

La investigación reportada en esta tesis es parte de los programas de investigación del CICESE (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California).

La investigación fue financiada por el CONAHCYT (Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías).

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México). El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo o titular de los Derechos Autor.

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



**Maestría en Ciencias
en Acuicultura**

**Diferenciación gonadal e identificación del período lábil para
el control del sexo en la lobina rayada, *Morone saxatilis***

Tesis
para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Maestro en Ciencias

Presenta:

Estefanía de los Ángeles Murillo Núñez

Ensenada, Baja California, México
2024

Tesis defendida por
Estefanía de los Ángeles Murillo Núñez

y aprobada por el siguiente Comité

Dr. Benjamín Barón Sevilla
Director de tesis

Dr. Roberto Cruz Flores

Dr. Rodrigo Méndez Alonzo



Dr. Roberto Cruz Flores
Coordinador del Posgrado en Acuicultura

Dra. Ana Denise Re Araujo
Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Estefanía de los Ángeles Murillo Núñez** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Acuicultura.

Diferenciación gonadal e identificación del período lábil para el control del sexo en la lobina rayada, *Morone saxatilis*

Resumen aprobado por:

Dr. Benjamín Barón Sevilla
Director de tesis

La lobina rayada (*Morone saxatilis*) es un pez teleósteo perciforme anádromo que pertenece a la familia Moronidae. Esta especie se destaca por sus notables cualidades para la acuicultura. La empresa Pacífico Aquaculture, S. A. P. I. de C. V., agregó a sus cultivos a la lobina rayada, puesto que es de gran valor comercial y tiene una gran demanda en el mercado local, nacional e internacional. Aunque existe un creciente interés en intensificar el cultivo de la lobina rayada con el fin de mejorar las prácticas productivas, hasta el momento se han llevado a cabo relativamente pocos estudios que describan su proceso de gonadogénesis o que identifiquen el período crítico en el ciclo reproductivo de esta especie. Dado su parentesco con la especie *Dicentrarchus labrax*, en este estudio, utilizamos esta última como modelo para el diseño de experimentos y la descripción del desarrollo gonadal de la lobina rayada. En este trabajo, se presenta el proceso de diferenciación de las gónadas de la lobina rayada durante su etapa larval y juvenil, que abarca desde 0 hasta 300 días después de la eclosión (dde), utilizando técnicas histológicas. A partir de 32 dde (2.03 cm LT) se desarrolló el primordio gonadal indiferenciado con células germinales. La diferenciación ovárica se determinó con la formación de la cavidad ovárica a los 52 dde (4.97 cm LT). Los primeros ovocitos primarios se desarrollaron a los 102 dde (11.99 cm LT). La diferenciación testicular se identificó a los 140 dde (13.75 cm) con la presencia y proliferación de espermatogonias. El período lábil de la lobina rayada es entre los 32 y 52 dde. *M. saxatilis* es más precoz que *D. labrax*. Este estudio representa el primer intento sistemático y detallado de describir el proceso de diferenciación de la lobina rayada. Los hallazgos de este trabajo serán de gran utilidad al proporcionar información crucial para el desarrollo de estrategias de manipulación reproductiva con el fin de mejorar los rendimientos biológicos de esta especie en el contexto acuícola.

Palabras clave: *Morone saxatilis*, diferenciación sexual, análisis histológico, período lábil, gonadogénesis

Abstract of the thesis presented by **Estefanía de los Ángeles Murillo Núñez** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Aquaculture

**Gonadal differentiation and identification of the labile period for sex control in striped bass,
*Morone saxatilis***

Abstract approved by:

Dr. Benjamín Barón Sevilla
Thesis Director

The striped bass (*Morone saxatilis*) is an anadromous teleost perciform fish belonging to the Moronidae family. This species stands out for its remarkable qualities in aquaculture. Pacífico Aquaculture, S. A. P. I. de C. V., has incorporated striped bass into its aquaculture operations due to its significant commercial value and high demand in the local, national, and international markets. Although there is a growing interest in intensifying striped bass farming to enhance production practices, relatively few studies have been conducted to describe its gonadogenesis process or identify the critical period in the reproductive cycle of this species. Given its relationship with the *Dicentrarchus labrax* species, in this study, we used the latter as a model for experimental design and the description of striped bass gonadal development. This work presents the process of gonad differentiation in striped bass during its larval and juvenile stages, spanning from 0 to 300 days post hatching (dph), using histological techniques. The undifferentiated gonadal primordium with germ cells developed starting from 32 dph (2.03 cm TL). Ovarian differentiation was determined with the formation of the ovarian cavity at 52 dph (4.97 cm TL). The first primary oocytes developed at 102 dph (11.99 cm TL). Testicular differentiation was identified at 140 dph (13.75 cm) with the presence and proliferation of spermatogonia. The critical period for striped bass is between 32 and 52 dph. *M. saxatilis* differentiates earlier than *D. labrax*. This study represents the first systematic and detailed attempt to describe the striped bass differentiation process. The findings of this work will be of great utility by providing crucial information for the development of reproductive manipulation strategies aimed at enhancing the biological yields of this species in the aquacultural context.

Keywords: *Morone saxatilis*, sex differentiation, histological analysis, labile period, gonadogenesis

Dedicatoria

A mi madre Marcela Núñez por su amor, cariño y siempre cuidar de mí.

A mis hermanos Bernardo, Claudia y Ricardo, por confiar en mí y no dejarme sola a pesar de la distancia.

A mi padre Bernardo Murillo por sus palabras de aliento y motivación para llegar hasta aquí.

A Jorge Gómez, por su apoyo y compañía en este proceso de mi vida.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnologías (CONAHCYT) por apoyar con la beca con número 2021-000018-02NACF-21057 y lograr esta meta.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE), especialmente al Departamento de Acuicultura por haberme aceptado en su programa de Maestría con matrícula 21214958 y utilizar sus instalaciones.

A la empresa Pacífico Aquaculture por permitirnos colaborar en el estudio de la biología reproductiva de la lobina rayada y en la búsqueda de soluciones a los retos que su cultivo implica.

Al Dr. Benjamín Barón Sevilla, por aceptarme como su estudiante de maestría, principalmente por su paciencia, por siempre motivarme a aprender más sobre la biología reproductiva, por haberme enseñado, por compartirme sus conocimientos, y más por haberme brindado apoyo emocional y nunca dejarme caer.

Al Dr. Rodrigo Méndez Alonzo, por aceptar ser parte de mi comité, por compartir sus conocimientos durante los avances, el apoyo a enriquecer este trabajo y por una buena relación de amistad por años.

Al Dr. Roberto Cruz Flores por dar ideas, comentarios, sugerencias y consejos para enriquecer este trabajo, y su disponibilidad para dudas.

A la M. C. Yanet Guerrero Rentería, técnico del Laboratorio de Biología y Patología de Organismos Acuáticos del Departamento de Acuicultura, por su amistad en este tiempo principalmente, el apoyo en las técnicas histológicas, sus consejos y aportaciones en mi trabajo, por su paciencia y apoyo personal y académico.

Al M. C. César Rodríguez Arana, de Pacífico Aquaculture, por su valiosa gestión para el desarrollo de este estudio y por las facilidades para la colecta de los ejemplares de *Morone saxatilis* en las instalaciones de la empresa.

Al M. C. Amaury Neyra, de Pacífico Aquaculture, por su apoyo en la colecta de los ejemplares de *M. saxatilis* en las instalaciones de la empresa, por sus opiniones para este trabajo, por su amistad y el apoyo incondicional.

A mi familia, principalmente a mi mamá Marcela que siempre me apoyo en este camino, a mis hermanos Bernardo, Claudia y Ricardo que me mandaban energía y ánimos desde mi tierra. A mi papá Bernardo por confiar en que llegaría a este nivel y a mi hermanito Gael que siempre me mandaba besos y abrazos. ¡Los amo!

A Jorge Gómez, por su paciencia, sobre todo el amor que me da, sus consejos para conseguir esta meta, por haberme enseñado a usar Photoshop y editar las imágenes para este trabajo, su apoyo incondicional, emocional y sentimental. Te agradezco por todo y te quiero.

A mi mejor amiga de la infancia, Daniela de Haro, que a pesar de la distancia nunca dejamos de hablar, me apoyaba, aconsejaba y me daba ánimos para continuar este camino.

A mi mejor amiga de Ensenada, Maricruz Gómez, que no me dejó caer en estos dos años, los cafés que me hacía para no dormirme y seguir escribiendo y sus consejos de no abandonarlo. Te aprecio y te agradezco.

A mi mejor amiga de la maestría, Dalia Verde Inzunza, por su amistad y compañía, principalmente por el apoyo que me dio a lo largo de estos dos años.

A Aneliz Ortiz, por su amistad y apoyo incondicional y los grandes momentos que pase con ella.

A mi amiga de otra generación que aprecio bastante, a la M. C. Leticia Gracida, por su amistad y consejos, su apoyo a no caer de este escalón, las risas que compartimos y darme ánimos.

A mis amigos de la generación, Rubén Ortiz, David Valdez, Jocelyne García, Augusto Alvarado, Sofía Moreno, Erick Barrios, Naoki Kawamoto y Héctor Santos por el apoyo, consejos, amistad y momentos divertidos.

Al Dr. Mario Hernández Guzmán, por haberme enseñado a analizar datos en Software R y por sus consejos para sobrevivir la maestría.

Tabla de contenido

Página

Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	x
Lista de tablas	xvii
 Capítulo 1. Introducción.....	 1
1.1 Antecedentes	2
1.1.1 Biología de la lobina rayada (<i>Morone saxatilis</i>)	2
1.1.2 Estudios con lubina europea (<i>Dicentrarchus labrax</i> L.).....	3
1.1.3 Sistema reproductor de los peces teleósteos	6
1.1.4 Células germinales primordiales	6
1.1.5 Gonadogénesis	6
1.1.5.1 Estructura y desarrollo de los ovarios	7
1.1.5.2 Estructura y desarrollo de los testículos	8
1.1.6 Determinación y diferenciación del sexo	9
1.2 Justificación	9
1.3 Hipótesis.....	10
1.4 Objetivos	10
1.4.1 Objetivo general	10
1.4.2 Objetivos específicos.....	10
 Capítulo 2. Metodología.....	 11
2.1 Descripción del proceso de gonadogénesis	11

2.1.1	Muestreo de larvas y juveniles de lobina rayada (<i>Morone saxatilis</i>).....	11
2.1.2	Análisis histológico	11
2.2	Gonadogénesis.....	13
2.3	Identificación del periodo lábil.....	13
2.4	Análisis de crecimiento	14
2.5	Proporción de sexos.....	14
2.6	Análisis de malformaciones.....	14
Capítulo 3.	Resultados	15
3.1	Análisis del desarrollo general	15
3.2	Análisis del desarrollo gonadal.....	20
3.2.1	32 dde (2.03 ± 0.18 cm de LT)	20
3.2.2	40 dde (2.57 ± 0.40 cm de LT)	21
3.2.3	52 dde (4.97 ± 0.40 cm de LT)	22
3.2.4	62 dde (6.63 ± 0.65 cm de LT)	24
3.2.5	72 dde (7.36 ± 0.75 cm de LT)	25
3.2.6	82 dde (9.00 ± 1.14 cm de LT)	26
3.2.7	92 dde (9.72 ± 1.04 cm de LT)	27
3.2.8	100 (11.09 ± 0.70 cm de LT) y 102 dde (11.99 ± 0.98 cm de LT)	28
3.2.9	120 dde (13.51 ± 0.82 cm de LT), 127 (13.99 ± 1.38 cm de LT), 140 (13.75 ± 3.43 cm de LT) y 149 dde (15.01 ± 1.52 cm de LT).....	31
3.2.10	165 dde (16.17 ± 1.12 cm de LT) y 180 dde (18.02 ± 1.20 cm de LT).....	36
3.2.11	220 DDE (21.32 ± 0.97 cm de LT) y 260 DDE (24.39 ± 1.35 cm de LT).....	38
3.2.12	300 dde (27.88 ± 1.65 cm de LT)	42
3.2.13	Gónadas maduras de lobina rayada (<i>M. saxatilis</i>) – (LTm= 67.75 cm)	43
3.2.13.1	Ovarios	43
3.2.13.2	Testículos.....	44
3.3	Periodo lábil	45
3.4	Proporción de sexos	46

3.5	Análisis de crecimiento	47
3.6	Análisis de malformaciones.....	49
 Capítulo 4. Discusión.....		53
4.1	Análisis del desarrollo general	53
4.2	Análisis del desarrollo gonadal.....	55
4.3	Periodo lábil	57
4.4	Proporción de sexos	58
4.5	Análisis de malformaciones.....	59
4.6	Perspectivas futuras	60
 Capítulo 5. Conclusiones		61
Literatura citada		62
Anexos		68

Lista de figuras

Figura

Página

1. *Morone saxatilis* en etapa adulta (Capturada de enciclovida).3
2. Representación esquemática del proceso de diferenciación sexual de la lubina europea. Capturada de Piferrer et al, 2005.....4
3. Fotomicrografías de cortes histológicos de gónadas de lubina europea (*Dicentrarchus labrax*) de distintas etapas de diferenciación sexual. (a). Gónada indiferenciada. (b). Gónada en diferenciación. (c). Testículos en desarrollo temprano. (d). Testículos con ovocitos intratesticulares. (e) Ovario en diferenciación. (f) Ovario previtelogénico. *ct: Tejido conectivo, ig: grupo isogénico de células germinales, oc: cavidad ovárica, og: ovogonias, ol: lamelas ováricas, po: ovocito previtelogénico, pgc: célula germinal primordial, tc: quiste testicular, mo: ovocito meiótico, sc: espermatocito, sg: espermatogonias, sz: espermatozoides*. Barras de escala: (a) - (c), (e)= 25 μ m; (d), (f) = 50 μ m. Capturada de Saillant et al, 2002.5
4. Proceso histológico: Desparafrinación hasta montaje. (Tomada de <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/5-histoquimica.php>)..... 12
5. Desarrollo larval de la lobina rayada (*M. saxatilis*) del día 0 al 22 dde. A. 0 días después de la eclosión (dde) (Longitud notocordal media “Lnm”: 0.36 cm). B. 2 dde (Lnm: 0.44 cm). C. 7 dde (Lnm: 0.54 cm). D. 12 dde (Lnm: 0.59 cm). E. 22 dde (Lnm: 1.07 cm). AC: Aleta caudal, ACi: formación de aleta caudal, AD: aleta dorsal, BC: boca, CA: Contracción de los pliegues de aleta caudal, CV: columna vertebral, M: melanóforos, N: notocorda, O: Ojo bien desarrollado, OP: ojo pigmentado de negro, OT: ojo transparente, SV: saco vitelino con gota de aceite, SVa: saco vitelino casi absorbido, VG: vejiga gaseosa, ZA: zona abdominal..... 15
6. Corte histológico de una larva de *M. saxatilis* de 2 dde de 0.44 cm de longitud notocordal. A. Larva completa, se observa el tubo digestivo (rectángulo), saco vitelino prominente y el ojo en desarrollo. B. Cabeza del ejemplar con el ojo desarrollándose. C. Región media del cuerpo, se observa la parte posterior del saco vitelino y tubo digestivo. C. Cola del ejemplar con musculatura. GA: Gota de aceite, M: músculo, O: ojo, TD: tubo digestivo. 16
7. Corte longitudinal de una larva de *M. saxatilis* a los 4 dde con 0.50 cm de longitud notocordal A. Cabeza del ejemplar con el ojo en desarrollo (100X). B. Saco vitelino (100X). C. Sección posterior del intestino en formación (100X). D. Región caudal integrada por la musculatura que envuelve a la notocorda con células vacuoladas (100X). I: Intestino, GA: gota de aceite, M: músculo, O: ojo, SV: saco vitelino. 16
8. Corte sagital de una larva de *M. saxatilis* a los 5 dde con 0.51 cm de longitud notocordal. A. Larva completa donde se observan distintos órganos. B. Parte de la cabeza donde se ve el ojo y la boca (100X). C. Gota de aceite y vejiga gaseosa (100X). BC: Boca, GA: gota de aceite, O: ojo, SV: saco vitelino, VG: vejiga gaseosa. 17
9. Corte sagital de una larva de *M. saxatilis* a los 7 dde con 0.6 cm de longitud notocordal. A. Intestino anterior e intestino posterior (100X). B. Músculo y ano (100X). AN: Ano, IA: Intestino anterior, IP: intestino posterior, GA: gota de aceite, M: músculo, O: ojo, R: riñón, SV: saco vitelino..... 18

10. Corte longitudinal de una larva de *M. saxatilis* a los 22 dde con 0.98 cm de longitud total. AB: arcos branquiales, AN: ano, BC: boca, FB: filamentos branquiales, H: hígado, IA: intestino anterior, IM: intestino medio, IP: intestino posterior, M: músculo, O: ojo, R: riñón, VG: vejiga gaseosa..... 18

11. Desarrollo de la lobina rayada (*M. saxatilis*) de 32, 40 y 52 dde. A. Ejemplar de 32 días después de la eclosión (dde) (LTm: 2.03). B. 40 dde (Ltm: 2.57 cm). C. 52 dde (Ltm: 4.97 cm). AA: Aleta anal, AC: aleta caudal, AD: aleta dorsal, AP: aleta pélvica, APC: aleta pectoral, BC: boca, CV: columna vertebral, O: Ojo, VG: vejiga gaseosa, ZA: zona abdominal. 19

12. Corte histológico de un ejemplar de *M. saxatilis* de 32 dde con una longitud total de 2.01 cm. A. Corte longitudinal de la cabeza del ejemplar con su ojo y boca (30X). B. Corte transversal del cuerpo del ejemplar, se observa la musculatura epaxial, la columna vertebral, medula espinal y aorta, vejiga gaseosa, riñón e intestino anterior y posterior (10X). C. Corte longitudinal con abundante músculo, intestino anterior y posterior, estómago, hígado, filamentos branquiales y la gónada. BC: Boca, E: estómago, FB: filamentos branquiales, G: gónada, H: hígado, IA: intestino anterior, IP: intestino posterior, M: músculo, O: ojo, R: riñón, VG: vejiga gaseosa. 19

13. Corte histológico de un ejemplar de *M. saxatilis*- de 52 dde con una longitud total de 4.76 cm. A. Corte longitudinal de la cabeza del ejemplar con su ojo, boca, arcos y filamentos branquiales (10X). B. Corte transversal de la zona superior del ejemplar donde se observa la musculatura epaxial, vejiga gaseosa, estómago, intestino anterior y medio y la gónada (10X). C. Corte transversal de la zona anterior del ejemplar donde se observa la vejiga gaseosa, gónadas, estómago e intestino posterior. AB: Arcos branquiales, BC: boca, E: estómago, FB: filamentos branquiales, G: gónada, IA: intestino anterior, IM: intestino medio, IP: intestino posterior, M: músculo, O: ojo, VG: vejiga gaseosa. 20

14. Corte longitudinal de una larva de *M. saxatilis* a los 32 DDE con 2.2 cm de longitud total. A. Corte de un ejemplar en el que se observa la gónada primordial en la región posterior de la cavidad abdominal y en contacto con la musculatura epaxial, la vejiga gaseosa y el intestino. También se observan el estómago, intestinos anterior y posterior, hígado y en la cavidad branquial los filamentos branquiales. B. La gónada primordial unida al mesogonio se encuentra indiferenciada con dos células germinales primordiales (Ampliación del recuadro A1) (200X). C. Gónada a mayor ampliación con dos células germinales (ampliación del recuadro B1) (1000X). Cg: célula germinal, E: estómago, FB: filamentos branquiales, G: gónada, H: hígado, IA: intestino anterior, IP: intestino posterior, M: músculo, MG: mesogonio, P: peritoneo, VG: vejiga gaseosa. 21

15. Corte trasversal de una larva de *M. saxatilis* a los 40 DDE con 2.96 cm de longitud total. A. Los primordios gonadales se encuentran entre el intestino y vejiga natatoria y están unidos al peritoneo por los mesenterios (100X). B. Ampliación de la gónada donde se observa el mesogonio (200X). C. Detalle de la gónada primordial indiferenciada con dos células germinales (400X). D. Ampliación de la gónada donde se aprecian mejor las células germinales (1000X). Cg: célula germinal, G: gónada, IA: intestino anterior, M: músculo, MG: mesogonio, VG: vejiga gaseosa..... 22

16. Corte trasversal de un ejemplar de *M. saxatilis* a los 52 dde con 4.76 cm de longitud total. A. Gónada sin cavidad ovárica (100X). B. Célula germinal en la periferia de la gónada (400X). C. Célula germinal con numerosos nucléolos y citoplasma escaso (1000X). Cg: Célula germinal, CT: citoplasma, G: gónada, MG: mesogonio..... 23

17. Corte trasversal de un ejemplar de *M. saxatilis* a los 52 dde con 5.2 cm de longitud total. A. Las elongaciones de tejido somático del primordio gonadal ya se han fusionado para formar la cavidad ovárica (200X). B. Gónada a mayor ampliación (400X). C. Célula germinal alrededor de la cavidad ovárica. CO: Cavidad ovárica, G: gónada, Og: ovogonia. 23
18. Corte trasversal de un ejemplar de *M. saxatilis* a los 62 dde con 7.17 cm de longitud total. A. Gónada indiferenciada con un número reducido de células germinales (100X). B. Ampliación de la gónada (200X). C. Gónada con células germinales en la periferia (400X) D. Células germinales a mayor aumento (1000X). Cg: Célula germinal, G: gónada. 24
19. Corte trasversal de un ejemplar de *M. saxatilis* a los 62 dde con 6.73 cm de longitud total. A. Gónada con cavidad ovárica, el mesovario está unido al peritoneo cerca de la vejiga gaseosa (100X). B. Ampliación de gónada (200X). C. Cavidad ovárica con varias ovogonias a su alrededor (400X). D. Ovogonias en el centro de la gónada, asociadas al epitelio que delimita la cavidad ovárica (1000X). CO: Cavidad ovárica, G: gónada, MO: mesovario, Og: ovogonia..... 25
20. Corte trasversal de un ejemplar de *M. saxatilis* a los 72 dde con 8 cm de longitud total. A. Gónada indiferenciada en posición adyacente a la vejiga gaseosa, se observa una célula germinal primordial (200X). D. Células germinales primordiales (1000X). Cg: Célula germinal, CT: citoplasma, G: gónada, N: núcleo, VG: vejiga gaseosa. 26
21. Corte transversal de un ejemplar de *M. saxatilis* a los 72 dde con 6.33 cm de longitud. A. Gónada con células germinales alrededor de la cavidad ovárica (400X). B. Detalle del epitelio que delimita la cavidad ovárica con una célula germinal (1000X). CO: Cavidad ovárica, Og: ovogonia..... 26
22. Corte transversal de una gónada indiferenciada de *M. saxatilis* a los 82 DDE con 7.76 cm de longitud total. A. Gónada sin cavidad ovárica con una célula germinal en la periferia de la gónada (400X). B. Célula germinal con una longitud de 10.25 μ m (ampliación del recuadro A1) (1000X). CT: Citoplasma, G: gónada, Mc: membrana celular, N: núcleo..... 27
23. Corte transversal de una gónada de *M. saxatilis* a los 82 DDE con 9.35 cm de longitud total. A. Gónada con cavidad ovárica (200X). B. Ovogonia con su núcleo y citoplasma (ampliación del recuadro A1) (1000X). CO: Cavidad ovárica, CT: citoplasma, G: gónada, N: núcleo..... 27
24. Corte transversal de una gónada indiferenciada de *M. saxatilis* a los 92 DDE con 9.53 cm de longitud total. A. Célula germinal en la periferia de la gónada (400X). B. Células germinales con núcleo y citoplasma (ampliación del recuadro A1) (1000X). CT: Citoplasma, G: gónada, N: núcleo..... 28
25. Corte transversal de una gónada de *M. saxatilis* a los 92 DDE con 10.56 cm de longitud total. A. Gónada con cavidad ovárica (100X). B. Células germinales en el centro de la gónada (400X). C. Células germinales en grupos alrededor de la cavidad ovárica (ampliación del recuadro 1B) (1000X). E. Célula germinal con su núcleo y citoplasma (ampliación del recuadro B2) (1000X). CO: Cavidad ovárica, CT: citoplasma, G: gónada, MG: mesogonio, N: núcleo, Og: ovogonia, VG: vejiga gaseosa. 28
26. Corte transversal de una gónada de *M. saxatilis* a los 100 DDE con 11.01 cm de longitud total. A. Gónada con posible formación de lóbulos seminíferos (100X). B. Gónada a mayor ampliación (ampliación del recuadro A1) (200X). C. Células germinales en la periferia de la gónada (400X). D. Célula germinal con núcleo y citoplasma (ampliación del recuadro A2) (1000X). E. Células

- germinales con 19.53 μm y 16.13 μm de diámetro (ampliación del recuadro C1) (1000X). Cg: Célula germinal, CT: citoplasma, G: gónada, N: núcleo. 29
27. Corte transversal de un ovario de *M. saxatilis* a los 102 DDE con 13.54 cm de longitud total. A. Gónada con cavidad ovárica (100X). B. Gónada a mayor ampliación (200X). C. Ovogonias en el centro de la gónada (400X). D. Ovocitos primarios en el centro de la gónada (400X). E. Ovogonias agrupadas en un nido rodeadas de células somáticas (1000X). F. Células somáticas (ampliación del recuadro B1) (1000X) G. Ovogonias con una longitud de 8.99 μm (ampliación del recuadro C1) (1000X). H. Ovocitos primarios en estadio I con sus citoplasma y núcleo (ampliación del recuadro D1) (1000X). CO: Cavidad ovárica, CS: Células somáticas, CT: citoplasma, G: gónada, MO: mesovario, N: núcleo, Og: ovogonias, Ov: ovocitos..... 30
28. Corte longitudinal de un ovario de *M. saxatilis* a los 120 DDE con 12.5 cm de longitud total. A. Gónada con cavidad ovárica, ovocitos en estadio I y ovogonias (100X). B. Gónada a mayor ampliación (200X). C. Ovocitos primarios en estadio I y ovogonias (400X). D. Ovogonias en desarrollo dentro de un nido (ampliación del recuadro A1) (1000X). E. Ovocito a mayor ampliación (ampliación del recuadro B1) (1000X). Cdt: Células de la granulosa, CS: células somáticas, CT: citoplasma, CO: Cavidad ovárica, G: gónada, N: núcleo, Og: ovogonias, Ov: Ovocitos..... 31
29. Corte longitudinal de un testículo de *M. saxatilis* a los 120 DDE con 13.9 cm de longitud total. A. Testículo (100X). B. Testículo con vasos sanguíneos (200X). C. Testículo con espermatogonias ubicadas en la región cortical de la gónada (400X). D. Espermatogonias la periferia de la gónada (ampliación del recuadro 1C) (1000X). CD: Conducto deferente, G: gónada, Spg: espermatogonia, VS: vaso sanguíneo. 32
30. Corte longitudinal de un ovario de *M. saxatilis* a los 127 DDE con 16.4 cm de longitud total. A. Gónada con ovocitos en estadio II (100X). B. Gónada a mayor ampliación con ovogonias y ovocitos en estadio II (200X). C. Ovocitos y células germinales (ampliación del recuadro B1) (400X). D. Ampliación del recuadro A1, células intersticiales (1000X). E. Ovocito con 31.58 μm de longitud con su citoplasma y núcleo (ampliación del recuadro A2) (1000X). Cg: Células germinales, CS: células somáticas, CT: citoplasma, G: gónada, N: núcleo, Og: ovogonias, Ov: ovocito..... 33
31. Corte longitudinal de un testículo de *M. saxatilis* a los 127 DDE con 15.5 cm de longitud total. A. Testículo con vasos sanguíneos (200X). B. Espermatogonia en la región cortical del testículo, con 10.07 μm de longitud (ampliación del recuadro A1) (1000X). Cm: Células mesenquimales, CT: citoplasma, N: núcleo, Spg: espermatogonia, VS: vaso sanguíneo..... 34
32. Corte longitudinal de un ovario de *M. saxatilis* a los 140 DDE con 14.9 cm de longitud total. A. Lamelas ovígeras con ovocitos en estadio I y II (100X). B. Gónada con ovocitos en estadio II, células germinales en un nido, se aprecia un capilar con glóbulos rojos (400X). C. Células germinales y ovocitos en estadio II (ampliación de recuadro A1) (1000X). D. Ovocito en estadio II con 24.61 μm de longitud, ovogonias y glóbulos rojos (ampliación de recuadro A2) (1000X). CS: Células somáticas, CO: cavidad ovárica, G: gónada, Gr: glóbulos rojos, LO: lamelas ovígeras, Og: ovogonias, Ov: Ovocitos. 34
33. Corte longitudinal de un testículo de *M. saxatilis* a los 140 DDE con 15.6 cm de longitud total. A. Testículo con conductos deferentes (100X). B. Testículo con espermatogonias en la región cortical se observan algunos glóbulos rojos (ampliación del recuadro A1) (1000X). CD:

- Conducto deferente, CT: citoplasma, G: gónada, Gr: glóbulos rojos, N: núcleo, Spg: espermatogonia. 35
34. Corte longitudinal de un ovario de *M. saxatilis*, ejemplar de 149 DDE con 17 cm de longitud total. A. Ovario con células somáticas y ovocitos primarios en estadio I (100X). B. Ovogonias dentro de nidos (400X). C. Sustancia de degradación de ovocitos acompañado con células intersticiales (200X). D. Ovocitos con sus respectivas longitudes (1000X). CI: células intersticiales, CS: células somáticas, G: gónada, Og: ovogonias, Ov: ovocito, Y: sustancia de degradación del ovocito. 35
35. Corte longitudinal de un ovario de *M. saxatilis*, ejemplar de 165 DDE con 16.5 cm de longitud total. A. Cavidad ovárica (100X). B. Lamelas ovígeras con ovogonias, ovocitos en estadio I y II, y vasos sanguíneos con eritrocitos (200X). C. Gónada con ovogonias y capilares con glóbulos rojos (Ampliación del recuadro B1) (400X). D. Ovocito primario con células de la granulosa, núcleo, nucléolo y citoplasma (Ampliación del recuadro A1) (1000X). Cdt: Células de la granulosa, CO: cavidad ovárica, CT: citoplasma, Gr: glóbulos rojos, N: núcleo, NCL: nucléolo, Og: ovogonia, Ov: ovocitos, TA: túnica albugínea. 36
36. Corte longitudinal de un testículo de *M. saxatilis*, ejemplar de 165 DDE con 17.6 cm de longitud total. A. Testículo con espermatogonias y espermatocitos (100X). B. Gónada a mayor ampliación (200X). C. Espermatogonias en la periferia de la gónada y espermatocitos (400X), D. Espermatogonias y espermatocitos en desarrollo (1000X). E. Espermatocito con 3.70 μm de longitud. F. Espermatocitos y espermátidas (1000X). G. Proceso de espermatocito a espermátida (1000X). G: gónada, Sp: espermatocitos, Spd: espermátida, Spg: espermatogonia. 37
37. Corte longitudinal de un ovario de *M. saxatilis*, ejemplar de 180 DDE con 18 cm de longitud total. A. Gónada con ovocitos en estadio I y II y fluido intersticial (100X). B. Gónada a mayor ampliación con ovocitos primarios (200X). C. Gónada con ovocitos y reabsorción a mayor aumento (400X). D. Ovocito en estadio II planqueado por células intersticiales (1000X). E. Fluido intersticial con células intersticiales (1000X). CI: células intersticiales, CT: citoplasma, GR: glóbulos rojos, N: núcleo, Ov: ovocitos, Y: fluido intersticial. 37
38. Corte longitudinal de un testículo de *M. saxatilis*, ejemplar de 180 DD con 18.3 cm de longitud total. A. Testículo con lóbulos seminíferos y conductos deferentes (100X). B. Espermatogonias en la región cortical de la gónada (200X). C. Espermatogonias en cistos espermáticos (ampliación del recuadro B1) (400X), D. Espermatogonias en desarrollo (1000X). G: gónada, Spg: espermatogonia. 38
39. Corte longitudinal de un ovario de *M. saxatilis*, ejemplar de 220 DDE con 21.6 cm de longitud total. A. Lamelas ovígeras con abundantes ovocitos en estadio I y II, y ovocitos con almacenamiento de lípidos en estadio III (100X). B. Lamela con ovocitos y abundantes células intersticiales (200X). C. Lamela con ovocitos en estadio I y II (200X). D. Ovocito en estadio II y ovocito con inclusiones lipídicas (400X). E. Ovocito perinucleolar con almacenamiento de lípidos, citoplasma, núcleo y nucléolos bien definidos (1000X). CS: células somáticas, CT: citoplasma, LO: lamelas ovígeras, N: núcleo, NCL: nucléolo, Ov: Ovocito, Ovl: ovocito con almacenamiento de lípidos, TA: túnica albugínea. 39
40. Corte longitudinal de un testículo de *M. saxatilis*, ejemplar de 220 DDE con 24 cm de longitud total. A. Testículo con lóbulos seminíferos y conductos deferentes (100X). B. Gónada con lóbulos seminíferos a mayor ampliación (200X). C. Gónada con espermatocitos aislados y

