity in the Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture Research* 39, 212-216.

Rurangwa, E., Kime, D.E., Ollevier, F. y Nash, J.P. 2004. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture* 234, 1-28.

Sánchez- Rodríguez, M. y Billard, R. 1977. Conservation de la motilité et du pouvoir fécondant du sperme de truite arc en ciel maintenu a des temperatures voisines de 0°C. *Bulletin Francais de Pisciculture* 265, 143-152.

Sato, N., Kawazoe, Y., Suzuki, Y. y Aida, K. 2000. Adequate interval of sGTH administration to induced vitellogenesis, and induction of ovulation by simultaneous administration of sGTH and 17 α -hidroxyprogesterone in the Japanese eel. *Fisheries Science* 66, 644-654.

Schiavone, R., Zilli, L., Storelli, C y Vilella, S. 2012. Changes in hormonal profile, gonads and sperm quality of *Argyrosomus regius* (Pisces, Sciaenidae) during the first sexual differentiation and maturation. *Theriogenology* 77, 888-898.

Schipp, G., Bosmans, J y Humphrey, J. 2007. Barramundi Farming Handbook. Department of Primary Industry, Fisheries and Mines. 71pp.

Schreck, C.B., Contreras-Sanchez, W. y Fitzpatrick, M.S. 2001. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture* 197, 3-24.

Sherwood, N.M., Zoeller, R.T. y Moore, F.L. 1986. Multiple forms of gonadotropin releasing hormone in amphibian brains. *General and Comparative Endocrinology* 61, 313-322.

Sherwood, N.M., Crim, L.W., Carolsfeld, J. y Walters, S.M. 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., Brown, N. y Bromage, N. 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.

Silberschneider, V. y Gray, C.A. 2008. Synopsis of biological, fisheries and aquaculture-related information on mullet *Argyrosomus japonicus* (Pisces: Sciaenidae), with particular referente to Australia. *Journal of Applied Ichthyology* 24, 7–17.

Sink, T.D., Strange, R.J. y Lonchmann, R.T. 2010. Hatchery methods and natural, hormone-implant-induced, and synchronized spawning of captive Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*) Linnaeus 1766. *Aquaculture* 307, 35-43.

Sobrino, I., Baldó, F., García-González, D., Cuesta, J.A., Silva-García, A., Fernández-Delgado, C., Arias, A.M., Rodríguez, A. y Drake, P. 2005. The effect of estuarine fisheries on juveniles fish observed within the Guadalquivir Estuary (SW Spain). *Fisheries Research* 76, 229–242.

Sokal, R.R. y Rohlf, F.J. 1996. Biometría: principios y métodos estadísticos en la investigación Biológica. H. Blume Ediciones, Madrid. 832 pp.

Solar, I. 2002. Biotecnología aplicada en la acuicultura. *Aquanoticias* 66, 6–10.

Soletchnik, P., Thouard, E. y Goyard, E. 1989. Intensive larval rearing trials of red drum (*Sciaenops ocellatus*) in Martinique. *AQUACOP. IFREMER Actes de Colloque* 9, 661–675.

Springate, J. y Bromage, N. 1984. Broodstock management husbandry and the ripening of eggs. *Fish Farmer* 7, 22–23.

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. En: A.P. Scott, J.P. Sumpter, D.E. Kime y M.S. Rolfe (Eds): Norwich, UK. *Proceedings of the Fourth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, 2–7.

Szabo, T., Medgyasszay, C. y László, H. 2001. Ovulation induction in nase (*Chondrostoma nasus*, Cyprinidae) using pituitary extract or GnRH analogue combined with domperidone. *Aquaculture* 203, 389-395.

Terner, C.H. 1986. Evaluation of salmonid sperm motility for crypreservation. *The Progressive Fish Culturist* 48, 230-232.

