



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y
FORESTALES**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA
CON OPCIÓN TERMINAL EN EL ÁREA ACUÍCOLA**

**DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DEL PEZ
BLANCO DE PÁTZCUARO (*Chirostoma estor*,
Jordan 1880) BAJO DISTINTOS
FOTOPERIODOS**

TESIS

PRESENTA:

BIÓL. RICARDO TOSCANO SOTO

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA**

DIRECTOR:

DR. CARLOS CRISTIAN MARTÍNEZ CHÁVEZ

CO-DIRECTOR:

DR. CARLOS ANTONIO MARTÍNEZ PALACIOS

MORELIA, MICHOACÁN

Abril 2016



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y
FORESTALES**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA
CON OPCIÓN TERMINAL EN EL ÁREA ACUÍCOLA**

**DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DEL PEZ
BLANCO DE PÁTZCUARO (*Chirostoma estor*,
Jordan 1880) BAJO DISTINTOS
FOTOPERIODOS.**

TESIS

PRESENTA:

BIÓL. RICARDO TOSCANO SOTO

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA**

COMITÉ DE TUTORES:

**DR. CARLOS CRISTIAN MARTÍNEZ CHÁVEZ
DR. CARLOS ANTONIO MARTÍNEZ PALACIOS
DR. JORGE FONSECA MADRIGAL
DRA. MARÍA GISELA RÍOS DURÁN
DR. RODOLFO CÁRDENAS REYGADAS**

MORELIA, MICHOACÁN

Abril 2016

DEDICATORIA.

Dedico ésta tesis a mi hijo Ricardo, mi gran orgullo, al cual quiero mucho y admiro, todo mi esfuerzo es para que él se sienta orgulloso.

A mis padres Hermenegildo y Margarita, que me dieron la vida y me guiaron por el mejor camino con sus sabios consejos y su apoyo incondicional ante mis decisiones en la vida. Los quiero mucho.

A mis hermanos José Alejandro y Edgar, y hermanas Hortensia, Izkra, Itzia Margarita, Irma Arcelia, Irma Guadalupe, Martha y Leslie que siempre han creído en mí, siempre están ahí cuando se les necesita y aunque no se les necesite.

A mis mejores amigos, Carlos Alberto Zamora, Judith Tovar, Jairo Hernández, Arturo Aburto, Francisco Martínez, Oscar Sanabria, Lorena Vargas, Corazón Amaya, Brenda Ingrid, Rigoberto López, Mario Navarro y por tantos años de inquebrantable amistad, por estar ahí en las buenas en las malas y por apoyarme siempre.

Y sobre todo a la biología... por darme tanta satisfacciones en la vida, conocimiento e increíbles experiencias.

AGRADECIMIENTOS.

A mi director y asesor, Dr. Carlos Cristian Martínez Chávez, por su indispensable apoyo, su guía, paciencia y fe en mí para realizar el presente trabajo.

A mi co-director, el Dr. Carlos A. Martínez Palacios, por recibirme en el instituto con los brazos abiertos, por su invaluable experiencia y ayuda ante cualquier duda.

A la Dra. María Gisela Ríos Duran, por su amabilidad, inteligencia, belleza, por prestar su ayuda y asesoría en todo momento así como su amistad.

Al Dr. Jorge Fonseca Madrigal, por sus enseñanzas, su confianza y apoyo en todo momento.

Al Dr. Rodolfo Cárdenas Reygadas, por su disposición a ayudarme en todo momento, por sus importantes aportaciones en el desarrollo y revisión de mi trabajo de tesis.

A la Dra. Mayra Toledo Cuevas, la M. en C. química Sibila Santos Concha, por su gran amistad, su paciencia, que siempre me apoyaron en todo lo que necesité.

A técnicos, el M. en C. biólogo Jesús López García y el M. en C. biólogo Juan Antonio Tello Ballinas, por su invaluable opinión, amabilidad, amistad y paciencia al enseñarme sus conocimientos sobre el pez blanco.

A mis compañeros Saúl Hernández González, Guadalupe Cortés, Guillermo Sánchez Corona, Lázaro Cruz Aguilar, por su amistad, apoyo, guía y buenos consejos durante esta aventura, así como todas las experiencias que vivimos juntos.

Al **CONACYT** por permitirme cursar y obtener el grado de maestro en ciencias, gracias a la beca no. **294963** y la posterior beca mixta de movilidad en el extranjero no. **290842**, que de otra forma no hubiera sido posible realizar mis estudios.

ÍNDICE.

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
ÍNDICE.....	iii
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Pez blanco de Pátzcuaro.....	1
1.2. Fotoperiodo.....	3
1.3. Efecto del fotoperiodo en el desarrollo larvario temprano.....	3
1.4. Efecto del fotoperiodo en el crecimiento.....	4
1.5. Efecto del fotoperiodo en la maduración sexual.....	4
1.6. Efecto del fotoperiodo en el desempeño reproductivo.....	5
1.7. Calidad del huevo: Perfil de ácidos grasos.....	6
1.8. Comportamiento reproductivo.....	7
2. JUSTIFICACIÓN.....	8
3. HIPÓTESIS.....	8
4. OBJETIVOS.....	9
4.1. Objetivo general.....	9
4.2. Objetivos particulares.....	9
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
5.1. Metodología experimental.....	10
5.1.1. Sistema experimental: Módulos de reproducción cerrados.....	10
5.1.2. Selección de reproductores.....	11

5.1.3.	Fotoperiodo.....	13
5.1.4.	Alimentación de los reproductores.....	14
5.1.5.	Video grabación de los módulos.....	14
5.1.6.	Colecta y manejo del huevo.....	14
5.1.7.	Desempeño reproductivo.....	15
5.1.8.	Monitoreo de la calidad del agua.....	17
5.1.9.	Calidad del huevo: Perfil de ácidos grasos.....	17
5.1.10.	Velocidad de la corriente de agua.....	18
5.2.	Análisis estadístico.....	18
6.	RESULTADOS.....	19
6.1.	Parámetros físico-químicos del agua de los módulos.....	19
6.2.	Desempeño reproductivo.....	20
6.3.	Calidad del huevo: Perfil de ácidos grasos.....	26
6.4.	Descripción del proceso de cortejo y desove.....	28
6.5.	Velocidad de la corriente.....	30
7.	DISCUSIÓN.....	31
7.1.	Desempeño reproductivo.....	31
7.2.	Calidad del huevo: Perfil de ácidos grasos.....	33
7.3.	Comportamiento reproductivo.....	34
8.	CONCLUSIONES.....	36
9.	RECOMENDACIONES.....	37
10.	BIBLIOGRAFÍA.....	38
11.	ANEXO 1. Diagrama de derivatización directa de lípidos totales.....	44
12.	ANEXO 2. Tablas de mortalidad, biometrías y frecuencia alimenticia..	45

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1.	Módulos de reproducción para pez blanco (se muestra uno con la tapa y la ventana de observación).....	11
Figura 2.	Diagrama del diseño experimental.....	13
Figura 3.	Diagrama del procesamiento de los huevos colectados.....	15
Figura 4.	Anormalidades de desarrollo embrionario encontrado en los huevos colectados durante los tratamientos.....	22
Figura 5.	Fases de desarrollo embrionario encontrado en los huevos colectados durante los tratamientos.....	23
Figura 6.	Diagrama de la dispersión del número de huevos por desove de hembras de pez blanco en función del fotoperiodo.....	24
Figura 7.	Diagrama de la dispersión de la tasa de fertilización por desove de hembras de pez blanco en función del fotoperiodo.....	25
Figura 8.	Diagrama de la dispersión de la tasa de eclosión por desove de hembras de pez blanco en función del fotoperiodo.....	25
Figura 9.	Contenido de LC-PUFA en huevo recién fertilizado de Pez Blanco (<i>Chirostoma estor</i>), bajo diferentes fotoperiodos.....	27
Figura 10.	Cortejo y Proceso de desove (abrazo) durante la reproducción del pez blanco.....	29
Figura 11.	Velocidad de la corriente y la tasa de fertilización.....	30

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1.	Longitud total (cm) y peso total (g) de los reproductores machos y hembras de pez blanco de Pátzcuaro seleccionados para el experimento de reproducción con diferentes fotoperiodos.....	12
Tabla 2.	Concentración de la salinidad (g/L) durante el periodo de aclimatación de los reproductores en los módulos de reproducción.....	12
Tabla 3.	Diseño experimental.....	13
Tabla 4.	Promedio de tres repeticiones de los parámetros físico-químicos del agua de los módulos de reproducción antes de iniciar el experimento (sin peces).....	19
Tabla 5.	Promedio de tres repeticiones de los parámetros físico-químicos del agua de los módulos de reproducción durante el experimento (61 días por tratamiento).....	20
Tabla 6.	Desempeño reproductivo del pez blanco (<i>Chirostoma estor</i>) bajo cuatro diferentes regímenes de iluminación.....	22
Tabla 7.	Porcentaje del perfil de ácidos grasos LC-PUFA (ARA, EPA y DHA) de huevos recién fertilizados de los diferentes tratamientos.....	27
Tabla 8.	Comportamiento reproductivo del pez blanco (<i>Chirostoma estor</i>) bajo cuatro diferentes regímenes de iluminación.....	29
Tabla 9.	Promedio de recambios/día de los módulos de reproducción en el tratamiento 24L:0O.....	30

RESUMEN.

El pez blanco (*Chirostoma estor*) es una especie endémica del Lago de Pátzcuaro en México, de hábitos zooplantófagos y de cardumen con propiedades nutricionales excepcionales por ser rico en DHA. Debido a que su reproducción se realiza en cardumen, se desconocía la frecuencia de desove, cómo ocurre el mismo y la cantidad de huevos desovados. El presente estudio se llevó a cabo con la finalidad de conocer el efecto de diferentes fotoperiodos en el desempeño y comportamiento reproductivo, evaluando el proceso de desove y determinando la fecundidad total y relativa, así como los intervalos de desove, frecuencia reproductiva, tasa de fertilización y eclosión. Se evaluó el efecto de 4 fotoperiodos: 24L:0O, 18L:6O, 12L:12O y 6L:18O (L = Luz de Día, O = Oscuridad) por triplicado con una duración de 2 meses por fotoperiodo. Se seleccionaron 3 parejas al azar de 3 años de edad para cada fotoperiodo ($1\text{♀}:1\text{♂}$) (65.99 ± 2.64 g de peso). Se ubicaron en módulos de reproducción completamente cerrados de 950 litros de capacidad, a 21°C. El mejor fotoperiodo resultó el 18L:6° registrando la mayor frecuencia reproductiva con 33 desoves, intervalo de desove con 4.3 ± 0.79 días y eclosión con $37.43 \pm 24.19\%$; el fotoperiodo 12L:12° registró la mayor fecundidad absoluta ($5,057 \pm 1,342$) y relativa (44 ± 0.7) así como en la fertilización ($85.84 \pm 11.13\%$), en el Fotoperiodo 6L:18° resultó el menos eficiente al detenerse por completo la actividad reproductiva. Durante el desove el macho persigue a la hembra y la “abrazo” para inducirla a liberar los huevos y fertilizarlos, dura aproximadamente una hora y más del 85 % de los desoves ocurren por la tarde en la parte media y baja de la columna de agua. Con estos resultados se pudo demostrar la eficiencia de la reproducción empleando este procedimiento en sistemas cerrados. La proporción sexual 1:1 es suficiente para lograr la fertilización de más del 90% de los huevos. El mejor fotoperiodo fue el 18L:6O. El mayor desove registrado para esta especie fue de 7,649 huevos. La producción de huevos por hembra fue de 71.64 ± 29.43 huevos g^{-1} .

Palabras clave: Reproducción, Fotoperiodo, Pez Blanco, Comportamiento reproductivo, Ácidos grasos.

ABSTRACT.

The white fish (*Chirostoma estor*) is an endemic species of Lake Patzcuaro in Mexico, of zooplanktófagos habits and shoal with exceptional nutritional properties to be rich in DHA. Because reproduction is done in shoals, spawning frequency, how it occurs and the amount of spawned eggs were unknown. This study was conducted in order to determine the effect of different photoperiods on performance and reproductive behavior, evaluating the spawning process and determining total and relative fecundity and intervals spawning, reproductive rate, fertilization rate and hatching. 4 photoperiod photoperiod effect was evaluated: 24L:0D, 18L:6D, 12L:12D and 6L:18D (L = Daylight, D = Dark) by triplicate with a duration of 2 months. (65.99 ± 2.64 g weight): 3 random pairs of 3 years for each photoperiod (1♂:1♀) were selected. They were placed in completely closed reproduction modules 950 liter capacity at 21 °C. The best was the photoperiod 18L:6D experiencing the highest reproductive rate with 33 spawning, spawning interval 4.3 ± 0.79 days and $37.43 \pm$ hatching with 24.19%; photoperiod 12L:12D recorded the highest absolute fecundity (5.057 ± 1.342) and relative (44 ± 0.7) and fertilization ($85.84 \pm 11.13\%$), in photoperiod 6L:18D was the activity the less efficient to stop completely reproductive. During spawning the male pursues the female and "embraces" to induce her to release eggs and fertilized, takes about an hour and more than 85% of the spawning occurs in the afternoon in the middle and lower part of the water column . With these results it was proved the efficiency of reproduction using this procedure in closed systems. The sex ratio 1: 1 is sufficient to achieve fertilization of more than 90% of the eggs. The best was the photoperiod 18L:6D. The major spawning recorded for this species was 7,649 eggs. Egg production per female was 71.64 ± 29.43 eggs g⁻¹.

Keywords: Reproduction, Photoperiod, White fish, Reproductive behavior, Fat acids.

1. INTRODUCCIÓN.

Los peces son muy diversos en sus formas, en los hábitats donde viven y por lo tanto en su biología. Los peces constituyen el primer grupo de animales con endoesqueleto que aparecieron en la tierra y sin duda, constituyen el grupo más diverso de vertebrados con cerca de 30,000 especies (Burnie, 2003; Nelson, 2006). El consumo de pescado forma parte importante de la dieta humana, teniendo como fuente dos actividades, la pesca y la acuicultura. En la primera se cuenta con una gran diversidad de especies de las cuales elegir, ya sea por costo, sabor y disponibilidad, sin embargo la sobreexplotación, y otros factores, están mermando cada vez más ésta actividad. En cambio, en la acuicultura, se pueden producir grandes cantidades de pescado permitiendo cubrir la demanda existente, sin embargo se tiene el inconveniente de que esta actividad está limitada debido a que solo se producen unas pocas especies en comparación con las que se obtienen de la pesca marina (FAO, 2012). Una especie con gran valor comercial, cultural, gastronómico y social es el Pez Blanco (*Chirostoma estor*, Jordan 1880), especie endémica de Pátzcuaro, la cual ha sido explotada intensivamente, por lo que ha mermado su población en el lago y desde el 2007 no se ha registrado su captura (RNP-SAGARPA, 2012). Aunado a esto la contaminación del lago y otros factores lo tienen al borde de la extinción (Instituto Nacional de Pesca, 2003).

1.1. Pez Blanco de Pátzcuaro.

El pez blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor*, Jordan 1880) es endémico del lago de Pátzcuaro, posee una gran importancia cultural, social y económica tanto en la región lacustre como en el estado de Michoacán. Actualmente se encuentra al borde de desaparecer debido a la sobre explotación, contaminación del lago, así como de la alteración del medio ambiente por diversos factores (deforestación de las márgenes del lago, contaminación por residuos sólidos y descargas residuales, eutroficación, introducción de especies exóticas como tilapia, lobina negra y carpa) (Martínez-Palacios *et al.*, 2008). Una solución a esto es la producción de esta especie a nivel comercial que permitiría un mejor manejo y evitaría su extinción si la situación actual se mantiene. Para lograr una producción de manera eficiente y que permita su rentabilidad es necesario conocer todos los aspectos en su biología que permitan su cultivo.

Desde 1999 se han realizado numerosos estudios en el pez blanco, logrando importantes avances en el conocimiento de esta especie. Se midió el efecto de la temperatura en el crecimiento y supervivencia en crías y juveniles encontrando los mejores resultados a una temperatura de 25 °C (Martínez-Palacios *et al.*, 2002). Posteriormente se midió el efecto de la salinidad en la supervivencia y crecimiento en huevos y larvas, y se determinó que la mejor salinidad es de 10‰ (Martínez-Palacios *et al.*, 2004). Seguido a esto, se realizó un estudio para determinar la alimentación del pez blanco concluyendo que es un pez que se alimenta

principalmente de zooplancton durante todas las fases de su vida (Ross *et al.*, 2006).