- espermatozonias en los l6bulos semin6feros (400X). D. Espermatozonias dentro del l6bulo semin6fero (1000X). E. Espermatozonias flanqueadas por espermatozonitos aislados (1000X). CT: citoplasma, LS: l6bulos semin6feros, N: n6cleo, Sp: espermatozonito, Spg: espermatozonio. ... 39
41. Corte longitudinal de una g6nada de *M. saxatilis*, ejemplar de 220 DDE con 21.5 cm de longitud total. A. G6nada con una t6nica albug6nea engrosada y reabsorci6n de ovocitos (100X). B. G6nada con reabsorci6n de ovocitos y c6lulas intersticiales (200X). C. L6bulo semin6fero con c6lulas germinales en desarrollo (1000X). D. Ovocitos en degradaci6n y ovocito rodeado por c6lulas de la granulosa, citoplasma, n6cleo y nucl6olos (1000X). Cdt: C6lulas de la granulosa, Cl: c6lulas intersticiales, CT: citoplasma, G: g6nada, N: n6cleo, NCL: nucl6olo, Og: ovogonias, Ov: Ovocito, TA: t6nica albug6nea, Y: sustancia de reabsorci6n del ovocito. 40
42. Corte transversal de un ovario de *M. saxatilis* a los 260 DDE con 22 cm de longitud total. A. Lamelas ov6geras con ovocitos en estadio I y II y cavidad ov6rica con sustancia (100X). B. G6nada con ovocitos en estadio I y II (200X). C. Ovocito perinucleolar "estadio II" (1000X). E. Ovocito en estadio II (1000X). CT: citoplasma, LO: lamelas ov6geras, N: n6cleo, NCL: nucl6olo, Ov: Ovocito, Y= sustancia de reabsorci6n de ovocitos. 41
43. Corte longitudinal de un test6culo de *M. saxatilis*, ejemplar de 260 DDE con 21 cm de longitud total. A. L6bulos semin6feros y conductos deferentes (100X). B. L6bulos semin6feros y espermatozonitos (200X). C. L6bulos semin6feros con espermatozonitos en diferentes estadios (400X). D. L6bulo semin6fero con espermatozonias y espermatozonitos (1000X). E. L6bulo semin6fero con abundantes espermatozonias (1000X). Es: Estroma, G: g6nada, LS: l6bulos semin6feros, Sp: espermatozonito, Spg: espermatozonio. 41
44. Corte histol6gico de una g6nada de *M. saxatilis* a los 300 DDE con 28.0 cm de longitud total. A. Corte transversal de un ovario con varios ovocitos en estadio I y II (100X). B. Ampliaci6n de la g6nada con corte transversal (ampliaci6n recuadro A1) (400X). C. Ovocito perinucleolar con su n6cleo, nucl6olos y citoplasma bien definido (corte transversal) (1000X). D. Corte longitudinal con escasos ovocitos (ampliaci6n recuadro D1) (100X). E. Corte longitudinal de ovocitos (400X). CT: Citoplasma, N: n6cleo, NCL: nucleolo, Ov: ovocito. 42
45. Corte transversal de un test6culo de *M. saxatilis* a los 300 DDE, ejemplar de 31.0 cm de longitud total. A. Test6culo con l6bulos semin6feros y conductos deferentes (100X). B. L6bulos semin6feros delimitados por c6lulas intersticiales (200X). C. L6bulos semin6feros con espermatozonias (400X). D. L6bulo semin6fero con espermatozonias (1000X). CD: Conducto deferente, LS: l6bulo semin6fero, Spg: espermatozonio. 43
46. Ovarios de lobina rayada (*M. saxatilis*). A. G6nada en proceso de vitelog6nesis (inmadura). B. G6nada en un estao avanzado de la vitelog6nesis (madura). C. Corte transversal de la g6nada madura (B) con ovocitos en diferentes estadios (100X). Ova: Ovocito con l6pidos, Ovi: ovocito inmaduro en estadio perinucleolar, Ovv: ovocito en vitelog6nesis. 44
47. Test6culo maduro de lobina rayada (*M. saxatilis*). A. Test6culo disecado en el que se observa la regi6n hiliar con un profundo surco en toda la longitud del 6rgano. B. Lobulos semin6feros Corte transversal del test6culo, se observan la t6nica albug6nea y los l6bulos semin6feros llenos de c6lulas esperm6ticas en diferentes estadios de desarrollo (espermatozonitos, esperm6tidas y espermatozonoides) (100X). C. Espermatozonias en toda la g6nada y espermatozonitos dentro de l6bulos semin6feros (1000X). CT: Citoplasma, LS: l6bulos semin6feros, N: n6cleo, Sp: espermatozonito, Spg: espermatozonio, TA: t6nica albug6nea. 45

48. Línea del tiempo (días después de la eclosión, dde) y su relación con y longitud total promedio (cm), donde se observa el desarrollo gonadal y el periodo lábil (en negro) de la lobina rayada, *M. saxatilis*. El periodo lábil abarca de los 32 a los 52 dde. Los acontecimientos más relevantes se encuentran sombreados de color azul marino. El asterisco (*) en la línea del tiempo indica el cambio de temperatura que se le hizo a los organismos, pasando de 18 a 23°C..... 45
49. Relación entre la longitud de las lobinas de 0 a 12 dde *in vivo* y después de su fijación en solución Davidson. 47
50. Relación entre la longitud de las lobinas de 20 a 82 dde *in vivo* y después de su fijación en solución Davidson. 48
51. Crecimiento de la lobina rayada *Morone saxatilis* en longitud total (cm) con respecto a la edad (dde). 48
52. Porcentaje de malformaciones presentes en los ejemplares de *Morone saxatilis*. 50
53. Malformaciones craneales en la lobina rayada cultivada en la empresa Pacífico Aquaculture. A. Organismo de 30 dde. B. 40 dde. C. 50 dde. D. 60 dde. 51
54. Malformaciones bucales de la lobina rayada cultivada en la empresa Pacífico Aquaculture. A y B. Ejemplar de 60 dde. C y D. Ejemplar de 50 dde. 52
55. Malformaciones de la columna vertebral de la lobina rayada cultivada en la empresa Pacífico Aquaculture. A. Organismo de 30 dde. B. Ejemplar de 40 dde. C. 60 dde. D. 50 dde. 52
56. Ejemplar de 90 dde de *Morone saxatilis* con diferentes malformaciones. CV y flecha: compresión vertebral, MM: malformación mandibular, CR: malformación craneal. 52

Lista de tablas

Tabla	Página
1. Edad de los ejemplares de lobina rayada expresada en días después de la eclosión (dde) y número de ejemplares preservados por muestra.	11
2. Proporción sexual de la lobina rayada <i>Morone saxatilis</i> , por clase de edad y longitud promedio.	46
3. Clasificación porcentual de las malformaciones y su prevalencia observada en la lobina rayada <i>Morone saxatilis</i> cultivada en la empresa Pacífico Aquaculture.....	49
4. Preparación de 1 litro (1000 ml) de solución Davidson (fijador).	68
5. Reactivos utilizados en la preparación de 100 ml descalcificador con ácido nítrico.	69
6. Técnica de deshidratación en procesador (histoquinet).....	70
7. Desparafinación e hidratación de laminillas histológicas.	71
8. Tinción Hematoxilina-Eosina.	72

Capítulo 1. Introducción

La lobina rayada, *Morone saxatilis*, es un pez teleósteo perciforme anádromo que se distribuye a lo largo de la costa atlántica de América del Norte, desde el norte de Florida hasta el estuario del río San Lorenzo (Canadá) (Good View International Enterprise, 2019). Es una especie que migra a lo largo de la costa atlántica de América del Norte, siguiendo un patrón de migración estacional, primero hacia el sur en otoño y después hacia el norte en primavera para desovar (Hollema *et al.*, 2017). En las últimas décadas fue introducida en forma exitosa en los ríos de la costa pacífica del continente americano, por ello ya es posible encontrarla de forma natural en la costa de Norteamérica, desde México hasta Canadá (Good View International Enterprise, 2019).

Las especies pertenecientes al género *Morone* son organismos de gran importancia en varias partes del mundo debido a su valor como fuente de alimento para el consumo humano (Gajbhiye *et al.*, 2022). No obstante, dentro de este género, la lobina rayada destaca como la especie con las cualidades más sobresalientes para la acuicultura. Esta especie posee un impresionante potencial de producción gracias a su rápido crecimiento. Es adaptable para su cultivo tanto en sistemas marinos “abiertos” como en sistemas de agua dulce en etapas previas a su transferencia al medio marino. Además, presenta una tasa de conversión razonable y ofrece filetes de excelente calidad (Andersen *et al.*, 2021; Del Río *et al.*, 2021).

En algunos países, *Morone saxatilis*, es cultivada y aprovechada, por ejemplo, en Estados Unidos es una importante fuente de ingresos (Hollema *et al.*, 2017), con más de 14 millones de libras producidas anualmente (Andersen *et al.*, 2021). En México, la empresa Pacífico Aquaculture, S. A. P. I. de C. V., comenzó a cultivar atún en el año 2004, posteriormente en el año 2010, agregó a sus cultivos a la lobina rayada, dicha especie, como se mencionó anteriormente es de gran valor comercial por su carne y tiene una gran demanda en el mercado de alimentos (Good View International Enterprise, 2019).

La lobina rayada es una especie adecuada para satisfacer la demanda del mercado de peces marinos, ya que alcanza el tamaño comercial (1,36 kg / 3,0 lb) aproximadamente a los 24 meses (Andersen *et al.*, 2021). A pesar del progreso en el cultivo de esta especie, todavía existe un vasto campo de conocimiento pendiente en su biología, que incluye aspectos como el impacto de factores estresantes, técnicas de manejo en la acuicultura, comportamiento agresivo, incidencia de malformaciones, protocolos de sacrificio y la comprensión de la determinación, diferenciación y desarrollo sexual, entre otros (Arechavala *et al.*, 2021).

Como se mencionó anteriormente, no se ha descrito la gonadogénesis o identificado el periodo lábil de la lubina rayada; sin embargo, de acuerdo con el análisis de su genoma mitocondrial, las especies de la familia Moronidae tienen una gran similitud genética (Williams *et al.*, 2012). La familia Moronidae, está integrada por dos géneros, *Morone* y *Dicentrarchus*. Dentro del género *Morone* se agrupan *M. saxatilis* (lubina rayada), *M. americana*, *M. mississippiensis* y *M. chrisops*, y en el género *Dicentrarchus* están *D. labrax* y *D. punctatus*. El origen monofilético y el parentesco permiten suponer que los procesos de desarrollo sexual pueden ser similares entre las especies de la familia. En este estudio se utilizará como modelo para el diseño experimental y para la descripción del desarrollo gonadal a la lubina europea (*D. labrax*), puesto que en esta especie la determinación y diferenciación se han estudiado ampliamente y se conoce con precisión el período lábil para su diferenciación sexual (Piferrer *et al.*, 2005).

Los peces se reproducen sexualmente, esto significa que producen células especializadas, los gametos, que tienen el potencial de originar un nuevo organismo. Los gametos, ya sean óvulos o espermatozoides, se originan de las células germinales primordiales (PGC), que tienen la capacidad de diferenciarse en los gametos de cualquier sexo (Escuredo *et al.*, 2018; Okutsu *et al.*, 2006; Wylie, 1999).

En los peces, las células germinales primordiales se forman por el proceso de preformación, lo que significa que heredan mRNAs y proteínas de origen materno que determinan su destino (Extravour y Akam, 2003). Una vez formadas durante el desarrollo embrionario temprano, migran desde sus sitios de formación en los tejidos extraembrionarios hacia las crestas germinales, donde inician su proliferación y diferenciación sexual, después comienzan la primera etapa de la gametogénesis y es ahí en donde se convierten en espermatoцитos u ovocitos para que finalmente maduren como espermatozoides u óvulos (Extravour y Akam, 2003). Es importante señalar que las hormonas sexuales, como los andrógenos y los estrógenos, desempeñan un papel crucial en el desarrollo de los testículos y los ovarios, respectivamente. Además, diversos factores ambientales pueden influir en el proceso de diferenciación sexual (Paredes, 2018).

1.1 Antecedentes

1.1.1 Biología de la lobina rayada (*Morone saxatilis*)

La lobina rayada del Atlántico (Fig 1), *M. saxatilis*, es un pez anádromo eurihalino, es decir, que migra del agua de mar al agua dulce para reproducirse. Se distribuye en el Atlántico del Norte y fue introducida en la costa del Pacífico de los EE. UU. en el año 1879. Tiene un cuerpo plateado marcado con rayas oscuras

longitudinales, el peso del adulto va de 9 a 18 kg, es longeva, ya que puede vivir hasta 30 años. Esta especie es omnívora y durante su primer año de vida se nutre principalmente de invertebrados como poliquetos y camarones. Con el tiempo, su dieta cambia predominantemente hacia peces, crustáceos, poliquetos y algunos peces bentónicos (Andersen *et al.*, 2021; Gervasi, 2015; Good View International Enterprise, 2019).

La madurez sexual en los machos ocurre entre los 2 y 4 años y en las hembras entre los 5 y 8 años. La migración para el desove se produce entre abril y junio, siempre y cuando los peces entren en hábitats de agua dulce. La temperatura del agua durante el desove puede ser entre 10 y 23°C, después del desove los peces dejan los estuarios y vuelve a las costas (Good View International Enterprise, 2019). La lobina rayada es un pez teleósteo de zonas templadas y su reproducción se lleva a cabo por cambios estacionales en la duración del día y la temperatura del agua. En esta especie se ha logrado inducir con éxito la maduración y desove en cautiverio, cuando se mantiene bajo un ciclo fototérmico natural de 12 meses o bajo ciclos fototérmicos de 6 o 9 meses (Clark *et al.*, 2005).

Las larvas de la lobina rayada son tolerantes al agua de mar desde el primer día de eclosión (dde), incluso se encontró que el crecimiento y supervivencia de las larvas de 5 dde criadas en 20, 30 y 60% de agua de mar eran igual de grandes que las larvas criadas en agua dulce (Andersen *et al.*, 2021).



Figura 1. *Morone saxatilis* en etapa adulta (Capturada de enciclovida).

1.1.2 Estudios con lubina europea (*Dicentrarchus labrax* L.)

La lubina europea, perteneciente a la familia Moronidae, comparte su linaje con la lobina rayada. Desde una perspectiva filogenética, las especies del género *Dicentrarchus*, que se encuentran en las costas del Atlántico oriental y el mar Mediterráneo, están estrechamente relacionadas con las especies del género *Morone* que habitan en la costa del Atlántico occidental. Ambos géneros forman un grupo monofilético.

Esta similitud filogenética respalda la hipótesis de que un ancestro anádromo común a esta familia fue el origen de las especies estuarinas y dulceacuícolas en América del Norte (Williams *et al.*, 2012).

A partir de esta evidencia y tomando en consideración que el conocimiento de la biología reproductiva de la lobina rayada es escaso, es posible hacer inferencias e hipótesis sobre los procesos de desarrollo sexual de la lobina rayada. En este sentido, la lobina europea no contiene heterocromosomas reconocibles o marcadores ligados al sexo. Además, se ha observado que, en esta especie, la aromatasa cerebral ya se detecta en la etapa larvaria, aunque su papel en la diferenciación sexual no está completamente esclarecido. En contraste, parece que la aromatasa ovárica está directamente implicada en el proceso de diferenciación hacia el sexo femenino. La aromatasa es una enzima clave en la ruta biosintética de los esteroides sexuales, que se encarga de catalizar la conversión de testosterona en estradiol (Piferrer *et al.*, 2005).

De acuerdo con Piferrer *et al.* (2005) (Fig 2) si se considera la relación entre la edad, la longitud y la diferenciación sexual gonadal en la lobina europea; se logra observar que el período lábil de esta especie va de los 50 a los 150 dde (edad). Los autores destacan que la diferenciación sexual depende más de la longitud que de la edad, pero la temperatura también influye en este proceso.

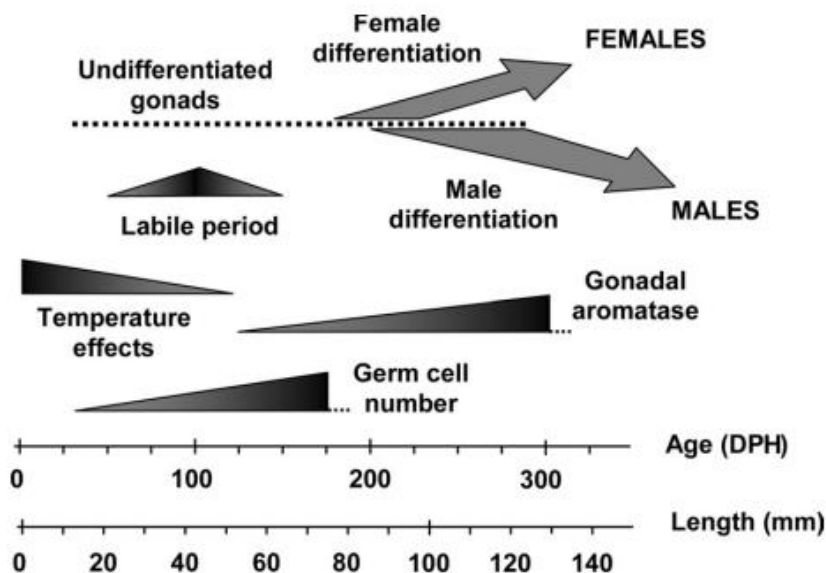


Figura 2. Representación esquemática del proceso de diferenciación sexual de la lobina europea. Capturada de Piferrer *et al.*, 2005.

En 2003, Saillant y colaboradores observaron que la diferenciación sexual en la lobina europea (*Dicentrarchus labrax*) se produce aproximadamente a los 168 días después de la eclosión (d.d.e.), con una longitud total promedio de 8.3-9.5 cm para los machos y 7.9-9.0 cm para las hembras. Además, se llevaron

a cabo análisis histológicos de las gónadas de ejemplares de lubina europea en diversas etapas de su desarrollo, y notaron que algunos machos presentaban intersexualidad juvenil, es decir, contenían ovocitos dentro de sus testículos (Fig 3 D), un fenómeno que también ha sido documentado en otros estudios. Estos estudios siguieron que la lobina rayada podría presentar intersexualidad juvenil.

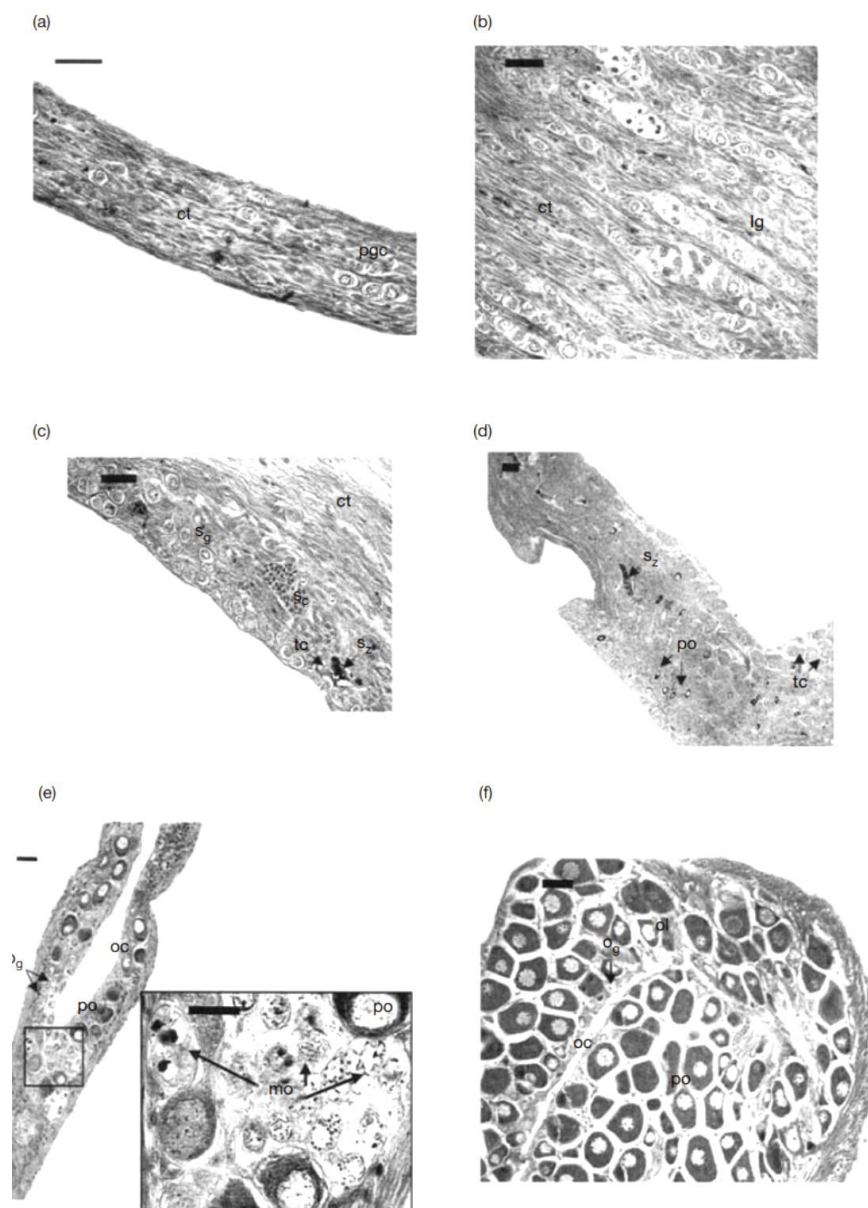


Figura 3. Fotomicrografías de cortes histológicos de gónadas de lubina europea (*Dicentrarchus labrax*) de distintas etapas de diferenciación sexual. (a). Gónada indiferenciada. (b). Gónada en diferenciación. (c). Testículos en desarrollo temprano. (d). Testículos con ovocitos intratesticulares. (e) Ovario en diferenciación. (f) Ovario previtelogénico. ct: Tejido conectivo, ig: grupo isogénico de células germinales, oc: cavidad ovárica, og: ovogonias, ol: lamelas ováricas, po: ovocito previtelogénico, pgc: célula germinal primordial, tc: quiste testicular, mo: ovocito meiótico, sc: espermatocito, sg: espermatogonias, sz: espermatozoides. Barras de escala: (a) - (c), (e) = 25 µm; (d), (f) = 50 µm. Capturada de Saillant et al, 2002.

1.1.3 Sistema reproductor de los peces teleósteos

Los peces teleósteos se reproducen sexualmente, poseen un par de ovarios y testículos, aunque algunas especies tienen una sola gónada, ya sea porque durante la ontogenia las dos gónadas pueden fusionarse en una sola estructura o porque solo una de las gónadas se desarrolla. Las gónadas de los peces se encuentran junto a la vejiga gaseosa, están unidas por un mesenterio peritoneal membranoso, que en las hembras se denomina mesovario y en los machos mesorquio. La membrana que recubre las gónadas se conoce como túnica albugínea y a través de la región hiliar de las gónadas, se conectan las arterias, venas y algunos conductos linfáticos y nerviosos. Estos órganos reproductivos tienen como función la producción de gametos, denominados espermatozoides para los machos y óvulos para hembras (Gómez, 1995).

1.1.4 Células germinales primordiales

Las células germinales primordiales (CGP) son células precursoras vitales que desempeñan un papel esencial en la formación de las células germinales, las cuales, a través de un proceso de diferenciación sexual, darán origen a los óvulos y espermatozoides. Desde una perspectiva histológica, las CGP presentan características distintivas que las diferencian de otras células. Se destacan por su tamaño significativamente mayor, un núcleo de gran tamaño con bordes nucleares bien definidos, la presencia de un nucléolo y un citoplasma con pocos organelos. Un rasgo particularmente interesante de las CGP es la nube de mitocondrias que se observa en la periferia de su núcleo. Esta nube de mitocondrias está asociada con proteínas y ARN mensajeros (mRNAs) de origen materno, y se conoce comúnmente como "gránulos germinales" o "nuage". Estos gránulos germinales son esenciales para el desarrollo y la diferenciación de las CGP, ya que transportan y regulan proteínas y ARN relacionados con la determinación del sexo y la diferenciación sexual. Estas células germinales primordiales son un componente crítico en el proceso de desarrollo sexual, y su morfología y características intracelulares, como la presencia de los gránulos germinales o nuage, desempeñan un papel fundamental en la formación de óvulos y espermatozoides, así como en la determinación del sexo en organismos. (Zhao *et al.*, 2017; Escuredo, 2018).

1.1.5 Gonadogénesis

El desarrollo de las gónadas o gonadogénesis se lleva a cabo por un proceso en el que participan células somáticas derivadas de la región dorsal del epitelio celómico y las células germinales primordiales (CGP), que migran hasta este sitio durante el desarrollo temprano del embrión o de la larva en muchas especies

de peces. Las células somáticas dan origen a los tejidos de soporte y a las células productoras de esteroides, mientras que las CGP dan origen a las ovogonias y espermatogonias en los ovarios y testículos respectivamente, a partir de estas células diferenciadas sexualmente, se originan los gametos femeninos (óvulos) y masculinos (espermatozoides) (Strüssmann y Nakamura, 2002).

1.1.5.1 Estructura y desarrollo de los ovarios

Los ovarios son los órganos reproductores femeninos de un organismo, son los encargados de producir óvulos, que posteriormente son fertilizados para dar origen a un nuevo individuo. En algunas especies de desarrollo interno, el tracto genital de la hembra puede almacenar los espermatozoides y en especies vivíparas como las pertenecientes a la familia Poeciliidae, el desarrollo de los embriones es intrafolicular, es decir, ocurre en el interior de este órgano. En el ovario de los peces teleósteos hay un epitelio germinal delgado y plegado hacia el interior del órgano, que deriva de una extensión del peritoneo, que forma las lamelas ovígeras, donde se sitúan las células germinativas u ovogonias (Cabrera, 2019; Carrillo-Estévez, 2009; Gómez, 1995).

Durante el proceso de diferenciación ovárica, o bien, del desarrollo del ovario de los peces teleósteos, las células germinales primordiales indiferenciadas dan lugar a las ovogonias que se agrupan en nidos. Después de varias divisiones mitóticas, inician su primera división meiótica, que da lugar a los ovocitos primarios, que se aíslan y se rodean de una capa de células somáticas epiteliales o células de la granulosa, estas células secretan la membrana basal y alrededor de ella se encuentran otras células somáticas procedentes del estroma o células de la teca (Carrillo-Estévez, 2009).

El ovocito primario, acompañado de las células de la granulosa y de la teca forman el folículo ovárico, y la meiosis queda detenida al final de la profase I, durante un tiempo que puede variar entre diferentes especies de peces teleósteos. En esta parada meiótica se da la segunda fase de crecimiento del folículo, donde se destacan los siguientes acontecimientos: previtelogénesis y vitelogénesis. También durante esta fase, el oocito acumula ARNs, reservas nutricionales y otros componentes que le van a servir cuando comience su proceso de maduración, fertilización y desarrollo embrionario (Carrillo-Estévez, 2009).

La fase de previtelogénesis se divide en los estadios I, II y III. En el estadio I, ovocitos aumentan de tamaño (estadio II), finalmente en el estadio III, el núcleo del ovocito se encuentra en el centro y los nucléolos migran hacia la periferia nuclear (Gómez, 1995). En la vitelogénesis, los oocitos almacenan sustancias

nutritivas para el desarrollo embrionario. Generalmente, en esta fase se observan 4 estadios. En el estadio IV, el núcleo y el citoplasma aumentan de tamaño y aparecen unas vesículas en las que se acumula el vitelo. Continuando con el estadio V, donde aparecen las inclusiones lipídicas. En el estadio VII, el citoplasma está saturado de vitelo e inclusiones lipídicas, y finalmente, en el estadio VIII, el núcleo migra hacia el polo animal (Gómez, 1995).

1.1.5.2 Estructura y desarrollo de los testículos

Los testículos son los órganos reproductores masculinos de un organismo, en los peces normalmente son pareados. El testículo de los peces teleósteos está formado por dos compartimentos, el lobular y el intersticial. El lóbulo testicular contiene varios espermatocistos, constituidos por unas cuantas células de Sertoli, que dan soporte a una espermatogonia. Las espermatogonias primarias después de varias divisiones mitóticas darán lugar a las espermatogonias secundarias, que inician el proceso meiótico, entonces se clasifican como espermatocitos primarios, que al madurar se convierten en espermatocitos secundarios, espermatidas y espermatozoides. Por otro lado, en el compartimento intersticial que se encuentra entre los lóbulos, hay fibroblastos, vasos sanguíneos y linfáticos y las células de Leydig productoras de esteroides (Carrillo-Estévez, 2009; Gómez, 1995).

Durante el proceso de desarrollo testicular, las espermatogonias y las células de Sertoli se multiplican por procesos mitóticos, estos procesos morfogenéticos culminan con la formación de los testículos, que están constituidos por lóbulos seminíferos (Cabrera, 2019). Dicho desarrollo transcurre en las etapas tempranas de la vida, en forma general entre la eclosión y el inicio de la vida juvenil. Llegada la pubertad, inicia la maduración del testículo, este proceso se denomina “espermatogénesis” y se divide en 6 estadios de desarrollo: Estadios I y II) espermatogonia primaria y secundaria, Estadios III y IV) espermatocitos primarios y secundarios, estadio V) espermatidas y estadio VI) espermatozoides (Gómez, 1995).

Histológicamente, en la presuntiva gónada masculina indiferenciada, al inicio de su diferenciación se observa la proliferación de las células de Sertoli, dichas células organizan el desarrollo y morfogénesis de los testículos. El proceso continúa con la proliferación mitótica de las espermatogonias, después se desarrolla la estructura lobular que dará origen a los lóbulos seminíferos en los testículos. Una vez que el organismo llega a la pubertad, que dependiendo de la especie puede tomar de unos meses a varios años, inicia la gametogénesis con los procesos meióticos que darán lugar a la formación de cistos de espermatocitos primarios y secundarios. Posteriormente, en el estadio V, los cistos con las espermatidas

maduras son transportadas al lumen tubular, en el estadio VI se transforman en espermatozoides que son liberados en los conductos deferentes (Cabrera, 2019; Gómez, 1995).

1.1.6 Determinación y diferenciación del sexo

La determinación sexual es el proceso mediante el cual un cigoto recibe la información genética que, durante el proceso de diferenciación, conducirá a la formación de testículos u ovarios. En este contexto, la determinación sexual puede ser de naturaleza cromosómica, implicando la intervención de cromosomas sexuales que llevan uno o varios genes encargados de regular el desarrollo sexual. La determinación sexual genética (GSD) incluye los sistemas XY, ZW y variantes de estos. También se ha descrito una forma de determinación sexual en la que los factores ambientales tienen una influencia sobre la genética de este proceso, entre estos factores se pueden desatacar la temperatura, el pH, y factores sociales como el comportamiento de los organismos (Guerrero y Moreno, 2010).

En la mayoría de los peces termosensibles, la proporción de machos aumenta cuando aumenta la temperatura, y las temperaturas más bajas inducen el desarrollo de los ovarios, esto se ha visto, por ejemplo, en la lubina, *D. labrax* L., en la que, durante las primeras etapas de desarrollo, la temperatura baja juega un papel muy importante en la diferenciación sexual, propiciando la diferenciación de hembras (Guerrero y Moreno, 2010). La diferenciación sexual es el proceso por el que un rudimento gonadal, constituido por células germinales primordiales y tejido somático derivado de la pared peritoneal dorsolateral, se transforma en ovario o testículo. En este proceso intervienen diversos mecanismos moleculares y fisiológicos que después se traducen en cambios morfológicos. Básicamente, la diferenciación sexual da como resultado la formación de un macho o de una hembra a partir de un cigoto con un genotipo determinado por los progenitores en un ambiente dado (Cabrera, 2019).