Thomas, P. y Boyd, N.W. 1988. Induced spawning of spotted seatrout, red drum and orangemouth corvine (family: Sciaenidae) with luteinizing hormone-releasing hormone analog injection. *Contribution Marine Science* 30, 43-47.

Thomas, P. y Boyd, N.W. 1989. Dietary administration of an LHRH analogue induces spawning of spotted seatrout (*Cynoscion nebulosus*). *Aquaculture* 80, 363-370.

Thorgaard, G.H. 1995. Biotechnological approaches to broodstock management. In: Bromage NR, Roberts RJ (eds). *Broodstock management and egg and larval quality*. Blackwell Science, Oxford UK, 76–93.

Trippel, E., Perley, D. y Neilson, J. 1991. Spermatocrit and swimming speed do not correlate with fertilization success in Atlantic cod (*Gadus morhua*). In: Lavens P, Sorgeloos P, Jaspers E, Ollevier F (eds). Gent, Belgium, LARVI'91-Fish & Crustacean Larviculture Symposium. *European Aquaculture Society, Special Publication N° 15*, 227-229.

Trippel, E.A., Castell, J.D., Neil, S.R.E. y Blair, T.J. 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. *Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, 405–407.

Tucker, J. 1994. Spawning by captive serranid fishes: a review. *Journal of World Aquaculture Society* 25, 345–359.

Ueng, J.P., Huang, B.Q. y Mok, H.K. 2007. Sexual differences in the spawning sounds of the Japanese croaker *Argyrosomus japonicus* (Sciaenidae). *Zoological Studies* 46, 102–110.

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 Winkoop, A., Timmermans, L.M.P. y Goos, H.J. 1994. Stimulation of gonadal and germcell development in larval and juvenile carp (*Cyprinus carpio L.*) by homologous pituitary extract. *Fish Physiology and Biochemistry* 13, 161–171.

Vazirzadeh, A., Hajimoradloo, A., Esmaeili, H.R. y Akhlaghi, M. 2008. Effect of emulsified versus saline administration of GnRHa on induction of ovulation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 280, 267-269.

Vazirzadeh, A., Amiri, B.M., Yelghi, S., Hajimoradloo, A., Nematollahi, M.A., y Mylonas, C.C. 2011. Comparison of the effects of different methods of mammalian and salmon GnRHa administration on spawning performance in wild-caught female carp (*Cyprinus carpio carpio*) from the Caspian Sea. *Aquaculture* 320, 123-128.

Vera, J. 1992. Diccionario multilingue de especies marinas para el mundo hispanico. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, España. 1282 pp.

Vermeirssen, E.L.M., Scott, A.P., Mylonas, C.C. y Zohar, Y. 1998. Gonadotropin-releasing hormone agonist stimulates milt fluidity and plasma concentrations of 17,20 β -dihydroxylated and 5 β -reduced, 3 α -hydroxylated C21 steroids in male plaice (*Pleuronectes platessa*). *General and Comparative Endocrinology* 112, 163–177.

Vermeirssen, E.L.M., Shields, R., Mazorra de Quero, C. y Scott, A.P. 2000. Gonadotrophin-releasing hormone agonist raises plasma concentrations of progestogens and enhances milt fluidity in male Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Fish Physiology and Biochemistry* 22, 77–87.

Vikingstad, E., Andersson, E., Norberg, B., Mayer, I., Klenke, U., Zohar, Y., Stefansson, S.O. y Taranger, G.L. 2008. The combined effects of temperature and GnRHa treatment on the final stages of sexual maturation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) females. *Fish Physiology and Biochemistry* 34, 289-298.

Villani, P. y Catena, C. 1991. Criopreservazione di gamete maschili di spigola (*D. labrax*). Soluzione e metodologie. *Rivista Italiana di Acquicoltura* 26 217–226.

Vuthiphandchai, V. y Zohar, Y. 1999. Age-related sperm quality of captive striped bass *Morone saxatilis*. *Journal World Aquatic Society* 30, 65-72.