El pez blanco es un pez asincrónico, que se reproduce durante todo el año, pero la frecuencia de los desoves varía a lo largo del mismo, se ha encontrado que el fotoperiodo tiene un efecto directo en la producción de huevos de esta especie, incrementando la fecundidad y frecuencia de los desoves en fotoperiodos prolongados (24L:0D y 18L:6D) (Martínez-Palacios *et al.*, 2007). En un estudio realizado para evaluar la frecuencia y calidad de los desoves del pez blanco, los organismos fueron sometidos a un fotoperiodo 12L:12O con una proporción sexual 1:2 (hembra: macho) durante 30 días, se encontró que la fecundidad no varió entre los tratamientos (1,301 huevos en promedio) y la tasa de fertilización se mantuvo constante con un 93%, el número de gotas de aceite y diámetro del huevo no variaron (2.0 gotas y $1.117 \pm 1.3 \mu\text{m}$ de diámetro), así como la calidad espermática, con un volumen de $46.7 \pm 3.8 \mu\text{l}$, una densidad espermática de $2.44 \pm 1.33 \times 10^9$ espermias por ml^{-1} y una vitalidad de 92.81 ± 1.11 (%) de espermias vivos) (López, 2009; Peñaloza, 2009). Por otro lado, se evaluó el efecto del ácido araquidónico (ARA) sobre la capacidad reproductiva y el nivel de prostaglandinas en esta especie, encontrando que el administrar un alimento enriquecido con ARA (4%), reduce el desgaste reproductivo y mejora la eficiencia del mismo (Salgado, 2010). Posteriormente se determinó el punto de no retorno (PNR) y la desaparición de la gota de aceite en larvas de pez blanco de Pátzcuaro así como el crecimiento y supervivencia de larvas alimentadas con rotífero enriquecido con *Chlorella* sp., aceite de hígado de bacalao y aceite de maíz, encontrándose el PNR entre los días 7 y 8 post eclosión (dpe), mientras que el agotamiento total de las gotas de aceite tiene lugar entre los días 7 y 11 dpe; los mejores resultados de crecimiento y sobrevivencia se obtuvieron con el rotífero enriquecido con *Chlorella*. La composición de ácidos grasos en los huevos (gota de aceite y vitelo) analizados registraron valores de $1.85 \pm 0.05\%$, $4.19 \pm 0.2\%$ para ARA, $0.88 \pm 0.04\%$, $0.39 \pm 0.02\%$ en EPA y $20.11 \pm 0.33\%$, $18.62 \pm 0.58\%$ para DHA en la gota de aceite y el vitelo respectivamente (Ríos-Durán *et al.*, 2014). Posteriormente se estudió el efecto de la salinidad en la biosíntesis de ácidos grasos polinsaturados de cadena larga n-3 (LC-PUFA n-3) confirmando la hipótesis de que el pez blanco convierte el ácido linolénico en ácido eicosapentanoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) (Fonseca-Madrigal *et al.*, 2012).

También se ha evaluado el efecto del fotoperiodo y la temperatura en el crecimiento y determinación sexual del pez blanco en larvas de 90 días post eclosión (DPE), encontrando que se obtiene un mayor crecimiento en fotoperiodo prolongado (24L:0D) y a una temperatura ideal de 25°C con una proporción sexual 1:1 (Martínez-Chávez *et al.*, 2014).

Por otro lado, se analizó el efecto de la administración de tiroxina en el crecimiento y supervivencia en juveniles, encontrándose que la administración de bajas

concentraciones de tiroxina mejoran el crecimiento sin afectar los niveles hormonales en los tejidos (Navarrete-Ramírez *et al.*, 2011).

Como se puede advertir, existen avances importantes en el conocimiento del pez blanco de Pátzcuaro, sin embargo, aún hay aspectos que faltan por describir y entender. Con lo logrado hasta el momento se puede construir un paquete tecnológico para su transferencia en el ámbito comercial y cultivarlo de forma intensiva. Pero antes de esto, es necesario determinar un aspecto importante en toda actividad acuícola, conocer la eficiencia reproductiva y el desempeño de los reproductores, particularmente mediante el uso del fotoperiodo.

Debido a que en la actualidad la producción de larvas de pez blanco se realiza bajo un esquema exhaustivo usando un fotoperiodo largo (18L:6O), sin descanso, se requiere de una gran cantidad de reproductores. Es muy importante conocer si con un menor número de reproductores establecidos en sistemas con parejas individuales resultaría ser más eficiente en la reproducción de la especie. Un uso adecuado del fotoperiodo permitirá lograr el escalamiento de la producción de crías y la implementación del manejo adecuado de reproductores.

1.2. Fotoperiodo.

La luz es el factor clave del medio ambiente que regula todas las fases de vida de los peces, desde el desarrollo embrionario, hasta la reproducción, y las variaciones en el fotoperiodo tienen un rol importante en el control de la reproducción en peces teleósteos (Villamizar *et al.*, 2011; Migaud, 2006). La mayoría de los organismos vivos, incluyendo los peces, se caracterizan por tener una elevada dinámica con el medio ambiente por los ritmos diarios y anuales de fotoperiodo dirigidos por la rotación de la tierra sobre su eje alrededor del sol. Los animales se han adaptado para predecir estos cambios a través del sistema biológico del reloj circadiano, sincronizando y anticipando eventos periódicos como la salida/puesta del sol y entrando en un comportamiento rítmico y fisiológico (Peirson *et al.*, 2009).

1.3. Efecto del fotoperiodo en el desarrollo temprano larvario.

En el desarrollo temprano de peces, la luz (espectro e intensidad) juega un papel importante. Por ejemplo, en huevos fertilizados y larvas de Lubina Europea sometidos a diferentes fotoperiodos y espectros de luz (24L:0O, 12L:12°, 12L:0O y 0L:12O, luz roja, azul y blanca) se encontró un mayor crecimiento en longitud total en las larvas eclosionadas bajo la luz azul y una mayor sobrevivencia en fotoperiodo 24L:0O con la consecuencia de la presencia de problemas con la vejiga natatoria y malformaciones en la mandíbula (Villamizar *et al.*, 2009). Por otro lado, en larvas de Atún Aleta Amarilla (*Tunnus albacares*), la aplicación de

fotoperiodo continuo (24L:0O) resultó en un mayor crecimiento y supervivencia de las larvas en relación al control (12:12) (Partridge *et al.*, 2011). En otro estudio en larvas de 0 a 16 Días Post Eclosión (DPE) de Jurel Aleta Amarilla de California (*Seriola lalandi*) se utilizaron diferentes intensidades de luz (baja, media y alta) y visibilidad (agua turbia y clara), encontrando que con la luz de mayor intensidad (alta) y menor visibilidad (agua turbia), se obtuvo el mayor desarrollo y supervivencia, así como el mejor desarrollo de la vejiga natatoria de las larvas en comparación con los demás tratamientos (Stuart y Drawbridge, 2011).

1.4. Efecto del fotoperiodo en el crecimiento.

La influencia del fotoperiodo sobre el crecimiento en peces ha sido estudiado en numerosas especies, tanto marinas como de agua dulce. En la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), se aplicaron diferentes fotoperiodos para ver su influencia en el crecimiento y se encontró que la exposición a mayores intensidades de luz promueve el crecimiento (hasta un 25%) y una mayor eficiencia en la conversión alimenticia (Taylor *et al.*, 2006). En otro estudio, machos de 3.2 kg de Lubina Europea (*Dicentrarchus labrax*) fueron sometidos durante 2 años a dos fotoperiodos (12L:12O y 18L:12O); el tratamiento 18L:12O tuvo un efecto limitante en el crecimiento gonadal pero ocasionó un mayor crecimiento de los organismos con respecto al tratamiento 12:12 (Carrillo *et al.*, 2010). Por otro lado, en larvas de la misma especie de 1 a 40 días post eclosión (DPE), se midió el crecimiento utilizando varios espectros de luz y fotoperiodos (12L:12O luz blanca, 12L:12O luz roja, 12L:12O luz azul, 24L:0O blanca y 0L:24O) registrándose el mejor crecimiento en el tratamiento 12L:12O luz azul (Villamizar *et al.*, 2009).

1.5. Efecto del fotoperiodo en la maduración sexual.

En lo que respecta al uso del fotoperiodo para inducir o inhibir la maduración sexual en peces, hay numerosos trabajos. Por ejemplo, se estudió el efecto del uso de luz continua (24L:0O) en la Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) y se observó que mejoraba el crecimiento somático y se retrasaba el desarrollo gonadal durante la etapa de alevines (Rad *et al.*, 2006). En el Salvelino Ártico (*Salvelinus alpinus*) se evaluó el efecto del fotoperiodo sobre la producción de esteroides sexuales (17β -estradiol y testosterona) y la maduración gonadal, encontrando que la exposición a un fotoperiodo continuo (24L:0O), retrasa la maduración sexual por hasta 15 semanas (Frantzen *et al.*, 2004). En otros estudios se ha encontrado que el fotoperiodo afecta el crecimiento y el ritmo circadiano; por ejemplo, en el Eglefino (*Melanogrammus aeglefinus*) al utilizar dos fotoperiodos, Fotoperiodo Natural Simulado (FNS) y Fotoperiodo Continuo (FC) se encontró un mayor crecimiento hasta en un 50% en peso ganado en los organismos sometidos al fotoperiodo FC, así como una inhibición en la

maduración gonadal (Davie *et al.*, 2007). De igual manera, con el uso de fotoperiodo continuo en hembras de Perca Euroasiática (*Perca fluviatilis*) se inhibió el estado de vitelogénesis al disminuir los niveles de circulación de hormonas sexuales (T-testosterona, 17β -estradiol y 11-Cetotestosterona) (Milla *et al.*, 2009). Por otro lado, en machos de Bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*) el uso de fotoperiodo continuo logró disminuir o bloquear la diferenciación de la espermatogonia, con incremento de la apoptosis, asociado a los reducidos niveles de andrógenos (Almeida *et al.*, 2009). En otro estudio realizado en machos Lubina (*Dicentrarchus labrax*) se logró reducir la maduración sexual temprana mediante el uso de fotoperiodo continuo (Felip *et al.*, 2008).

1.6. Efecto del fotoperiodo en el desempeño reproductivo.

El desempeño reproductivo puede ser definido como la eficiencia de una especie para producir descendencia durante el periodo reproductivo, tomando en cuenta cuánta descendencia produce y su frecuencia (Saborido-Rey, 2008).

El efecto del fotoperiodo sobre el desempeño reproductivo se ha estudiado en varias especies de peces y su conocimiento sirve para establecer estrategias reproductivas eficientes. En la Perca Europea (*Perca fluviatilis*) al utilizar 4 distintos fotoperiodos SNP (Fotoperiodo Natural Simulado) NP (Fotoperiodo Natural), 24L:0O y 18L:6O, se encontró que los regímenes de fotoperiodo tienen una fuerte influencia en la gametogénesis, tiempo de desove, intervalo de desove, calidad de huevo y mortalidad (Migaud *et al.*, 2006). En la Lubina Negra (*Centropistris striata*), se evaluaron los efectos de la exposición a dos distintos fotoperiodos, natural simulado (SNP) y extensión del día (ALD), y se encontró que el uso de ALD acelera los tiempos de sucesión de hembra a macho sin alterar la producción de huevos, con lo que se altera el ciclo de reproducción y se incrementa el suministro de huevos (Howell *et al.*, 2003). En otro estudio con Tilapia (*Oreochromis niloticus*), se utilizó el fotoperiodo bajo diferentes regímenes para mejorar la eficiencia reproductiva, obteniendo una mayor fecundidad total y fecundidad relativa, así como una reducción en la ventana entre desoves bajo un fotoperiodo prolongado de 18L:6O (Campos-Mendoza *et al.*, 2004). En la Lucioperca (*Sander lucioperca*) se analizó el efecto de diferentes fotoperiodos durante 40 días (24L:0O, 12L:12O y 0L:24O) además del efecto del estrés en la calidad reproductiva, tiempos y calidad de desove, fertilización, esteroides sexuales (estradiol, progesterona, testosterona) y concentración de cortisol. Bajo el régimen de 24L:0O se adelantaron los desoves y se retrasaron en 0L:24O, y al aplicar estrés (los organismos fueron extraídos del agua con un red durante 20 segundos), la reproducción se retrasó o se detuvo del todo en todos los regímenes de fotoperiodo. La fertilización, número de huevo, la concentración de esteroides sexuales y de cortisol no mostró diferencias significativas en los diferentes fotoperiodos ni con la aplicación de estrés (Sarameh *et al.*, 2012).

En peces Aterinópsidos, dentro de los que se incluye el pez blanco de Pátzcuaro, hay algunos estudios llevados a cabo para determinar el efecto del fotoperiodo en el desempeño reproductivo. En *Chirostoma humboldtianum* por ejemplo, se utilizaron dos fotoperiodos (9L:15O y 14L:10O), con incrementos de temperatura iniciando en 13 °C subiendo la temperatura cada 30 minutos hasta llegar a 23 °C, encontrando que en el fotoperiodo 14L:10O a 19 °C se obtuvieron múltiples desoves (Blancas-Arroyo *et al.*, 2004). En otro estudio más reciente en *Chirostoma jordani*, una hembra y dos machos fueron sometidos a un fotoperiodo controlado (FC) (14L:10O) mientras que 10 hembras y 15 machos fueron expuestos a un Fotoperiodo Natural (FN). Se registró un gran número de desoves en FC; durante el inicio del experimento se incrementó la cantidad de huevos pero posteriormente disminuyó su número, mientras que el tratamiento de FN siguió el modelo de curva polinomial, con una mayor eclosión y sobrevivencia de juveniles que el FC (Arredondo-Figueroa *et al.*, 2012).

1.7. Calidad del huevo: Perfil de ácidos grasos.

El éxito reproductivo de los peces está altamente influenciado por la calidad del huevo que se produce. Un huevo de mala o baja calidad puede conducir a baja eclosión y larvas débiles, pequeñas y con poca supervivencia (Izquierdo *et al.*, 2001). Son varios los aspectos que influyen en la calidad del huevo, pero los más trascendentales son su composición de ácidos grasos, dentro de ellos y en mayor medida, los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA). La mayoría de los peces dulceacuícolas poseen la habilidad de utilizar aceites vegetales que contienen ácidos grasos como 18:3n-3 y 18:2n-6, como fuente para la biosíntesis de LC-PUFA como el ARA, EPA y DHA (Ling *et al.*, 2006). Existen numerosos trabajos que sustentan lo anterior. Sin embargo, en cada especie estudiada los resultados son variables. En el pez blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor*) se demostró su capacidad de biosíntesis de LC-PUFA utilizando precursores de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de 18 carbonos, lo cual explica su inusual composición de ácidos grasos para un pez de agua dulce, con un elevado porcentaje de DHA/EPA en los tejidos (Fonseca-Madrigal *et al.*, 2012). En otro estudio se describió en el pez blanco de Pátzcuaro la ruta de la biosíntesis LC-PUFA usando ácido α -linolénico (18:3n-3) y ácido linolénico (18:2n-6) en la que participan tres enzimas principalmente, dos desaturasas (Fads2a $\Delta 4$ y Fads2b $\Delta 6/\Delta 5$) y una elongasa (Elovl5) (Fonseca-Madrigal *et al.*, 2014). Usando como modelo el pez zebra (*Danio rerio*), se ofreció aceite de linaza y aceite de calamar en diferentes concentraciones en la dieta de reproductores de esta especie, encontrando mayor producción de huevo y eclosión así como una mayor concentración de ARA y EPA en hígado, músculo, ovarios y huevo en la dieta combinada (aceite de linaza + aceite de calamar) (Yaya-Ram *et al.*, 2008). En el pez espada (*Xiphophorus helleri*) se empleó la misma dieta utilizada en el pez zebra (aceite de linaza, aceite de calamar y la combinación de ambas) y se

encontró una mayor producción de alevines y mejores niveles de LC-PUFA (ARA, EPA y DHA) en tejidos (músculo e hígado) y gónadas de los reproductores alimentados con la dieta combinada de aceite de linaza con aceite de calamar (Ling *et al.*, 2006). En otro estudio se midieron los niveles de ácidos grasos y clases de lípidos en huevos fertilizados (desarrollo temprano y tardío) y larvas recién eclosionadas de pez blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor*), tanto silvestres como en cautiverio; se encontraron concentraciones de EPA de un 4% en cautiverio (en huevo, embriones y larvas recién eclosionadas) y un 4% de ARA en huevos de reproductores en cautiverio en contraste con un 9% de ARA en el huevo de peces salvajes, así como una concentración de 30% de DHA en huevo, embriones y larvas que no reflejan el contenido de ácidos grasos en el alimento, lo que presume una acumulación de los reproductores a través de la dieta y lo transfieren a los huevos (Martínez-Palacios *et al.*, 2007).

En el pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) se determinó el diámetro del huevo, vitelo y gotas de aceite durante la temporada de reproducción (Septiembre – Diciembre) encontrando que la calidad de huevo es mayor al inicio y decrece conforme transcurre la temporada de desoves (Chalde *et al.*, 2014). La reproducción de los organismos tiene un costo energético, la edad y el estado de un organismo (nutricional, estrés, enfermedades) determina el equilibrio entre los costos y los beneficios de la reproducción. Una intensa y prolongada reproducción repercute en las hembras al tener que destinar gran cantidad de energía en éste proceso (Belk *et al.*, 2010).

1.8. Comportamiento reproductivo.

Recientemente, los peces han sido reconocidos como un modelo excepcional para el estudio del comportamiento, tanto social como reproductivo. Los peces presentan una enorme variedad de estrategias en cuanto al comportamiento sexual (Clutton-Brock, 2007), los hay con o sin cuidado parental, ya sea por uno o ambos progenitores, con o sin cortejo reproductivo. Los cortejos y el proceso de desove pueden ser cortos, de algunos segundos, o largos, pudiendo durar incluso días (Saborido-Rey, 2008). Por ejemplo, en la mojarra (*Cichlasoma demerus*) existen jerarquías sociales, asociadas al comportamiento reproductivo, en las que una pareja dominante controla agresivamente un territorio, los desoves y el cuidado de las crías (Tubert *et al.*, 2012). Por otro lado en peces de cardumen como el pez zebra (*Danio rerio*) durante el comportamiento reproductivo el macho intenta atraer a la hembra hacia la zona de desove induciendo el desove mediante oscilaciones rápidas de su cola contra el costado del cuerpo de la hembra (Larsen *et al.*, 2008). Un estudio en el guppy Endler's (*Poecilia wingei*) puso de manifiesto que las fuentes de variación tanto genéticas como ambientales contribuyen en el comportamiento sexual individual sustentado en la experiencia previa en la

expresión de la conducta sexual y el esfuerzo para aparearse con la hembra (Řežucha *et al.*, 2014).