1.2 Justificación

La lobina rayada es una especie de gran valor económico y con una producción significativa en la región en Ensenada, Baja California, México. Se ha observado que, en esta especie, las hembras tienen tasas de crecimiento más rápidas y alcanzan longitudes mayores en comparación con los machos. Por lo tanto, se está llevando a cabo un estudio detallado del proceso de desarrollo gonadal en la etapa larval-juvenil con el objetivo de describir la diferenciación sexual y determinar el período crítico durante el cual es posible influir en la diferenciación del sexo.

1.3 Hipótesis

El desarrollo larvario de la lobina rayada es similar al de la lubina europea, con la que tiene un gran parentesco filogenético, por ende, el periodo lábil de la lobina rayada será entre los 50 y 150 DDE.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Describir el proceso de diferenciación de las gónadas de lobina rayada utilizando técnicas histológicas

1.4.2 Objetivos específicos

Generar una colección de ejemplares de lobina rayada para el periodo comprendido entre el momento de la eclosión y los 300 días después de la eclosión.

Describir el crecimiento de la lobina rayada durante la etapa larval y juvenil.

Describir el desarrollo ovárico y testicular utilizando técnicas histológicas.

Definir el periodo más probable para el control del sexo.

Describir los tipos de malformaciones que se presentan en la lobina cultivada.

Capítulo 2. Metodología

2.1 Descripción del proceso de gonadogénesis

2.1.1 Muestreo de larvas y juveniles de lobina rayada (*Morone saxatilis*)

Los ejemplares de lobina rayada se recolectaron en el laboratorio de reproducción y desarrollo de la empresa Pacífico Aquaculture. Se tomaron muestras de 30 ejemplares de 0, 2, 5, 7, 10 y 12 días después de la eclosión (dde) y posteriormente cada 10 días hasta los 90 dde; después 15 ejemplares de 100 a 180 dde y ulteriormente 20 ejemplares de 220, 260 y 300 dde (tabla 1).

Tabla 1. Edad de los ejemplares de lobina rayada expresada en días después de la eclosión (dde) y número de ejemplares preservados por muestra.

Muestreos (dde)	Total de ejemplares
0, 2, 5, 7, 10, 12	30
20 – 90	30
100 – 180	15
220, 260 y 300	20

La muestra de peces de cada día se colocó en solución fijadora de Davidson (Anexo A) por un periodo de 48 h y posteriormente se traspasaron a etanol al 70% en frascos de plástico debidamente etiquetados, en donde se mantuvieron hasta su proceso histológico. A los organismos recolectados se les midió la longitud, en el caso de las larvas de 0 a 10 DDE se midió la longitud notocordal en un microscopio estereoscópico (modelo Olympus SZ61) equipado con una cámara que utiliza el Software Infinity Analyze 7 donde se capturaron fotos y se midieron las larvas, para el caso de larvas mayores de 10 días y juveniles se midió la longitud estándar y total con un vernier Mecanic Typ y para los ejemplares de 220, 260 y 300 dde se utilizó un ictiometro.

2.1.2 Análisis histológico

Para describir el desarrollo gonadal, de los ejemplares recolectados de 0 a 180 dde, inicialmente solo se

procesaron 10 de cada fecha, para 220, 260 y 300 dde se procesaron 20 ejemplares. Para cada submuestra se procuró incluir organismos de todas las longitudes. De esta forma, del total de 960 organismos recolectados, se procesaron histológicamente un total de 250. Para facilitar el proceso histológico de los organismos que tenían osificado el esqueleto (de 30 a 52 dde), se descalcificaron con solución de ácido nítrico (Anexo B) por 10, 15, 20 y 30 minutos, dependiendo la longitud total del ejemplar. Para otros ejemplares (de 60 a 102 dde) se obtuvo la zona abdominal descarapelando el pez.

Después de completar el período de fijación y descalcificación, las muestras se colocaron en cassetes histológicos y se lavaron con agua destilada. A continuación, se procedió a la deshidratación mediante una serie de soluciones alcohólicas de concentraciones progresivamente crecientes, que variaron desde un 60% hasta alcanzar un 100% de alcohol (consultar Anexo C). Este proceso de deshidratación se realizó durante un periodo de 23 horas utilizando un procesador automático de tejidos de la marca Leica, modelo TP1020, conocido como “Histoquinete”. El siguiente paso fue la transparentación o aclarado donde se utilizó el solvente orgánico benceno, para extraer todo el alcohol.

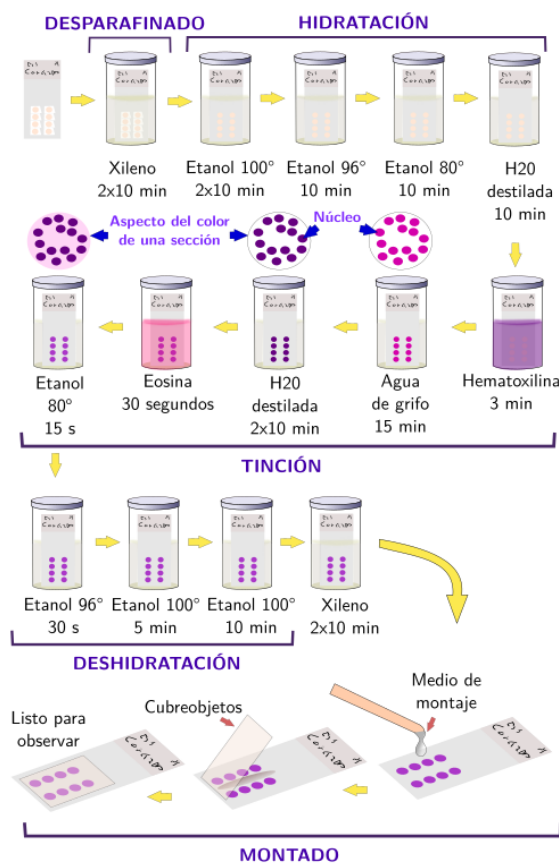


Figura 4. Proceso histológico: Desparafinación hasta montaje. (Tomada de <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/5-histoquimica.php>).

Las muestras deshidratadas y transparentadas se incluyeron en parafina en un equipo automático de inclusión de tejidos (Leica, modelo EG1160). Posteriormente se hicieron secciones histológicas de 5 μm de espesor en un microtomo rotatorio (Leica, modelo RM2255), los cortes fueron seriados para observar mejor la estructura histológica de los órganos. Las secciones de tejido se extendieron y se colocaron en un portaobjetos con su respectivo etiquetado. Los portaobjetos con las secciones de tejido se secaron y desparafinaron en una estufa (Precision Scientific Co) durante 24 h a 65°C. A continuación, pasaron por un baño en xileno por 10 min, después a diferentes concentraciones de alcohol (Anexo D), entonces se lavaron con agua destilada y quedaron listas para la tinción (Fig 4).

Las muestras se tiñeron inicialmente con hematoxilina durante 2 minutos con 30 segundos, después se lavaron con agua de la llave por 1 min, y se colocaron en agua destilada por 1 min. A continuación, se colocaron en una solución de eosina por 30 s, posteriormente fueron lavadas en alcohol al 90% y 100%, finalmente se colocaron en una solución de xileno por 5 min (Anexo E), ya listas para el montaje en resina sintética (Fig 4). Después de que se removió la humedad remanente del proceso de tinción, se utilizó resina sintética para preservar los tejidos y se colocó un cubreobjetos encima del tejido, para posteriormente observar las laminillas en un microscopio Olympus (Fig 4).

2.2 Gonadogénesis

Para describir el desarrollo gonadal, se llevaron a cabo análisis de laminillas histológicas utilizando ejemplares de diversas edades. Se creó una base de datos de imágenes histológicas en las que se describieron los diferentes tejidos y tipos celulares que componen las gónadas. Además, se desarrolló un modelo cronológico del desarrollo de las gónadas. Este proceso se basó en el trabajo de Wootton y Smith (2015), donde se describe la gonadogénesis de la lubina europea. Cuando la gónada comenzó a desarrollar gametos, específicamente ovocitos, para identificar el estadio de cada uno de estos se utilizó la clasificación del libro de Babin *et al.*, 2007.

2.3 Identificación del periodo lábil

Para la identificación del periodo lábil se analizaron distintos estudios de la lubina europea y de otras especies de peces (Piferrer *et al.*, 2005; Saillant *et al.*, 2003; Guerrero y Moreno, 2010 y Rodríguez-Pulido *et al.*, 2017). Para el inicio del periodo lábil se utilizó como referencia el desarrollo de la gónada y la

terminación fue por la aparición de la cavidad ovárica. Con esta información se logró hacer una estimación del periodo lábil o sensible para la lobina rayada (*M. saxatilis*).

2.4 Análisis de crecimiento

Se calculó un modelo de crecimiento para el intervalo de edades de 0 a 300 dde utilizando una regresión lineal. La totalidad de los peces recolectados entre los 0 a 82 dde no se pudieron medir en fresco, por lo que para corregir cualquier diferencia entre la longitud en fresco y después del proceso de fijación, solo una submuestra de 5 organismos se midió en vivo y después de la fijación, con esta información y con la técnica de regresión lineal, se construyó un modelo que permitió calcular la longitud en fresco de toda la muestra. El análisis de crecimiento se basó en las medidas de la longitud notocordal y total.

2.5 Proporción de sexos

Se cuantificó la proporción sexual de cada uno de los muestreos y para evaluar diferencias con respecto a la proporción sexual esperada 1:1, se aplicó una prueba de bondad de ajuste de Chi cuadrada (χ^2) con la corrección de Yates para continuidad (Zar, 2010). Para evaluar las diferencias en la proporción sexual para el total de las muestras, se aplicó un análisis de heterogeneidad de Chi cuadrada (Zar, 2010) y posteriormente se hizo el análisis de Chi cuadrada sin corrección de continuidad para los datos agrupados.

2.6 Análisis de malformaciones

Para identificar las malformaciones de las lobinas, se revisaron diferentes estudios en diferentes especies de peces (Argüello-Guevara *et al.*, 2014; Baltazar-Guerrero y Palacios-León, 2020; Boglione *et al.*, 2013; Camargo-Buitrago, 2017; García-Concha, 2016; Lv *et al.*, 2019; Nagano *et al.*, 2007 y Rodríguez-Ibarra *et al.*, 2017). Este estudio se basó en 3 tipos de malformaciones, malformación mandibular, craneal y columnar.

Capítulo 3. Resultados

3.1 Análisis del desarrollo general

Para el análisis del desarrollo general, inicialmente se observaron con detalle los ejemplares de distintas edades *in vivo*. En la figura 5 se pueden apreciar distintas fases de vida de la lobina rayada (*M. saxatilis*). A los 0 dde el saco vitelino es prominente con una gota de aceite en la región anterior, la notocorda y los mitomos están dispuestos en forma recta y el ojo en desarrollo es transparente (Fig 5 A). Al día 2 aparece la pigmentación en los ojos, los melanóforos y hay una reducción del saco vitelino (Fig 5 B). A los 7 dde ya se desarrolló la vejiga gaseosa y la boca (Fig 5 C). Al día 12 la aleta caudal comienza a formarse y el saco vitelino está casi absorbido, el alimento en el tracto digestivo es muy evidente (Fig 5 D). A los 22 dde, en la región abdominal se observa un tracto digestivo más desarrollado, la vejiga gaseosa aumentó su tamaño y se desarrolla la columna vertebral, la aleta dorsal y caudal (Fig 5 E). Aún se logra ver la transparencia en el cuerpo de los organismos a estas edades las larvas están poco pigmentados, únicamente se observan melanóforos en algunas regiones del cuerpo.

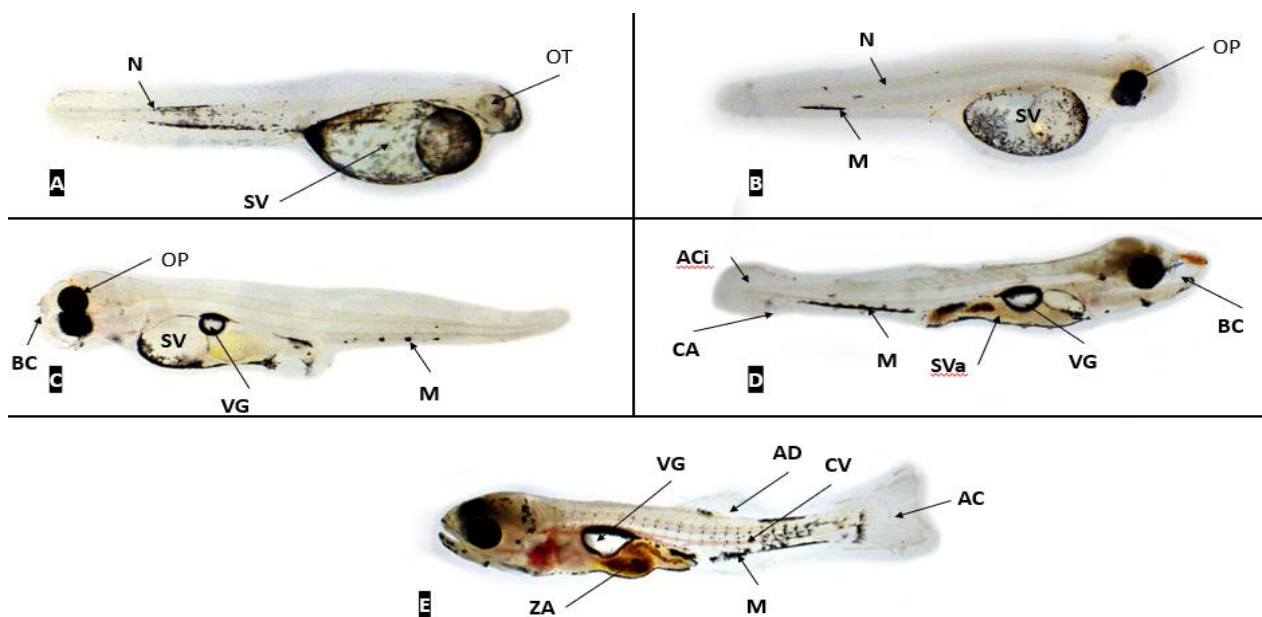


Figura 5. Desarrollo larval de la lobina rayada (*M. saxatilis*) del día 0 al 22 dde. A. 0 días después de la eclosión (dde) (Longitud notocordal media "Lnm": 0.36 cm). B. 2 dde (Lnm: 0.44 cm). C. 7 dde (Lnm: 0.54 cm). D. 12 dde (Lnm: 0.59 cm). E. 22 dde (Lnm: 1.07 cm). AC: Aleta caudal, ACi: formación de aleta caudal, AD: aleta dorsal, BC: boca, CA: Contracción de los pliegues de aleta caudal, CV: columna vertebral, M: melanóforos, N: notocorda, O: Ojo bien desarrollado, OP: ojo pigmentado de negro, OT: ojo transparente, SV: saco vitelino con gota de aceite, SVa: saco vitelino casi absorbido, VG: vejiga gaseosa, ZA: zona abdominal.

Histológicamente, a los 2 dde (0.44 ± 0.022 cm de Ln) se observan los ojos aún en desarrollo, el tubo digestivo más largo, ligeramente curvado situado por encima del saco vitelino, este último tiene una coloración eosinófila y la gota de aceite aun es prominente, aún no se abren la boca ni el ano, la nutrición depende de las reservas del saco vitelino y gota de aceite (Fig 6). A los 4 dde (0.50 ± 0.022 cm de Ln) la retina del ojo se observa más pigmentada, el saco vitelino redujo su tamaño, el intestino comienza a desarrollarse y la musculatura rodea a la notocorda en toda su longitud. La notocorda está formada por células vacuoladas (Fig 7).

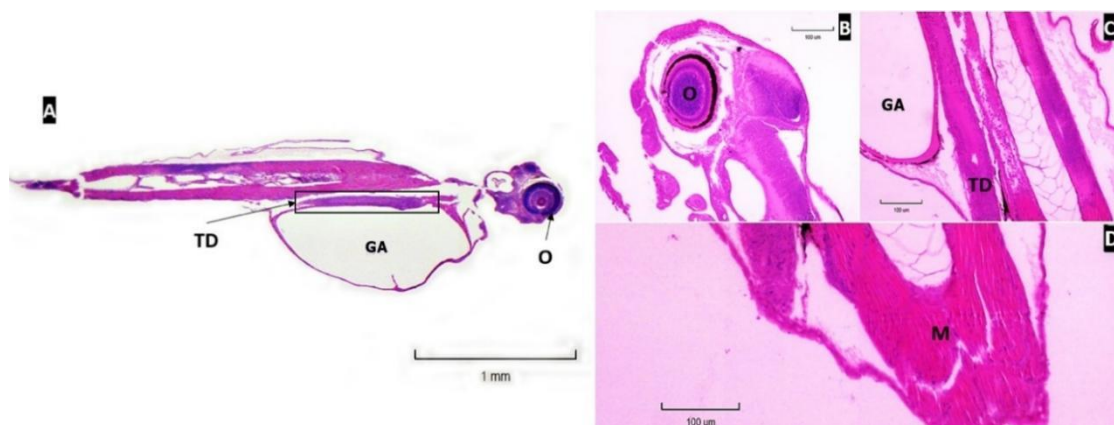


Figura 6. Corte histológico de una larva de *M. saxatilis* de 2 dde de 0.44 cm de longitud notocordal. A. Larva completa, se observa el tubo digestivo (rectángulo), saco vitelino prominente y el ojo en desarrollo. B. Cabeza del ejemplar con el ojo desarrollándose. C. Región media del cuerpo, se observa la parte posterior del saco vitelino y tubo digestivo. D. Cola del ejemplar con musculatura. GA: Gota de aceite, M: músculo, O: ojo, TD: tubo digestivo.

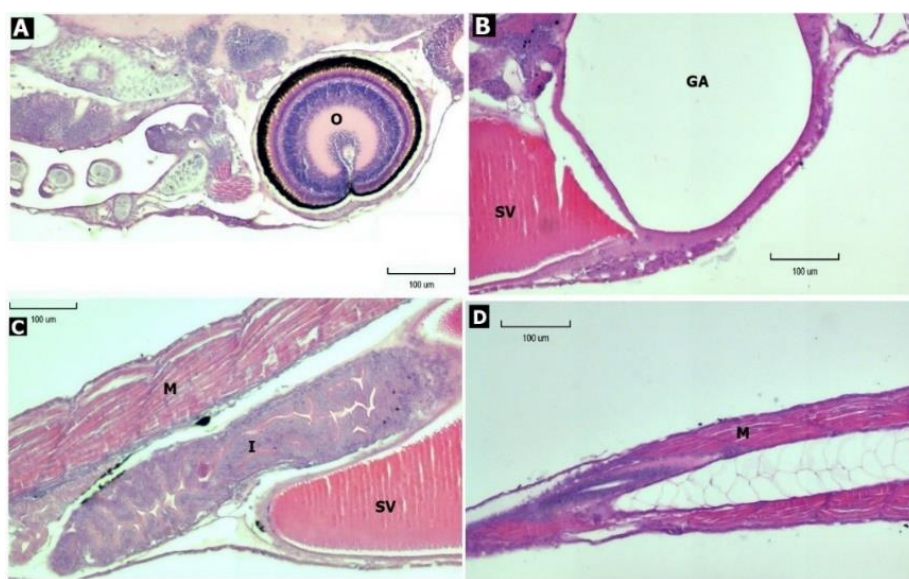


Figura 7. Corte longitudinal de una larva de *M. saxatilis* a los 4 dde con 0.50 cm de longitud notocordal A. Cabeza del ejemplar con el ojo en desarrollo (100X). B. Saco vitelino (100X). C. Sección posterior del intestino en formación (100X). D. Región caudal integrada por la musculatura que envuelve a la notocorda con células vacuoladas (100X). I: Intestino, GA: gota de aceite, M: músculo, O: ojo, SV: saco vitelino.



Figura 8. Corte sagital de una larva de *M. saxatilis* a los 5 dde con 0.51 cm de longitud notocordal. A. Larva completa donde se observan distintos órganos. B. Parte de la cabeza donde se ve el ojo y la boca (100X). C. Gota de aceite y vejiga gaseosa (100X). BC: Boca, GA: gota de aceite, O: ojo, SV: saco vitelino, VG: vejiga gaseosa.

A los 5 dde (0.51 ± 0.022 cm de Ln) se redujo el saco vitelino y la gota de aceite, la vejiga gaseosa aumentó su tamaño, la boca se desarrolló, se observa un mayor desarrollo de los arcos branquiales (Fig 8). A los 7 dde (0.54 ± 0.034 cm de Ln) el intestino se dividió en anterior y posterior y el ano aparece, el vitelo y la gota de aceite se han reducido más (Fig 9). A los 10 y 12 dde no hubo cambios significativos. A los 22 dde (0.98 ± 0.115 cm de Ln) no se observó el saco vitelino, lo que indica que el vitelo y la gota de aceite se absorbieron totalmente, el hígado se desarrolló y las tres secciones del intestino son más grandes y desarrolladas, se observa un mayor desarrollo de los arcos y filamentos branquiales (Fig 10).

A los 40 dde (2.57 ± 0.40 cm de LT) no se observa gran cambio, la aleta anal más desarrollada, gran parte del cuerpo ya se encuentra pigmentada y la zona abdominal se ve más prominente (Fig 11 B). A los 52 dde (4.97 ± 0.32 cm de LT) se tiene un ejemplar completamente formado, con las aletas ya bien desarrolladas y pigmentadas, en esta edad ya aparece la aleta pectoral (Fig 11 C).

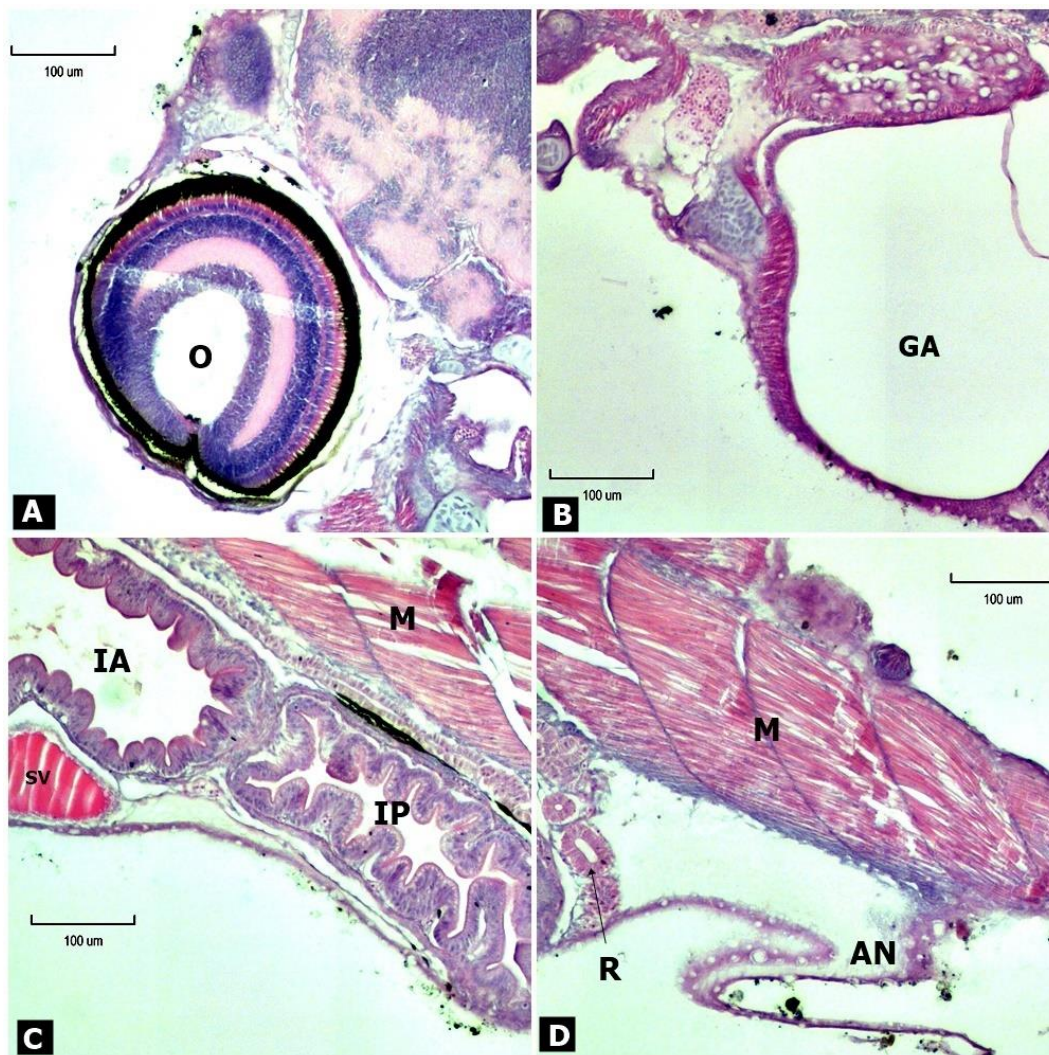


Figura 9. Corte sagital de una larva de *M. saxatilis* a los 7 dde con 0.6 cm de longitud notocordal. A. Intestino anterior e intestino posterior (100X). B. Músculo y ano (100X). AN: Ano, IA: Intestino anterior, IP: intestino posterior, GA: gota de aceite, M: músculo, O: ojo, R: riñón, SV: saco vitelino.

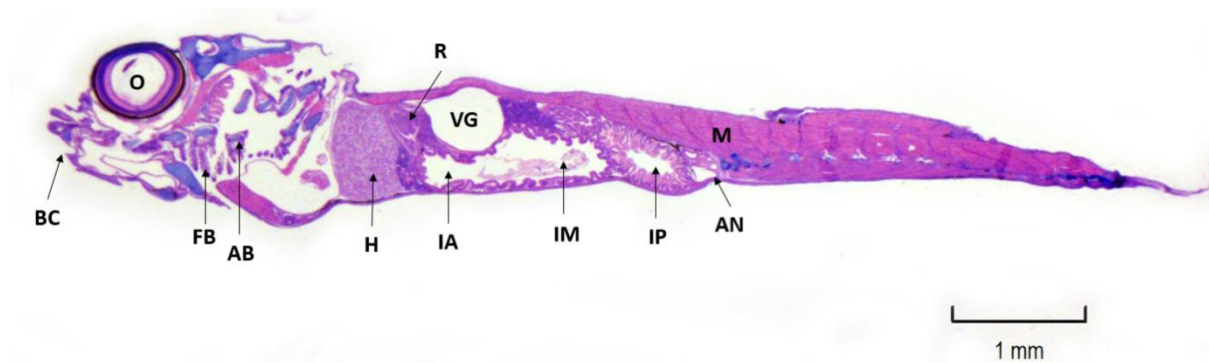


Figura 10. Corte longitudinal de una larva de *M. saxatilis* a los 22 dde con 0.98 cm de longitud total. AB: arcos branquiales, AN: ano, BC: boca, FB: filamentos branquiales, H: hígado, IA: intestino anterior, IM: intestino medio, IP: intestino posterior, M: músculo, O: ojo, R: riñón, VG: vejiga gaseosa.

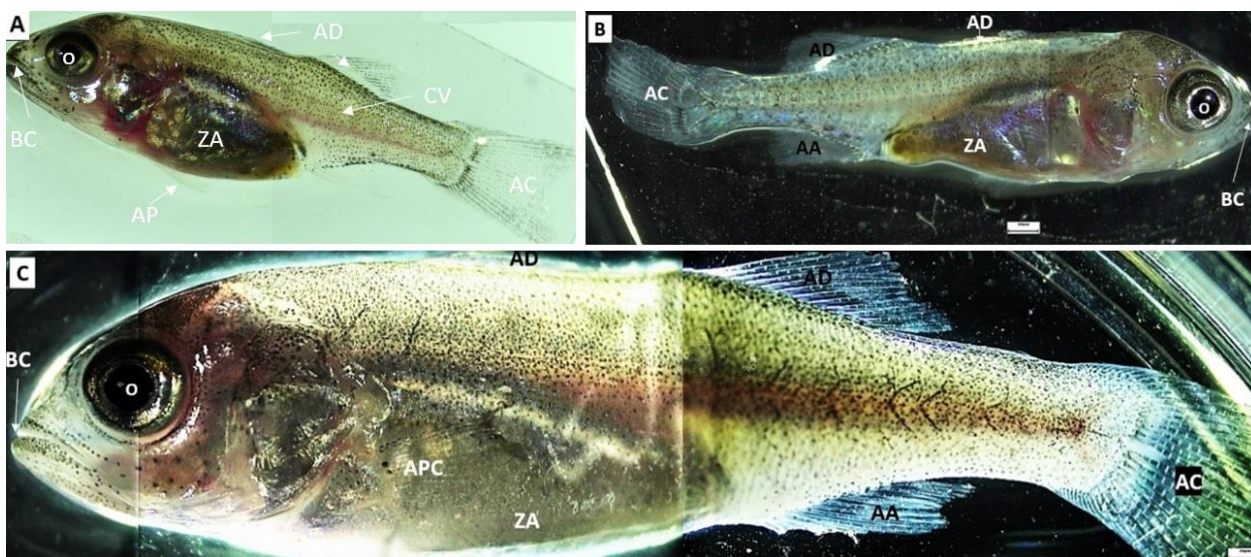


Figura 11. Desarrollo de la lobina rayada (*M. saxatilis*) de 32, 40 y 52 dde. A. Ejemplar de 32 días después de la eclosión (dde) (LTm: 2.03). B. 40 dde (Ltm: 2.57 cm). C. 52 dde (Ltm: 4.97 cm). AA: Aleta anal, AC: aleta caudal, AD: aleta dorsal, AP: aleta pélvica, APC: aleta pectoral, BC: boca, CV: columna vertebral, O: Ojo, VG: vejiga gaseosa, ZA: zona abdominal.

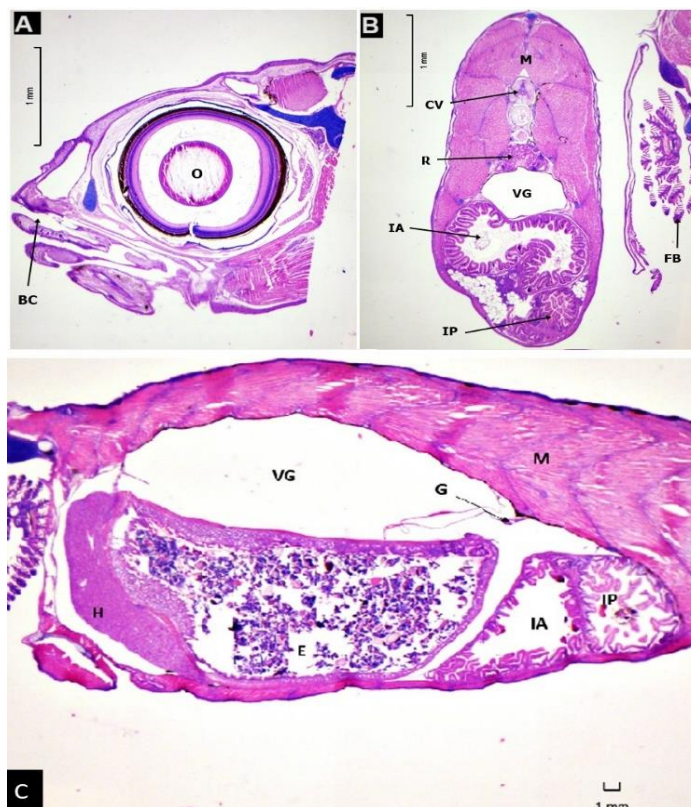


Figura 12. Corte histológico de un ejemplar de *M. saxatilis* de 32 dde con una longitud total de 2.01 cm. A. Corte longitudinal de la cabeza del ejemplar con su ojo y boca (30X). B. Corte transversal del cuerpo del ejemplar, se observa la musculatura epaxial, la columna vertebral, medula espinal y aorta, vejiga gaseosa, riñón e intestino anterior y posterior (10X). C. Corte longitudinal con abundante músculo, intestino anterior y posterior, estómago, hígado, filamentos branquiales y la gónada. BC: Boca, E: estómago, FB: filamentos branquiales, G: gónada, H: hígado, IA: intestino anterior, IP: intestino posterior, M: músculo, O: ojo, R: riñón, VG: vejiga gaseosa.

Histológicamente, a los 32 dde (2.03 ± 0.18 cm de LT) no hubo gran diferencia en el desarrollo general de las larvas con respecto al periodo anterior (22 dde), pero a esta edad se observó por primera vez la gónada primordial (Fig 12), lo que indica que su desarrollo inicia entre los días 22 y 32 dde. Las gónadas primordiales se desarrollan en la región lateral del cuerpo donde colindan con la vejiga gaseosa, el intestino y el riñón (Fig. 12B). A los 52 dde (4.97 ± 0.40 cm de LT), todos los órganos incrementaron su tamaño (Fig 13).