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 methanosulfonate or carbon dioxide. *Aquaculture* 211, 353–366.

Wang, Y., Hu, M., Wang, W., Liu, X., Cheung, S.G., Shin, P.K.S. y Song, L. 2009. Effects of GnRHa (D-Ala, Pro-Net) combined with domperidone on ovulation induction in wild loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Aquaculture* 291, 136-139.

Wang, Y., Hu, M., Cheung, S.G., Shin, P.K.S., Song, L. y Wang, W. 2010. Induced ovulation of yellow catfish (*Pelteobagrus fluvidraco*) using a combination of a gonadotrop-releasing hormone analogue and domperidone. *Aquaculture Research* 41, 1243-1249.

Watanabe, T. y Carrol, P. 2001. Progress in controlled breeding of summer flouder *Paralichithys dentatus* and southern flouder *P. lethostigma*. *Journal of Applied Aquaculture* 11, 89–111.

Wayman, W.R. y Tiersch, T.R. 1998. Refrigerated storage and cryopreservation of sperm of red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture Research* 29, 267-273.

Weil, C. y Crim, L.W. 1983. Administration of LHRH analogues in various ways: effect on the advancement of spermiation in prespawning landlocked salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 35, 102–115.

Weirich, C.R. y Riley, K.L. 2007. Volitional spawning of Florida pompano, *Trachinotus carolinus*, induced via administration gonadotropin releasing hormone analogue (GnRHa). *Journal of Applied Aquaculture* 19, 47-60.

Weltzien, F.A., 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.C. y Sullivan, C.V. 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.

Woolsey, J., Holcomb, M., Cloud, J.G. y Ingermann, R.L. 2006. Sperm motility in the steelhead *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum): influence of the composition of the incubation and activation media. *Aquaculture Research* 37, 215-223.

Xu, Z., Lin, X., Lin, Q., Yang, Y. y Wang, Y. 2007. Nitrogen, phosphorus, and energy waste outputs of four marine cage-cultured fish fed with trash fish. *Aquaculture* 263, 130–141.

Yambe, H., Shindo, M. y Yamazaki, F. 1999. A release pheromone that attracts males in the urine of mature female masu salmon. *Journal of Fish Biology* 55, 158–171.

Yang, Z. y Chen, Y.F. 2004. Induced Ovulation in Obscure Puffer *Takifugu obscurus* by Injections of LHRH-a. *Aquaculture International* 12, 215-223.

Yang, H. y Tiersch, T.R. 2009. Sperm motility initiation and duration in euryhaline fish Medaka (*Oryzias latipes*) *Theriogenology* 72, 386-392.

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.

Zakes, Z. y Szczepkowski, M. 2004. Induction of Out-of-Season Spawning of Pikeperch, *Sander Lucioperca (L.)*. *Aquaculture International* 12, 11–18.

Zavos, P.M., Correa, J.R. y Zarmacoupis-Zavos, P.N. 1996. Measurement of the sperm motility index via the sperm quality analyzer and its relationship to other qualitative sperm parameters. *Theriogenology* 46, 421-427.

Zohar, Y. 1988. Gonadotropin releasing hormone in spawning induction in teleosts: basic and applied considerations. In: Zohar, Y. and Breton, B. (Eds.), *Reproduction in Fish: Basic and Applied Aspects in Endocrinology and Genetics*. INRA Press, Paris, 47–62.

Zohar, Y. 1996. New approaches for the manipulation of ovulation and spawning in farmed fish. *Bulletin of National Research Institute of Aquaculture*. Suppl (2), 43–48.

Zohar, Y. y Gordin, H. 1979. Spawning kinetics in the gilthead sea-bream, *Sparus aurata* L. after low doses of human chronic gonadotropin. *Journal of Fish Biology* 15, 665-670.

Zohar, Y. y Mylonas, C.C. 2001. Endocrine manipulations of spawning in culture fish: from hormones to genes. *Aquaculture* 197, 99–136.