2. JUSTIFICACIÓN.

Para poder cultivar con éxito y de manera eficiente al pez blanco de Pátzcuaro, es importante conocer los aspectos biológicos reproductivos de la especie, así como las condiciones adecuadas que permitan manejar su producción con éxito durante todo el año o la mayor parte de éste, establecer cuánto huevo produce cada hembra, con qué periodicidad desova, cuál es la proporción sexual ideal de los reproductores, a qué profundidad ocurre el desove, si existe o no un cortejo reproductivo, en qué momento del día ocurren los desoves (amanecer o al anochecer) y cuál es el efecto del uso de diferentes fotoperiodos sobre el desempeño reproductivo. Lo anterior permitiría determinar una estrategia reproductiva eficiente mediante el uso del mejor fotoperiodo para obtener una producción constante de huevos y por ende, de larvas durante todo el año. Por otro lado, el método actual de producción requiere de grandes lotes de reproductores, lo cual demanda gran cantidad de espacio, mano de obra y elevados gastos en insumos como alimento, agua, medicamentos, electricidad, por mencionar algunos, además de los altos riesgos de enfermedades. Se requiere implementar estrategias de reproducción con el uso de menos reproductores, que permitan optimizar espacio, y costos de producción.

3. HIPÓTESIS.

- El uso de distintos fotoperiodos tiene un efecto en el desempeño reproductivo del pez blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor*, Jordan 1880), así como en los niveles de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (ARA, EPA y DHA) en los huevos.

4. OBJETIVOS.

4.1. Objetivo general.

- Conocer el efecto de distintos fotoperiodos en el desempeño reproductivo del pez blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor*, Jordan 1880) bajo condiciones controladas utilizando parejas individuales.

4.2. Objetivos particulares.

- Determinar la fecundidad total, fecundidad relativa e intervalos de desove (desempeño reproductivo) del Pez Blanco en parejas independientes sometidas a cuatro fotoperiodos (24L:0O), 18L:6O, 12L:12O y 6L:18O).
- Evaluar el efecto del fotoperiodo y la frecuencia reproductiva en la proporción de ácidos grasos (ARA, EPA Y DHA) de huevos de pez blanco.
- Describir el proceso de desove y determinar si existe un cortejo reproductivo en el Pez Blanco.

5. MATERIALES Y MÉTODOS.

Para evaluar el desempeño reproductivo de los peces blancos sometidos a diferentes fotoperiodos, se llevó a cabo un experimento en las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología Acuícola y Acuicultura del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF-U.M.S.N.H) en la ciudad de Morelia, Michoacán. Se utilizaron reproductores de pez blanco de 3 años de edad seleccionados al azar de un lote de reproductores del Laboratorio de producción (Planta de Reproductores), en sistemas de recirculación, por triplicado.

5.1. Metodología experimental.

5.1.1. Sistema experimental: Módulos de reproducción cerrados.

Se montaron tres módulos experimentales de recirculación con cubierta para poder controlar el fotoperiodo, cada módulo contaba con una capacidad de 950 litros, con un tanque circular de 1.10 metros de diámetro, con un sistema de filtración mecánico-biológico y un enfriador marca BOYU modelo L-500 con capacidad para hasta 1,200 litros por hora. La recirculación del sistema fue controlada mediante una bomba marca BOYU modelo GX4P-5000 con flujo regulable y capacidad de hasta 5,000 litros por hora. La cubierta de cada módulo contenía una ventana para poder observar el interior, ésta incluía un cristal opaco para prevenir que los peces se estresaran al ser abierta la ventana de observación. Cada módulo fue iluminado con un foco con control de intensidad de 25 watts y 6,000° kelvin, controlados por un reloj astronómico digital (Lutron RadioRa2 versión 6.5) que permitió programar los distintos fotoperiodos.

Se realizaron cambios de agua semanales de un 25% para eliminar los desechos que no atrapa el sistema de filtración y/o se acumularan en el fondo del tanque, así como para que los niveles de nitratos se mantuvieran bajos (el sistema de filtración no elimina nitratos). Cada módulo contó con un sistema de video grabación marca Uniden GUARDIAN modelo G755 con cámaras montadas viendo el interior de los módulos para registrar el momento del desove, así como el comportamiento de los reproductores antes y después del desove. Dicho sistema de monitoreo incluía además visión nocturna y transmisión inalámbrica. También se instaló en cada módulo un alimentador automático de pilas marca BOYU modelo ZW-82 que proporcionaría el alimento a los reproductores en cada módulo (Figura 1).



FIGURA 1. Módulos de reproducción para pez Blanco (se muestra uno con la tapa y ventana de observación).

5.1.2. Selección de reproductores.

Se seleccionaron al azar tres parejas de reproductores de pez blanco de Pátzcuaro (1:1) de tres años de edad del lote de reproductores del Laboratorio de Acuicultura y Nutrición. Durante la selección, los reproductores fueron anestesiados con 10 mg/L Benzocaína (Ross *et al.*, 2007) para su manejo y evitar en lo posible el estrés, y fueron trasladados del tanque de reproductores a los módulos experimentales. Para transportar los reproductores seleccionados se introdujeron las parejas dentro de una bolsa polietileno de 60 x 80 cm con agua del tanque de origen, ésta a su vez dentro de doble bolsa negra de 60 x 80 cm para evitar el estrés en los organismos. Las parejas se seleccionaron mediante la revisión de los poros genitales para determinar el sexo y se confirmaron mediante la extracción de esperma u ovocitos presionando ligeramente el vientre de los ejemplares. Cada pareja fue medida y pesada (Tabla 1), para luego ser aclimatada y liberada en cada módulo; de esta manera se ubicó una pareja en cada módulo.

Se utilizaron un total de 12 hembras debido a que en cada tratamiento se registró mortalidad (Anexo II).

TABLA 1. Longitud total (cm) y peso total (g) de los reproductores machos y hembras de pez blanco de Pátzcuaro seleccionados para el experimento de reproducción con diferentes fotoperiodos.

Selección de Reproductores de Pez Blanco.			
MÓDULO NO.	SEXO	PESO (g)	LONGITUD (cm)
1	♀	78	20.9
1	♂	68	19.5
2	♀	72	19.6
2	♂	68	20.2
3	♀	64	19.2
3	♂	76	20.7

Los reproductores fueron recibidos con cierta cantidad de sal en el agua de cada uno de los módulos, esto con la finalidad de prevenir infecciones por el manejo y traslado de los peces. Durante su aclimatación la salinidad existente era de 2.5 - 3 g/L, la cual se fue gradualmente incrementando hasta llegar a 7 g/L de sal en un periodo de 2 días. Las parejas de pez blanco fueron mantenidas a esta salinidad durante 5 días. Posteriormente se eliminó la sal realizando recambio de 100 % del agua de cada módulo de reproducción de forma gradual (Tabla 2).

TABLA 2. Concentración de la salinidad (g/L) durante el periodo de aclimatación de los reproductores en los módulos de reproducción.

SALINIDAD (g/L).			
FECHA	MÓDULO No. 1	MÓDULO No. 2	MÓDULO No. 3
21/Mayo/2014	3.0	2.5	3.0
28/Mayo/2014*	3.0	2.5	3.0
29/Mayo/2014	4.5	4.0	5.0
30/Mayo/2014	7.0	7.0	7.0
5/Junio/2014	0.2	0.2	0.3

*Fecha de Introducción de los reproductores en los Módulos.

5.1.3. Fotoperiodo.

Se aplicaron cuatro diferentes fotoperiodos por triplicado, evaluando un tratamiento de fotoperiodo a la vez en el sistema de tres módulos; cada módulo correspondía a una repetición. El primer tratamiento fue de 24L:0O (L=horas luz; O=horas oscuridad), seguido del fotoperiodo 18L:6O, para luego pasar por el fotoperiodo de 12L:12O y finalmente el fotoperiodo 6L:18O (Tabla 3). Cada tratamiento de fotoperiodo tuvo una duración de 61 días. Así, los peces fueron sometidos inicialmente al fotoperiodo 24L:0O, durante 61 días. Transcurrido este tiempo los peces sufrieron un período de aclimatación de 20 días para luego ser sometidos al segundo fotoperiodo por 61 días más, posteriormente se aclimataron por 20 días al siguiente fotoperiodo, y así sucesivamente, hasta probar el último fotoperiodo (Figura 2). Los desoves obtenidos durante los periodos de aclimatación de los reproductores a cada tratamiento, no se consideraron como parte de los resultados. Durante todo el experimento la temperatura se mantuvo constante ($21\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$) y controlada utilizando un enfriador marca BOYU modelo BYL500.

TABLA 3. Diseño experimental: 4 Fotoperiodos evaluados, por triplicado, 2 reproductores de 3 años por módulo, en una proporción 1♀:1♂.

Descripción general	Fotoperiodo (L = horas luz; D = horas oscuridad)	Número de Tanques (Réplicas)	Número de peces por tanque replicado
Luz continua	24L:0O	3	2
Día largo	18L:6O	3	2
Normal	12L:12O	3	2
Día corto	6L:18O	3	2

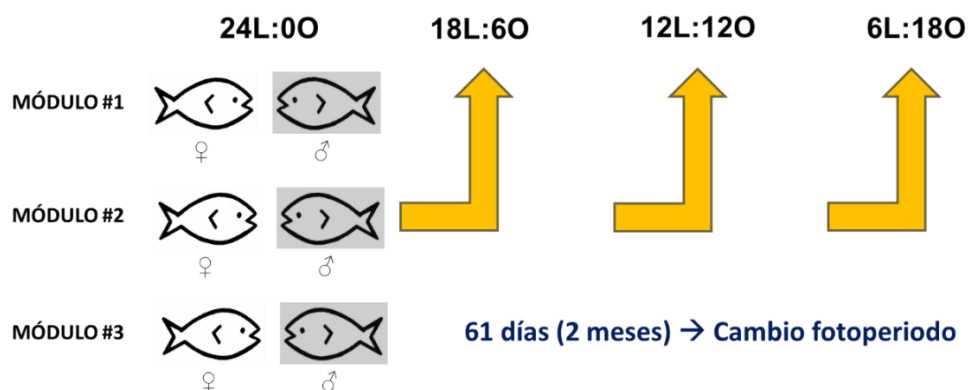


Figura 2. Diseño experimental.

FIGURA 2. Diagrama del diseño experimental.

5.1.4. Alimentación de los reproductores.

A cada pareja se le proporcionó alimento balanceado (especialmente formulado para pez blanco), aproximadamente al 3% de la biomasa corporal, 8 veces al día (7:00, 9:30, 12:00, 14:30, 17:00, 18:30 y 21:00 horas), para los fotoperiodos 24L:0O y 18L:6O, y 6 veces para los fotoperiodos 12L:12O y 6L:18O utilizando el alimentador automático a baterías mencionado anteriormente (BOYU modelo ZW-82).

5.1.5. Descripción del cortejo y proceso de desove.

Para observar si existía cortejo reproductivo y en qué momento se llevaba a cabo el proceso de desove, se utilizó un sistema de video grabación, el cual se programó para que grabara durante 4 horas al encenderse la iluminación, 4 horas antes de que se apagara la iluminación y 4 horas a la mitad del periodo de iluminación para cada fotoperiodo, debido a que en estos horarios es cuando suele desovar el pez blanco y con la finalidad de no saturar la memoria de grabación. La primer video grabación inició 30 minutos antes de que iniciara el encendido gradual de la iluminación y la última terminó 30 minutos posteriores al apagado de la iluminación. Las grabaciones fueron analizadas para determinar en qué momento del fotoperiodo ocurrió el desove, si se estableció el cortejo reproductivo y a qué altura de la columna de agua ocurrió el desove, así como la descripción del mismo y su duración.

5.1.6. Colecta y manejo de los huevos.

Todos los días se revisó cada módulo para detectar la presencia de huevo y verificar que los reproductores se encontraran en buen estado.

Los huevecillo producidos en cada módulo fueron colectados, primero, del sistema de filtración, al cual se le incluyó una malla especial plástica cuadriculada que permitió atrapar los huevos arrastrados por la corriente, evitando que se mezclaran en la fibra del sistema de filtración, con lo que se obtuvieron huevos limpios y de fácil recolección. Los huevos que se mantuvieron en el tanque de los reproductores fueron extraídos mediante sifoneo, tratando de colectar los huevos en su totalidad. En cada desove se anotó la fecha y el módulo del que se obtuvo. Posteriormente los huevos fueron separados de sus hilos adherentes cortándolos manualmente con tijera cuidadosamente para no dañarlos, fueron lavados y decantados para eliminar los hilos y sedimentos, para luego ser contados y revisados mediante un microscopio compuesto marca Carl Zeis modelo Axiostar 1031-031 con objetivo 4X (Figura 3). Se determinó la tasa de fertilización, número total de huevos, fases de desarrollo embrionario y anormalidades en el huevo y/o desarrollo embrionario. Aunado a esto se midió el tiempo (días) entre desoves

para cada pareja. Posteriormente los huevos fueron colocados en una incubadora (Aparato de Weiss) para su desarrollo hasta la eclosión.

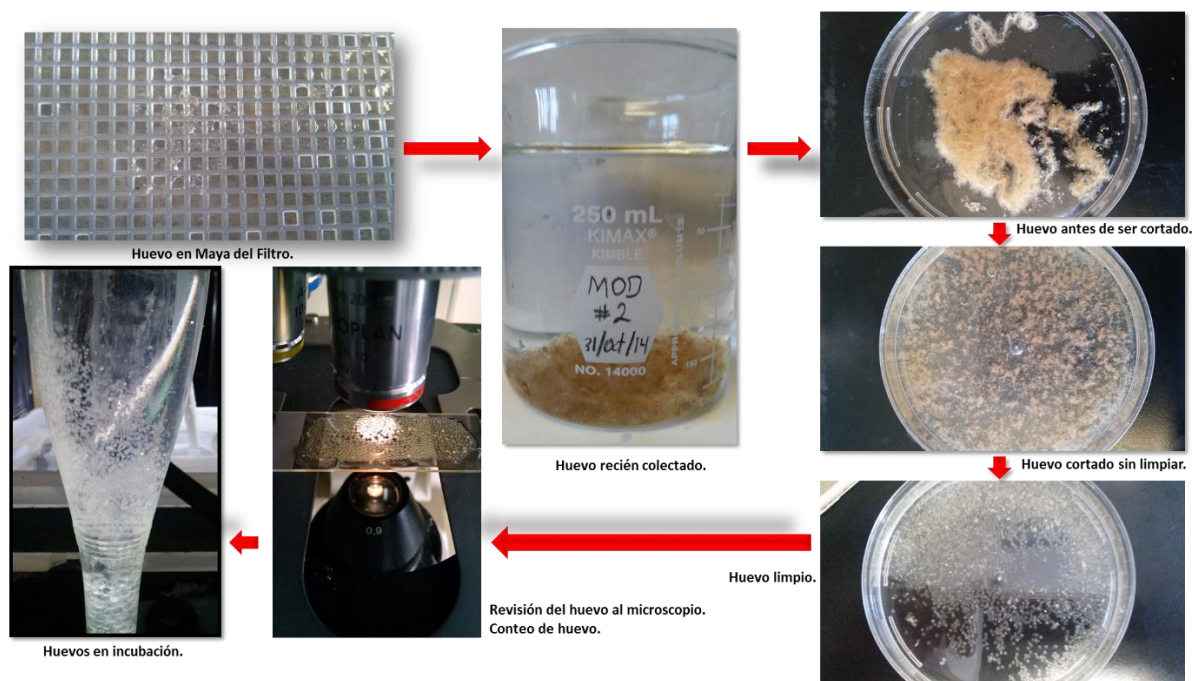


FIGURA 3. Diagrama del procesamiento de los huevos colectados.

5.1.7. Desempeño reproductivo.

Para conocer y determinar el desempeño reproductivo de un organismo dado, se requiere tomar una serie de datos que permiten establecer el grado de desgaste y eficacia reproductiva. Para obtener éstos datos, en la gran mayoría de los casos, es necesario sacrificar el organismo para extraer las gónadas y con éstas tomar la información necesaria como el Índice Gonadosomático (IG), Índice Hepatosomático (IH), Fecundidad Relativa (FE) y la Fecundidad Absoluta (FA), Estados de Desarrollo Folicular (EDF), entre otros. En el presente trabajo esto no fue posible el sacrificio de los organismos, debido a la poca disponibilidad de reproductores, los cuales son de gran valor e importancia para recuperar la población, por lo que sólo se procesaron 8 ejemplares (6 hembras y 2 machos) que por diversos motivos murieron durante el experimento y fueron reemplazados por nuevos ejemplares para continuar con el desarrollo del mismo.