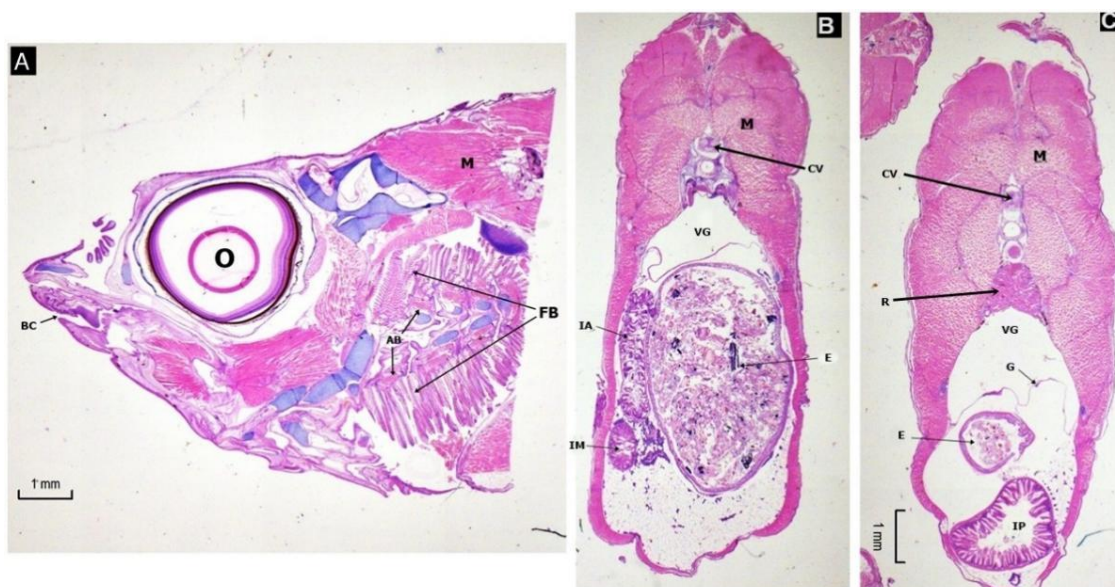


Figura 13. Corte histológico de un ejemplar de *M. saxatilis*- de 52 dde con una longitud total de 4.76 cm. A. Corte longitudinal de la cabeza del ejemplar con su ojo, boca, arcos y filamentos branquiales (10X). B. Corte transversal de la zona superior del ejemplar donde se observa la musculatura epaxial, vejiga gaseosa, estómago, intestino anterior y medio y la gónada (10X). C. Corte transversal de la zona anterior del ejemplar donde se observa la vejiga gaseosa, gónadas, estómago e intestino posterior. AB: Arcos branquiales, BC: boca, E: estómago, FB: filamentos branquiales, G: gónada, IA: intestino anterior, IM: intestino medio, IP: intestino posterior, M: músculo, O: ojo, VG: vejiga gaseosa.

3.2 Análisis del desarrollo gonadal

En este apartado se describe únicamente el desarrollo gonadal desde los 32 dde, cuando inicia su desarrollo, hasta los 300 dde (días después de la eclosión), también se incluyen cortes histológicos de gónadas maduras de ejemplares de aproximadamente 4 años.

3.2.1 32 dde (2.03 ± 0.18 cm de LT)

A la edad de 32 días después de la eclosión (dde), como se mencionó previamente, se pudo identificar la gónada primordial que contenía unas pocas células germinales.

En la figura 14, se presenta un corte longitudinal de un organismo de 32 dde, donde se observa la gónada primordial en su estado indiferenciado, junto con dos células germinales y células somáticas mesenquimales, es muy notoria su relación con el peritoneo de la región que colinda con la vejiga gaseosa, la musculatura epaxial y el intestino. En la figura 14 A se observa la ubicación de la gónada en la región posterior y lateral de la cavidad abdominal.

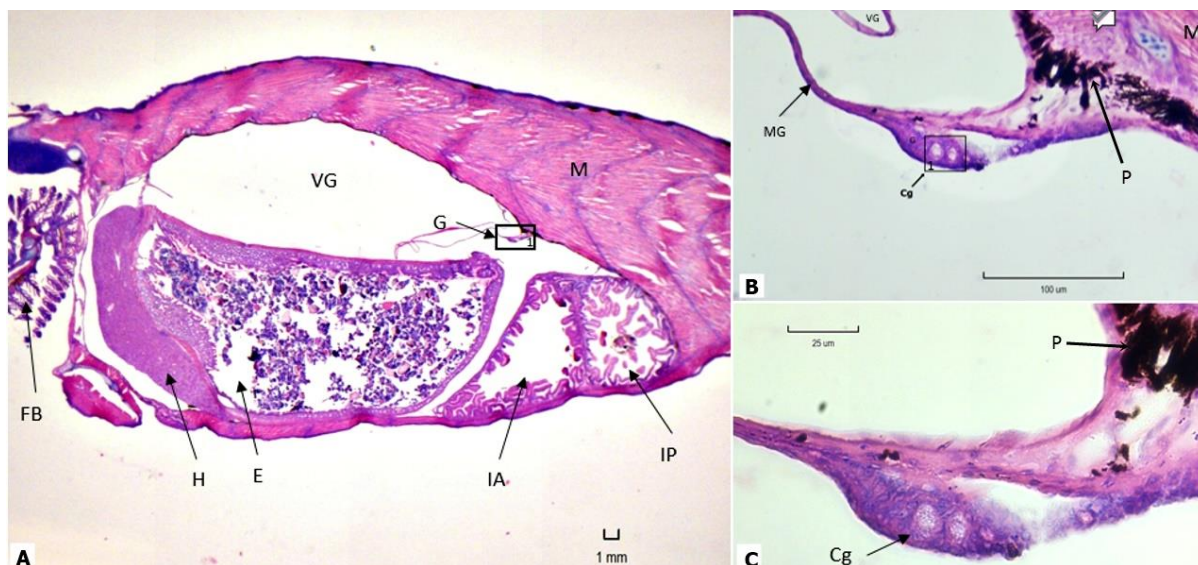


Figura 14. Corte longitudinal de una larva de *M. saxatilis* a los 32 dde con 2.2 cm de longitud total. A. Corte de un ejemplar en el que se observa la gónada primordial en la región posterior de la cavidad abdominal y en contacto con la musculatura epaxial, la vejiga gaseosa y el intestino. También se observan el estómago, intestinos anterior y posterior, hígado y en la cavidad branquial los filamentos branquiales. B. La gónada primordial unida al mesogonio se encuentra indiferenciada con dos células germinales primordiales (Ampliación del recuadro A1) (200X). C. Gónada a mayor ampliación con dos células germinales (ampliación del recuadro B1) (1000X). Cg: célula germinal, E: estómago, FB: filamentos branquiales, G: gónada, H: hígado, IA: intestino anterior, IP: intestino posterior, M: músculo, MG: mesogonio, P: peritoneo, VG: vejiga gaseosa.

3.2.2 40 dde (2.57 ± 0.40 cm de LT)

En la figura 15 se muestra el corte transversal de un ejemplar de 40 dde, a esta edad la gónada indiferenciada incrementó ligeramente su tamaño y se observan dos células germinales en la periferia de la gónada. Se puede apreciar la relación de la gónada con los órganos y tejidos que las rodean, el intestino anterior y riñón y musculatura epaxial.

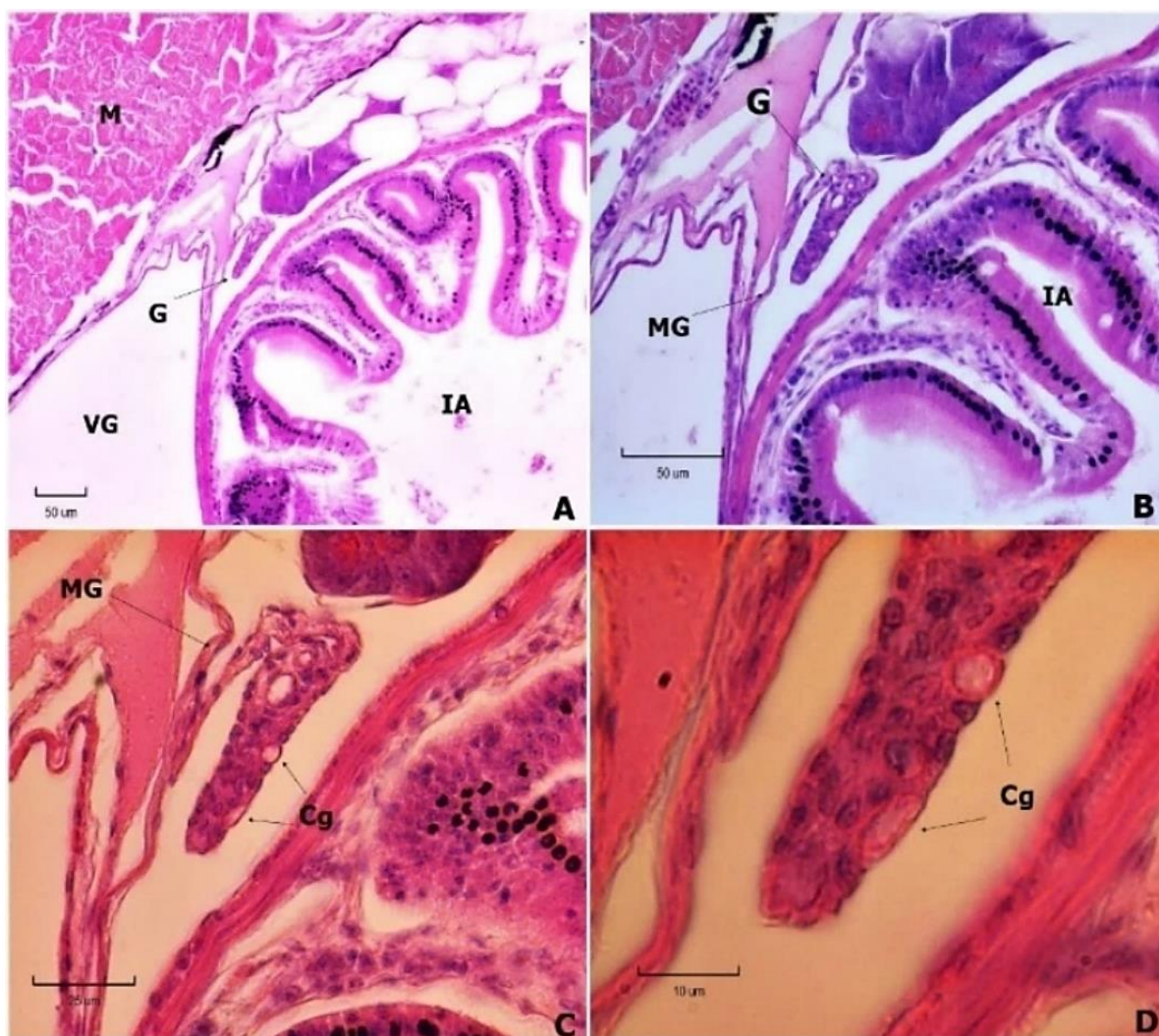


Figura 15. Corte transversal de una larva de *M. saxatilis* a los 40 dde con 2.96 cm de longitud total. A. Los primordios gonadales se encuentran entre el intestino y vejiga natatoria y están unidos al peritoneo por los mesenterios (100X). B. Ampliación de la gónada donde se observa el mesogonio (200X). C. Detalle de la gónada primordial indiferenciada con dos células germinales (400X). D. Ampliación de la gónada donde se aprecian mejor las células germinales (1000X). Cg: célula germinal, G: gónada, IA: intestino anterior, M: músculo, MG: mesogonio, VG: vejiga gaseosa.

3.2.3 52 dde (4.97 ± 0.40 cm de LT)

A los 52 dde, algunos ejemplares presentaron cavidad ovárica en desarrollo y células germinales en el centro de la gónada (Fig 17), lo cual posiblemente estos ejemplares den lugar a hembras. En contraste, otros ejemplares no presentaron cavidad ovárica y las células germinales se ubicaron en la periferia de la gónada (Fig 16), dicha característica indica que estos organismos probablemente se diferencien como machos.

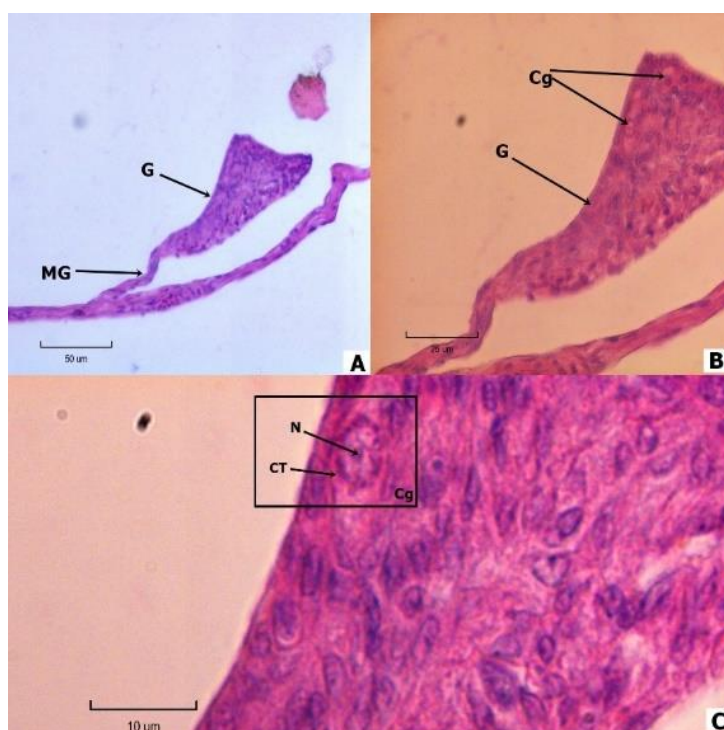


Figura 16. Corte transversal de un ejemplar de *M. saxatilis* a los 52 dde con 4.76 cm de longitud total. A. Gónada sin cavidad ovárica (100X). B. Célula germinal en la periferia de la gónada (400X). C. Célula germinal con numerosos nucléolos y citoplasma escaso (1000X). Cg: Célula germinal, CT: citoplasma, G: gónada, MG: mesogonio.

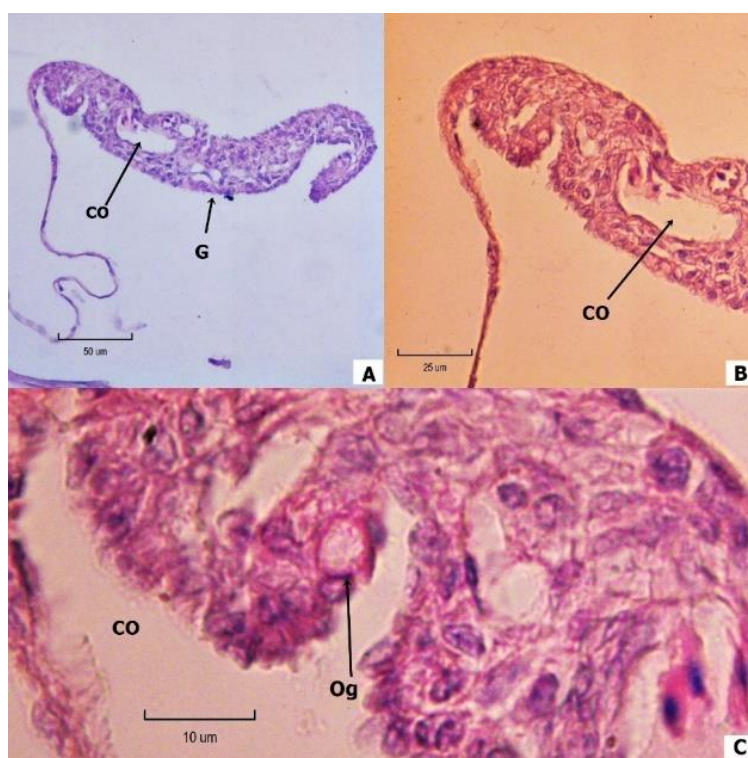


Figura 17. Corte transversal de un ejemplar de *M. saxatilis* a los 52 dde con 5.2 cm de longitud total. A. Las elongaciones de tejido somático del primordio gonadal ya se han fusionado para formar la cavidad ovárica (200X). B. Gónada a mayor ampliación (400X). C. Célula germinal alrededor de la cavidad ovárica. CO: Cavidad ovárica, G: gónada, Og: ovogonia.

3.2.4 62 dde (6.63 ± 0.65 cm de LT)

A los 62 dde, la gónada aumento de tamaño y se incrementó el número de células germinales. En la figura 18 se observa la gónada de un ejemplar indiferenciado, probablemente macho, que contiene células germinales en la periferia de la gónada y carece de cavidad ovárica.

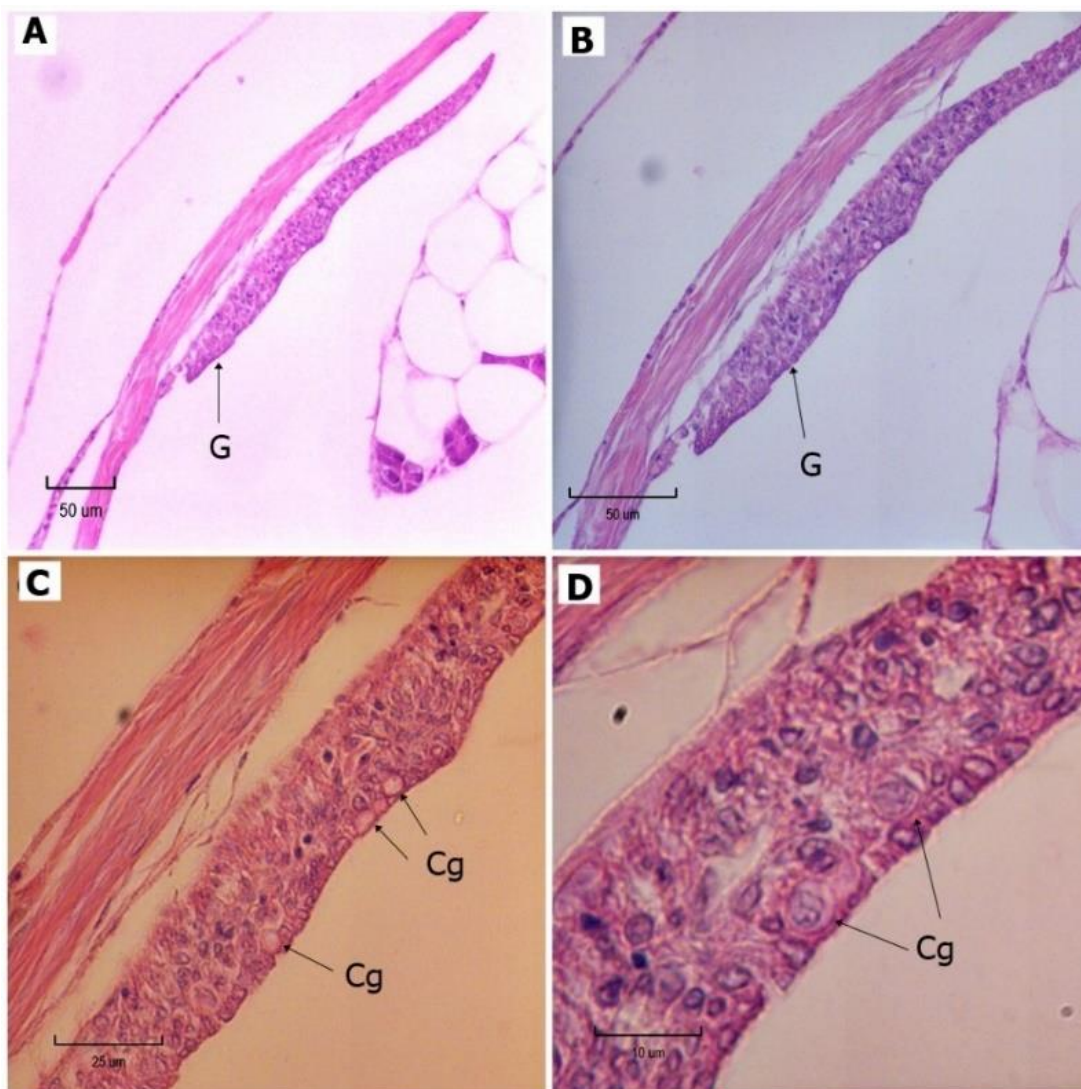


Figura 18. Corte trasversal de un ejemplar de *M. saxatilis* a los 62 dde con 7.17 cm de longitud total. A. Gónada indiferenciada con un número reducido de células germinales (100X). B. Ampliación de la gónada (200X). C. Gónada con células germinales en la periferia (400X) D. Células germinales a mayor aumento (1000X). Cg: Célula germinal, G: gónada.

En cambio, la figura 19 ilustra la gónada de un ejemplar que dará lugar a una hembra, puesto que contiene cavidad ovárica y células germinales en el centro de la gónada, asociadas al epitelio que delimita la cavidad ovárica.

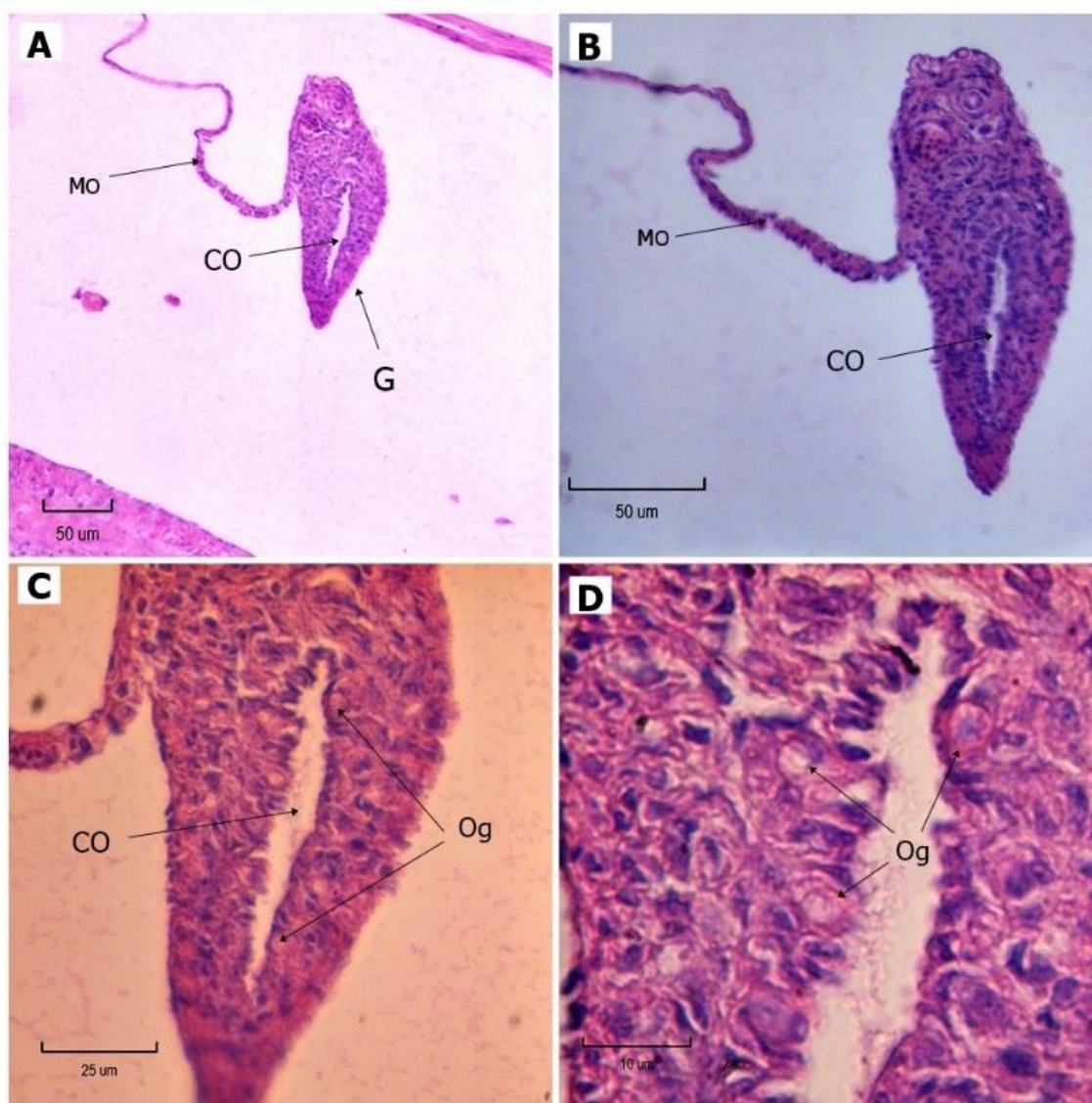


Figura 19. Corte trasversal de un ejemplar de *M. saxatilis* a los 62 dde con 6.73 cm de longitud total. A. Gónada con cavidad ovárica, el mesovario está unido al peritoneo cerca de la vejiga gaseosa (100X). B. Ampliación de gónada (200X). C. Cavidad ovárica con varias ovogonias a su alrededor (400X). D. Ovogonias en el centro de la gónada, asociadas al epitelio que delimita la cavidad ovárica (1000X). CO: Cavidad ovárica, G: gónada, MO: mesovario, Og: ovogonia.

3.2.5 72 dde (7.36 ± 0.75 cm de LT)

A los 72 dde, se observó un incremento en el tamaño de la gónada. La gónada indiferenciada carece de cavidad ovárica y las células germinales se distribuyen en la periferia de la gónada (corteza), por lo que se puede suponer que será un testículo (Fig 20). En la figura 21, se observa un ejemplar en el que la cavidad ovárica se alargó y las células germinales se disponen en el epitelio que delimita la cavidad ovárica.

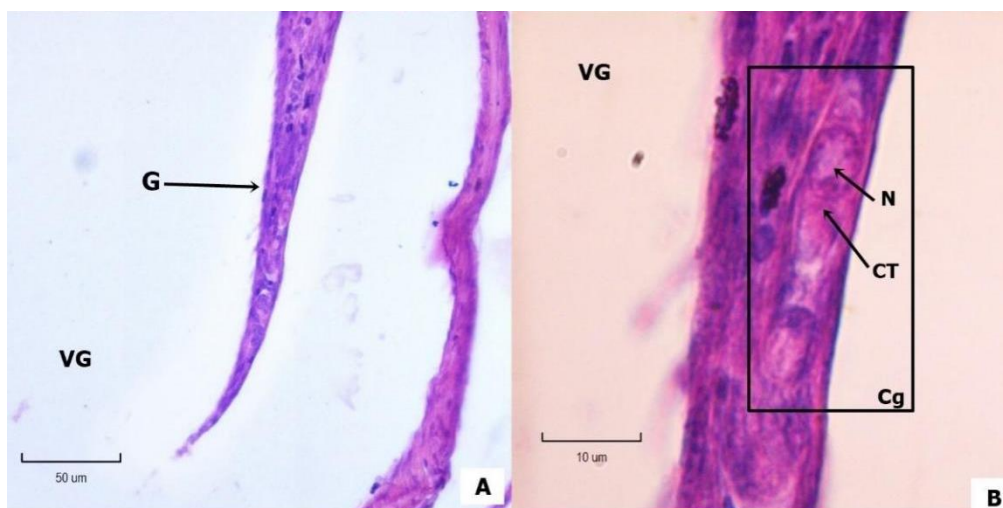


Figura 20. Corte transversal de un ejemplar de *M. saxatilis* a los 72 dde con 8 cm de longitud total. A. Gónada indiferenciada en posición adyacente a la vejiga gaseosa, se observa una célula germinal primordial (200X). D. Células germinales primordiales (1000X). Cg: Célula germinal, CT: citoplasma, G: gónada, N: núcleo, VG: vejiga gaseosa.

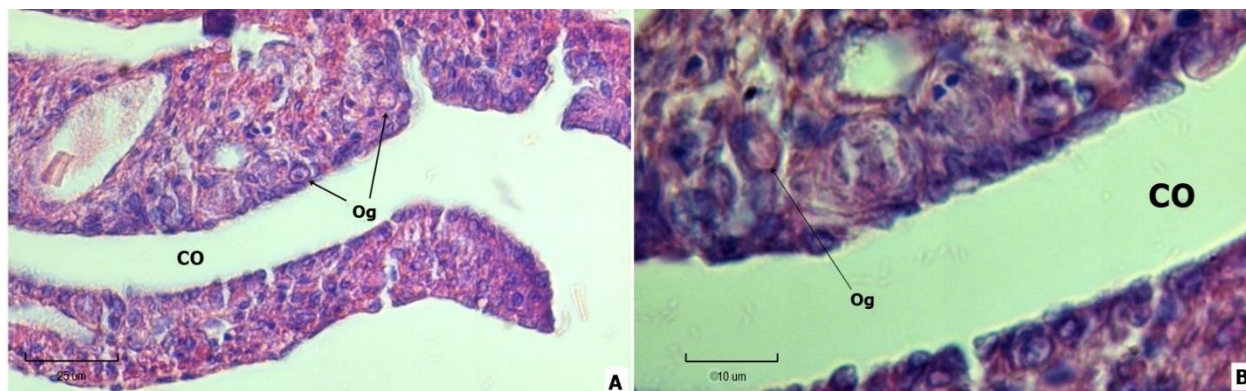


Figura 21. Corte transversal de un ejemplar de *M. saxatilis* a los 72 dde con 6.33 cm de longitud. A. Gónada con células germinales alrededor de la cavidad ovárica (400X). B. Detalle del epitelio que delimita la cavidad ovárica con una célula germinal (1000X). CO: Cavidad ovárica, Og: ovogonia.

3.2.6 82 dde (9.00 ± 1.14 cm de LT)

A los 82 dde, las gónadas aún se encuentran en proceso de diferenciación, el número de células germinales se incrementó en algunos ejemplares cuyas gónadas tienen cavidad interna (cavidad ovárica) con diferentes grados de apertura. En la figura 22 se observa una gónada con aspecto de testículo, con pocas células germinales ubicadas en su periferia, pero continúa siendo indiferenciada, ya que aún no se observa el arreglo tisular testicular, con lóbulos espermáticos y cistos. En la figura 23, se muestra una gónada más grande con cavidad ovárica amplia y un mayor número de células germinales (ovogonias), que se distinguen por su núcleo grande respecto al citoplasma.

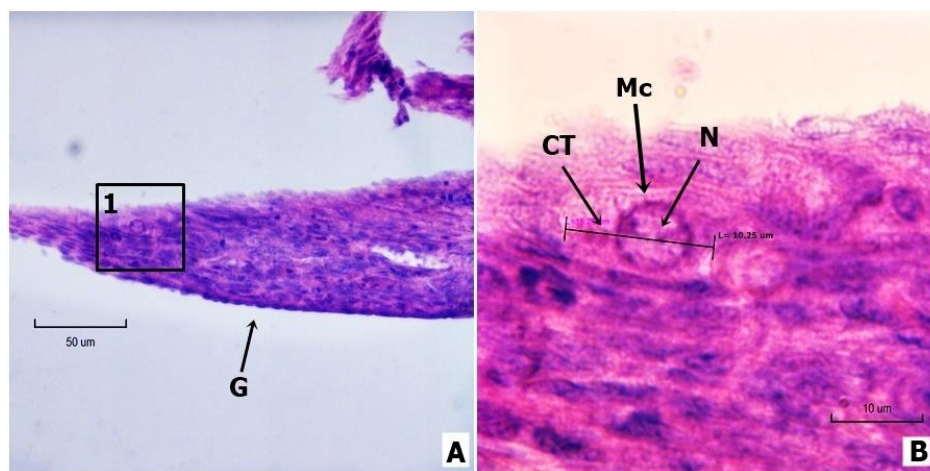


Figura 22. Corte transversal de una gónada indiferenciada de *M. saxatilis* a los 82 dde con 7.76 cm de longitud total. A. Gónada sin cavidad ovárica con una célula germinal en la periferia de la gónada (400X). B. Célula germinal con una longitud de 10.25 µm (ampliación del recuadro A1) (1000X). CT: Citoplasma, G: gónada, Mc: membrana celular, N: núcleo.

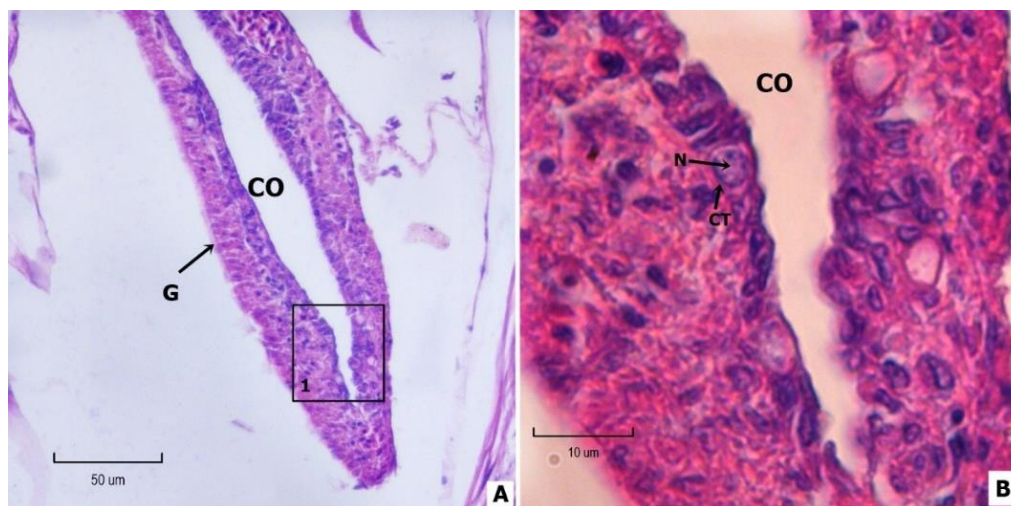


Figura 23. Corte transversal de una gónada de *M. saxatilis* a los 82 dde con 9.35 cm de longitud total. A. Gónada con cavidad ovárica (200X). B. Ovogonia con su núcleo y citoplasma (ampliación del recuadro A1) (1000X). CO: Cavidad ovárica, CT: citoplasma, G: gónada, N: núcleo.

3.2.7 92 dde (9.72 ± 1.04 cm de LT)

A los 92 dde, los ejemplares mostraron una gónada de mayor tamaño. Algunos ejemplares mostraron gónadas indiferenciadas que contienen pocas células germinales en la periferia de la gónada (Fig 24). Mientras que otros mostraron gónadas con un gran número de ovogonias en el centro de la gónada, o bien, alrededor de la cavidad ovárica (epitelio germinal), formando nidos (Fig 25 D). Claramente se ve el citoplasma y núcleo de cada una de estas células con una medida de 10.49 y 15.88 µm para el ancho y largo respectivamente (Fig 25 E).

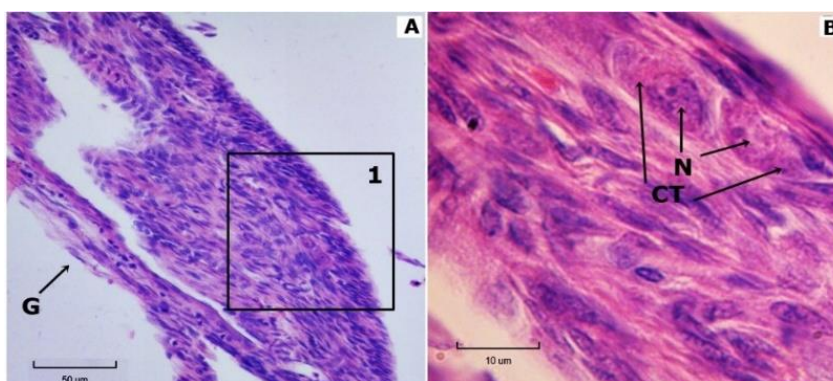


Figura 24. Corte transversal de una gónada indiferenciada de *M. saxatilis* a los 92 dde con 9.53 cm de longitud total. A. Célula germinal en la periferia de la gónada (400X). B. Células germinales con núcleo y citoplasma (ampliación del recuadro A1) (1000X). CT: Citoplasma, G: gónada, N: núcleo.

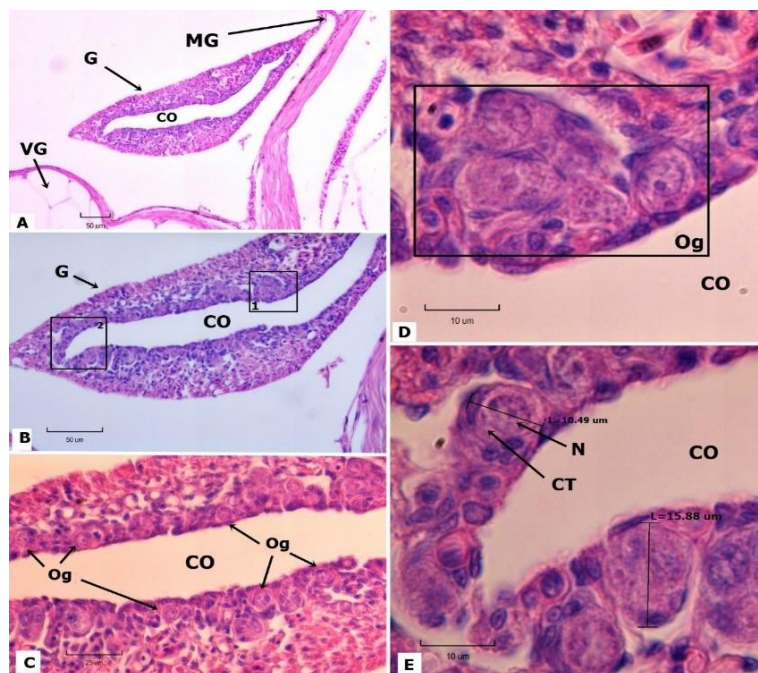


Figura 25. Corte transversal de una gónada de *M. saxatilis* a los 92 dde con 10.56 cm de longitud total. A. Gónada con cavidad ovárica (100X). B. Células germinales en el centro de la gónada (400X). C. Células germinales en grupos alrededor de la cavidad ovárica (ampliación del recuadro 1B) (1000X). E. Célula germinal con su núcleo y citoplasma (ampliación del recuadro B2) (1000X). CO: Cavidad ovárica, CT: citoplasma, G: gónada, MG: mesogonio, N: núcleo, Og: ovogonia, VG: vejiga gaseosa.

3.2.8 100 (11.09 ± 0.70 cm de LT) y 102 dde (11.99 ± 0.98 cm de LT)

A los 100 dde se identificaron gónadas con un desarrollo testicular, en donde se observa una red de cavidades estrechas que posiblemente darán lugar a los conductos deferentes (Fig 26). A esta edad el número de células germinales en la gónada se incrementó y se mantienen en la periferia de la gónada (Fig 26 B).

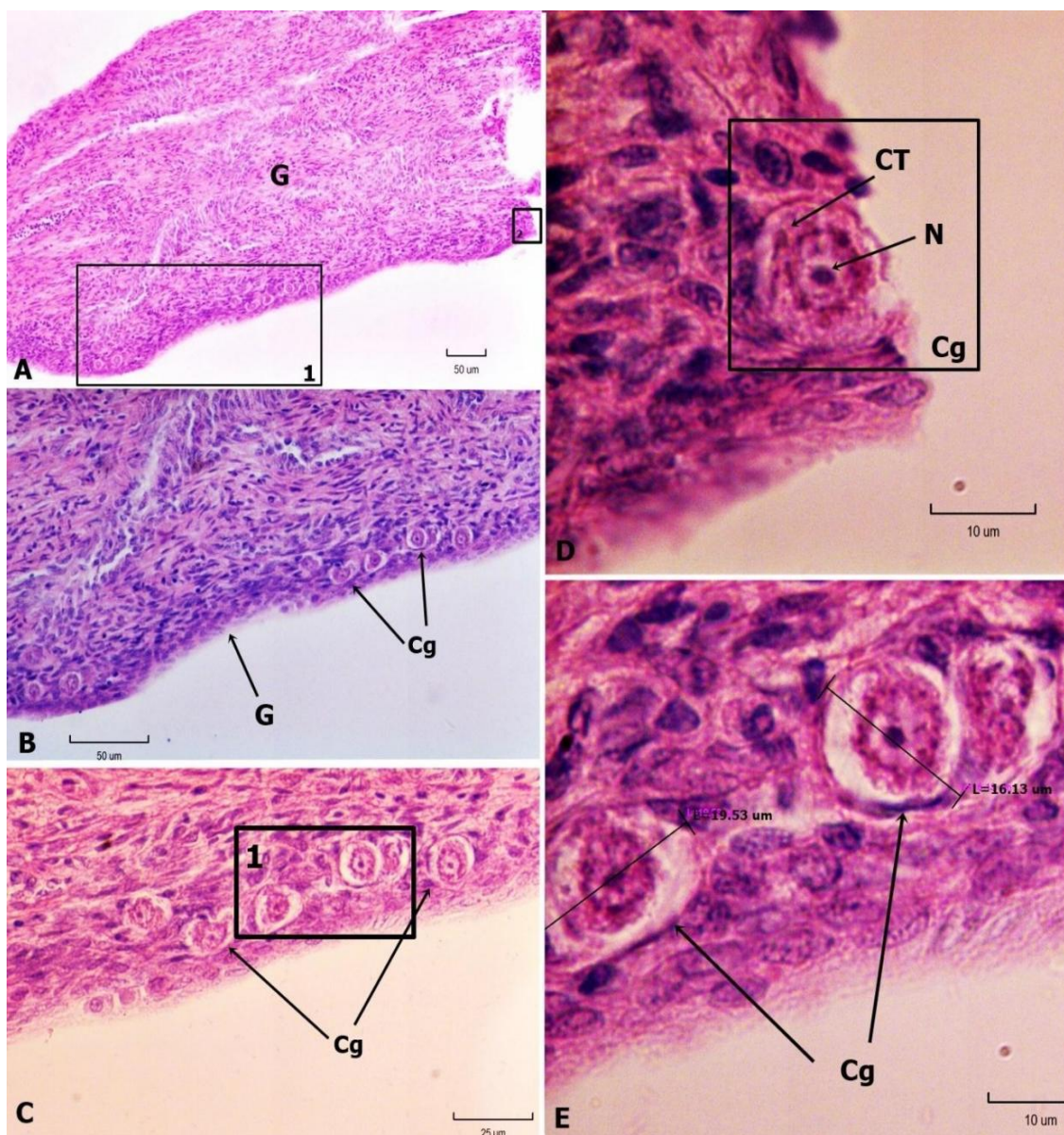


Figura 26. Corte transversal de una gónada de *M. saxatilis* a los 100 dde con 11.01 cm de longitud total. A. Gónada con posible formación de lóbulos seminíferos (100X). B. Gónada a mayor ampliación (ampliación del recuadro A1) (200X). C. Células germinales en la periferia de la gónada (400X). D. Célula germinal con núcleo y citoplasma (ampliación del recuadro A2) (1000X). E. Células germinales con 19.53 μm y 16.13 μm de diámetro (ampliación del recuadro C1) (1000X). Cg: Célula germinal, CT: citoplasma, G: gónada, N: núcleo.

A los 102 dde, se observaron numerosas células somáticas dispersas en toda la gónada (Fig 27 E, F y G), una gran cantidad de células germinales femeninas (ovogonias) de aproximadamente 8.99 μm de diámetro (Fig 27 E y G) y los primeros ovocitos primarios en estadio I: cromatina-nucleolo con 23.26 y 22.43 μm de diámetro (Fig 27 H). Los ovocitos primarios se distinguen de las células germinales u ovogonias por su mayor tamaño, núcleo más grande y abundantes nucléolos.

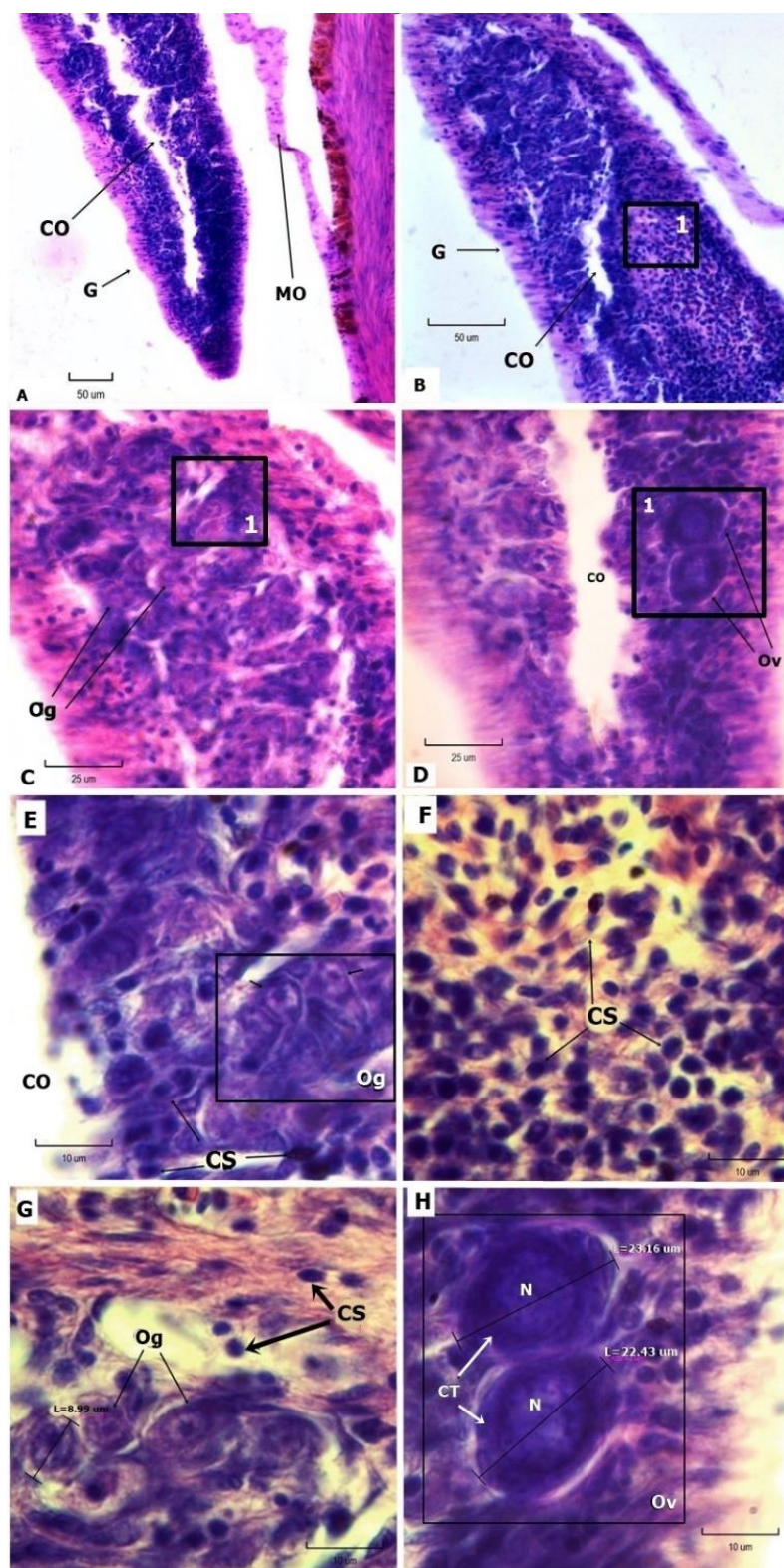


Figura 27. Corte transversal de un ovario de *M. saxatilis* a los 102 dde con 13.54 cm de longitud total. A. Gónada con cavidad ovárica (100X). B. Gónada a mayor ampliación (200X). C. Ovogonias en el centro de la gónada (400X). D. Ovocitos primarios en el centro de la gónada (400X). E. Ovogonias agrupadas en un nido rodeadas de células somáticas (1000X). F. Células somáticas (ampliación del recuadro B1) (1000X). G. Ovogonias con una longitud de 8.99 um (ampliación del recuadro C1) (1000X). H. Ovocitos primarios en estadio I con sus citoplasma y núcleo (ampliación del recuadro D1) (1000X). CO: Cavidad ovárica, CS: Células somáticas, CT: citoplasma, G: gónada, MO: mesovario, N: núcleo, Og: ovogonias, Ov: ovocitos.

3.2.9 120 dde (13.51 ± 0.82 cm de LT), 127 (13.99 ± 1.38 cm de LT), 140 (13.75 ± 3.43 cm de LT) y 149 dde (15.01 ± 1.52 cm de LT)

A los 120, 127, 140 y 149 dde, la gónada aun continua en diferenciación con algunos cambios histológicos. A los 120 dde, en algunos ejemplares se observaron un gran número de ovogonias, agrupadas en forma de nidos, rodeados de células somáticas (Fig 28 C y D), las ovogonias dividirán por mitosis y posteriormente iniciarán la meiosis, entonces se clasificarán como ovocitos primarios. También se encontraron unos pocos ovocitos primarios con su núcleo y citoplasma bien definidos, y células foliculares planas (células de la granulosa) alrededor de los ovocitos (Fig 28 E), estos ovocitos en estadio I tienen un núcleo redondo, citoplasma ligeramente basófilo y dentro del núcleo se puede observar la cromatina. En otros ejemplares se observaron gónadas con apariencia de testículos, con vasos sanguíneos y células germinales ($13.84 \mu\text{m}$ de diámetro), ubicadas en la periferia de la gónada (Fig 29 D) y ramificaciones que posiblemente den origen a los conductos deferentes (Fig 29 B).

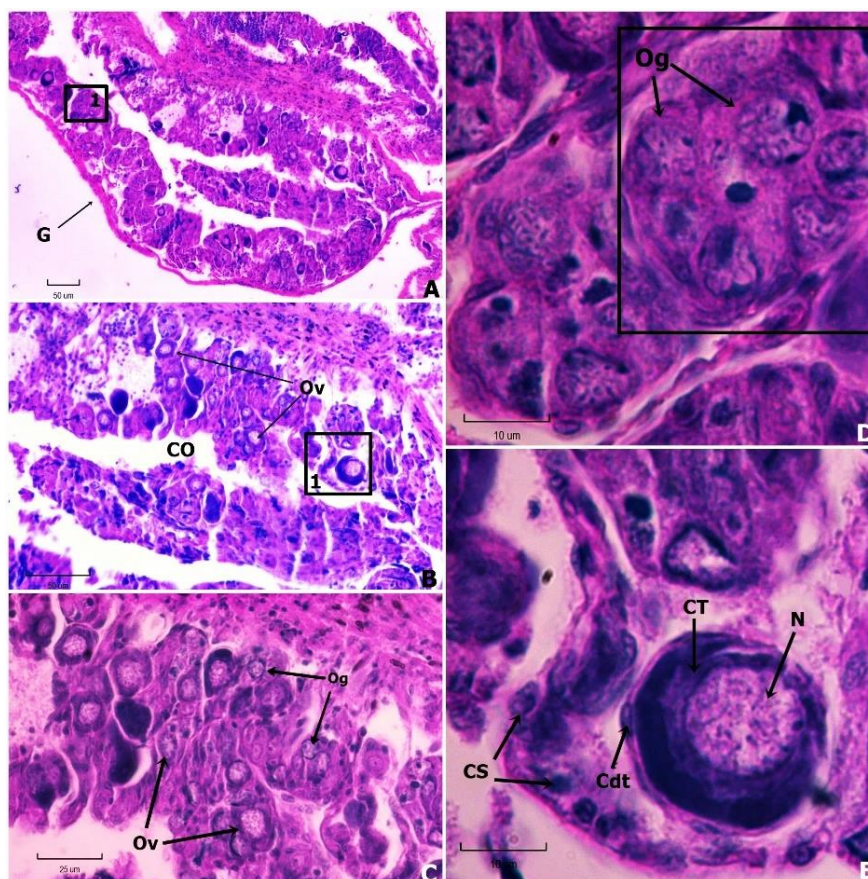


Figura 28. Corte longitudinal de un ovario de *M. saxatilis* a los 120 dde con 12.5 cm de longitud total. A. Gónada con cavidad ovárica, ovocitos en estadio I y ovogonias (100X). B. Gónada a mayor ampliación (200X). C. Ovocitos primarios en estadio I y ovogonias (400X). D. Ovogonias en desarrollo dentro de un nido (ampliación del recuadro A1) (1000X). E. Ovocito a mayor ampliación (ampliación del recuadro B1) (1000X). Cdt: Células de la granulosa, CS: células somáticas, CT: citoplasma, CO: Cavidad ovárica, G: gónada, N: núcleo, Og: ovogonias, Ov: Ovocitos.

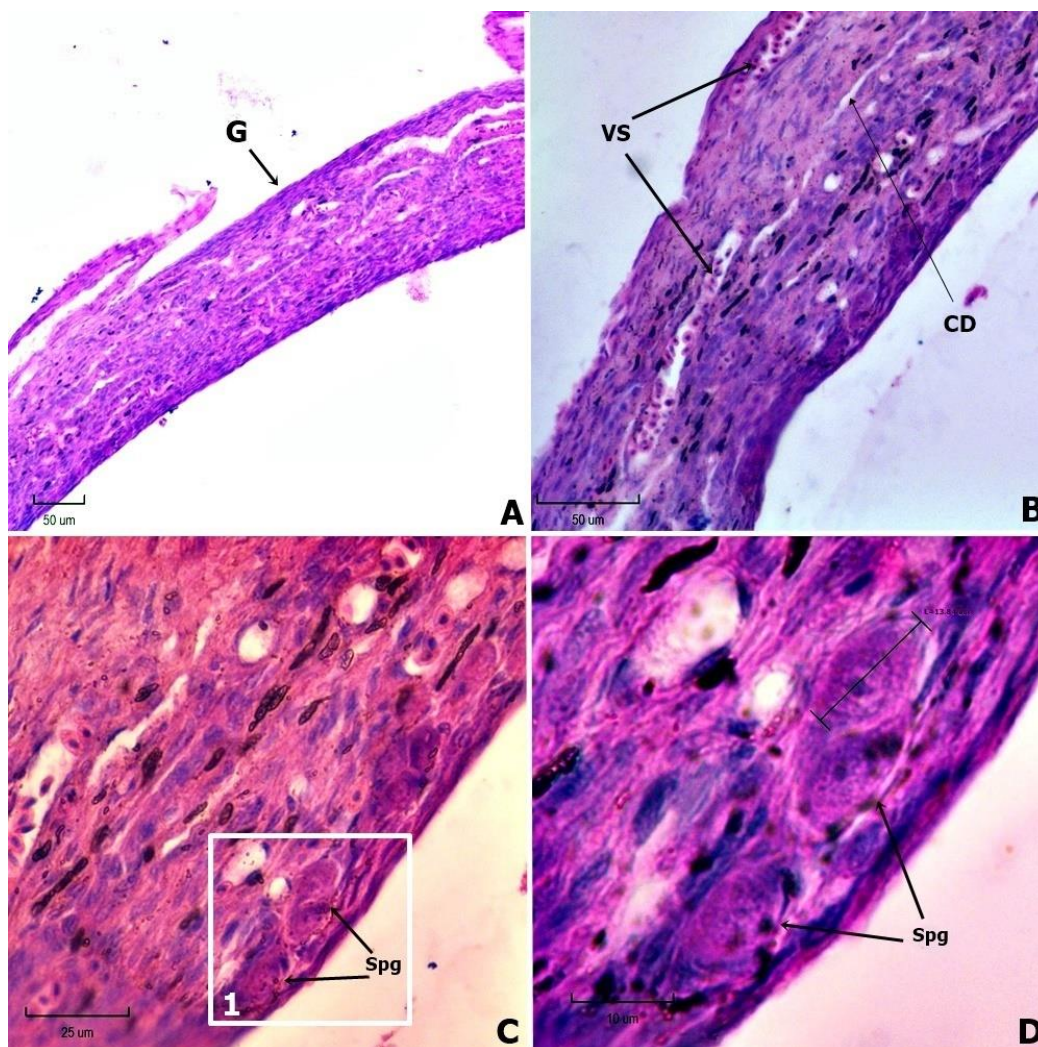


Figura 29. Corte longitudinal de un testículo de *M. saxatilis* a los 120 dde con 13.9 cm de longitud total. A. Testículo (100X). B. Testículo con vasos sanguíneos (200X). C. Testículo con espermatogonias ubicadas en la región cortical de la gónada (400X). D. Espermatogonias la periferia de la gónada (ampliación del recuadro 1C) (1000X). CD: Conducto deferente, G: gónada, Spg: espermatogonia, VS: vaso sanguíneo.

A los 127 dde, no se observaron cambios significativos en el tamaño de la gónada. No obstante, en el caso de las hembras, se evidenció un desarrollo en los ovocitos hasta alcanzar el estadio II: perinucleólo temprano, caracterizado por la presencia de nucléolos periféricos en el núcleo y un citoplasma notablemente basófilo (Fig 30 E). Para aquellas gónadas indiferenciadas, aparentemente testículos (Fig 31), no hubo un cambio al compararlos con los de 120 dde.

A los 140 dde, en los ovarios se observaron abundantes ovocitos primarios y algunas ovogonias en nidos (Fig 32 B), a esta edad ya se observan con mayor claridad las lamelas ovígeras (Fig 32 A), los ovocitos continúan en estadio I y II (Fig 32 C y D). En los testículos se observaron más espermatogonias en la periferia de la gónada y tenían 9.06 µm y 14.45 µm de diámetro (Fig 33 B).

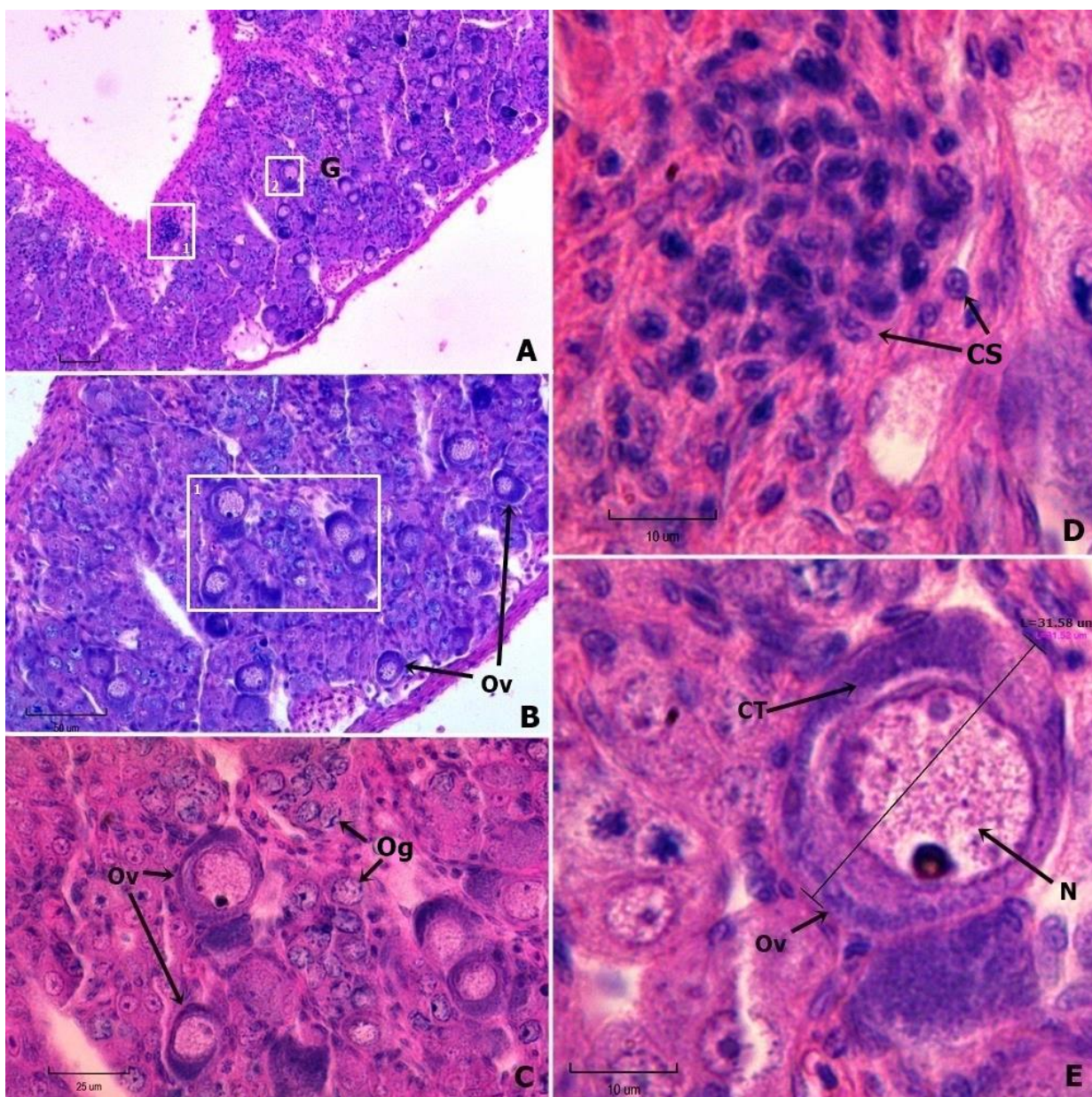


Figura 30. Corte longitudinal de un ovario de *M. saxatilis* a los 127 dde con 16.4 cm de longitud total. A. Gónada con ovocitos en estadio II (100X). B. Gónada a mayor ampliación con ovogonias y ovocitos en estadio II (200X). C. Ovocitos y células germinales (ampliación del recuadro B1) (400X). D. Ampliación del recuadro A1, células intersticiales (1000X). E. Ovocito con 31.58 μm de longitud con su citoplasma y núcleo (ampliación del recuadro A2) (1000X). Cg: Células germinales, CS: células somáticas, CT: citoplasma, G: gónada, N: núcleo, Og: ovogonias, Ov: ovocito.

A los 149 dde se observó una gónada con características únicas, se observó una sustancia extracelular acompañada de un gran número de células intersticiales en toda la cavidad ovárica (Fig 34 C), aparentemente esta sustancia corresponde al proceso de reabsorción del citoplasma y del núcleo de los ovocitos; al igual que las demás presentó ovogonias dentro de nidos (Fig 34 B) y ovocitos en estadio I de 20.76 μm de diámetro (Fig 34 D).

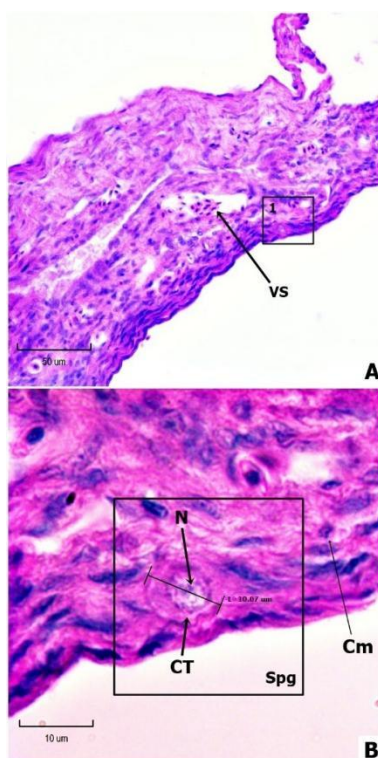


Figura 31. Corte longitudinal de un testículo de *M. saxatilis* a los 127 dde con 15.5 cm de longitud total. A. Testículo con vasos sanguíneos (200X). B. Espermatogonia en la región cortical del testículo, con 10.07 µm de longitud (ampliación del recuadro A1) (1000X). Cm: Células mesenquimales, CT: citoplasma, N: núcleo, Spg: espermatogonia, VS: vaso sanguíneo.

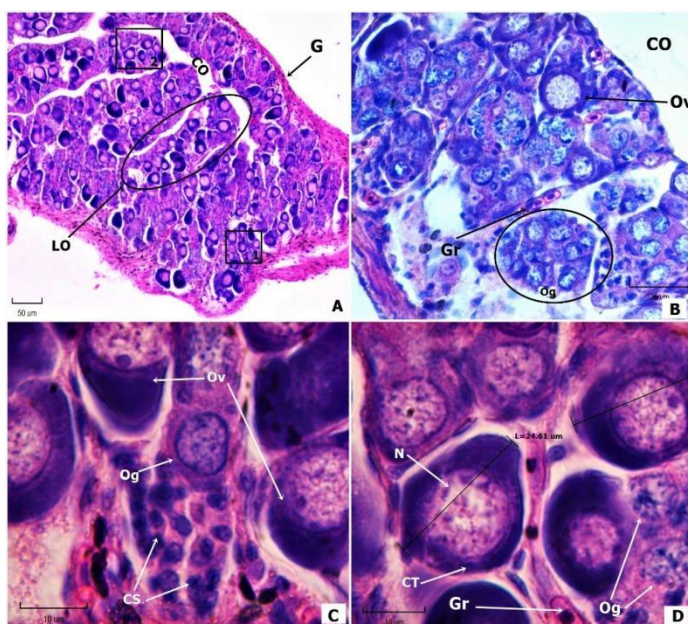


Figura 32. Corte longitudinal de un ovario de *M. saxatilis* a los 140 dde con 14.9 cm de longitud total. A. Lamelas ovígeras con ovocitos en estadio I y II (100X). B. Gónada con ovocitos en estadio II, células germinales en un nido, se aprecia un capilar con glóbulos rojos (400X). C. Células germinales y ovocitos en estadio II (ampliación de recuadro A1) (1000X). D. Ovocito en estadio II con 24.61 µm de longitud, ovogonias y glóbulos rojos (ampliación de recuadro A2) (1000X). CS: Células somáticas, CO: cavidad ovárica, G: gónada, Gr: glóbulos rojos, LO: lamelas ovígeras, Og: ovogonias, Ov: Ovocitos.