El IG se calculó mediante el empleo de la siguiente fórmula:

$$IG = Pg/Pt * 100$$

Donde:

IG = Índice gonadosomático.

Pg = Peso de la gónada.

Pt = Peso total del ejemplar.

El IH es la relación que existe entre el peso del hígado y el peso del organismo. En este caso se determinó específicamente para las hembras, puesto que en el hígado se segregan vitelogeninas durante la fase conocida como vitelogénesis exógena, que son captadas por los ovocitos en el desarrollo. El IH se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$IH = Ph/Pv * 100$$

Donde:

IH = Índice hepatosomático.

Ph = Peso del hígado.

Pv = Peso eviscerado del pez.

La fecundidad fue estimada a partir de las muestras de las gónadas de 6 hembras en estadio 4 (vitelogénesis) y 5 (Folículos maduros) de maduración (Cárdenas *et al.*, 2008). Para este fin se realizó un conteo de ovocitos de tres muestras del ovario extraídos al azar, cada una de alrededor de 0.25 gramos (pesados en una micro balanza de precisión 0.0001g Mettler Toledo modelo EL303). Cada una de estas muestras se analizó independientemente para el recuento de los ovocitos.

Con base en el número de ovocitos de las muestras y el peso total de las gónadas, se calculó el número total de ovocitos contenidos en la gónada y la fecundidad Absoluta (FA) y Relativa (FR). La FA y la FR se estimaron mediante las fórmulas:

$$FA = No \times Pg/Pmg$$

Donde:

FA = Fecundidad absoluta.

No = Número de ovocitos.

Pg = Peso total de la gónada.

Pmg = Peso de la muestra de la gónada.

$$FR = FA / Pt$$

Donde:

FR = Fecundidad relativa.

FA = Fecundidad absoluta.

Pt = Peso total del organismo (g).

Para observar el estado de desarrollo folicular, se llevaron a cabo los análisis histológicos de las gónadas de aquellos ejemplares que murieron, 14 reproductores en total (12 hembras y 2 machos) pero solo fue posible tomar muestras a 6 hembras y 2 machos debido a que los demás ejemplares tenían mucho tiempo de haber muerto lo que los descartaba para tomar muestras (por

estar en estado de descomposición). Las gónadas (14 ovarios y 4 testículos) fueron extraídas, pesadas y fijadas en solución Bouin durante 24 horas para luego almacenarlas en alcohol al 70% (Cárdenas *et al.*, 2008). Posteriormente, en el laboratorio de Histopatología del CIAD, Mazatlán, fueron procesadas bajo técnicas histológicas con tinción de Hematoxilina y Eosina para finalmente fijar los cortes histológicos de 6µm. Se determinaron los estadios de maduración gonadal tanto de hembras como de machos empleando un microscopio compuesto marca Carl Zeis modelo Axiostar 1031-031 (Cárdenas *et al.*, 2008).

5.1.8. Monitoreo de la Calidad del Agua.

Se midieron los niveles de Oxígeno, Amonio, Nitritos, Nitratos, Dureza Total y pH cada 15 días. La primera muestra para análisis se tomó antes de introducir los reproductores en los módulos. La temperatura fue medida de forma constante (las 24 horas) mediante el empleo de un termómetro electrónico digital LED exterior con sonda marca DYMAX modelo DY-TD, se registró la temperatura todos los días. Las muestras de agua se analizaron mediante el empleo de un KIT de análisis con potenciómetro YSI Modelo EcoSense 9500. El pH se determinó con un potenciómetro Fisher Scientific Accumet Basic modelo AB15 y el oxígeno utilizando un oxímetro con sonda marca YSI modelo 55-12FT. La salinidad se midió utilizando un refractómetro ATAGO Modelo S/Mil-E (O_{100}).

5.1.9. Calidad del huevo: Perfil de ácidos grasos.

Para cada tratamiento (24L:0O, 18L:6O, 12L:12O y 6L:18O), se tomaron tres muestras representativas de varios desoves (200 huevos aproximadamente por desove). Los huevos colectados (recién fertilizados) fueron puestos en frascos etiquetados y almacenados en un ultra congelador a -80 °C para su posterior análisis. La extracción de lípidos se realizó mediante la técnica de derivatización directa de lípidos totales (Anexo I). Las muestras fueron fijadas en 6ml de solución Folch en viales de vidrio de 7.5 ml, se les añadieron 10µL de BHT (5 mg/10 mL $CHCl_3$) como antioxidante y 10 µl de C23:0 (20 ml/10ml $CHCl_3$) como estándar interno. Se mantuvo por 24horas a -20 °C y se procedió a la separación de la muestra en dos partes. La mitad de cada muestra fue guardada como respaldo del experimento, y la otra mitad se utilizó para el análisis de ácidos grasos. Esta última fracción se evaporó a sequedad por medio del burbujeo con nitrógeno gaseoso. Posteriormente se le añadieron 2.5 ml metanol: HCL para luego someterlas a un termobañó a una temperatura de 85 °C durante 2.5 horas o hasta lograr la total evaporación (máximo 3 horas), se dejaron enfriar y se les agregó hexano, se vortexiaron y se centrifugaron las muestras a 2000 rpm a 5 °C por 5min.

Se procedió a quitar la fase metanol (inferior), se agregaron 2 ml de agua destilada, se agitaron en un vortex y se sometieron nuevamente a la centrifuga. Las muestras se llevaron a congelar por 24 horas a -20 °C. Posteriormente se retiró la fase hexano más los lípidos colocándolos en un vial ámbar. De este volumen, se transfirieron 500µl del hexano con la fracción lipídica a viales ámbar para ser inyectados en el cromatógrafo de gases.

Se determinó el perfil de ácidos grasos mediante el uso de un cromatógrafo de gases con detector FID (Agilent Technologies modelo 6850) con autoinyector (modelo 7683) y columna capilar de sílice (Agilent Technologies modelo DB-23) (50% Cianopropil – metoxipolisilo), de 30.0 m x 0.250 mm x 0.25 µm.

5.1.10. Velocidad de la corriente.

Se realizó la medición de la velocidad de la corriente del agua en cada uno de los módulos utilizando una sonda de flujo marca Global Water modelo FP111 (rango de sensor: 0.3 – 19.9 FPS, 0.1 – 6.1 MPS). La medición se efectuó utilizando dos diferentes tuberías de salida. La primera salida con tubo PVC de 1” con un codo de 45°, posteriormente se colocó otra salida dividiendo ésta en dos mediante una Tee de PVC de 1” y dos codos de PVC de 45° de 1” en cada extremo.

5.2. Análisis Estadístico.

Los resultados obtenidos de Fecundidad Total, Fecundidad Relativa y Frecuencia de Desoves, fueron analizados mediante un ANOVA de una vía con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$ para los casos en que los datos se distribuyeron normalmente y una prueba posterior de Tukey y/o Método Dunn's de comparaciones múltiples. Para los casos en los que no se cumplió el supuesto de normalidad los datos fueron analizados mediante una prueba de Kruskal-Wallis. Todos los análisis fueron llevados a cabo mediante el uso del paquete estadístico Sigma Plot versión 12.5. Los resultados se presentan como promedio $\pm$ D. E (Desviación Estándar). Los datos en porcentaje fueron transformados mediante el Log10 o Arcoseno según correspondía de acuerdo a los valores de los porcentajes. Debido al bajo número de muestras se aplicó la corrección de Bonferroni. Los parámetros de calidad del agua se analizaron mediante un ANOVA de una vía para evaluar la posible variabilidad entre los tratamientos donde se cumplieron los supuestos de normalidad, y donde no se cumplieron se analizaron los datos mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

6. RESULTADOS.

6.1. Parámetros físico-químicos del agua de los módulos.

En el análisis de los parámetros físico-químicos antes y después de introducir las parejas de reproductores de pez blanco en los módulos, se obtuvieron valores que se encuentran dentro del intervalo descrito para esta especie (Rosas, 1970), a excepción de los nitratos (NO_3), cuyos valores fueron generalmente altos. Sin embargo éste parámetro aparentemente no afectó de manera importante a los peces durante el experimento, debido a que no se presentó pérdida de apetito, ni se observó algún comportamiento anormal (desorientación) (signo de intoxicación por nitratos). Los ligeros incrementos en algunos parámetros correspondieron a las fechas en que se daba mantenimiento al filtro mecánico-biológico de los módulos. En la tabla 4, se presentan los datos obtenidos en los módulos de experimentación antes de iniciar el experimento y en la tabla 5, se presentan los datos obtenidos durante el experimento. Durante el experimento no se encontraron diferencias estadísticas significativas en los diferentes parámetros medidos ($P \geq 0.05$), salvo en dos casos, oxígeno disuelto (O. D.) entre los tratamientos 18L:6O y 12L:12O y Amoniaco (NH_3) respecto a los tratamientos 24L:0O y 6L:18O ($P < 0.05$) (Tabla 8).

TABLA 4. Parámetros físico-químicos del agua de los módulos de reproducción antes de iniciar el experimento (sin peces) (n=1).

SIN PECES ⁺			
VARIABLE	MÓDULOS (RÉPLICAS)		
	Módulo #1	Módulo #2	Módulo #3
Temperatura (°C)	20.8	21	21.8
O.D (mg/L)	5.7	5.3	6.05
pH	8.52	8.41	8.26
NH_3 (mg/L)	0.07	0.08	0.06
NH_4^+ (mg/L)	0.084	0.096	0.072
NO_2^- (mg/L)	0.01	0.05	0.02
NO_3^- (mg/L)	2.08	1.12	1.14
CaCO_2 (mg/L)	49	50	46
Ca^{+2} (mg/L)	20	20	20
Salinidad (g/L)	3.0	2.5	3.0

⁺ Previo al inicio de los tratamientos.

TABLA 5. Parámetros físico-químicos del agua de los módulos de reproducción durante el experimento (61 días por tratamiento) (n=3).

Calidad del agua.				
VARIABLE*	TRATAMIENTOS (Horas Luz : Horas Oscuridad)			
	24:0	18:6	12:12	6:18
Temperatura (°C)	21 ± 0.24 ^a	21.07 ± 0.53 ^a	21 ± 0.54 ^a	21.1 ± 0.55 ^a
O.D (mg/L)	5.48 ± 0.43 ^{ab}	5.34 ± 0.48 ^b	5.79 ± 0.24 ^a	5.65 ± 0.08 ^{ab}
pH	8.27 ± 0.13 ^a	8.2 ± 0.08 ^a	8.31 ± 0.06 ^a	8.38 ± 0.05 ^a
NH ₃ (mg/L)	0.06 ± 0.04 ^b	0.04 ± 0.02 ^{ab}	0.03 ± 0.09 ^{ab}	0.01 ± 0.01 ^a
NH ₄ ⁺ (mg/L)	0.07 ± 0.06 ^a	0.05 ± 0.03 ^a	0.08 ± 0.10 ^a	0.3 ± 0.01 ^a
NO ₂ ⁻ (mg/L)	0.04 ± 0.07 ^a	0.03 ± 0.02 ^a	0.03 ± 0.04 ^a	0.01 ± 0.01 ^a
NO ₃ ⁻ (mg/L)	8.27 ± 2.51 ^a	7.99 ± 2.78 ^a	8.3 ± 0.71 ^a	7.54 ± 2.73 ^a
CaCO ₂ (mg/L)	43.83 ± 4.39 ^a	41.25 ± 4.01 ^a	49.25 ± 22.6 ^a	43.59 ± 5.76 ^a
Ca ⁺² (mg/L)	18.17 ± 2.33 ^a	16.58 ± 2.23 ^a	20.83 ± 9.8 ^a	18.17 ± 2.2 ^a
Salinidad (g/L)	0.90 ± 2.14 ^a	0.17 ± 0.33 ^a	0.42 ± 0.83 ^a	0.33 ± 0.67 ^a

* Valores expresados como promedio ± desviación estándar.

+ Diferentes superíndices indican diferencias significativas (ANOVA, Tukey test, P < 0.05)

6.2. Desempeño reproductivo.

Durante el experimento se registraron un total de 74 desoves, 24, 33, 17 y 0 desoves correspondientes a los fotoperiodos 24L:0O, 18L:6O, 12L:12O y 6L:18O respectivamente, con diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos 18L:6O y 12L:12O (P < 0.01) (Tabla 6), presentándose el mayor número de desoves en el tratamiento 18L:6O. El total de huevos por tratamiento fue incrementándose conforme se reducían las horas luz por tratamiento iniciando en 7,563, seguido de 36,225, posteriormente 50,517 y finalmente 0 de los fotoperiodos 24L:0O, 18L:6O, 12L:12O y 6L:18O respectivamente.

Los intervalos de desove (días entre desoves) resultaron variables tanto por tratamiento como por hembra (réplica), particularmente en el tratamiento 24L:0O el cual tuvo fluctuaciones de 10 a 0.5 días de intervalo entre desove, el tratamiento

18L:6O resultó el más estable con poca fluctuación entre los días de intervalos, seguido por el tratamiento 12L:12O, en el último tratamiento no se presentaron desoves. En promedio fueron 5, 4.3, 6.4 y 0 días de intervalo entre desoves para los tratamientos 24L:0O, 18L:6O, 12L:12O y 6L:18O respectivamente, no se encontraron diferencias significativas estadísticamente ($P < 0.01$) (Tabla 6) entre los tratamientos.

La fecundidad absoluta obtenida arrojó información interesante, ya que la cantidad de huevos obtenidos por tratamiento se incrementó conforme se redujo la cantidad de luz pasando de 582 huevos para el tratamiento 24L:0O a 2,787 huevos para el tratamiento 18L:6O, 5,057 huevos para el tratamiento 12L:12O y 0 huevos para el tratamiento 6L:18O. El análisis estadístico arrojó diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.01$) de los fotoperiodos 18L:6O y 12L:12O con respecto a los fotoperiodos 24L:0O y 6L:18O (Tabla 6). Si bien la mejor fecundidad absoluta se encontró para el tratamiento 12L:12O, se debió particularmente a una sola hembra cuya producción fue extraordinaria comparada con las otras réplicas (2 hembras).

Los resultados encontrados para la fecundidad relativa fueron similares entre los tratamientos y en relación a la fecundidad total cuyo valor fue de 14.13 huevos por g^{-1} para el tratamiento 24L:0O, 44.19 huevos por g^{-1} en el tratamiento 18L:6O, 65.73 huevos por g^{-1} para el tratamiento 12L:12O y 10.68 huevos por g^{-1} en el tratamiento 6L:18O. Se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos 12L:12O y 6L:18O ($P < 0.01$) (Tabla 6).

En lo que respecta a la fertilización de los desoves, se registró un 10.8 % para el tratamiento 24L:0O, 70.2 % en el tratamiento 18L:6O, 85.8 % para el tratamiento 12L:12O y 0 % para el tratamiento 6L:18O. Se encontraron diferencias significativas estadísticamente entre los tratamientos ($P < 0.01$) resultando mejores los fotoperiodos 18L:6O y 12L:12O (Tabla 6). Al igual que en parámetros anteriores, el porcentaje de fertilización fue variable entre las réplicas, lo que afectó el promedio final, incrementándose conforme se avanzó en los tratamientos, cuyo mejor desempeño se encontró a partir del tratamiento 18L:6O, seguido por el 12L:12O con valores de hasta 99.53% como máximo.

TABLA 6.

DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DEL PEZ BLANCO (*Chirostoma estor*) BAJO CUATRO DIFERENTES REGÍMENES DE ILUMINACIÓN.

Parámetro	Fotoperiodo			
	24L:0O	18L:6O	12L:12O	6L:18O
Reproductivo				
Total desoves*	24 ^{ab}	33 ^a	17 ^{ab}	0 ^b
Intervalo de desove (días)	4.96 ± 3.03 ^a	4.3 ± 0.79 ^a	6.4 ± 1.64 ^a	0 ^b
Total Huevos*	7,563	36,225	50,517	0
Fecundidad absoluta	582 ± 339 ^b	2,787 ± 1,305 ^a	5,057 ± 1,342 ^a	0 ^b
Fecundidad relativa (huevos g ⁻¹)	14 ± 1.1 ^{bc}	44 ± 0.7 ^{bc}	66 ± 33.5 ^{ab}	11 ± 0.8 ^c
Porcentaje de fertilización	10.78 ± 5.1 ^b	70.2 ± 19.53 ^a	85.84 ± 11.13 ^a	0 ^b
Porcentaje de eclosión	8.78 ± 5.07 ^b	37.43 ± 24.19 ^a	31.94 ± 19.55 ^a	0 ^b
Valores en media ± desviación estandar. Anotación con diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente diferentes (ANOVA, prueba de Dunn's, corrección de Bonferroni P < 0.0125).				
* Indica valores totales del experimento.				

Durante el tratamiento 12L:12O se obtuvieron datos inéditos registrados para esta especie. Se obtuvo el mayor desove con 7,649 huevos, así como la mayor tasa de fertilización con 99.53%. También fue notable el desempeño de la pareja del Módulo no 2, con más de 60 mil huevos desovados en 61 días en 10 desoves además de 19 mil larvas eclosionadas y un promedio sobre los 5 mil huevos por desove.

Durante la revisión de los huevos fertilizados en el microscopio se observó un gran porcentaje (más del 85%) de división celular asimétrica, particularmente durante los 4 a 18 blastómeros. También se observaron escasos macro huevos y micro huevos, así como desarrollo larvario con malformaciones (menos del 1%) (Figura 4.)

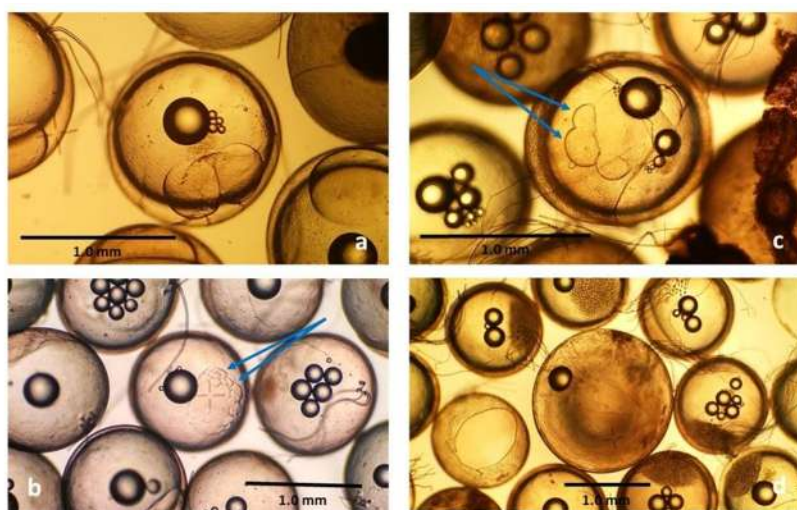


FIGURA 4. Anormalidades de desarrollo embrionario encontrado en los huevos colectados durante los tratamientos. a) huevo 2 blastómeros

simétricos, b) Huevo con 32 blastómeros asimétricos, c) huevo con 8 blastómeros asimétricos, d) macro huevo no fertilizado.



FIGURA 5. Fases de desarrollo embrionario encontrado en los huevos colectados durante los tratamientos. a) huevo sin fertilizar, b) Huevo con 4 a 32 blastómeros, c) huevo con 128 o más blastómeros, d) huevo en

gastrulación (flechas), e) huevo con formación de ojos y f) embriones de 5 días de desarrollo (presencia de pigmentación y movimiento).

En total, durante los 4 tratamientos experimentales (24L:0O, 18L:6O, 12L:12O y 6L:18O) se colectaron 94,355 huevos, resultado de los primeros tres fotoperiodos del experimento debido a que no se presentó ningún desove en el último fotoperiodo (6L:18O), se obtuvo un promedio general de 2,621 huevos por hembra. El porcentaje general de fertilización fue del 55.61% (52,471 huevos fertilizados), de éste 10.78% correspondió al tratamiento 24L:0O, seguido por un 70.2% para el tratamiento 18L:6O y con un 85.84% de fertilización para el tratamiento 12L:12O con diferencias estadísticas significativas ($P < 0.01$), entre el tratamiento 24L:0O con respecto a los tratamientos 18L:6O y 12L:12O. En total eclosionaron 10,817 larvas equivalente al 26.33% (Tabla 8), 8.78, 37.43 y 31.94% correspondientes a los tratamientos 24L:0O, 18L:6O, 12L:12O respectivamente y 0% en 6L:18O debido a que no se tuvieron desoves, al igual que en la tasa de fertilización se encontraron diferencias estadísticas significativas del tratamiento 24L:0O con respecto a los tratamientos 18L:6O y 12L:12O ($P < 0.01$), resultando mejores éstos últimos (Figuras 5: a – f, 5, 6, 7 y 8).

Tras varias colectas de huevo durante los tratamientos se encontró que si no es colectado, cortado los hilos, limpiado e incubado inmediatamente después de finalizado el desove, los embriones mueren. En los huevos colectados más de 24 horas después de concluido el desove, la mortalidad fue de entre el 90 y 100%.

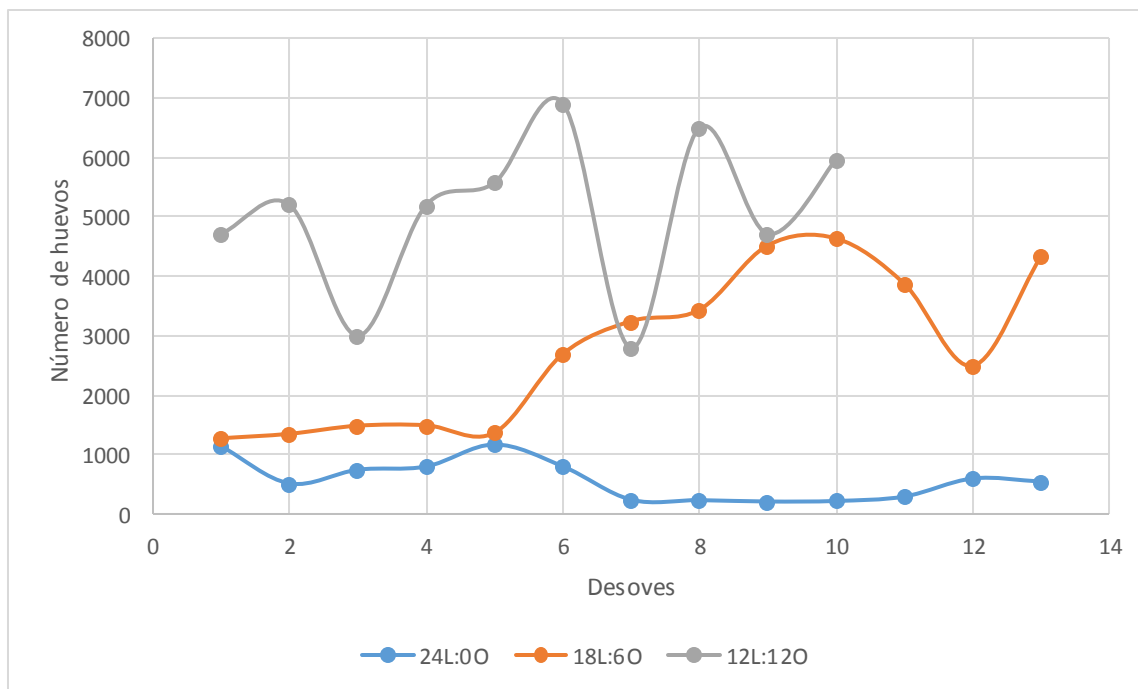


FIGURA 6. Diagrama de la dispersión del número de huevos por desove de hembras de pez blanco en función del fotoperiodo.

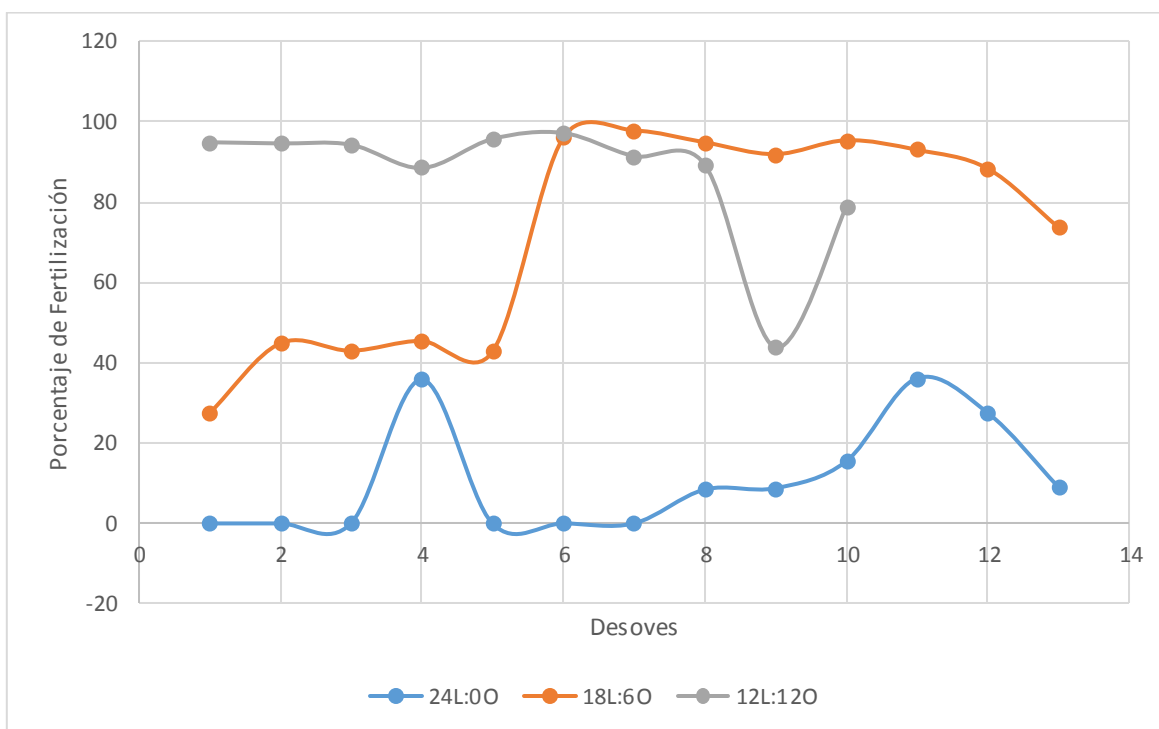


FIGURA 7. Diagrama de la dispersión de la tasa de fertilización por desove de hembras de pez blanco en función del fotoperiodo.

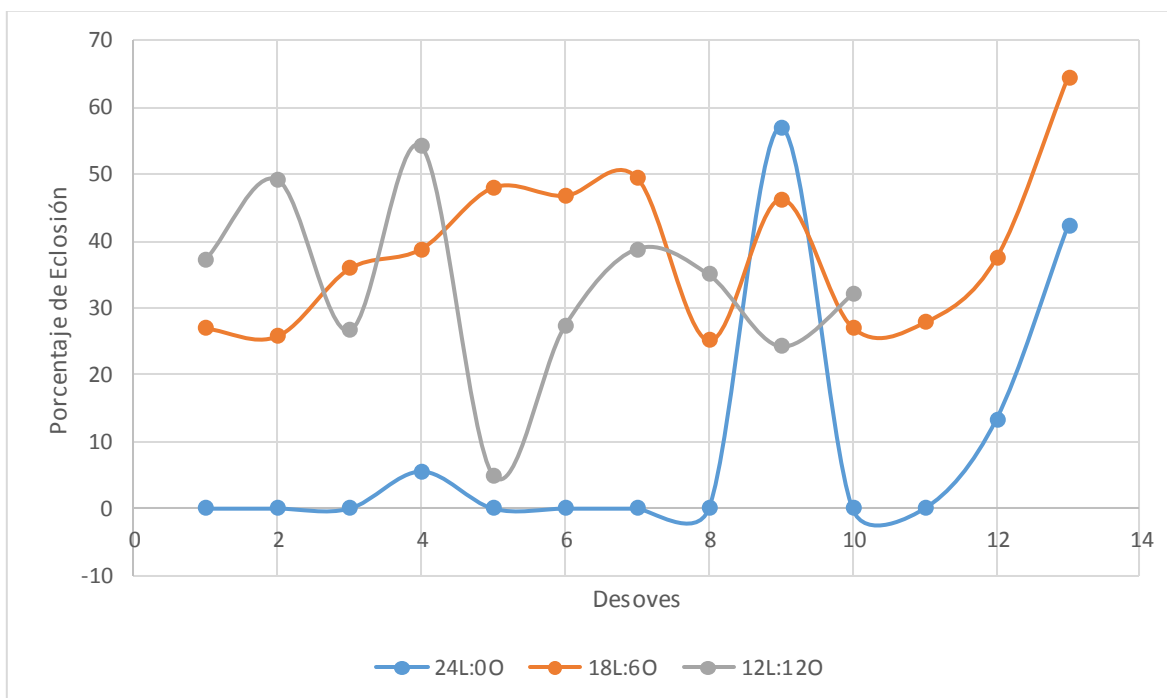


FIGURA 8. Diagrama de la dispersión de la tasa de eclosión por desove de hembras de pez blanco en función del fotoperiodo.

6.3. Calidad del huevo: Perfil de ácidos grasos.

Los resultados del perfil de ácidos grasos obtenidos del análisis de los huevos colectados en los distintos tratamientos resultaron muy similares. Los porcentajes de ARA encontrados fueron de 3.02, 3.11 y 3.47% correspondiente a los tratamientos 24L:0O, 18L:6O y 12L:12O respectivamente, mostrando un ligero incremento conforme las horas de obscuridad se incrementaron, sin encontrarse diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0125$, corrección de Bonferroni).

Los porcentajes de EPA encontrados fueron de 1.58% para el tratamiento 24L:0O, 1.67% para el tratamiento 18L:6O y con 0.82% para el tratamiento 12L:12O, el cual mostró un decremento al pasar de un tratamiento de larga duración (horas luz) a uno de menor duración. Se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los dos tratamientos de mayor luz (24L:0O y 18L:6O), con respecto al tratamiento con más horas de obscuridad (12L:12O).

Finalmente, los porcentajes de DHA encontrados fueron de 30.34, 29.52 y 25.79% correspondientes a los tratamientos 24L:0O, 18L:6O y 12L:12O respectivamente (Figura 8). No se encontraron diferencias estadísticas significativas, pero se muestra una disminución del DHA conforme las horas de luz disminuyen y las de obscuridad aumentan, resultando mayor en el tratamiento 24L:0O y con el menor porcentaje el tratamiento 12L:12O. El valor de DHA/EPA resultó significativamente mayor ($P < 0.001$) en el tratamiento 12L:12O con respecto al resto de los tratamientos. Los ácidos grasos saturados fueron decreciendo en concentración conforme aumentaban las horas de obscuridad, pero sin mostrar diferencias estadísticas significativas. Los porcentajes ácidos grasos monoinsaturados fueron incrementándose al aumentar las horas de obscuridad pasando de 21.35% a 22.99% y 25.44% de los tratamientos 24L:0O, 18L:6O y 12L:12O respectivamente. El total de PUFA se mantuvo constante durante los tratamientos (47.37%, 46.45% y 46.43%) (Tabla 7).

TABLA 7. Porcentaje del perfil de ácidos grasos LC-PUFA (ARA, EPA y DHA) de huevos recién fertilizados de los diferentes tratamientos.

HUEVO DE PEZ BLANCO RECIÉN FERTILIZADO			
Ácido Graso	TRATAMIENTO (FOTOPERIODO)*		
	24L:00	18L:60	12L:120
20:4n-6 (ARA)	3.02	3.11	3.47
20:5n-3 (EPA)	1.58	1.67	0.82
22:6n-3 (DHA)	30.34	29.52	25.79
DHA / EPA	19.92	18.23	52.31
Total saturados	31.59	30.55	28.14
Total monoinsaturados	21.35	22.99	25.44
Total PUFA	47.37	46.45	46.43

* Valores en porcentaje (%)

EPA y DHA disminuyen conforme transcurren los tratamientos mientras que ARA se incrementa. DHA/EPA incrementa significativamente en el tratamiento 12L:12D ($P < 0.001$)

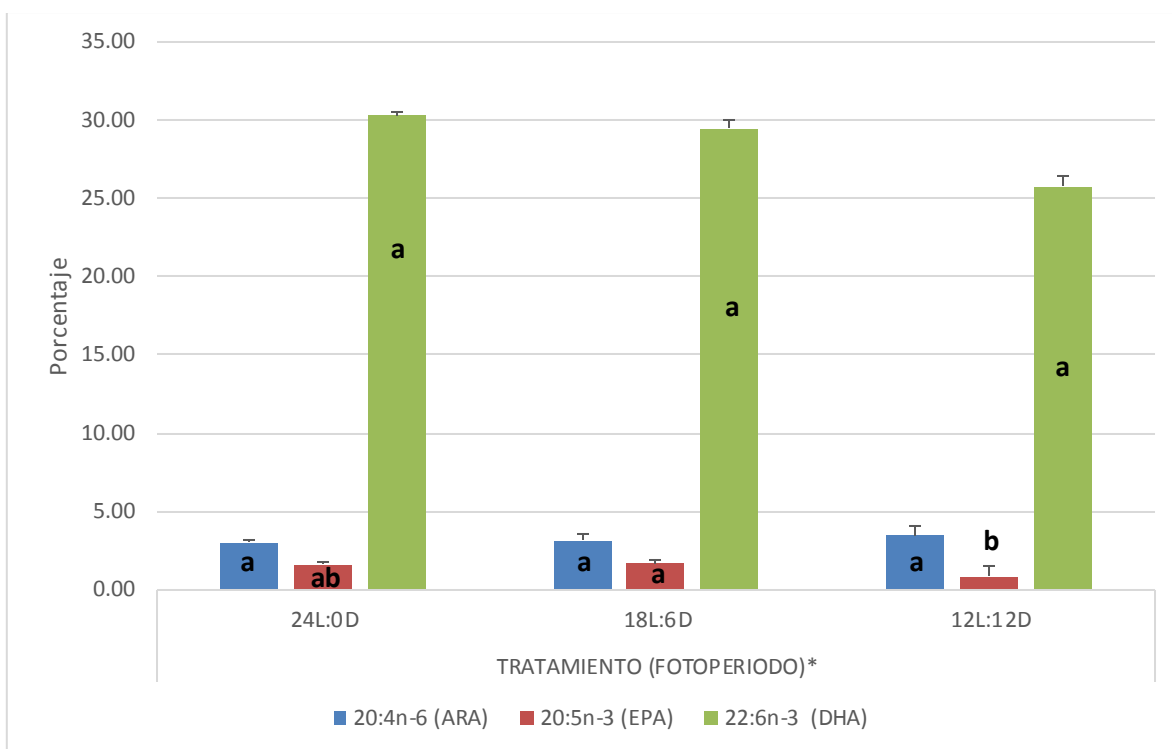


FIGURA 9. Contenido de LC-PUFA en huevo recién fertilizado de Pez Blanco (*Chirostoma estor*), bajo diferentes fotoperiodos. No se presentaron diferencias estadísticas significativas en ARA y DHA, pero sí en EPA ($P < 0.001$).