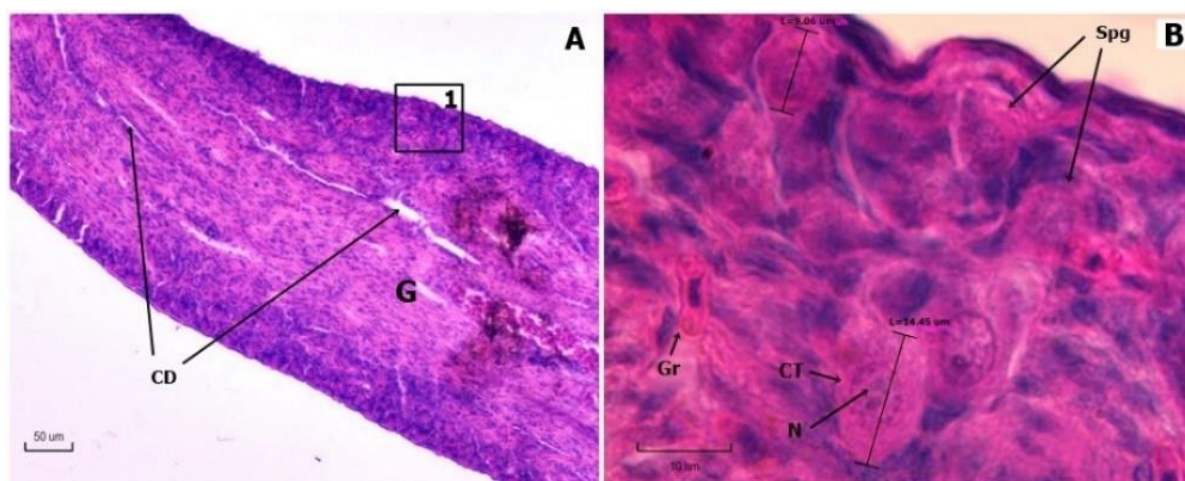


Figura 33. Corte longitudinal de un testículo de *M. saxatilis* a los 140 dde con 15.6 cm de longitud total. A. Testículo con conductos deferentes (100X). B. Testículo con espermatogonias en la región cortical se observan algunos glóbulos rojos (ampliación del recuadro A1) (1000X). CD: Conducto deferente, CT: citoplasma, G: gónada, Gr: glóbulos rojos, N: núcleo, Spg: espermatogonia.

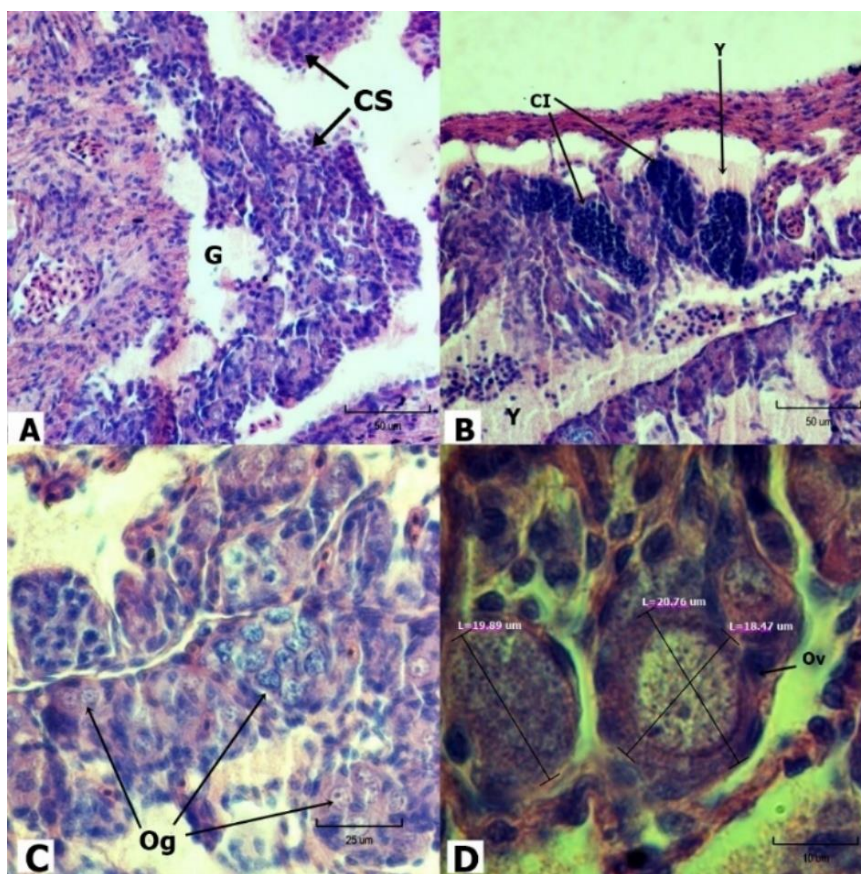


Figura 34. Corte longitudinal de un ovario de *M. saxatilis*, ejemplar de 149 dde con 17 cm de longitud total. A. Ovario con células somáticas y ovocitos primarios en estadio I (100X). B. Ovogonias dentro de nidos (400X). C. Sustancia de degradación de ovocitos acompañado con células intersticiales (200X). D. Ovocitos con sus respectivas longitudes (1000X). CI: células intersticiales, CS: células somáticas, G: gónada, Og: ovogonias, Ov: ovocito, Y: sustancia de degradación del ovocito.

3.2.10 165 dde (16.17 ± 1.12 cm de LT) y 180 dde (18.02 ± 1.20 cm de LT)

A los 165 dde, las hembras ya se encuentran bien diferenciadas, con cavidad ovárica y lamelas ovígeras bien formadas, con un gran número de ovogonias y ovocitos (Fig 35 A), los ovocitos se encuentran en estadio II: perinucleolar (Fig 35 D) y la sustancia granular con células intersticiales aún se encuentra presente, pero en menor cantidad (Fig 35 E). En los machos las características que definen a los testículos son más evidentes (Fig 36), se observaron espermatogonias en la periferia de la gónada (Fig 36 C y D), los primeros espermatoцитos con $3.70 \mu\text{m}$ de diámetro (Fig 36 D y E) y espermátidas (Fig 36 F y G).

A los 180 dde, las hembras aún presentaban una gran cantidad de sustancia granular dentro de la cavidad ovárica con abundantes células intersticiales (Fig 37) y los ovocitos se encontraron en estadio I y II (Fig 37 C y D). En los machos la gónada aumento su tamaño e incrementó el número de espermatogonias situadas en la periferia de la gónada (Fig 38 B y C).

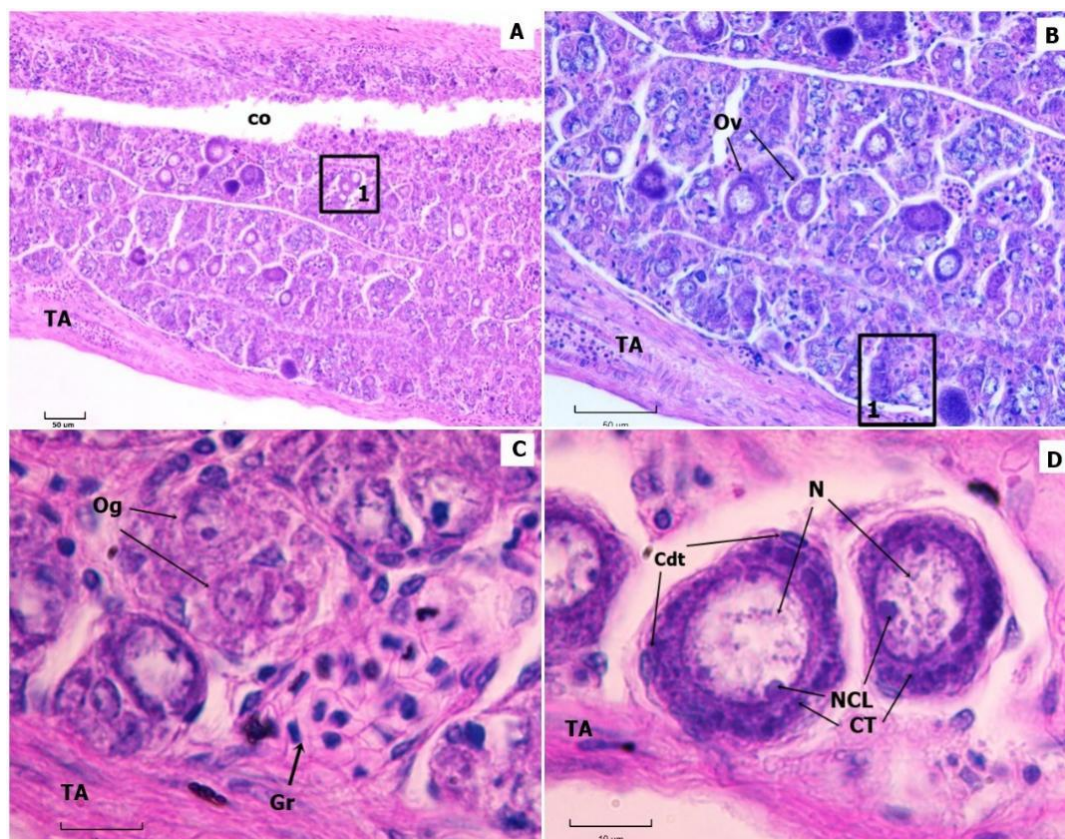


Figura 35. Corte longitudinal de un ovario de *M. saxatilis*, ejemplar de 165 dde con 16.5 cm de longitud total. A. Cavidad ovárica (100X). B. Lamelas ovígeras con ovogonias, ovocitos en estadio I y II, y vasos sanguíneos con eritrocitos (200X). C. Gónada con ovogonias y capilares con glóbulos rojos (Ampliación del recuadro B1) (400X). D. Ovocito primario con células de la granulosa, núcleo, nucléolo y citoplasma (Ampliación del recuadro A1) (1000X). Cdt: Células de la granulosa, CO: cavidad ovárica, CT: citoplasma, Gr: glóbulos rojos, N: núcleo, NCL: nucléolo, Og: ovogonia, Ov: ovocitos, TA: túnica albugínea.

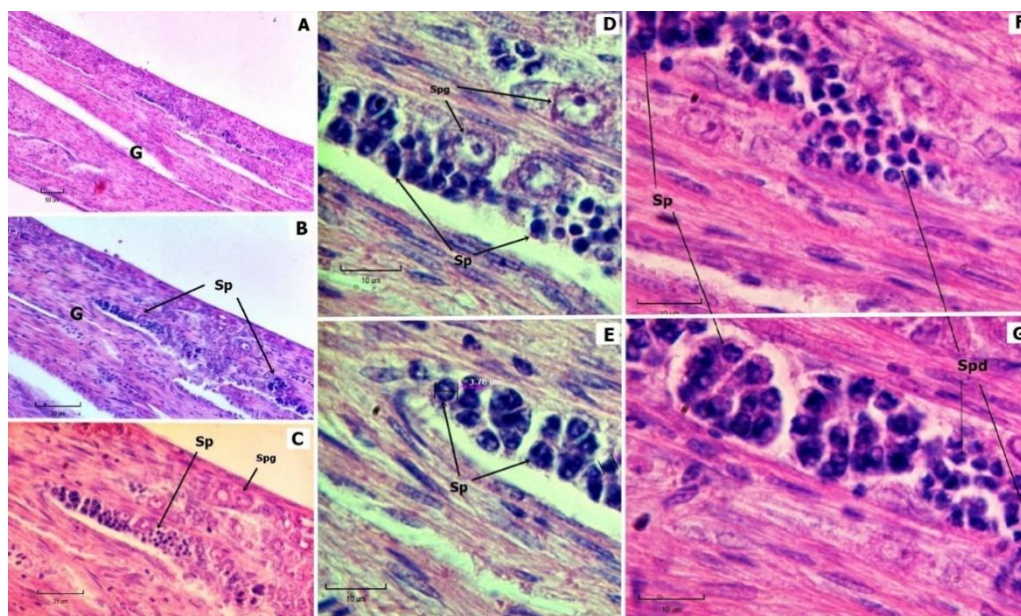


Figura 36. Corte longitudinal de un testículo de *M. saxatilis*, ejemplar de 165 dde con 17.6 cm de longitud total. A. Testículo con espermatogonias y espermatocitos (100X). B. Gónada a mayor ampliación (200X). C. Espermatogonias en la periferia de la gónada y espermatocitos (400X). D. Espermatogonias y espermatocitos en desarrollo (1000X). E. Espermatocito con 3.70 µm de longitud. F. Espermatocitos y espermátidas (1000X). G. Proceso de espermatocito a espermátida (1000X). G: gónada, Sp: espermatocitos, Spd: espermátida, Spg: espermatogonia.

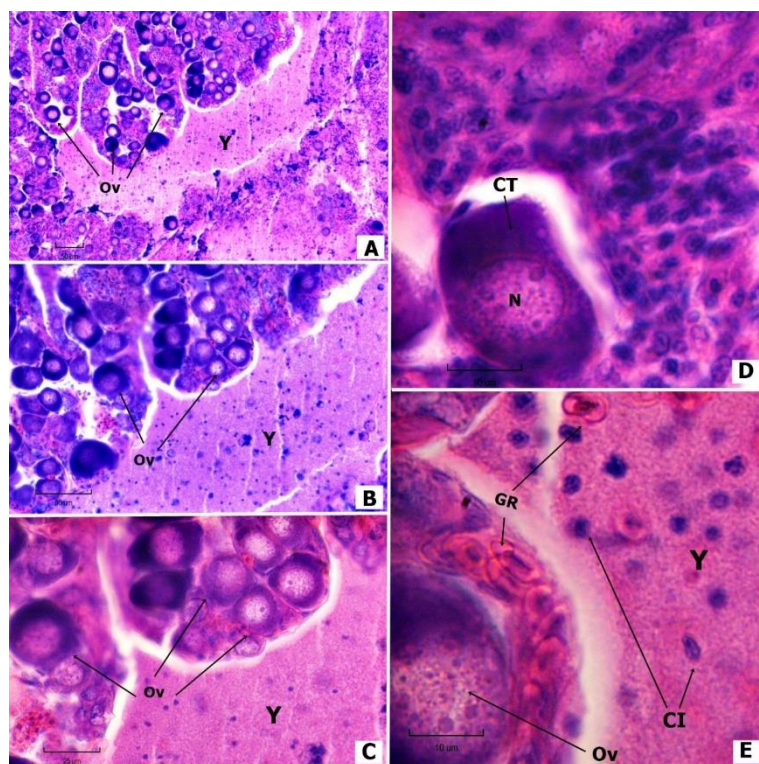


Figura 37. Corte longitudinal de un ovario de *M. saxatilis*, ejemplar de 180 dde con 18 cm de longitud total. A. Gónada con ovocitos en estadio I y II y fluido intersticial (100X). B. Gónada a mayor ampliación con ovocitos primarios (200X). C. Gónada con ovocitos y reabsorción a mayor aumento (400X). D. Ovocito en estadio II planqueado por células intersticiales (1000X). E. Fluido intersticial con células intersticiales (1000X). CI: células intersticiales, CT: citoplasma, GR: glóbulos rojos, N: núcleo, Ov: ovocitos, Y: fluido intersticial.

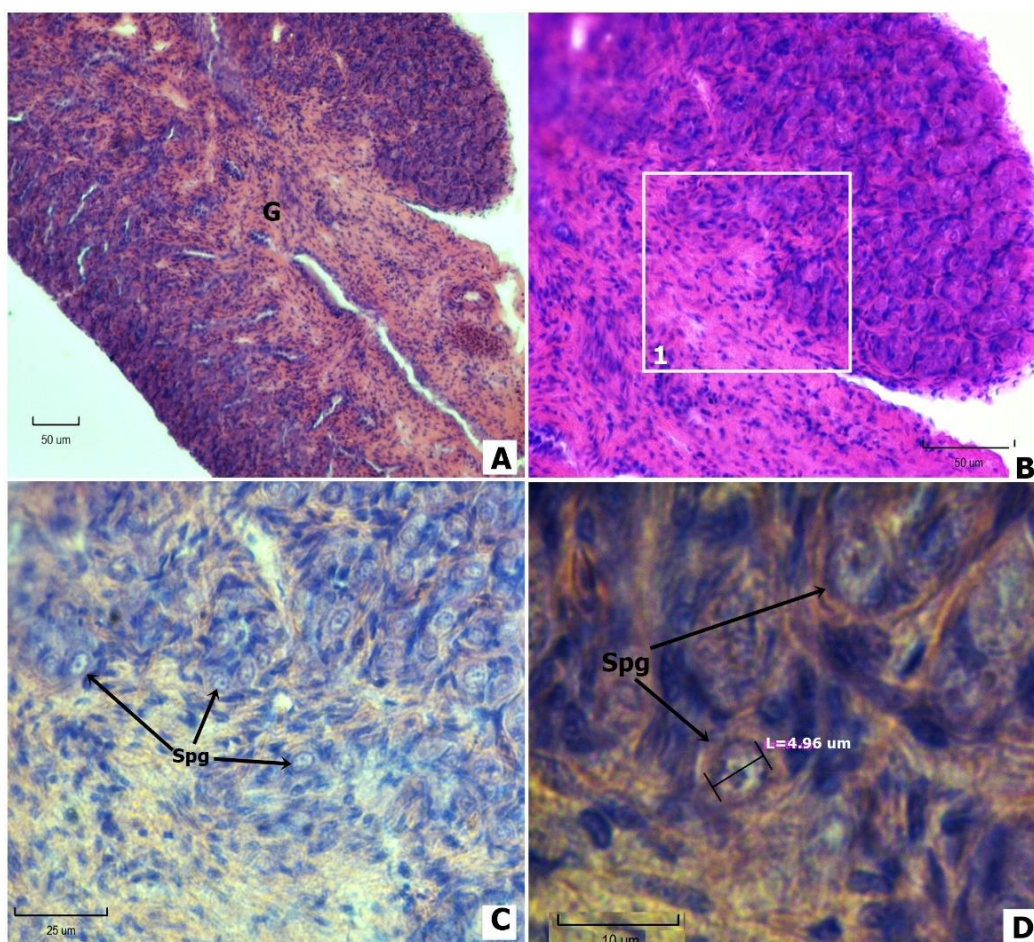


Figura 38. Corte longitudinal de un testículo de *M. saxatilis*, ejemplar de 180 dde con 18.3 cm de longitud total. A. Testículo con lóbulos seminíferos y conductos deferentes (100X). B. Espermatogonias en la región cortical de la gónada (200X). C. Espermatogonias en cistos espermáticos (ampliación del recuadro B1) (400X), D. Espermatogonias en desarrollo (1000X). G: gónada, Spg: espermatogonia.

3.2.11 220 DDE (21.32 ± 0.97 cm de LT) y 260 DDE (24.39 ± 1.35 cm de LT)

A los 220 dde, en los ovarios se observa un incremento en la cantidad de ovocitos (Fig 39 A) y las células intersticiales abundan en las lamelas ovígeras (Fig 39 B). Se observaron ovocitos en estadio I y II, además de ovocitos más desarrollados en estadio III: numerosos nucléolos en la periferia del núcleo, alveolo cortical rodeando el núcleo y citoplasma granular con inclusiones lipídicas (Fig 39 E).

En los testículos se observan los conductos deferentes (Fig 40 A) y los lóbulos seminíferos (Fig 40 B) están claramente definidos. Los lóbulos seminíferos contienen cistos con espermatogonias (40 B y D) y espermatocitos (Fig 40 E).

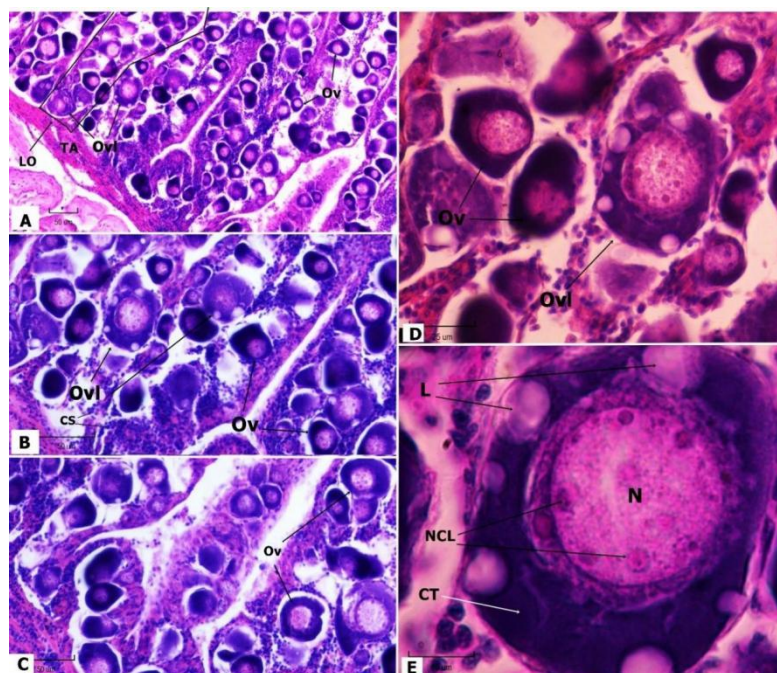


Figura 39. Corte longitudinal de un ovario de *M. saxatilis*, ejemplar de 220 dde con 21.6 cm de longitud total. A. Lamelas ovígeras con abundantes ovocitos en estadio I y II, y ovocitos con almacenamiento de lípidos en estadio III (100X). B. Lamela con ovocitos y abundantes células intersticiales (200X). C. Lamela con ovocitos en estadio I y II (200X). D. Ovocito en estadio II y ovocito con inclusiones lipídicas (400X). E. Ovocito perinucleolar con almacenamiento de lípidos, citoplasma, núcleo y nucléolos bien definidos (1000X). CS: células somáticas, CT: citoplasma, LO: lamelas ovígeras, N: núcleo, NCL: nucléolo, Ov: Ovócito, Ovl: ovocito con almacenamiento de lípidos, TA: túnica albugínea.

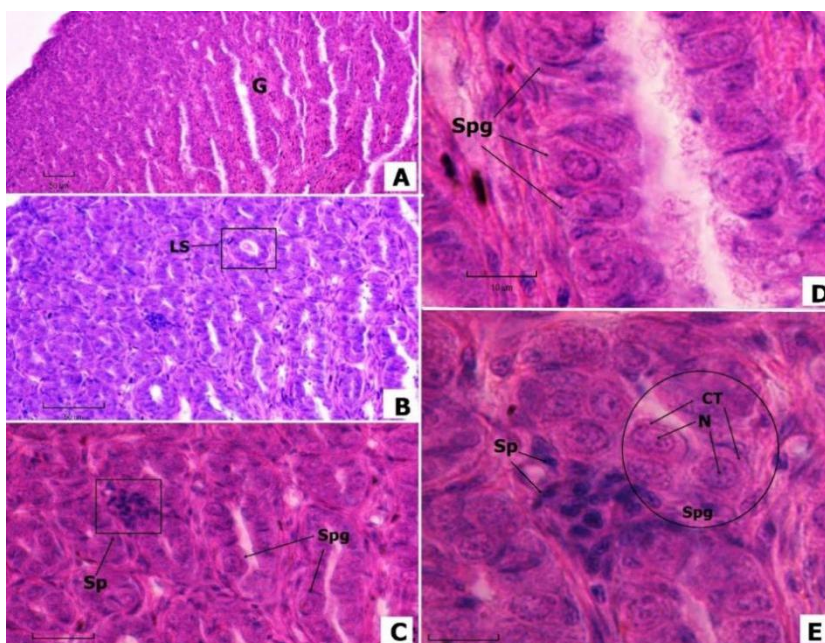


Figura 40. Corte longitudinal de un testículo de *M. saxatilis*, ejemplar de 220 dde con 24 cm de longitud total. A. Testículo con lóbulos seminíferos y conductos deferentes (100X). B. Gónada con lóbulos seminíferos a mayor ampliación (200X). C. Gónada con espermatozoides aislados y espermatozoides en los lóbulos seminíferos (400X). D. Espermatozoides dentro del lóbulo seminífero (1000X). E. Espermatozoides flanqueadas por espermatozoides aislados (1000X). CT: citoplasma, LS: lóbulos seminíferos, N: núcleo, Sp: espermatozoides, Spg: espermatozoides.

En la figura 41 se observa un ejemplar en el que una de sus gónadas contenía abundante fluido y células intersticiales (Fig 41 A y B) y varios nidos con células germinales aparentemente ovogonias (Fig 41 C) y unos cuantos ovocitos en estadio I y II rodeados por una sustancia granular (Fig 41 D).

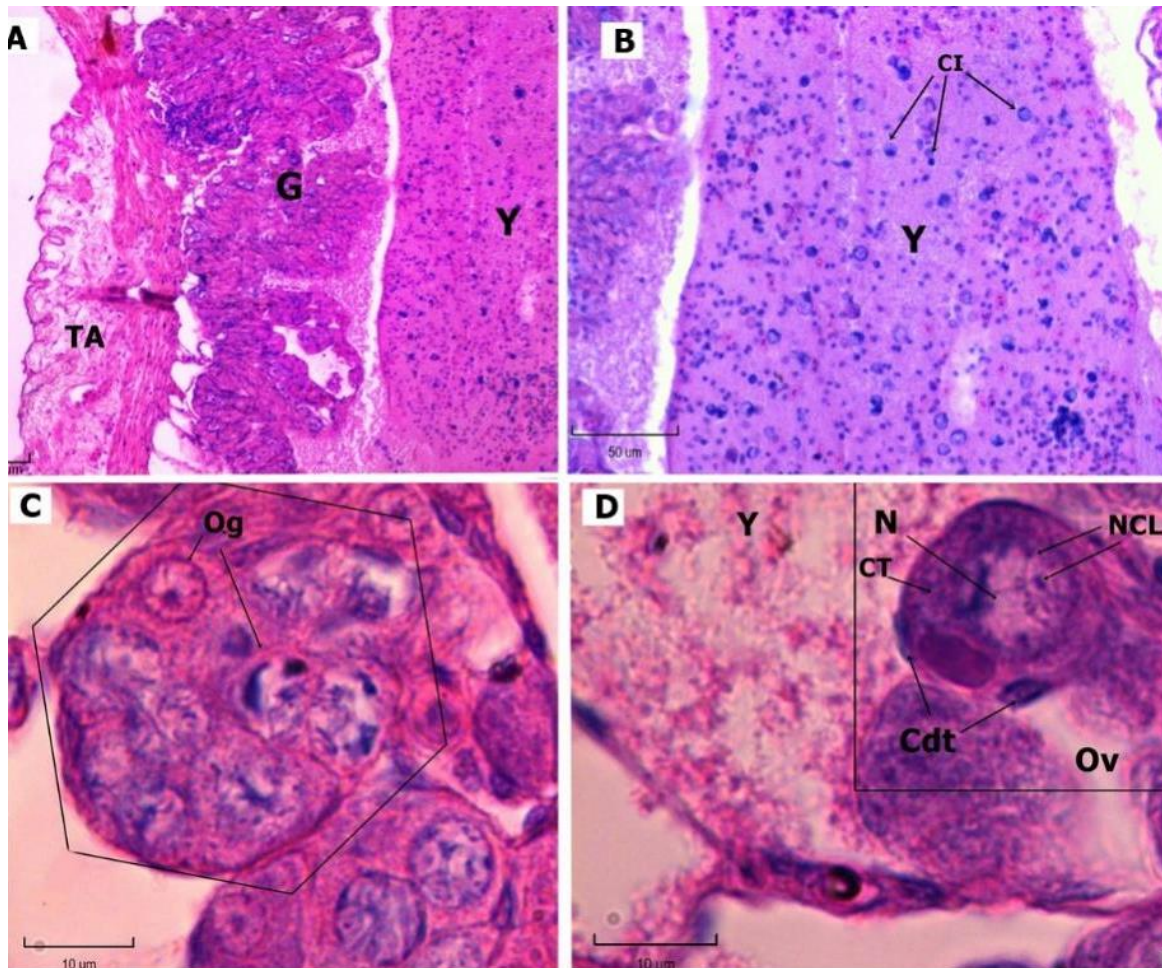


Figura 41. Corte longitudinal de una gónada de *M. saxatilis*, ejemplar de 220 dde con 21.5 cm de longitud total. A. Gónada con una túnica albugínea engrosada y reabsorción de ovocitos (100X). B. Gónada con reabsorción de ovocitos y células intersticiales (200X). C. Lóbulo seminífero con células germinales en desarrollo (1000X). D. Ovocitos en degradación y ovocito rodeado por células de la granulosa, citoplasma, núcleo y nucléolos (1000X). Cdt: Células de la granulosa, CI: células intersticiales, CT: citoplasma, G: gónada, N: núcleo, NCL: nucléolo, Og: ovogonias, Ov: Ovocito, TA: túnica albugínea, Y: sustancia de reabsorción del ovocito.

A los 260 dde, en los ovarios se observa una mayor abundancia de ovocitos en estadio II: perinucleólo (Fig 42 C y D), aún se presenta la sustancia granular, pero en menor cantidad (Fig 42 A). Los testículos continúan desarrollándose, los lóbulos seminíferos contienen abundantes espermatogonias y algunos espermatocitos (Fig 43 B).

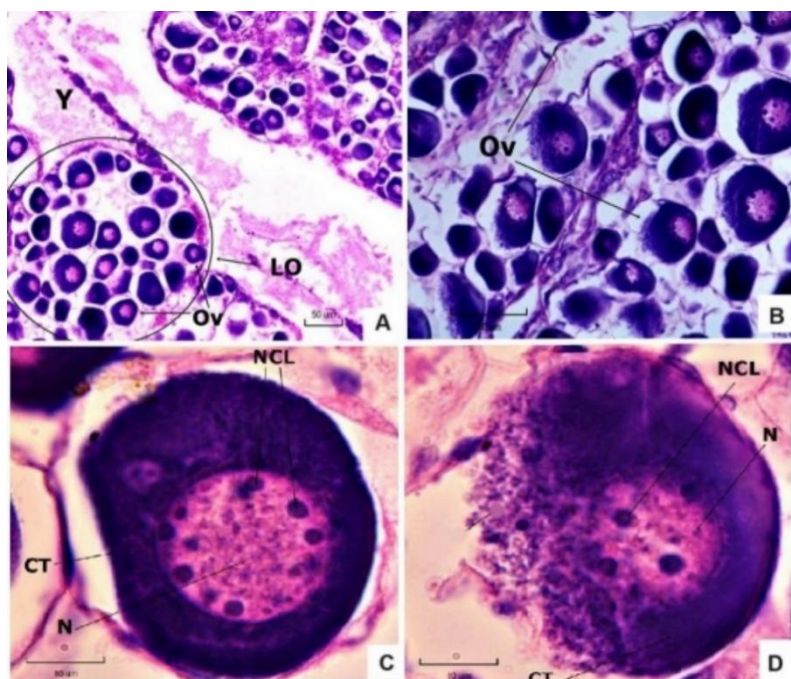


Figura 42. Corte transversal de un ovario de *M. saxatilis* a los 260 dde con 22 cm de longitud total. A. Lamelas ovígeras con ovocitos en estadio I y II y cavidad ovárica con sustancia (100X). B. Gónada con ovocitos en estadio I y II (200X). C. Ovocito perinucleolar “estadio II” (1000X). E. Ovocito en estadio II (1000X). CT: citoplasma, LO: lamelas ovígeras, N: núcleo, NCL: nucléolo, Ov: Ovocito, Y= sustancia de reabsorción de ovocitos.

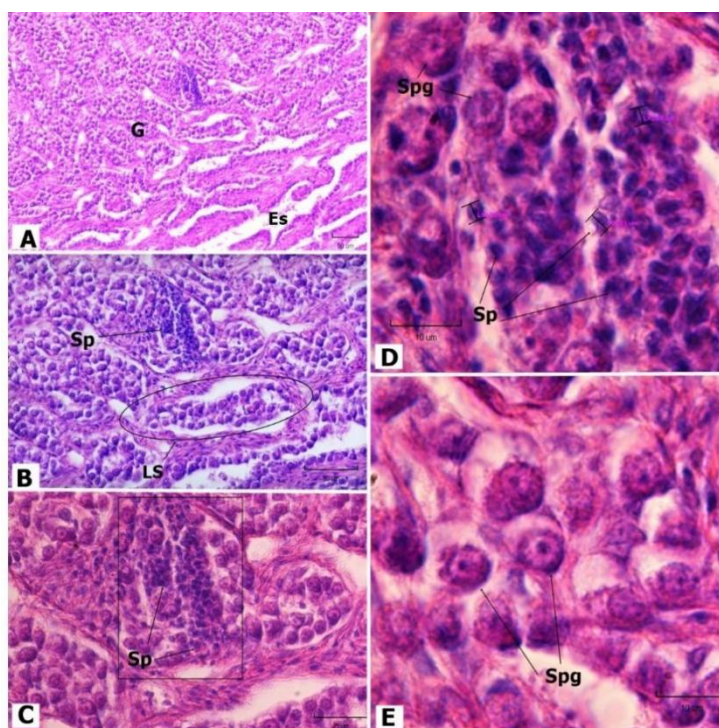


Figura 43. Corte longitudinal de un testículo de *M. saxatilis*, ejemplar de 260 dde con 21 cm de longitud total. A. Lóbulos seminíferos y conductos deferentes (100X). B. Lóbulos seminíferos y espermatocitos (200X). C. Lóbulos seminíferos con espermatocitos en diferentes estadios (400X). D. Lóbulo seminífero con espermatogonias y espermatocitos (1000X). E. Lóbulo seminífero con abundantes espermatogonias (1000X). Es: Estroma, G: gónada, LS: lóbulos seminíferos, Sp: espermatocito, Spg: espermatogonia.

3.2.12 300 dde (27.88 ± 1.65 cm de LT)

A los 300 dde, la gónada aún continúa desarrollándose y creciendo, no se observaron cambios histológicos importantes. Las hembras presentaron ovocitos perinucleolares (Fig 44 B). En el corte longitudinal se observó que una fracción de cada ovocito estaba barrida, es posible que la acumulación de los lípidos se concentre en un solo casquete del ovocito, propiciando que se observen una gran cantidad de vacuolas o inclusiones lipídicas (Fig 44 D), en comparación con el corte transversal, donde todo el perímetro de cada ovocito se observa bien definido (Fig 44 A). En los testículos se observan más lóbulos seminíferos (Fig 45 A) con abundantes espermatogonias (Fig 45 D).

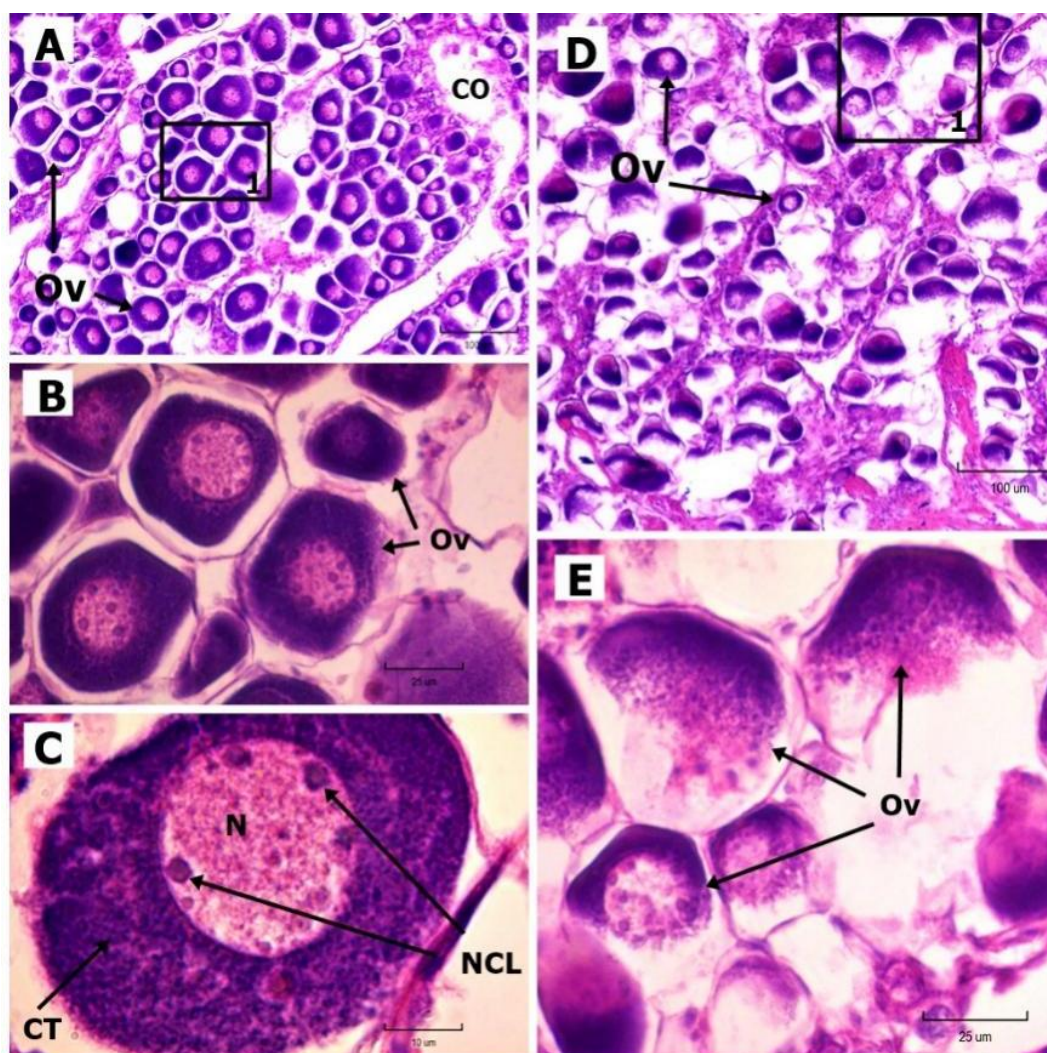


Figura 44. Corte histológico de una gónada de *M. saxatilis* a los 300 dde con 28.0 cm de longitud total. A. Corte transversal de un ovario con varios ovocitos en estadio I y II (100X). B. Ampliación de la gónada con corte transversal (ampliación recuadro A1) (400X). C. Ovocito perinucleolar con su núcleo, nucléolos y citoplasma bien definido (corte transversal) (1000X). D. Corte longitudinal con escasos ovocitos (ampliación recuadro D1) (100X). E. Corte longitudinal de ovocitos (400X). CT: Citoplasma, N: núcleo, NCL: nucleolo, Ov: ovocito.

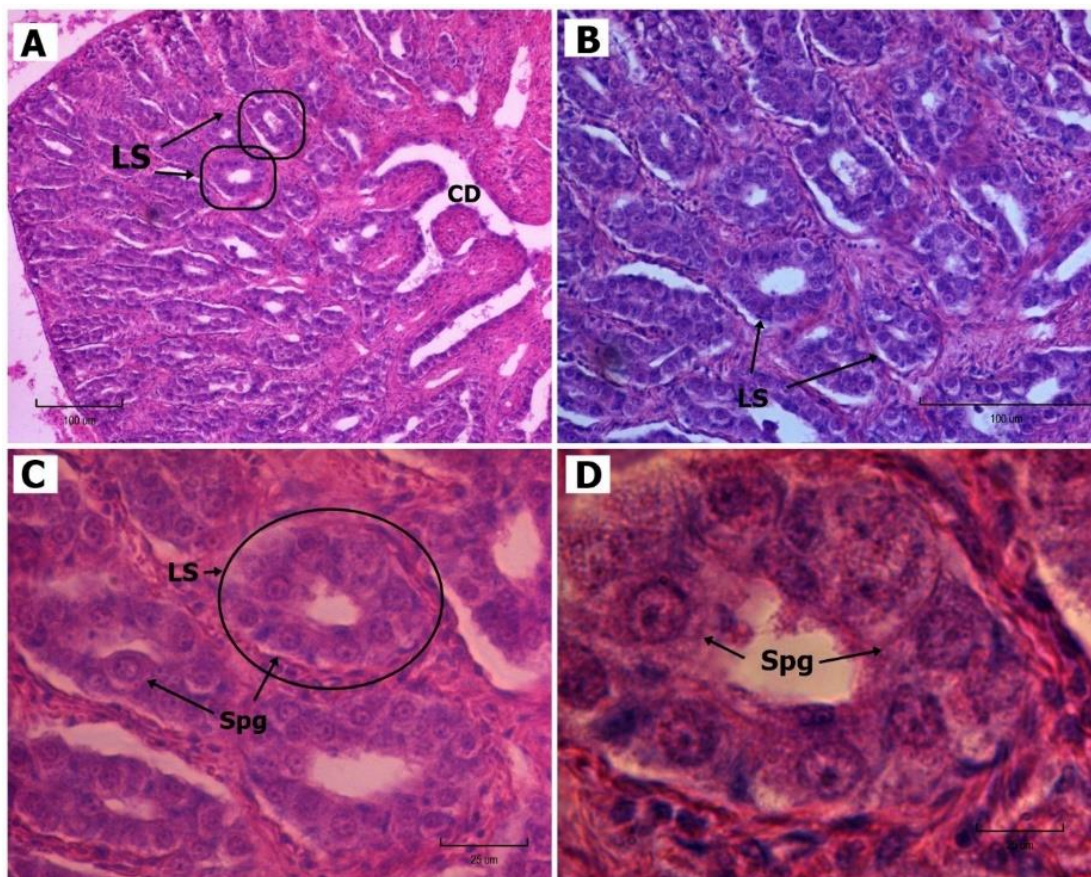


Figura 45. Corte transversal de un testículo de *M. saxatilis* a los 300 dde, ejemplar de 31.0 cm de longitud total. A. Testículo con lóbulos seminíferos y conductos deferentes (100X). B. Lóbulos seminíferos delimitados por células intersticiales (200X). C. Lóbulos seminíferos con espermatogonias (400X). D. Lóbulo seminífero con espermatogonias (1000X). CD: Conducto deferente, LS: lóbulo seminífero, Spg: espermatogonia.

3.2.13 Gónadas maduras de lobina rayada (*M. saxatilis*) – (LTm= 67.75 cm)

3.2.13.1 Ovarios

El aparato reproductor femenino completamente diferenciado se manifiesta en una hembra de aproximadamente 4 años de edad. Morfológicamente, las gónadas de la lobina rayada se presentan como órganos alargados en pares, situados en la cavidad abdominal y conectados a la vejiga natatoria por una membrana conocida como mesovario. En cuanto a su coloración, las hembras en etapas tempranas de maduración exhiben un tono anaranjado (Fig 46 A), mientras que aquellas en fases más avanzadas, que están en el proceso de vitelogénesis, muestran un tono verde (Fig 46 B).

El análisis histológico reveló que las gónadas maduras contienen ovocitos en diferentes estadios de desarrollo, que van desde ovocitos inmaduros hasta ovocitos atrésicos, con una mayor abundancia de ovocitos en vitelogénesis. Los ovocitos inmaduros pueden diferenciarse por su núcleo redondo y varios nucléolos en la periferia del núcleo (Fig 46 C: Ovi). Los ovocitos en vitelogénesis (Fig. 46 C: Ovv), como bien lo dice su nombre, está almacenando vitelo, en este tipo de ovocitos es difícil hacer el proceso histológico, puesto que se vuelven quebradizos y porosos. Los ovocitos con lípidos se están degradando y reabsorbiendo las vacuolas, tienen un citoplasma vacuolado por eso su aspecto como poroso (Fig. 46 C: Ova).

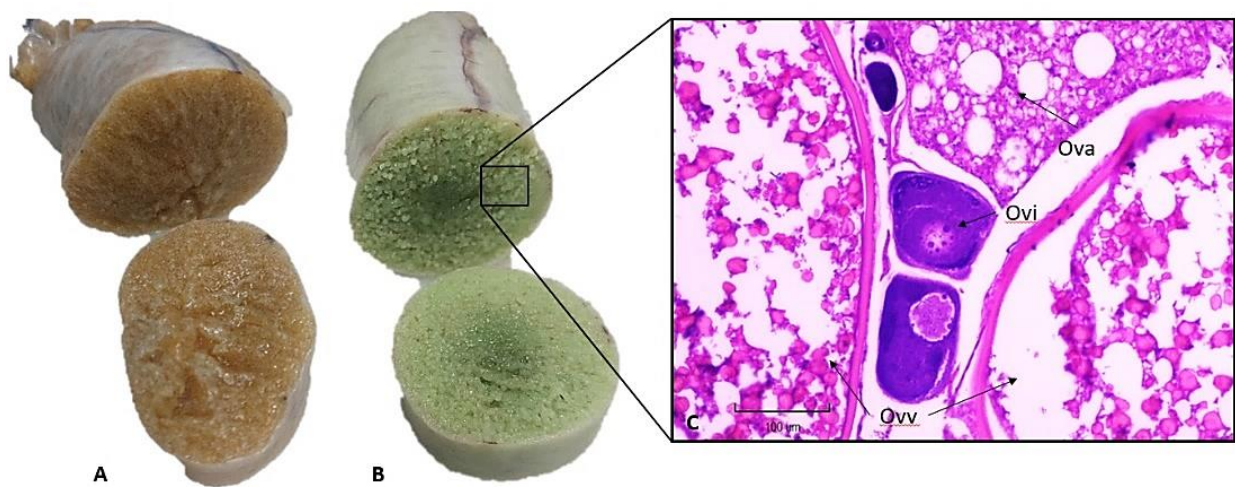


Figura 46. Ovarios de lobina rayada (*M. saxatilis*). A. Gónada en proceso de vitelogénesis (inmadura). B. Gónada en un estao avanzado de la vitelogénesis (madura). C. Corte transversal de la gónada madura (B) con ovocitos en diferentes estadios (100X). Ova: Ovocito con lípidos, Ovi: ovocito inmaduro en estadio perinucleolar, Ovv: ovocito en vitelogénesis.

3.2.13.2 Testículos

El aparato reproductor masculino completamente diferenciado se manifiesta en un macho de aproximadamente 4 años de edad (Fig 47). Está constituido por dos testículos ubicados dentro de la cavidad abdominal y están unidos a la vejiga gaseosa por el mesorquio, son alargados, delgados, de color blanquecino, a diferencia de los ovarios tienen una región hiliar con un surco profundo en toda su longitud (Fig 47 A). Histológicamente se observan varios lóbulos seminíferos rodeados por trabéculas de tejido conjuntivo. Los lóbulos contienen espermatocitos y espermatogonias con sus núcleos grandes y citoplasma bien definido (Fig 47 B y C).

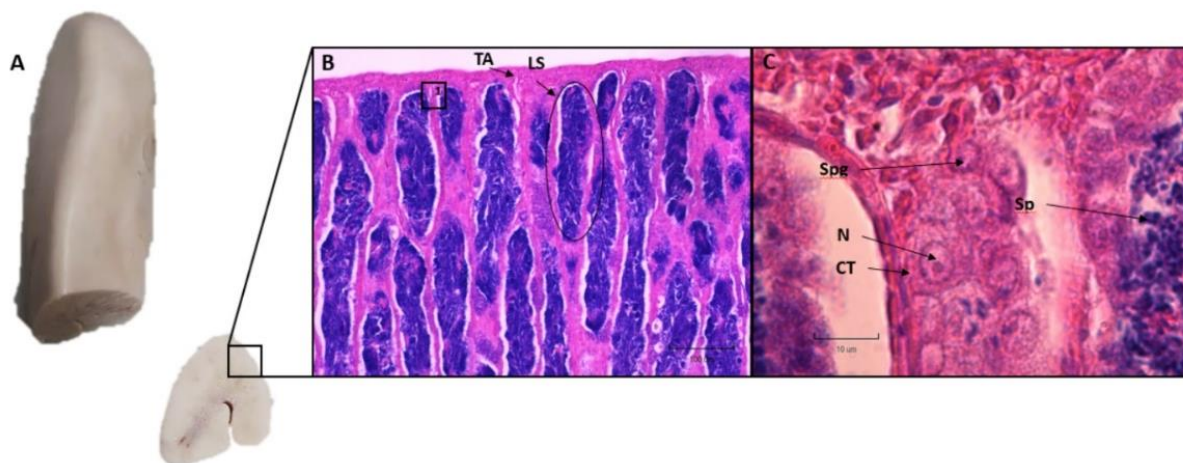


Figura 47. Testículo maduro de lobina rayada (*M. saxatilis*). A. Testículo disecado en el que se observa la región hiliar con un profundo surco en toda la longitud del órgano. B. Lobulos seminíferos Corte transversal del testículo, se observan la túnica albugínea y los lóbulos seminíferos llenos de células espermáticas en diferentes estadios de desarrollo (espermaticos, espermátidas y espermatozoides) (100X). C. Espermatogonias en toda la gónada y espermaticos dentro de lóbulos seminíferos (1000X). CT: Citoplasma, LS: lóbulos seminíferos, N: núcleo, Sp: espermatico, Spg: espermatogonia, TA: túnica albugínea.

3.3 Periodo lábil

El periodo lábil o sensible de la lobina rayada (*M. saxatilis*) abarca desde los 30 hasta los 50 días después de la eclosión (dde) de acuerdo con el desarrollo gonadal que presenta la especie. En la figura 48, se detallan los eventos más significativos en el desarrollo gonadal de la lobina rayada en relación con la edad, así como también se proporciona la longitud total promedio de los ejemplares.

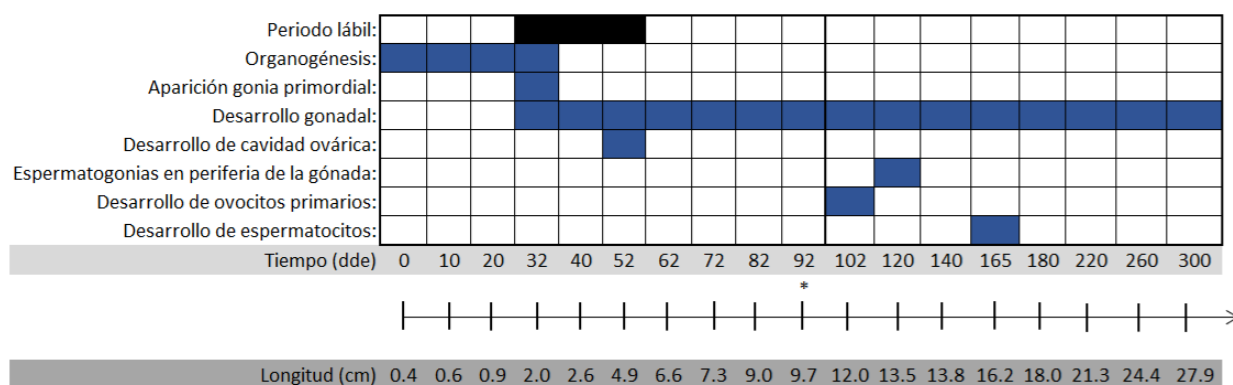


Figura 48. Línea del tiempo (días después de la eclosión, dde) y su relación con y longitud total promedio (cm), donde se observa el desarrollo gonadal y el periodo lábil (en negro) de la lobina rayada, *M. saxatilis*. El periodo lábil abarca de los 32 a los 52 dde. Los acontecimientos más relevantes se encuentran sombreados de color azul marino. El asterisco (*) en la línea del tiempo indica el cambio de temperatura que se le hizo a los organismos, pasando de 18 a 23°C.

Como ya se mencionó, el periodo lábil abarca de los 32 a los 52 dde (Ltm: 2.0 – 4.9 cm), la organogénesis de los 0 a los 30 dde (Ltm: 0.4 – 2.0 cm), la aparición de la gónada primordial ocurrió a los 32 dde (Ltm: 2.0 cm), el desarrollo gonadal abarca desde los 32 a más de los 300 dde (Ltm: 2.0 – 27.9 cm). El desarrollo de la cavidad ovárica ocurrió a los 52 dde (Ltm: 4.9 cm) y el desarrollo de los ovocitos primarios inició a los 102 dde (Ltm: 12.0 cm). En relación con el desarrollo de los testículos, las espermatogonias se observaron por primera vez en la periferia de la gónada a los 120 dde (Ltm: 13.5 cm) y a los 160 dde (Ltm: 16.2 cm) se desarrollaron los espermatozoides. El cambio de temperatura (*) ocurrió a los 90 dde, pasaron de 18°C a 23°C y así se mantuvieron hasta los 300 dde.

3.4 Proporción de sexos

La proporción de sexos para las muestras analizadas se resumen en la tabla 2, en la que también se incluye la edad y la longitud total promedio. Algunos ejemplares de 52 a 165 dde, a pesar de que aún no se diferenciaban sexualmente, se clasificaron como machos, ya que carecían de cavidad ovárica y las células germinales se encontraban dispuestas principalmente en el epitelio que bordea la gónada, esta última característica se observó en etapas más avanzadas de la diferenciación testicular.

Tabla 2. Proporción sexual de la lobina rayada *Morone saxatilis*, por clase de edad y longitud promedio.

Edad (dde)	Longitud total promedio (mm)	Hembras	Machos	n	χ^2	
52	49.7		2	5	7	0.571
62	66.3		4	6	10	0.1
72	73.6		7	2	9	1.778
82	90		3	5	8	0.125
92	97.3		7	3	10	0.9
100 – 102	115.4		6	4	10	0.1
120 – 127	137.5		6	4	10	0.1
140 – 149	143.8		3	6	9	0.444
165	161.7		6	4	10	0.1
180	180.2		5	5	10	0.1
220	213.2		13	7	20	1.25
260	243.9		13	7	20	1.25
300	278.8		16	4	20	6.05
Chi cuadrada de totales			91	62	165	5.124
Total de Chi cuadradas						12.868
Heterogeneidad de χ^2						7.744

$$\chi^2_{(0.05,1)} = 21.026$$

$$\chi^2_{(0.05,12)} = 3.841$$

Con esta clasificación, la comparación de las proporciones observadas contra la esperada 1:1 indicó que en la mayoría de los casos no había diferencias significativas. Para corroborar esta conclusión se hizo una comparación de las proporciones agrupadas ($\chi^2=5.124$) contra la proporción esperada 1:1 ($\chi^2_{(0.05,1)} = 3.841$) y se concluyó que la proporción de hembras es 1.5 veces la de los machos ($0.01 < p < 0.025$).

3.5 Análisis de crecimiento

El gráfico de la regresión lineal de las larvas de 0 a 12 DDE se indica en la figura 50, donde se observa que hubo un cambio ligeramente significativo entre los organismos medidos en vivo y medidos fijados en solución Davidson ($R^2 = 0.955$). Para el caso de 20 a 82 DDE su gráfico se indica en la figura 51, donde se observa que no hubo un cambio tan significativo como el anterior, se acerca un poco más a 1 ($R^2 = 0.9591$).

La figura 52 representa el crecimiento en milímetros de la lobina rayada (*M. saxatilis*) conforme a la edad, o bien, días después de la eclosión (dde). En este gráfico se logra observar que la longitud total aumenta conforme pasa el tiempo (edad).

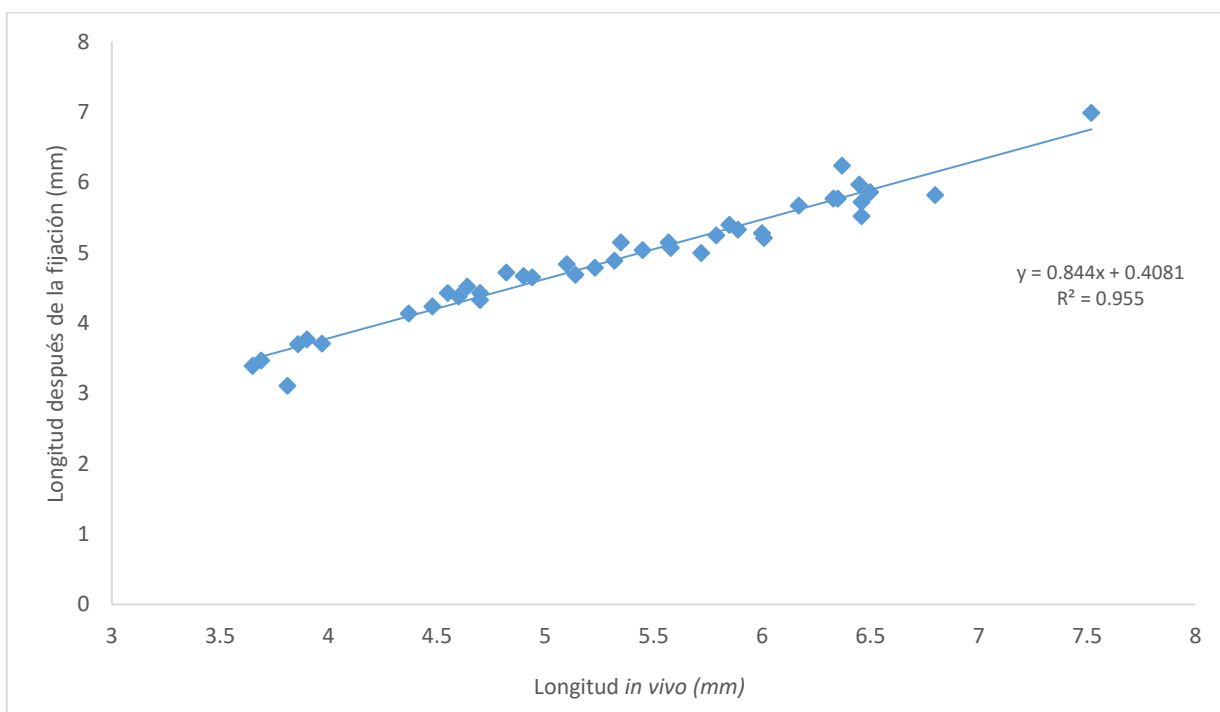
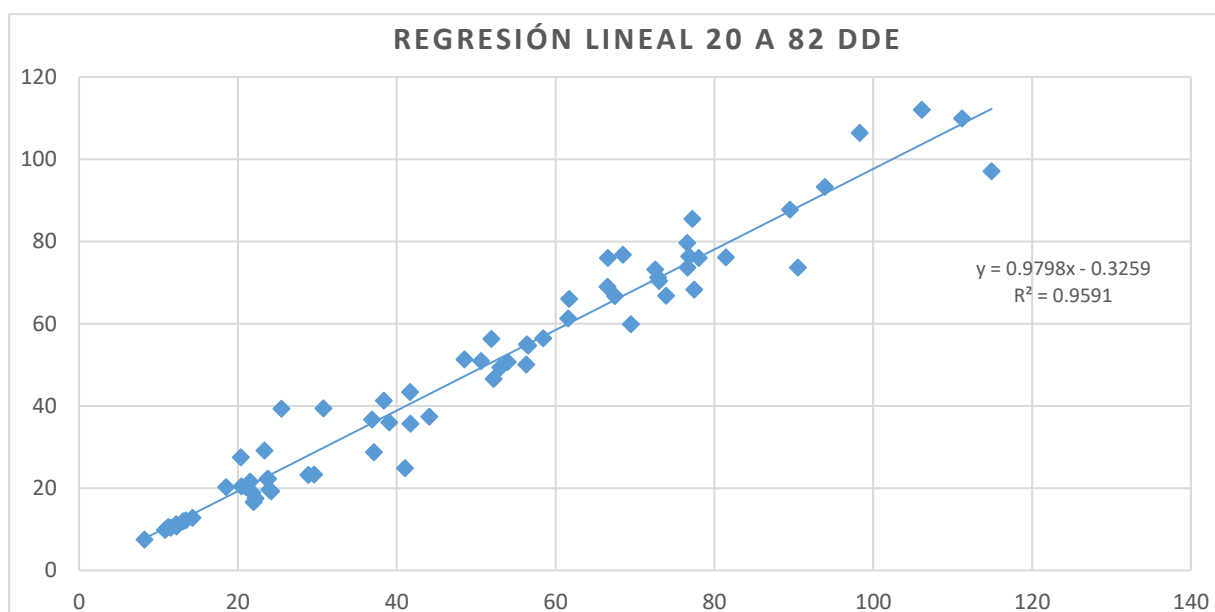


Figura 49. Relación entre la longitud de las lobinas de 0 a 12 dde *in vivo* y después de su fijación en solución Davidson.



3.6 Análisis de malformaciones

Tabla 3. Clasificación porcentual de las malformaciones y su prevalencia observada en la lobina rayada *Morone saxatilis* cultivada en la empresa Pacífico Aquaculture.

dde/ Malformaciones	Columnar (%)	Mandibular (%)	Craneal (%)	Ausencia de ojos o un ojo (%)	Ausencia de aleta pectoral (%)	Total de organismos
0 dde	0.0	0.0	0.0	3.3	0.0	30
2 dde	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	60
4 dde	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	30
5 dde	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	30
7 dde	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	30
10 dde	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	30
12 dde	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	30
20 dde	3.3	16.7	0.0	0.0	0.0	30
22 dde	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	31
30 dde	3.2	13.3	3.3	0.0	0.0	30
32 dde	13.3	6.7	10.0	0.0	0.0	30
40 dde	26.7	6.7	0.0	0.0	0.0	30
42 dde	20.0	10.0	0.0	0.0	0.0	30
50 dde	10.0	12.9	0.0	9.7	0.0	31
52 dde	16.1	10.0	0.0	0.0	0.0	30
60 dde	13.3	16.7	0.0	3.3	0.0	30
62 dde	10.0	0.0	0.0	0.0	0.0	31
70 dde	3.2	36.7	0.0	0.0	0.0	30
72 dde	23.3	23.3	0.0	0.0	0.0	30
80 dde	43.3	23.3	6.7	0.0	0.0	30
82 dde	16.7	46.9	15.6	0.0	3.1	32
90 dde	9.4	96.7	50.0	0.0	0.0	30
92 dde	36.7	70.0	76.7	0.0	0.0	30
100 dde	3.3	100.0	0.0	0.0	0.0	15
102 dde	20.0	87.5	0.0	0.0	0.0	16
120 dde	0.0	100.0	12.5	0.0	0.0	16
127 dde	12.5	100.0	40.0	0.0	0.0	15
140 dde	0.0	93.3	20.0	0.0	0.0	15
149 dde	6.7	86.7	0.0	0.0	0.0	15
165 dde	13.3	100.0	40.0	0.0	0.0	20
180dde	5.0	100.0	6.7	0.0	0.0	15
220 dde	0.0	100.0	15.0	0.0	0.0	20
260dde	0.0	100.0	35.0	0.0	0.0	20
300 dde	0.0	100.0	15.0	0.0	0.0	20
Total de organismos	9.54	32.89	8.99	0.55	0.11	912

Durante el periodo de muestreo de peces en la empresa de Pacific Aquaculture, se observaron 3 tipos de malformaciones en los ejemplares de lobina rayada. En la tabla 3 se resume la prevalencia por tipo de malformación y el tamaño de muestra por día (%). De todas las malformaciones que se presentaron, la malformación de tipo mandibular es de las más destacadas, observándose desde los 20 dde, aunque probablemente apareció desde antes de esa edad, sin embargo, no era visible.

En la figura 52, se observa un alto porcentaje de peces que presentan malformaciones, y se destaca que la malformación mandibular es la más común entre las lobinas rayadas con un 32.89%, seguida de la malformación columnar con un 10.64% y, por último, la malformación craneal con un 8.99%. La ausencia de ciertos órganos se registró en un número limitado de casos; por ejemplo, la ausencia de un ojo se observó en 5 organismos con un 0.55%, mientras que la ausencia de la aleta pectoral solo se registró en un individuo de edad avanzada con un 0.11% (aproximadamente 82 días después de la eclosión). Es importante mencionar que algunos individuos presentaron más de una malformación en simultáneo.