6.4. Descripción del proceso de cortejo y desove.

Como resultado de la revisión de los videos grabados durante el experimento, por primera ocasión se pudo observar el proceso de desove del pez blanco de Pátzcuaro, algo que nunca se había podido describir. El desove es largo y con pausas breves, con gran actividad por parte de ambos reproductores, pero sobre todo del macho, el cual sigue constantemente a la hembra. Hay momentos en el que el macho se posiciona frente a la hembra (cabeza – cabeza) moviéndola vigorosamente al igual que el resto del cuerpo, exhibiéndose ante la hembra, el desove ocurre principalmente a partir de la parte media de la columna de agua del tanque, llegando incluso hasta el borde de la superficie, utilizando el fondo para tomar descansos o pausas particularmente por parte de la hembra.

El primer desove registrado en video ocurrió el 29 de junio de 2014, en el que se observó el proceso, el cual es muy activo, particularmente por parte del macho. El desove inició alrededor de las 9:00 horas de la mañana y tuvo una duración aproximada de una hora. Se aprecia al macho muy activo, sigue de forma efusiva y constante a la hembra por detrás y debajo de ella dándole ligeros golpes en el vientre con la parte anterior y lateral de la cabeza. En momentos la acorrala en las paredes del tanque utilizando su cuerpo, ocasionando que se junten los cuerpos de ambos peces, momento donde sucede la liberación de huevos por la hembra. El desove ocurre con pausas entre cada liberación de huevos, regulada por la hembra, ya que ésta se queda inmóvil o estática sin o con poco nado en el fondo del tanque por un tiempo variable, de pocos segundos hasta 5 minutos, mientras el macho se mantiene activo nadando rápido por todo el tanque, acercándose constantemente a la hembra en espera de que ésta se mueva. Cuando la hembra se mueve o inicia su nado, el macho la persigue por todo el tanque dando paso al proceso de desove culminado por un “abrazo” de ambos reproductores (Figura 9). El macho se posiciona a un costado por detrás de la hembra, juntando su lado ventrolateral de éste al de la hembra, a nivel del orificio genital, arqueando ligeramente el cuerpo, éste proceso (abrazo) dura apenas fracciones de segundo y se repite varias veces (21 ± 4) hasta concluir el desove. Se encontraron diferencias estadísticas significativas en el tratamiento 24L:0O cuyo número de eventos fue mayor con respecto a los demás tratamientos ($P < 0.0125$, corrección de Bonferroni). Al terminar el desove ambos disminuyen drástica y significativamente su actividad, incluso más que en estado normal, debido al agotamiento por la intensidad y duración del proceso de desove. El nado es lento y la hembra suele pasar largo tiempo en el fondo del tanque con muy poco nado.

Para los tres tratamientos (24L:0O, 18L:6O y 12L:12O), el proceso de desove fue el mismo, pero en los fotoperiodos 18L:6O y 12L:12O la intensidad de éste se reduce notablemente así como el nivel de excitación por parte del macho y por ende, el acoso de éste hacia la hembra. El 85% de los desoves ocurrieron por la tarde-noche justo cuando la iluminación descende y 45 minutos antes de que se apague (Tabla 8). De un total de 24 desoves 12 ocurrieron al amanecer en el

tratamiento 24L:0O, para el tratamiento 18L:6O se registraron 30 desoves al amanecer de un total de 33 y en el tratamiento 12L12O, 12 de un total de 16 ocurrieron al amanecer. Sólo en el fotoperiodo 6L:18O no se presentaron desoves.

Al revisar con detalle los videos se pudo observar, que en aquellos desoves ocurridos por la mañana, el día anterior, durante las últimas horas de iluminación, ambos reproductores se vuelven mucho más activos, nadando más rápido por todo el tanque, lo cual es un indicio de que están dando inicio al cortejo de desove.

TABLA 8.

COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DEL PEZ BLANCO (*Chirostoma estor*) BAJO CUATRO DIFERENTES REGÍMENES DE ILUMINACIÓN.

Parámetro	Fotoperiodo			
Reproductivo	24L:0O	18L:6O	12L:12O	6L:18O
Ovoposiciones (abrazos)	26 ± 5 ^a	18 ± 3 ^b	19 ± 2 ^b	0 ^b
Desoves al amanecer	12 ± 2	30 ± 0.5	12 ± 0.3	0
Desoves al medio día	6 ± 1	0	0	0
Desoves al anochecer	6 ± 1	3 ± 0.2	4 ± 0.5	0

Valores en media ± desviación estandar. Anotación con diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente diferentes (ANOVA, prueba de Dunn's, corrección de Bonferroni P < 0.0125)

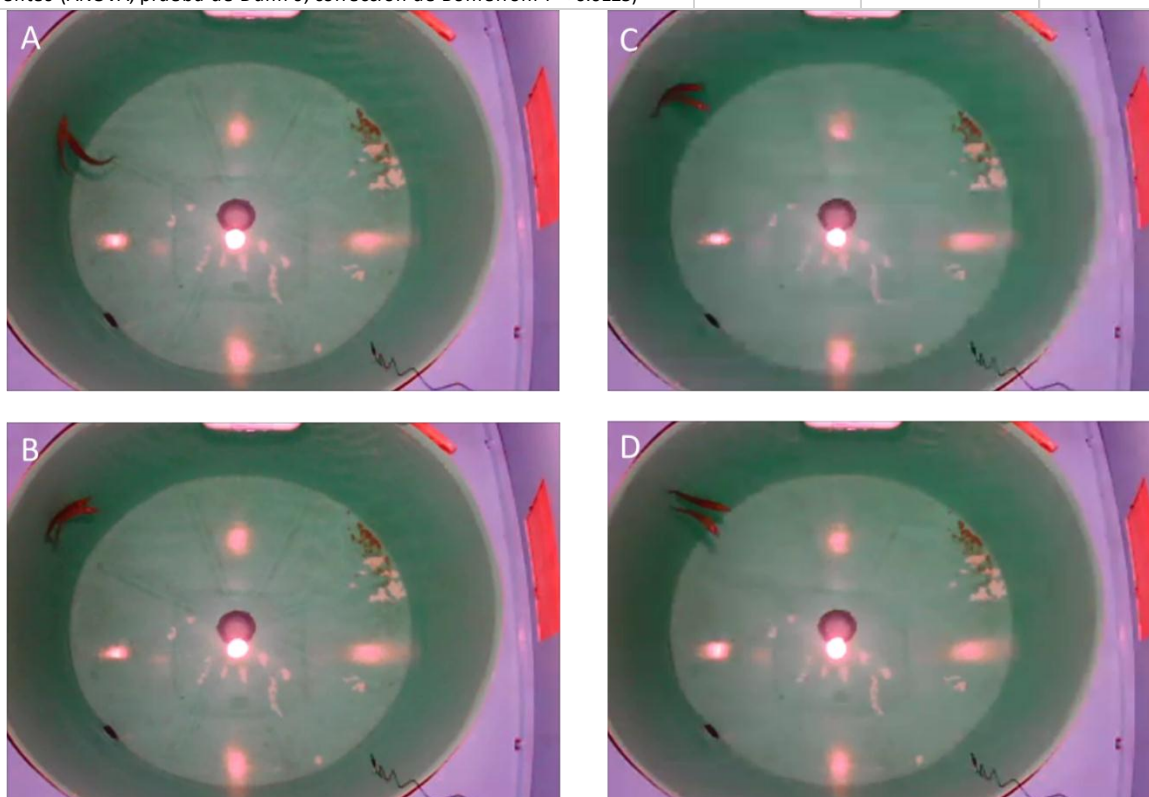


FIGURA 10. Cortejo y Proceso de desove (abrazo) durante la reproducción del pez blanco: (A) persecución, (B) inicio desove, (C) conclusión desove y (D) separación.

6.5. Velocidad de la corriente de agua.

Al inicio de los tratamientos la velocidad de la corriente fue muy intensa, creando un vórtice en el centro del tanque debido a su forma circular y con el drenaje en la parte central del fondo del mismo. Esta corriente afectó la fertilización, además de que estresaba a los organismos al mantener esfuerzo constante de nado a contra corriente.

Se modificó la salida del agua hacia el tanque con una doble boquilla de salida lo que neutralizó la velocidad de la corriente sin afectar el flujo y volumen de agua, esto permitió reducir el estrés y se reflejó en la tasa de fertilización (Tabla 9) (Figura 10).

TABLA 9. Promedio de recambios/día de los módulos de reproducción en el tratamiento 24L:00: La velocidad de la corriente afectó en la tasa de fertilización negativamente.

RECAMBIOS/DÍA.					
MÓDULOS (Réplicas) No.	FLUJO POR MINUTO (L)	FLUJO POR HORA (L)	RECAMBIOS / DÍA	VELOCIDAD DE CORRIENTE (m/seg.)	TASA DE FERTILIZACIÓN (%)
3	21.30	1,278.12	32.29	0.4	0.0
1	22.77	1,366.08	34.51	0.0	57.65
2	23.40	1,404.24	35.48	0.0	84.51
3	19.36	1,161.48	29.34	0.0	56.22

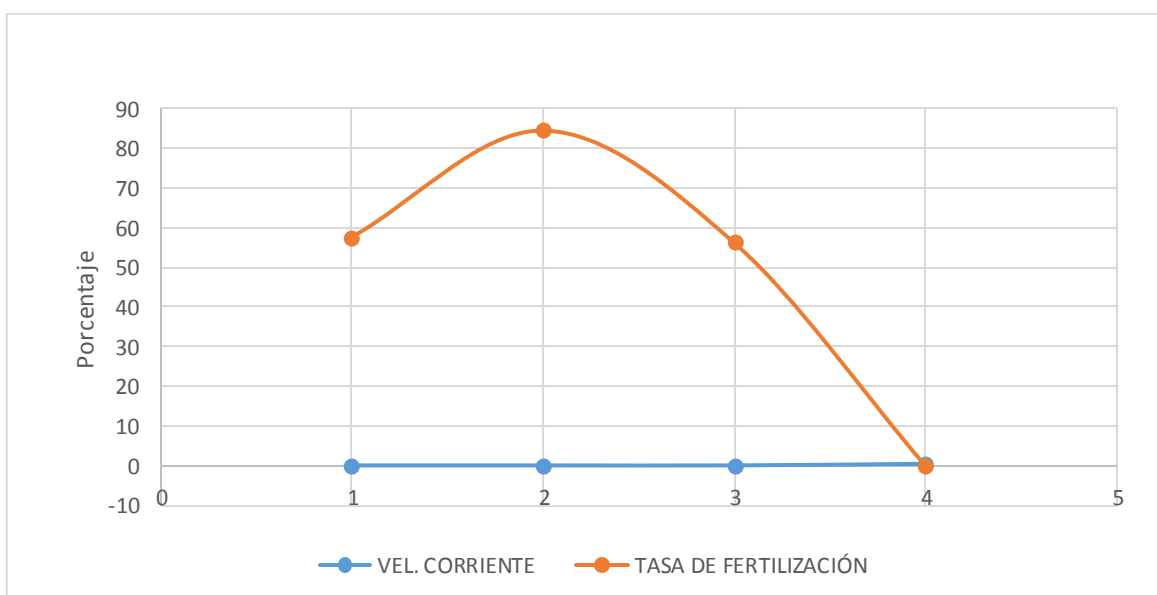


FIGURA 11. Velocidad de la corriente y la tasa de fertilización. La corriente es inversamente proporcional a la tasa de fertilización.

7. DISCUSIÓN.

7.1. Desempeño reproductivo.

El presente trabajo muestra por primera vez el desempeño reproductivo en hembras de *C. estor* observadas individualmente en cautiverio con lo cual se avanza en el conocimiento de la especie. Dicho desempeño fue modulado por los distintos tratamientos de fotoperiodo como se ha observado que ocurre en otras especies de Atherinópsidos (Arredondo-Figueroa *et al.*, 2012). El número de desoves y el número huevo total resultó mayor en 18L:6O, pero la fecundidad absoluta fue aún mayor en el tratamiento 12L:12O, en el que se incrementaron los intervalos de desoves llevado a un menor número de desoves total pero compensado con una mayor producción de huevos similar a lo encontrado en pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) (Chalde *et al.*, 2014) y difiere de lo reportado en *C. jordani* en donde si bien la mejor producción se presentó en el fotoperiodo largo (14L:10O), ésta disminuyó con el tiempo (Arredondo-Figueroa *et al.* 2012), lo cual no se presentó en el presente trabajo con *C. estor*. Sin embargo, los presentes resultados en el pez blanco difieren de lo encontrado por Martínez-Palacios (2007) con ésta misma especie, cuyos mejores resultados se obtuvieron en los fotoperiodos más largos (24L:0O y 18L:6O), probablemente debido a que el experimento se realizó con cardúmenes de reproductores en estanques al aire libre y no con parejas individuales bajo condiciones controladas. También difiere de lo reportado para reproductores de Perca Euroasiática (*Perca fluviatilis*), la cual, al ser sometida a un fotoperiodo largo (24L:0O) no presentó desarrollo gonadal y en el tratamiento 16L:8O se observó gametogénesis heterogénea con sólo un 54% de gravidez en las hembras y un 30% de madurez en los machos (Migaud *et al.*, 2006). Por otro lado, en la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) se obtuvieron los mejores resultados (fertilización, intervalo de desove, fecundidad total y fecundidad relativa) en el fotoperiodo 18L:6O, seguido por el 12L:12O en donde se observaron huevos significativamente más grandes que en los demás tratamientos (Campos-Mendoza *et al.*, 2004), similar a lo obtenido en el pez blanco. El uso del fotoperiodo como regulador de la reproducción también quedó demostrado en hembras Lubina Negra (*Centropomus striata*) al aplicar un fotoperiodo artificial largo (15L:9O) en el cual se obtuvo una aceleración del proceso de maduración (Howell *et al.*, 2003).

La producción de huevos, porcentaje de fertilización y tasa de eclosión se tuvieron comportamientos diferentes en cada tratamiento. En el fotoperiodo 6L:18O no se registraron desoves. Durante el fotoperiodo 24L:0O se registraron los valores más bajos, mejorando los resultados en el tratamiento 18L:6O en comparación con el tratamiento 24L:0O. Los valores más altos se registraron en el tratamiento 12L:12O, contrastando con lo reportado en otros Atherinópsidos como pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) y el charal (*C. jordani*), en ambos, la producción de huevos por desove pasó de incrementar al inicio del experimento, a disminuir la producción de huevos al final del experimento. Sin embargo, en *C. jordani* se

obtuvo un aumento en el número de desoves y un incremento en la producción de huevos con una proporción sexual 2:1 en comparación con en el grupo control (cardumen con proporción de 15:10) (Arredondo-Figueroa *et al.*, 2012; Chalde *et al.*, 2014). Es posible que aunque se les haya otorgado un periodo de aclimatación a los reproductores de pez blanco, a) éste no haya sido suficiente, b) que hubiera un efecto acumulativo de pasar de un tratamiento a otro o c) que la reposición de algunas hembras por las que murieron a mitad del experimento haya afectado las tendencias globales del mismo.

La observación de divisiones celulares anormales durante la segmentación temprana en el desarrollo embrionario de huevos de pez blanco no mostró una relación negativa con los porcentajes de eclosión y sobrevivencia en el pez blanco, como fue reportado para el Huachinango (*Lutjanus peru*) (Moguel-Hernández *et al.*, 2013).

Al igual que en tilapia (*O. niloticus*) el intervalo de desoves fue menor en los tratamientos largos (18L:6O y 24L:0O), aumentando conforme se reducían las horas de luz (Campos-Mendoza *et al.*, 2004), es decir, mayor número de desoves en los tratamientos con fotoperiodo más largo, siendo el mejor tratamiento el 18L:6O con un promedio de 4.5 días entre desoves y el más constante, comparado con los demás tratamientos, cuyos intervalos fluctuaron mucho. En otros Aterinópsidos como en el Charal (*C. jordani*), el intervalo de desoves más corto reportado fue de 7.6 días (Arredondo-Figueroa *et al.*, 2012), 3 días más que para el pez blanco. Largos periodos de exposición a la luz adelantan los desoves y en contraparte, periodos cortos de luz retrasan o detienen por completo los desoves, como lo reportado en *Sander lucioperca* y *Perca fluviatilis* (Sarameh *et al.*, 2012; Migaud *et al.*, 2006). Sin embargo, los mecanismos de este fenómeno no han sido elucidados, pero se sabe que ocurren alteraciones en la actividad androgénica ovárica (Ganesh *et al.*, 2015).

Las hembras presentaron un desempeño reproductivo diferente entre sí dentro de cada tratamiento, tanto en el número de desoves como en la cantidad de huevos. En cada tratamiento al menos una tuvo un desempeño mayor al resto dentro del mismo tratamiento, a pesar de contar con la misma edad, así como talla y peso muy similares. La cantidad de huevos por hembra fue más notable en el tratamiento 12L:12O en el que una hembra tuvo un promedio de 6,008 huevos, mientras que las otras dos desovaron en promedio 3,586 y 2,391, éste resultado se encuentra relacionado con el consumo de alimento, la hembra con la mayor producción de huevos consumió casi 4 veces más alimento que las otras dos hembras (4.05% de peso corporal por día). La eficiencia reproductiva puede ser afectada por variaciones interanuales en la talla y la edad, así como por factores externos como la temperatura y el fotoperiodo, además de una mala condición física (mala alimentación, lesiones, estrés o enfermedades) (Saborido-Rey, 2008). En el presente trabajo tanto la edad y talla de las hembras era la misma y la temperatura se mantuvo constante durante todo el experimento, sólo el

fotoperiodo fue el único factor que se modificó durante el experimento. La reproducción es un proceso muy susceptible de ser afectado por estrés (Sarameh *et al.*, 2012) y una característica del pez blanco es que tiende a estresarse con facilidad (Martínez-Palacios *et al.*, 2002).

En pejerrey (*Odontesthes bonariensis*), un *Atherinopsidae* como el pez blanco, se demostró que la tasa de fertilización y el tamaño de los huevos decrecen conforme transcurre la temporada reproductiva (Septiembre –Diciembre) (Chalde *et al.*, 2014). Esa tendencia no se presentó con el pez blanco, al contrario, la tasa de fertilización se incrementó durante el experimento llegando a un 99.53% (tratamiento 12L:12O).

Al principio del experimento fue muy evidente que la velocidad de la corriente afectó la tasa de fertilización. La tasa de fertilización aumentó considerablemente en todos los tratamientos cuando se redujo la velocidad de la corriente a 0 m/seg. Son pocos los trabajos sobre el efecto de la velocidad de la corriente en el desempeño reproductivo. En *Noturus placidus* en el que se describe que un flujo intenso altera el desempeño reproductivo así como la eficacia en la fertilización (Bryan *et al.*, 2006). No así en otras especies de peces, particularmente aquellas cuyo ciclo de reproducción incluye la migración, como en Perca Macquarie (*Macquaria australasica*), cuyo desempeño reproductivo se ve afectado si no migra a los afluentes del lago Dartmouth (Gray *et al.*, 2000).

7.2. Calidad del huevo: Perfil de ácidos grasos.

Los valores de LC-PUFAs encontrados en los huevos de los diferentes tratamientos mostraron un patrón y números similar a trabajos anteriores con el pez blanco (*Chirostoma estor*) (Palacios *et al.*, 2007; Salgado, 2009, Ríos-Durán *et al.*, 2014). El EPA y DHA decrecen conforme se reducen las horas luz, y en cambio el ARA aumenta conforme se reducen las horas luz. Aunque en el EPA se presentó un ligero incremento en el tratamiento 18L:6O con respecto al tratamiento 24L:0O, para luego caer en el tratamiento 12L:12O.

La disminución de EPA y DHA se debe al desgaste de los organismos sometidos a un fotoperiodo largo (18L:6O), particularmente transcurridas de 8 semanas (Salgado, 2009), sin embargo en el presente trabajo esto no sucedió. La disminución ocurrió conforme se cambió a un diferente fotoperiodo, disminuyendo las horas luz, con la consecuencia de un aumento en la cantidad de huevos desovados en el casi el mismo periodo tiempo (9 semanas). Los porcentajes de HUFAs se mantuvieron constantes durante cada tratamiento y se reflejaba únicamente en cada hembra dado que cada una tuvo un desempeño reproductivo diferente. Probablemente debido a la edad de los reproductores, cuya edad de todas las hembras al terminar el experimento era de más de 4 años, hembras viejas tienden a exhibir un gran declive en su desempeño reproductivo a pesar de

que son más eficientes en la asignación de la energía para la reproducción, en comparación con hembras jóvenes (Belk, 2010), por lo que se podría considerar como viejas, a aquellas hembras de pez blanco de más de 4 años de edad.

La calidad del huevo en la concentración de HUFA puede ser afectada por el fotoperiodo y la nutrición (Brooks *et al.*, 1997), por mencionar algunas de las variables más importantes a considerar y se refleja en los resultados obtenidos en este trabajo. Los valores encontrados para ARA, EPA Y DHA se encuentran dentro el rango registrado para ésta especie (3-5% de ARA, 1-3% EPA y 20-32% de DHA), sometida a la misma dieta (alimento balanceado más artemia adulta viva) (Fonseca-Madrigal *et al.*, 2014; Ríos-Durán *et al.*, 2014; Palacios *et al.*, 2006). En 24L:0O la producción de huevos fue la más baja, pero presentó el mayor porcentaje de HUFAs, en cambio, en el tratamiento 18L:6O, disminuyó el porcentaje de DHA, pero se incrementó el ARA y el EPA, la producción de huevos aumentó considerablemente con respecto al fotoperiodo anterior el intervalo de desove era más amplio y muy constante (4.5 días), lo cual conlleva a un mayor esfuerzo energético para la producción de huevos (Belk, 2010), si se toma en cuenta que ocurre un desove cada 4.5 días. Finalmente, en el tratamiento 12L:12O, la producción de huevos fue mucho mayor que las dos anteriores (90% más huevos), lo anterior requiere de más energía para producir tal cantidad de huevos, lo que conduce a una disminución de EPA Y DHA, y a un incremento de ARA de acuerdo a lo descrito por Brooks (1997).

DHA/EPA registró la diferencia más importante en el tratamiento 12L:12O con respecto del resto, con un rango mucho mayor (más de 2.5 veces), esto probablemente se deba a la producción de huevos, que resultó ser la mayor para el tratamiento 12L:12O, destinando mucha energía en el proceso, con una mayor biosíntesis de DHA a partir de EPA (Fonseca-Madrigal *et al.*, 2014) como compensación por la falta de LC-PUFA debido al esfuerzo reproductivo.

7.3. Comportamiento reproductivo.

El comportamiento reproductivo observado a través de las grabaciones mostró un proceso complejo pero, fácil de detectar, el cual es similar a otras especies como Zebrafish y otros Aterinópsidos (Arredondo-Figueroa *et al.*, 2012, Larsen *et al.*, 2008), que son peces de cardumen y con desoves múltiples y su éxito reproductivo depende de su habilidad para realizar eficientemente el cortejo reproductivo (Larsen *et al.*, 2008). El cortejo inicia con el incremento en la actividad de los reproductores, particularmente del macho, el nado es más rápido, en un momento dado, la hembra inicia su nado de manera intensa y rápida y es inmediatamente seguida por el macho, llegando por detrás de ésta hasta colocarla cerca del fondo o pared del tanque y mediante un abrazo se produce el desove, el evento se repite hasta concluir el proceso de desove y, entre cada evento, el tiempo entre éstos se hace cada vez mayor, muy similar a lo ocurrido en otras

especies de cardumen (Saborido-Rey, 2008). En el pez Zebra el comportamiento de cortejo consiste en intentos del macho por atraer a la hembra a la zona de desove donde la induce a desovar mediante oscilaciones rápidas de la cola contra los costados de la hembra (Larsen *et al.*, 2008). La exposición a un fotoperiodo largo (24L:0O) tiene una influencia sobre el comportamiento en los machos de *C. estor*, provocando que estos se sobre exciten y constantemente persigan a las hembras en busca de que estas desoven, lo cual le ocasiona un estrés, éste comportamiento tan inusual podría explicarse por el aumento en la concentración de hormonas como GnRH3 que es influenciada por la luz como fue descrito en la mojarra (*Cichlasoma dimerus*) (Liley *et al.*, 1983, Fiszbein *et al.*, 2010). En la Brema plateada (*Blicca bjoerkna* L.) se describe un cortejo de desove similar en el que el macho corteja a la hembra tocando su vientre para luego ondular su cuerpo y pegarlo junto al vientre de la hembra e inducir el desove (Matondo *et. al.*, 2013). En Zebrafish las feromonas juegan un papel importante en la reproducción y comportamiento, la liberación de feromonas por los machos estimula la producción de las hembras e incrementa la calidad y viabilidad de los huevos, mientras que las hembras, la liberación de feromonas induce a los machos a iniciar el cortejo y afecta a otras hembras disminuyendo la viabilidad de sus huevos e incluso suprimir su reproducción, por lo que cambios en la liberación de feromonas tiene influencia en el comportamiento y éxito reproductivo (Gerlach, 2006), el papel de las feromonas aún no se ha estudiado en el pez blanco.

8. CONCLUSIONES.

El uso de distintos fotoperiodos tiene un efecto directo sobre el desempeño reproductivo del Pez Blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor*), afecta la frecuencia reproductiva, intervalos de desoves y la fecundidad. Esto significa que utilizando diferentes fotoperiodos se pueden incrementar o detener los desoves.

La reproducción de parejas individuales del Pez Blanco de Pátzcuaro es viable y eficiente, si bien aún hay aspectos a considerar y analizar en futuros trabajos, como el estrés y la mortalidad de los organismos. Particularmente de las hembras que en casi todos los casos fueron las que murieron sin ninguna causa aparente o enfermedad evidente.

El proceso de desove ocurre mayormente por la tarde, poco antes de que se apague la iluminación (45 minutos antes), el macho persigue a la hembra y la arrincona para “abrazarla” con lo que se induce el desove, todo el proceso dura aproximadamente media hora, al terminar el desove, la actividad tanto del macho como la hembra decrece notablemente cambiando su estado altamente activo a uno de completo reposo con poco nado.

El mejor desempeño reproductivo se observó en el fotoperiodo 18L:6O, debido que la frecuencia reproductiva tiene poca variación, con desoves cada 4.5 días, si bien durante el fotoperiodo 12L:12O se presentaron resultados notables (90% más huevo), sólo son atribuibles a una sola hembra (variación inter individuo), cuya producción durante éste fotoperiodo fue sobresaliente y superior a todo lo esperado y observado para esta especie.

La proporción sexual 1:1 es suficiente para obtener una fertilización superior al 90% en éste tipo de sistemas. También se descubrió la importancia de colectar el huevo poco tiempo después de concluido el desove, ya que el huevo resulta muy frágil durante las primeras 24-48 horas, en el que se puede morir hasta el 100% del huevo fertilizado si no es colocado en una incubadora.

Se obtuvieron resultados importantes inéditos, el intervalo de desove más corto fue de menos de 12 horas, también se obtuvo el desove con mayor número de huevos, con 7,649 desovados por una sola hembra, así como la mayor tasa de fertilización para la proporción sexual 1:1 con un 99.5%.

Sin embargo, la tasa de eclosión es baja, menor al 40%, pero la supervivencia de las larvas es alta, con un 75% durante el primer mes. Mediante el uso de este tipo de sistemas para el cultivo del Pez Blanco de Pátzcuaro se pueden obtener de 207,600 a 412,800 huevos por hembra al año y entre 83,040 a 165,120 larvas al año.

9. RECOMENDACIONES.

- Para el manejo y reproducción del pez blanco de Pátzcuaro se recomienda inducir la reproducción en módulos cerrados.
- Utilizar diferentes proporciones sexuales (3:1, 3:2 o 3:3), con la finalidad de determinar el desempeño reproductivo en comparación con la proporción sexual 1:1 y reducir el estrés al tratarse de una especie de cardumen.
- Colectar el huevo desovado lo más pronto posible (por la mañana), cortar los hilos, limpiarlo ponerlo a incubar de inmediato, debido a lo delicado que es el huevo en las primeras 24 horas.
- Por último se recomienda elaborar una dieta específica para reproductores y alimentar hasta 8 veces al día (dependiendo del fotoperiodo utilizado), así como dejar a los reproductores al menos 3 meses en un fotoperiodo corto (6L:18O) para evitar que tengan actividad reproductiva, a manera de descanso.

7. BIBLIOGRAFÍA.

- Arredondo-Figueroa, J. L., Núñez-García, L. G., Heredia-Guzmán, P. A. and Ponce-Palafox, J. 2012. Reproductive performance of the Mesa silverside (*Chirostoma jordani* Woolman, 1894) under and controlled photoperiods. *BIOCELL* 36, 105–111.
- Belk, Marck C. and Tuckfield, R. Cary. 2010. Changing costs of reproduction: age-based differences in reproductive allocation and escape performance in a livebearing fish. *Oikos* 119: 163–169.
- Blancas-Arroyo, G. A., Figueroa-Lucero, G., Barriga-Sosa, I. de los A., Arredondo-Figueroa, J. L. 2004. Effects of an artificial photothermal cycle on the reproduction of the shortfin silverside, *Chirostoma humboldtianum*, Valenciennes, 1835 (Pisces: Atherinopsidae). *Aquaculture* 241, 575–585.
- Bryan, Janice L., Wildhaber, Mark L., Noltie and Douglas B. 2006. Influence of Water Flow on Neosho madtom (*Noturus placidus*) Reproductive Behavior. *Am. Midl. Nat.* 156: 305–318.
- Burnie, D. 2003. Animal. Dorling Kindersley, Londres. 624 pp.
- Campos-Mendoza, A., McAndrew, B. J., Coward, K., Bromage, N. 2004. Reproductive response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to photoperiodic manipulation; effects on spawning periodicity, fecundity and egg size. *Aquaculture* 252, 299–314.
- Brooks, Suzanne, Tyler, Charles R. and Sumpter, John P. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg? *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 7, 387–416.
- Cárdenas, R., Chávez, M., González, J. L., Aley, P., Espinoza, J. and Jiménez-García, J. F. 2008. Oocyte Structure and Ultrastructure in the Mexican Silverside Fish *Chirostoma humboldtianum* (Atheriniformes: Atherinopsidae). *Rev. Biol. Trop* 56(4), 1825–1835.
- Carrillo, M., Begtashi, I., Rodríguez, L., Marin, M. C., Sanuy, S. 2010. Long photoperiod on sea cages delays timing of first spermiation and enhances growth in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 299, 157–164.
- Chalde, Tomás, Elisio, Mariano y Miranda, Leandro A. 2014. Quality of pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) eggs and larvae in captivity throughout spawning season. *Neotropical Ichthyology*. DOI: 10.1590/1982-0224-20130146.
- Clutton-Brock, T. 2007. Sexual selection in males and females. *Science*, 318, 1882–1885.
- Davie, A., Mazorra de Quero, C., Bromage, N., Treasurer, J., Migaud, H. 2007. Inhibition of sexual maturation in tank reared haddock

(*Melanogrammus aeglefinus*) through the use of constant light photoperiods. *Aquaculture* 270, 379–389.

- Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. 2012. El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura. *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Acuicultura*, Roma, 251 pp.
- Duponchelle F., Cecchi P., Corbin D., Nuñez J. & M. Legendre, 1999. Spawning season variations of female Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, from man-made lakes of Côte d'Ivoire. *Env. Biol. Fish.*, 56: 377–389.
- Felip, A., Sanuy, S., Muriach, B., Cerdá-Reverter, J. M., Carrillo, M., 2008. Reduction of sexual maturation in male *Dicentrarchus labrax* by continuous light both before and during gametogenesis. *Aquaculture* 275, 347–355.
- Fiszbein, Ana, Cánepa, Maximiliano, Vázquez, Graciela Rey, Maggese, Cristina y Pandolfi, Matías. 2010. Photoperiodic modulation of reproductive physiology and behaviour in the cichlid fish *Cichlasoma dimerus*. *Physiology & Behavior* 99: 425–432.
- Fonseca-Madrigal, J., Navarro, J. C., Hontoria, F., Tocher, D. R., Martínez-Palacios, C. A. and Monroig, O. 2014. Diversification of substrate specificities in teleostei Fads2: characterization of $\Delta 4$ and $\Delta 6\Delta 5$ desaturases of *Chirostoma estor*. *Journal of Lipid Research* 55: 1408–1419.
- Fonseca-Madrigal, J., Pineda-Delgado, D., Martínez-Palacios, C., Rodríguez, C., Tocher, D. R. 2012. Effect of salinity on the biosynthesis of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in silverside *Chirostoma estor*. *Fish Physiol Biochem* 38:1047–1057.
- Frantzen, M., Arnesen, A. M., Damsgård, B., Tveiten, H. and Jhonsen, H. K. 2004. Effects of photoperiod on sex steroids and gonad maturation in Arctic charr. *Aquaculture* 240, 561–574.
- Ganesh, C. B. and Mokashi, V. R. 2015. Chronic exposure to low intensity natural light blocks spawning in the cichlid fish *Oreochromis mossambicus*. *The Journal of Basic & Applied Zoology* 72, 145–153.
- Gerlach, Gabriele. 2006. Pheromonal regulation of reproductive success in female zebrafish: female suppression and male enhancement. *Animal Behaviour* 72: 1119–1124.
- Gray, S. C., De Silva, S. S., Ingram, B. A. and Gooley, G. J. 2000. Effects of river impoundment on body condition and reproductive performance of the Australian native fish, Macquarie perch (*Macquaria australasica*). *Lakes & Reservoirs: Research and Management* 5, 281–291.
- Howell, R. A., Berlinsky, D. L., Bradley, T. M., 2003. The effects of photoperiod manipulation on the reproduction of black sea bass, *Centropristis striata*. *Aquaculture* 218, 651–669.

- Instituto Nacional de Pesca. 2003. Historia y Avances del Cultivo de Pescado Blanco. *Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación*. México, 292 pp.
- Instituto Nacional de Pesca. 2012. Registro Nacional de Pesca. *Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación*. México. 215 pp.
- Izquierdo, M. S., Fernández Palacios, H. and Tacon A. G. J. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance on fish. *Aquaculture* 197, 25–42.
- Jaya Ram, Annette., Kuah, Meng Kiat., Lim, Phaik Siew., Kolkovski, Sagiv. And Chong Shu-Chien, Alexander. 2008. Influence of dietary HUFA levels on reproductive performance, tissue fatty acid profile and desaturase and elongase mRNAs expression in female zebrafish *Danio rerio*. *Aquaculture* 277, 275–281.
- Larsen G., Mia, Hansen B., Katrine, Henriksen B., Per and Baatrup, Erik. (2008). Male zebrafish (*Danio rerio*) courtship behaviour resists the feminizing effects of 17 α -ethinyloestradiol—morphological sexual characteristics do not. *Aquatic Toxicology* 87, 234–244.
- Liley, N. R. and Stacey, N. E. 1983. Hormones, Pheromones, and Reproductive Behavior in Fish. *Fish Physiology*, Vol. XIB. ISBN 0-12-350429-5.
- Ling, Shirley., Kua, Meng-kiat., Tengku Muhammad, Tengku Sifzizul., Kolkovski, Sagiv and Chong Shu-Chien, Alexander. 2006. Effect of dietary HUFA on reproductive performance, tissue fatty acid profile and desaturase and elongase mRNAs in female swordtail *Xiphophorus helleri*. *Aquaculture* 261, 204–214.
- López H., J. L. 2009. Evaluación de la frecuencia y calidad del desove en reproductores de pez blanco de Pátzcuaro (*Menidia estor*) bajo condiciones controladas. Tesis de licenciatura no publicada. U.M.S.N.H. Morelia, Mich., México. 37pp.
- Matondo, Billy Nzau, Ovidio, Michaël, Philippart, Jean Claude and Poncin, Pascal. 2013. Spawning behaviour and mating success in hybrids of silver bream (*iBlicca bjoerkna* L.) and rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L.) in an experimental environmen. *Anima Biology* 63: 119–130.
- Martínez-Palacios, C. A., Barriga T., E., Taylor, J. F., Ríos D., G., Ross, L. G. 2002. Effect of temperature on growth and survival of *Chirostoma estor estor*, Jordan 1879, monitored using a simple video technique for remote measurement of length and mass of larval and juvenile fishes. *Aquaculture* 209, 369–377.
- Martínez-Palacios, C. A., Ríos-Durán, M. G., Campos Mendoza, A., Toledo Cuevas, M., Ross, L. G., 2002. Avances en el cultivo del pescado blanco de

Pátzcuaro *Chirostoma estor estor*. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola VI*. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola.

- Martínez-Palacios, C. A., Chávez-Sosa, J. C., Santoyo-Guzmán, V. O., Campos-Mendoza, A., Martínez-Chavez, C. C. and Ross, L. G. 2007. The effect of photoperiod on the reproduction of *Chirostoma estor estor* Jordan 1879 from Lago de Pátzcuaro, Mexico. *Journal of Applied Ichthyology* 23, 621–623.
- Martínez-Palacios, C. A., Comas M. J., Tello-Ballinas, J. A., Toledo-Cuevas, M., Ross, L. G. 2004. The effects of saline environments on survival and growth of eggs and larvae of *Chirostoma estor estor* Jordan 1880 (Pisces: Atherinidae). *Aquaculture* 238, 509–522.
- Martínez-Palacios, C. A., Ríos D., Ma. G., Fonseca M., J., Toledo C. M., Sotelo L., A. & Ross, L. G. 2008. Developments in the nutrition of *Menidia estor* Jordan 1880. *Aquaculture Research* 39, 738–747.
- Migaud, H., Wang, N., Gardeur, J-N., Fontaine, P. 2006. Influence of photoperiod on reproductive performances in Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture* 252, 385–393.
- Milla, S., Mandiki, S.N.M., Hubermont, P., Rougeot, C., Mélard, C., Kestemont, P. 2009. Ovarian steroidogenesis inhibition by constant photothermal conditions is caused by a lack of gonadotropin stimulation in Eurasian perch. *General and Comparative Endocrinology* 163, 242–250.
- Moguel-Hernández, I., Peña, R., Nolasco-Soria, H., Dumas, S. and Hinojosa-Baltazar, P. 2013. Egg quality criteria in Pacific red snapper (*Lutjanus peru*). *Aquaculture Research* 1–9 doi:10.1111/are.12248
- Navarrete-Ramírez, P., Orozco, A., Valverde-R., C., Olvera, A., Toledo-Cuevas, M. E., Ross, L. G. & Martínez-Palacios, C. A. 2011. Effects of thyroxine administration on the growth and survival of pike silverside (*Chirostoma estor*) juveniles. *Aquaculture Research* 42, 808–814.
- Nelson, J. S. 2006. *Fishes of the World*, 4th edn. New York: J. Wiley. 601 pp.
- Palacios, E., Racotta, I. S., Aparicio, B., Arjona, O. and Martínez-Palacios, C.A. 2007. Lipid classes and fatty acids during embryogenesis of captive and wild silverside (*Chirostoma estor estor*) from Pa'tzcuaro Lake. *Fish Physiol Biochem* 33:81–91.
- Partridge, G. J., Benetti, D. D., Stieglitz, J. D., Hutapea, J., McIntyre, A., Chen, B., Hutchinson, W., Scholey, V. P. 2011. The effect of a 24-hour photoperiod on the survival, growth and swim bladder inflation of pre-flexion yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) larvae. *Aquaculture* 318, 471–474.

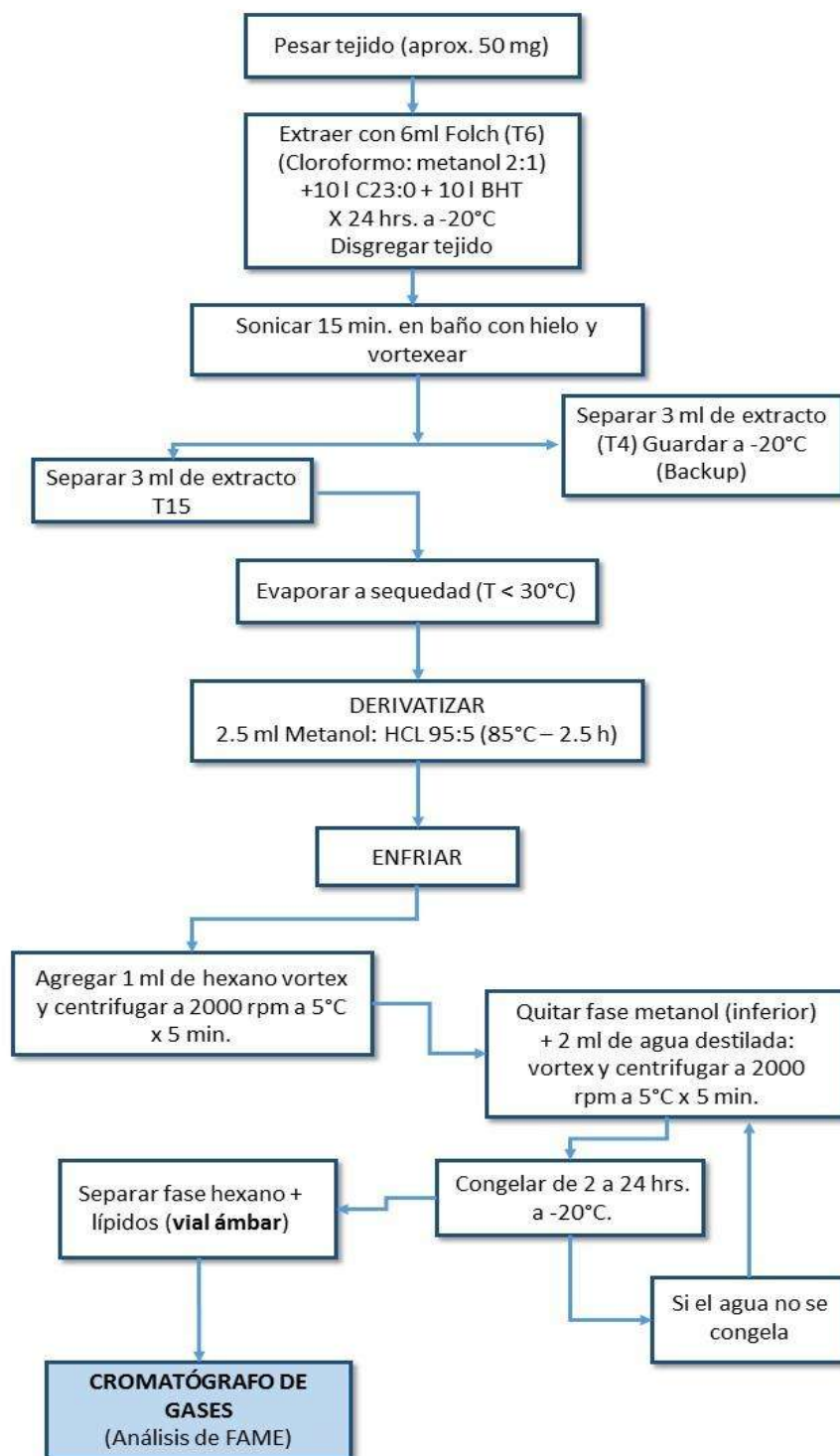
- Peirson, S.N., Halford, S., Foster, R.G., 2009. The evolution of irradiance detection: melanopsin and the non-visual opsins. *Philos. Trans. R. Soc.* 364, 2849–2865.
- Peñaloza C., M. L. 2009. Evaluación de la calidad espermática de reproductores cultivados de pez blanco de Pátzcuaro (*Menidia estor*) para optimizar el proceso de fertilización. Tesis Maestría no publicada. U.M.S.N.H. Morelia, Mich., México. 80 pp.
- Rad, F., Bozaoğlu, S., Gözükar, S. E., Karahan, A., Kurt, G. 2006. Effects of different long-day photoperiods on somatic growth and gonadal development in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture* 255, 292–300.
- Řežucha, R and Reichard, M. 2014. The effect of social environment on alternative mating tactics in male Endler's guppy, *Poecilia wingei*. *Animal Behaviour* 88, 195–202.
- Ríos-Durán, M. G., Navarrete-Ramírez, P., Fonseca-Madrigal, J., Méndez-Ortiz, E., Palacios, E., Racotta, I. S., Martínez-Chávez, C. C., Ross, L. G. and Martínez-Palacios, C. A. 2014. Optimizing initial feeding of the Pike silverside *Chirostoma estor*: oil droplet depletion, point of no return, growth and fatty acids utilization in larvae fed enriched rotifers. *Aquaculture Nutrition*. DOI: 10.1111/anu.12272.
- Rosas, M. 1970. Pescado Blanco (*Chirostoma estor*), su fomento y cultivo en México. Instituto Nacional de Investigaciones Biológicas Pesqueras, Comisión Nacional Consultiva de Pesca. México, 79 p.p.
- Ross, L. G., Martínez-Palacios, C. A., Aguilar V., Ma. Del C., Beveridge, M., Chavez S., Ma. C. 2006. Determination of feeding mode in fishes: the importance of using structural and functional feeding studies in conjunction with gut analysis in a selective zooplanktivore *Chirostoma estor* Jordan 1880. *Journal of fish biology* 68, 1782–1794.
- Ross, L. G., Sánchez B., J., Martínez-Palacios, C., Racotta, I. S. and Toledo C., Mayra. 2007. Anaesthesia, sedation and transportation of juvenile *Menidia estor* (Jordan) using benzocaine and hypothermia. *Aquaculture Research* 38, 909–917.
- Saborido-Rey, Fran. 2008. Ecología de la Reproducción y Potencial Reproductivo en las Poblaciones de Peces Marinos. Recuperado de: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/7260/1/Curso%20Ecologia%20reproduccion%20y%20potencial%20reproductivo%20en%20las%20poblaciones%20de%20peces%20marinos.pdf>
- Salgado G., R. L. 2010. Efecto del ácido araquidónico (20:4n-6) sobre la capacidad reproductiva y el nivel de prostaglandina PGE2 del pez blanco de

Pátzcuaro *Menidia estor*. Tesis Maestría no publicada. U.M.S.N.H. Morelia, Mich., México. 169 pp.

- Saramah P., S., Falahatkar, B., Takami, G. A., Efatpanah, I. 2012. Effects of different photoperiods and handling stress on spawning and reproductive performance of pikeperch *Sander lucioperca*. *Animal Reproduction Science* 132, 213–222.
- Stuart, K. R., Drawbridge, M. 2011. The effect of light intensity and green water on survival and growth of cultured larval California yellowtail (*Seriola lalandi*). *Aquaculture* 321, 152–156.
- Taylor, J. F., North, B. P., Porter, M. J. R., Bromage, N. R., Migaud, H. 2006. Photoperiod can be used to enhance growth and improve feeding efficiency in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 256, 216–234.
- Tello B., J. A. 2010. Efecto del fotoperiodo y la temperatura en el crecimiento y la determinación sexual de pez blanco de Pátzcuaro (*Menidia estor*). Tesis de Maestría no publicada. U.M.S.N.H. Morelia, Mich., México. 65 pp.
- Tubert, C., Lo Nostro, F., Villafañe, V. and Pandolfi, M. 2012. Aggressive behavior and reproductive physiology in females of the social cichlid fish *Cichlasoma dimerus*. *Physiology & Behavior* 106, 193–200.
- Villamizar, M., García-Alcazar, A., Sánchez-Vázquez, F. J. 2009. Effect of light spectrum and photoperiod on the growth, development and survival of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture* 292, 80–86.
- Yaya-Ram, A., Meng-Kiat, K., Phaik-Siew, L., Kolkovski, S. and Shu-Chien, A. C. 2008. Influence of dietary HUFA levels on reproductive performance, tissue fatty acid profile and desaturase and elongase mRNAs expression in female Zebrafish *Danio rerio*. *Aquaculture* 277, 275-281.

ANEXO 1.

DERIVATIZACIÓN DIRECTA DE LÍPIDOS TOTALES



ANEXO 2.

Tabla de mortalidad y biométricas de los reproductores.

TRATAMIENTO	GÓNADA (gr)	PESO ♀ (gr)	LONGITUD ♀ (cm)	Grasa Visceral (gr)	HÍGADO (gr)	I. G.	F. A.	OBSERVACIONES
24L:0D	2.8	64.2	19.7	1.6	1.7	4.361370717	3085.6	Lesiones
24L:0D	2.2	64.6	20.4	1.8	2.1	3.405572755	2424.4	Lesiones
18L:6D	3.6	64.5	20.1	0	1.5	5.581395349	3967.2	
18L:6D*	3.8	65.1	21.5	0	1.2	5.837173579	4187.6	Pérdida de ojos
12L:12D	4.6	68.3	20.5	0	2.1	6.734992679	5069.2	Lesiones
12L:12D	3.9	67.2	20.3	0	2	5.803571429	4297.8	
6L:18D	0.7	71	21.6	0.9	0.7	0.985915493	771.4	Infección
6L:18D	1.0	64.2	19.7	0.3	1.7	1.557632399	1102	
* Sin grasa corporal, hígado pequeño, falleció 6 días después de su último desove. Infección y exoftalmia del ojo derecho.								
I. G. (Índice Gonosomático), F. A. (Fecundidad Absoluta)								

Tablas de frecuencia alimenticia de los reproductores por tratamiento.

ALIMENTACIÓN DURANTE LOS TRATAMIENTOS					
FOTOPERIODO 24L:0D					
MÓDULO #	PESO REPRODUCTORES	PESO (gr)	FRECUENCIA/DÍA	TOTAL/DÍA (gr)	% DÍA
1	73	0.3440	8	2.752	3.77
2	82	0.4099	8	3.2792	4.00
3	70	0.3237	8	2.5896	3.70
ALIMENTACIÓN DURANTE LOS TRATAMIENTOS					
FOTOPERIODO 18L:6D					
MÓDULO #	PESO REPRODUCTORES	PESO (gr)	FRECUENCIA/DÍA	TOTAL/DÍA (gr)	% DÍA
1	73	0.1890	8	1.512	2.07
2	82	0.1935	8	1.548	1.89
3	70	0.1435	8	1.148	1.64
ALIMENTACIÓN DURANTE LOS TRATAMIENTOS					
FOTOPERIODO 12L:12D					
MÓDULO #	PESO REPRODUCTORES	PESO (gr)	FRECUENCIA/DÍA	TOTAL/DÍA (gr)	% DÍA
1	73	0.3554	4	1.4216	1.95
2	82	0.6648	5	3.324	4.05
3	82	0.3597	4	1.4388	1.75
ALIMENTACIÓN DURANTE LOS TRATAMIENTOS					
FOTOPERIODO 6L:18D					
MÓDULO #	PESO REPRODUCTORES	PESO (gr)	FRECUENCIA/DÍA	TOTAL/DÍA (gr)	% DÍA
1	73	0.3554	4	0.789777778	1.08
2	82	0.6648	5	2.374285714	2.90
3	82	0.3597	4	0.799333333	0.97