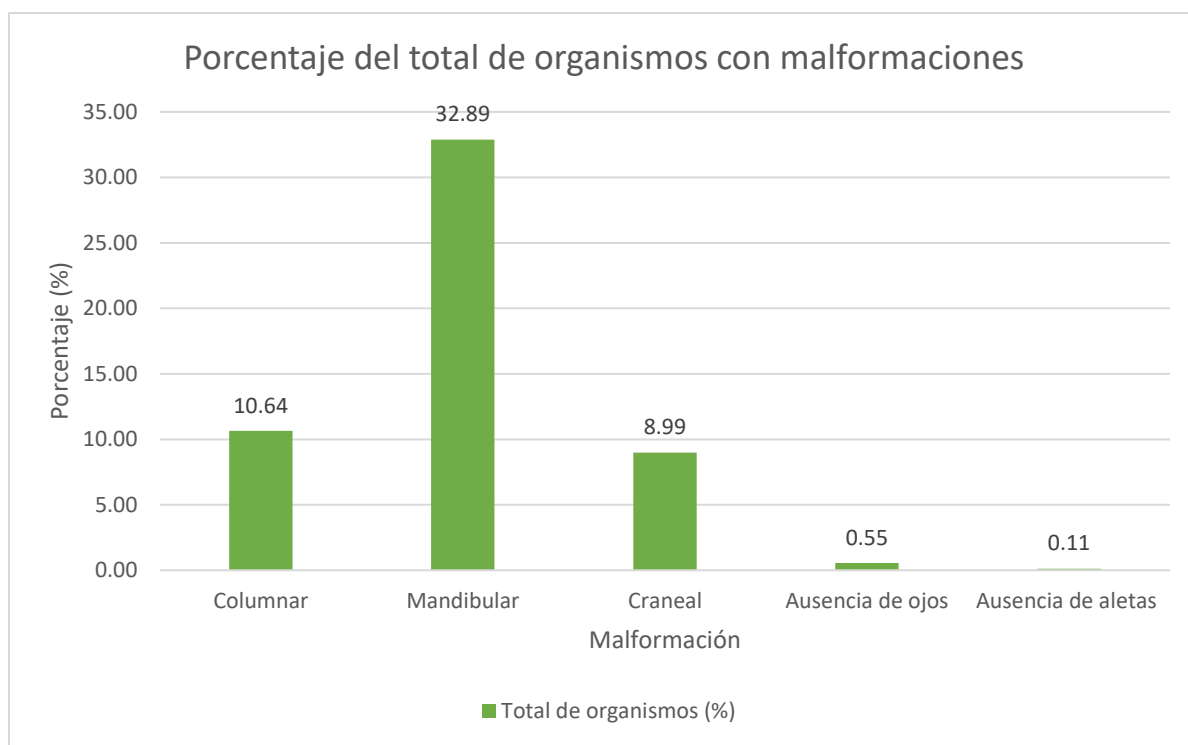


Figura 52. Porcentaje de malformaciones presentes en los ejemplares de *Morone saxatilis*.

Las figuras siguientes presentan los tipos y la gravedad de las malformaciones observadas. En la Figura 53, se ilustran las malformaciones craneales en ejemplares de lobina rayada con edades comprendidas entre 0 y 92 días después de la eclosión (dde). Estas malformaciones se caracterizan por hundimiento en la

cabeza, ojos prominentes y mandíbulas compactas. en la columna vertebral (malformación columnar) que resultan en un aspecto de enanismo.

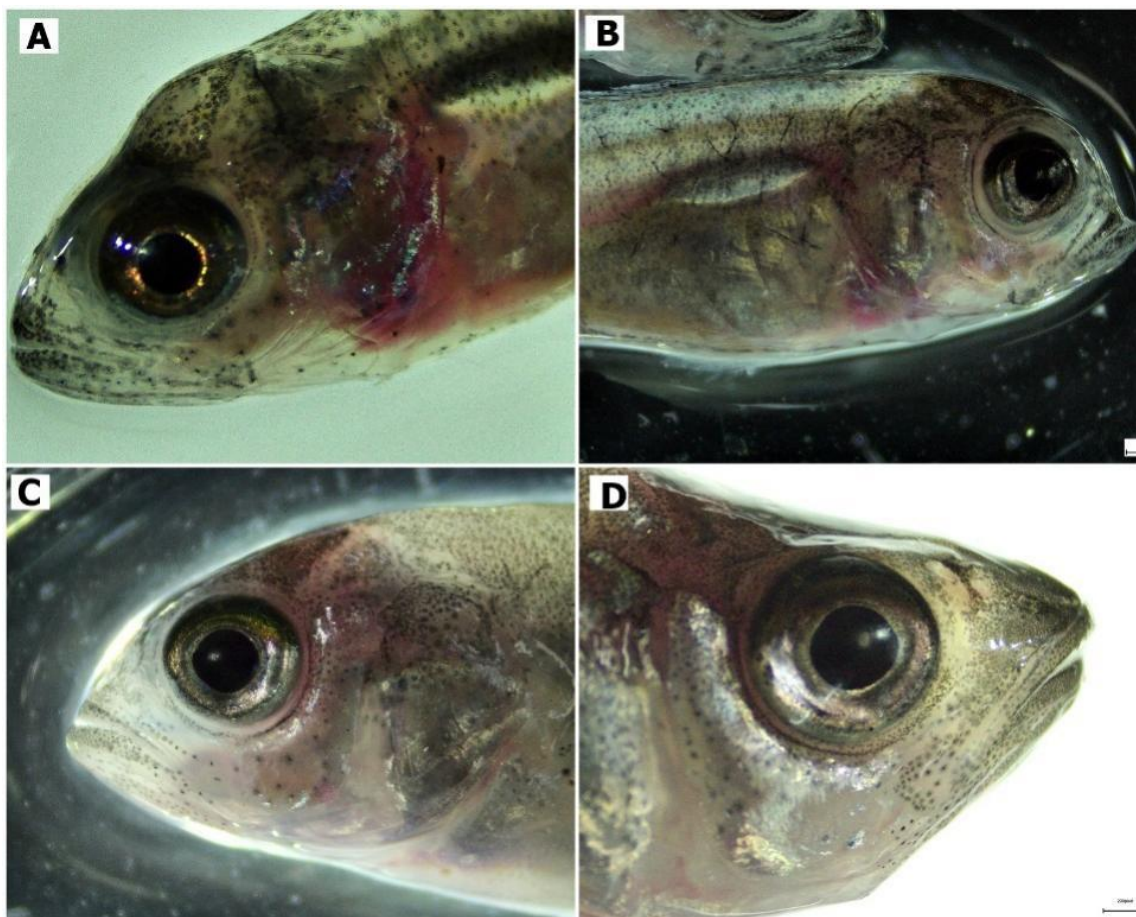


Figura 53. Malformaciones craneales en la lobina rayada cultivada en la empresa Pacífico Aquaculture. A. Organismo de 30 dde. B. 40 dde. C. 50 dde. D. 60 dde.

En la Figura 54, se muestran las malformaciones mandibulares, en las que se observa asimetría en la mandíbula, con la mandíbula inferior siendo más alargada que la superior o viceversa. La Figura 55 presenta las malformaciones de tipo columnar, que incluyen desviaciones en la columna vertebral, compresión vertebral, escoliosis (curvatura lateral de la columna vertebral), lordosis (curvatura hacia adelante de la columna vertebral) o una combinación de estas deformidades.

Por último, en la Figura 56 se representa un organismo con múltiples malformaciones, que incluyen hundimiento en el cráneo (malformación craneal), asimetría mandibular (mandíbula superior más larga que la inferior) y deformidades

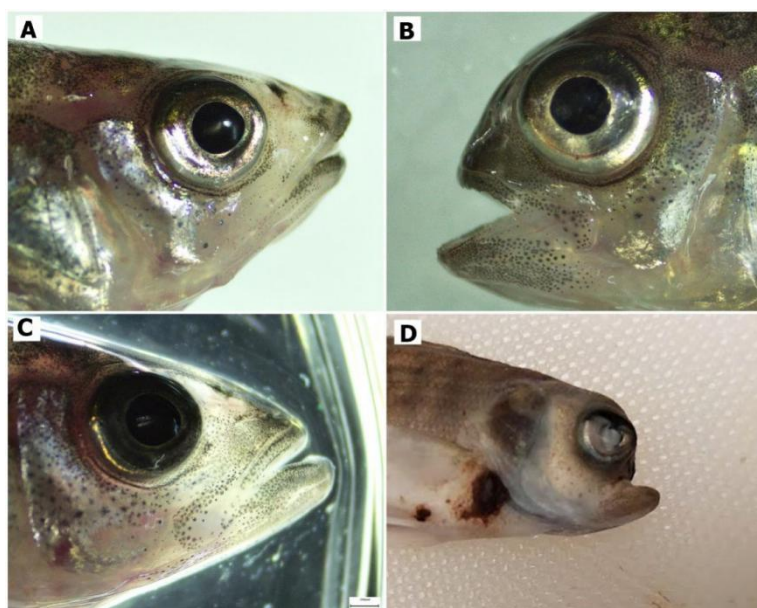


Figura 54. Malformaciones bucales de la lobina rayada cultivada en la empresa Pacífico Aquaculture. A y B. Ejemplar de 60 dde. C y D. Ejemplar de 50 dde.

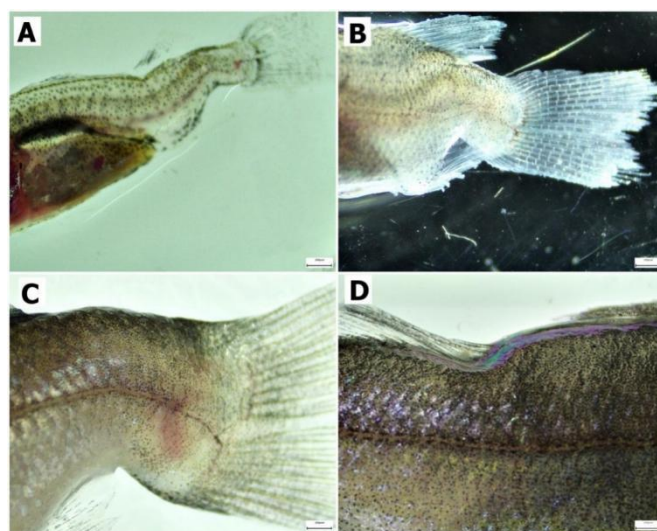


Figura 55. Malformaciones de la columna vertebral de la lobina rayada cultivada en la empresa Pacífico Aquaculture. A. Organismo de 30 dde. B. Ejemplar de 40 dde. C. 60 dde. D. 50 dde.



Figura 56. Ejemplar de 90 dde de *Morone saxatilis* con diferentes malformaciones. CV y flecha: compresión vertebral, MM: malformación mandibular, CR: malformación craneal.

Capítulo 4. Discusión

4.1 Análisis del desarrollo general

La ontogenia de los peces presenta cinco periodos de desarrollo: embrionario, larvario, juvenil, adulto y senectud (Zavala-Leal *et al.*, 2011). El desarrollo de los órganos sigue un orden que responde a las necesidades que el individuo tiene para asegurar su supervivencia. Como en otras especies de peces, la lobina rayada comienza su morfogénesis con el desarrollo del sistema nervioso central, el ojo, oídos internos, placas olfativas y el sistema digestivo como un tubo digestivo primitivo, capaz de procesar el alimento (digestión y absorción). Posteriormente se desarrollan estructuras como las aletas (supervivencia: podrá huir de sus depredadores) y las gónadas (reproducción).

En *M. saxatilis* se puede observar desde los 2 dde (0.44 ± 0.022 cm de LT) que la retina del ojo está bien desarrollada con sus cinco capas: lente, capa plexiforme interna, capa nuclear interna, plexiforme externa y epitelio pigmentado (Groman, 1982), la notocorda en forma de varilla y el tubo digestivo indiferenciado, que se encuentra situado en la parte dorsal del saco de vitelo (Zavala-Leal, *et al.*, 2011). Antes de que se termine de desarrollar el sistema digestivo, las larvas se alimentan de una fuente nutricional endógena, el vitelo, contenido en el saco vitelino y una gota de aceite, que proveen los nutrientes (proteínas, lípidos, grasas glicéridas) necesarios para el desarrollo de la larva (Gajbhiye *et al.*, 2022).

El intestino se desarrolló más a los 4 dde (0.50 ± 0.022 cm de LT), el saco vitelino con la gota de aceite, aunque redujeron su tamaño, continúan siendo una de sus fuentes nutricionales; también se observan los arcos branquiales, de acuerdo con Groman (1982), los arcos branquiales están cubiertos por un epitelio que proviene de la mucosa de la cavidad bucal y de los filamentos branquiales; a lo largo del arco, la submucosa se reduce a capas de tejido conjuntivo denso y músculo estriado.

A los 5 dde (0.51 ± 0.022 cm de LT) se observa el riñón, la vejiga natatoria y la boca. El riñón es uno de los órganos excretores más importantes en los peces teleósteos, mantiene el equilibrio osmótico entre el pez y el ambiente, se encuentra localizado fuera de la cavidad peritoneal; a esta edad se le denomina riñón mesonéfrico que dará origen al riñón funcional (Groman, 1982). La vejiga natatoria le permite a la larva mantener voluntariamente su posición en la columna de agua, cualquier anomalía en su funcionamiento repercute en la supervivencia de la larva y puede ser causante de deformidades (Gajbhiye *et al.*, 2022). La

apertura de la boca no está relacionada con la digestión de forma directa, sin embargo, es esencial para la ingestión y transporte de alimentos ingeridos por la larva (Cota, 2016).

De acuerdo con Zavala-Leal y colaboradores (2011), mencionan que la boca y el ano permanecen cerrados en el momento de la eclosión y el tiempo de la apertura de la boca y el ano puede variar entre especies, en *Sigannus guttatus*, *Lates calcarifer* y *S. rhombus* se da al 1 dde, en *Spaurus aurata*, *P. californicus* y *Lutjanus peru* al 3 dde, y en *Stizostedion lucioperca* se da entre los 5 y 6 dde.

A los 7 dde (0.54 ± 0.034 cm de LT) el ano ya se abre y el intestino se divide en intestino anterior e intestino posterior. El intestino anterior (prevalvular) y el intestino posterior (postvalvular) están compuestos por un epitelio columnar con microvellosidades que facilitan el movimiento del alimento, el intestino posterior termina en la zona rectal (ano) (Zavala-Leal *et al.*, 2011).

A los 22 dde (0.98 ± 0.115 cm de LT) el saco vitelino se reabsorbe totalmente, los arcos y filamentos branquiales están más definidos, se observa el intestino medio junto con el intestino anterior y posterior, el riñón y el hígado más desarrollados. El vitelo se ha reabsorbido en su totalidad, pero la gota de aceite es prominente y será la fuente de energía que la larva utilizará hasta que desarrolle sus habilidades de caza (Gajbhiye *et al.*, 2022). Los filamentos branquiales se dividen en dos: primarios y secundarios, en general sirven para la respiración del organismo (Groman, 1982). El hígado se encuentra cubierto por tejido fibroconectivo y contiene tejido pancreático exocrino formando una glándula tubuloacinar compuesta (Groman, 1982).

A los 32 dde (2.03 ± 0.18 cm de LT) el organismo tiene todas sus extremidades y órganos, pero aún continúan desarrollándose y aparecen los primeros pigmentos. Finalmente, a los 52 dde se terminaron de desarrollar las aletas (caudal, anal, pectoral, dorsales y pélvicas). Las aletas de los peces teleósteos se encuentran articuladas al sistema esquelético, mediante ligamentos y músculos, y contienen elementos como los radios y espinas, están cubiertas por un epitelio escamoso estratificado (Groman, 1982). La lobina rayada tiene una aleta dorsal y anal constituidas por espinas y radios, una caudal y aletas dorsales y pélvicas pares (Groman, 1982). Al inicio las larvas son transparentes, con algunos melanóforos alrededor del saco vitelino y a medida que se desarrollan, la pigmentación se hace más profusa; de igual forma, los músculos se van desarrollando a medida que la larva crece, todos estos cambios son esenciales para el control de la postura, para evitar la depredación y para capturar en forma eficiente a sus presas (Gajbhiye, *et al.*, 2022).

La lobina rayada tiene un crecimiento y desarrollo más rápido en comparación con *Dicentrarchus labrax* y la lubina híbrida (*Morone chrysops*♀ x *Morone saxatilis*♂). *D. labrax* mide 12.52 ± 1.34 mm de longitud a los 30 dde (Yan *et al.*, 2019) y la lobina rayada mide 20.3 mm (32 dde). Cuando el saco vitelino es reabsorbido, la larva de la lubina híbrida mide 4 ± 0.02 mm de longitud (Gajbhiye *et al.*, 2022) y la larva de la lobina rayada mide 10.7 mm. Incluso la lubina híbrida eclosiona relativamente más pequeña: 2.8 mm (Gajbhiye *et al.*, 2022), mientras que la lobina rayada mide 3.6 mm.

4.2 Análisis del desarrollo gonadal

En el cultivo de los organismos marinos de importancia acuícola se ha incrementado con el paso del tiempo y el interés se ha centrado en un número reducido de especies, que en general tienen forman parte de las tradiciones de consumo en diferentes países, un ejemplo es la lobina rayada (*M. saxatilis*). Esta especie es apreciada por sus características organolépticas, es un pescado de carne blanca con un filete de calidad y se ha observado en cautiverio que las hembras crecen más que los machos (comunicación personal, Pacifico Aquaculture, 2022) y por ello el interés de cultivar hembras de lobina rayada. En este sentido, es necesario generar una descripción del desarrollo gonadal e identificar el periodo lábil o sensible, información necesaria para el desarrollo de protocolos de control sexual. En este trabajo de tesis se construyó una base de datos con imágenes histológicas, con la que se describió el desarrollo gonadal de la lobina rayada y se identificó el periodo lábil o sensible para el control del sexo.

La diferenciación ovárica comenzó en una etapa temprana (52 dde: 4.97 ± 0.40 cm de LTm), de acuerdo con Moles (2011), con la formación de la cavidad ovárica como característica principal y con una disposición de las células germinales en esta región. En contraste, en *Dicentrarchus labrax*, la diferenciación ovárica es más tardía, entre los 150 dde (96.6 ± 4.0 mm LTm) (Papadaki *et al.*, 2005) y los 168 dde (8.3 cm LS) (Piferrer *et al.*, 2005). Strüssmann y Nakamura (2002) y Chang *et al.* (1995), han demostrado que la diferenciación sexual comienza primero en hembras en la mayoría de los peces teleósteos. En otras especies como, *Pimephales promelas* se forma entre 10 y 25 dde (Van Aerle *et al.*, 2004), en *Ictalurus punctatus* (bagre de canal) ocurre alrededor de los 19 dde (Patiño *et al.*, 1996), en *Totoaba macdonaldi* se desarrolla a los 51 dde (Paredes, 2018).

Entre los 62 dde (6.63 ± 0.65 cm de LT) y hasta los 92 dde (9.72 ± 1.04 cm de LT), se observó un aumento en el número de células germinales en las futuras hembras, en comparación con los posibles machos. Se ha observado que en la primeras etapas de la diferenciación gonadal, los presuntivos ovarios tienen como

característica distintiva la proliferación intensa de las células germinales, por lo que hay una mayor cantidad de éstas, en comparación con las que se observan en los testículos en sus primeras fases de desarrollo (Nakamura *et al.*, 1998; Strüssmann y Nakamura, 2002).

Otra característica que se ha observado en el presente trabajo es la ubicación de las células germinales, en las gónadas que se diferencian como ovarios, las células germinales se ubican en el centro de la gónada, en cambio, en la diferenciación testicular se ubican en la periferia de la gónada. Lo mencionado anteriormente, se ha observado también en *Pimephales promelas*, donde las células germinales femeninas se ubican en el centro de la gónada y las células germinales masculinas se encuentran dispersas en la gónada (Aerle *et al.*, 2004).

En los testículos, los conductos deferentes comenzaron a desarrollarse a partir de los 100 dde (11.09 ± 0.70 cm de LT), siguiendo un solo patrón de desarrollo, en este estudio, fue la primera característica que se observó al momento de la identificación de los machos, inclusive Nakamura y colaboradores (1998) mencionan que esta característica es uno de los primeros rasgos histológicos que distinguen la diferenciación testicular. El desarrollo testicular en *Morone saxatilis* es más precoz en comparación con *D. labrax*, dicha especie permanece sexualmente indiferenciada hasta el final del primer año, entre los 7 y 12 meses de edad (Blázquez *et al.*, 1998), aunque otros autores concluyeron que la diferenciación testicular ocurre entre los 168 dde y los 250 dde (Piferrer *et al.*, 2005).

En los ovarios, los primeros ovocitos primarios en estadio I (cromatina-nucleolo) se observaron a partir de los 102 dde, en cambio, en *D. labrax* la presencia de ovocitos primarios se dio a los 308 dde (Pavlidis *et al.*, 2000). De acuerdo con Lubzens *et al.* (2017), las ovogonias y los ovocitos primarios se encuentran dentro de nidos que están rodeados por células prefoliculares, condición que se observó en las gónadas de la lobina rayada en este trabajo.

A los 140 dde (13.75 ± 3.43 cm de LT) se observaron las primeras espermatogonias en la periferia de la gónada, esta característica se consideró un criterio para considerar que la gónada se encontraba en un proceso de diferenciación testicular. En las primeras etapas de desarrollo las espermatogonias se sitúan en la periferia de la gónada, cerca de la túnica albugínea y en etapas avanzadas proliferan junto con las células intersticiales (tejido conectivo) formando trabéculas que rodean los lóbulos seminíferos constituidos por las células de Sertoli y las espermatogonias, que se desarrollan hasta alcanzar los conductos deferentes (Schulz *et al.*, 2010). En *D. labrax* las espermatogonias se observaron por primera vez a los 200 dde (Papadaki *et al.*, 2005).

A los 165 dde (16.17 ± 1.12 cm de LT), algunas espermatogonias se desarrollaron en espermatoцитos primarios. Tal cual lo describe Schultz y colaboradores en el año 2010, las espermatogonias se diferencian primero en espermatoцитos primarios (primera división meiótica), posteriormente en espermatoцитos secundarios (segunda división meiótica), después espermatidas (diferenciación sin proliferación) y finalmente en espermatozoide. Los lóbulos seminíferos se definieron claramente a los 220 dde (21.32 ± 0.97 cm de LT), son numerosos y contenían en mayor cantidad espermatogonias y pocos espermatoцитos. En otras especies, los machos desarrollan los lóbulos seminíferos a temprana edad como en *Ictalurus punctatus* (bagre de canal) que ocurre entre los 90 y 102 DDE (Patiño *et al.*, 1996) y en *Pimephales promelas* los lóbulos seminíferos se formaron con espermatogonias entre los 90 y 120 dde (Aerle *et al.*, 2004).

A partir de los 140 dde (13.75 ± 3.43 cm de LT), en los ovarios se observó una sustancia granular con células somáticas que posiblemente eran producto de un proceso de reabsorción del citoplasma y núcleo de los ovocitos primarios. En *Totoaba macdonaldi* se observa la misma característica, pero en dicha especie es por intersexo (Cabrera, 2019). En *Dicentrarchus labrax* no se observa dicha característica, pero si que algunos machos presentaron ovocitos intratesticulares en la gónada, indicando intersexos y esto aumenta cuando la temperatura aumenta (Guerrera *et al.*, 2016).

La diferenciación sexual entre especies es diferente, tal el caso de la *Totoaba macdonaldi*, donde Cabrera (2019) propone un modelo hipotético de la diferenciación del ovario y testículo de dicha especie, y se observa que en *T. macdonaldi* los machos presentan cavidad ovárica al inicio del desarrollo y con el tiempo se va reabsorbiendo el tejido ovárico, en *M. saxatilis* no ocurre de esa forma, los machos no desarrollan cavidad ovárica en ninguna etapa de su vida. De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, los ovarios de la lobina rayada en etapa adulta comparten una organización histológica similar a la de otras especies de peces perciformes (Parenti y Grier, 2004; Kobeelkowsky, 2012). Las características de los ejemplares en etapa adulta de *M. saxatilis* mencionadas en este estudio también fueron observadas por Harrell (1997), donde describe el ovario y el testículo en etapa adulta de la lobina rayada a nivel histológico.

4.3 Periodo lábil

El periodo lábil o periodo sensible para la diferenciación del sexo, ocurre antes de la diferenciación morfológica o histológica del primordio gonadal, y sólo para algunas especies comienza mucho antes de la primera etapa de alimentación (Devlin y Nagahama, 2002). De acuerdo con los resultados que se

obtuvieron en la descripción del desarrollo gonadal, se propone que el periodo lábil para la lobina rayada *M. saxatilis* se encuentra entre los 32 y 40 dde, o bien, entre 2.03 ± 0.18 cm y 2.57 ± 0.40 cm de longitud total. A los 32 dde se desarrolló el primordio gonadal con células germinales y a los 40 dde se desarrolla la cavidad ovárica.

Según Piferrer y colaboradores en el año 2005, describieron que desde 1980, se tiene conocimiento que en *D. labrax*, la diferenciación sexual ocurre entre los 11 y 23 meses de edad (90 a 187 mm LT), y que este proceso es dependiente de la longitud más que de la edad. Otros autores mencionan que la diferenciación ovárica comienza a los 168 dde (83 mm LS) y la diferenciación testicular comienza entre los 168 (83 – 95 mm LS) – 250 dde (118 mm LS) (Saillant *et al.*, 2003). Piferrer *et al.* (2005), concluye que el periodo lábil de *D. labrax* se ubica alrededor de 110 dde (Piferrer *et al.*, 2005).

A pesar gran parentesco filogenético entre *D. labrax* y *M. saxatilis*, esta última tiene un desarrollo más precoz y su periodo lábil ocurre entre los 32 y 52 dde, en cambio en *D. labrax* es entre los 50 y 150 DDE (Piferrer *et al.*, 2005). En otras especies como *Odontesthes bonariensis* inicia entre los 49 y 63 dde y finaliza entre los 91 y 112 dde (Strüssmann *et al.*, 1996). En *Mugil cephalus* ocurre entre los 15 a 17 meses de edad y termina a los 18 y 24 meses de edad (Chang *et al.*, 1995). En *T. macdonaldi*, el periodo lábil se ha propuesto entre los 36 dde (gónada indiferenciada) y 52 dde (desarrollo de cavidad ovárica) (Paredes, 2018). Cabe destacar que la diferenciación sexual no depende únicamente de la longitud-edad, sino también de la temperatura de crianza.

4.4 Proporción de sexos

Se ha observado que cuando *M. saxatilis* se mantiene en cautiverio, las progenies están constituidas por un alto porcentaje de machos (comunicación personal, Pacífico Aquaculture, 2022), pero en este estudio se observó una mayor proporción de hembras (1.5 hembras por macho). Incluso en *Dicentrarchus labrax* se ha observado que, en condiciones de cautiverio, la proporción sexual se encuentra sesgada a favor de los machos con 75% (Piferrer *et al.*, 2005).

Dicha proporción machos:hembras de 3:1 implica una desventaja desde el punto de vista productivo para las empresas que la cultiva, porque las hembras crecen un 30% más que los machos (Piferrer, 2010), los que se traduce en una reducción de las ganancias.

4.5 Análisis de malformaciones

Las malformaciones esqueléticas en peces de crianza representan una preocupación significativa en la acuicultura, ya que pueden dar lugar a problemas sustanciales y costosos en los cultivos (Nagano *et al.*, 2007). Estas deformidades pueden afectar diversas estructuras, incluyendo la mandíbula, el opérculo y la columna vertebral, manifestándose como lordosis, cifosis, escoliosis y fusión de vértebra (Nagano *et al.*, 2007).

En el marco del presente estudio, *M. saxatilis* que involucró deformidades mandibulares, columnares y craneales. Por otro lado, en el caso de *D. labrax*, es común encontrar deformidades en las larvas, destacándose principalmente las malformaciones mandibulares, que se caracterizan por el alargamiento o acortamiento de la mandíbula inferior. Además, también observamos deformidades en la columna vertebral, como la flexión de esta (Yan *et al.*, 2019). Es importante señalar que este estudio se llevó a cabo bajo diferentes espectros e intensidades de luz como parte de su contexto experimental.

En el caso de *M. saxatilis*, se observaron malformaciones craneales que incluyeron un hundimiento de la cabeza y asimetría en la mandíbula. Según informes de Lv *et al.* (2019), las deformidades craneales abarcan una variedad de irregularidades, que involucran la mandíbula, las branquias, el cartílago de Meckel, entre otras estructuras. Es importante señalar que las malformaciones mandibulares observadas en ejemplares de *M. saxatilis* han sido documentadas en otras especies, como *Epinephelus septemfasciatus*, *Sparus aurata* L. y *Paralichthys olivaceus* (Nagano *et al.*, 2007).

Estas malformaciones generaron cambios drásticos en la morfología de las larvas, impactando negativamente en su capacidad de alimentación y, en última instancia, resultando en un aumento de la mortalidad (Lv *et al.*, 2019).

En *M. saxatilis* se observaron malformaciones de columna vertebral, que se caracterizaron por una curvatura anormal en la columna y la fusión de algunas vértebras. Estas malformaciones aparecieron a temprana edad y el número de ejemplares con esta deformidad se incrementó conforme pasaba el tiempo. De acuerdo con Lv *et al.* (2019), las malformaciones de columna vertebral en el mero *Epinephelus lanceolatus* también aparecen en etapa temprana del desarrollo, consisten en la fusión vertebral, lordosis, escoliosis y cifosis, que afectan el crecimiento. En otro estudio de *D. labrax* se observaron malformaciones de columna de tipo cifosis, lordosis y escoliosis durante el estadio larvario (10-17mm en LT), esta deformidad vertebral es muy común en los peces cultivados (Koumoundourous *et al.*, 2002).

A pesar de que los organismos muestreados en este estudio no fueron criados en las instalaciones de CICESE, se plantea que las malformaciones observadas son inducidas por diversos factores, incluyendo la manipulación en el cultivo, factores genéticos y ambientales. Los factores que pueden estar involucrados en el desarrollo de malformaciones esqueléticas son diversos e incluyen condiciones abióticas desfavorables, alimentación inadecuada o desequilibrios nutricionales, predisposición genética, influencias ambientales, prácticas deficientes de manejo en el cultivo, así como situaciones de estrés (Boglione *et al.*, 2013; Camargo-Buitrago, 2017; Nagano *et al.*, 2007).

En el presente trabajo, se observaron varios tipos de malformaciones. Las malformaciones de tipo mandibular representaron el 32.89% de las observadas, seguidas de las malformaciones de tipo columnar con un 10.64%, y las malformaciones craneales con un 8.99%. Además, se registró un 0.55% de casos con ausencia de ojos y un 0.11% con ausencia de aletas. Es interesante notar que las malformaciones esqueléticas, especialmente las craneales, han sido reportadas en casi todas las especies de peces de cultivo, como se observó en un estudio previo (Argüello-Guevara *et al.*, 2014).

Las malformaciones mandibulares, aunque comunes, pueden presentarse en diversas formas; por ejemplo, en larvas de *Latris calcarifer*, se observa una mandíbula apretada, mientras que en *Pagrus major*, la mandíbula inferior más corta es más común que la mandíbula superior (Argüello-Guevara *et al.*, 2014).

4.6 Perspectivas futuras

Los resultados de este trabajo aportan información importante sobre el proceso de desarrollo gonadal de la lobina rayada *Morone saxatilis*, pero al mismo tiempo llevan a proponer nuevas preguntas sobre este complejo proceso morfogénico, además se tuvo la oportunidad de documentar en forma preliminar la prevalencia e intensidad de las malformaciones que se presentan durante su cultivo, lo que también plantea más dudas sobre el desarrollo general de la especie. El conocimiento de la génesis gonadal y la propuesta de un periodo lábil, acotado por las características histológicas de las gónadas, hace posible el diseño de nuevos experimentos, que auxiliados con técnicas moleculares como, la histoquímica o la expresión de genes relevantes como el *cyp19a1* que codifica para la enzima P450 aromatasas, permitirán conocer los efectos de diferentes factores, como la temperatura y el uso de esteroides sexuales exógenos sobre los procesos de diferenciación gonadal, lo que contribuirá al refinamiento de los procesos productivos que son de primordial interés para el cultivo comercial de la especie.

Capítulo 5. Conclusiones

La formación del primordio gonadal se observó a los 32 dde (2.03 ± 0.18 cm), cuando la longitud total de las larvas es de 2.03 ± 0.18 cm.

El periodo lábil de la lobina rayada (*Morone saxatilis*) inicia a los 32 dde (2.03 ± 0.18 cm), con la llegada de las células germinales primordiales al primordio gonadal en formación y culmina al día 40 dde (2.57 ± 0.40 cm de LT) para las futuras hembras, cuando se observan los primeros signos de diferenciación ovárica, que incluyen la formación de la cavidad ovárica. En los futuros machos, el periodo culmina a los 100 dde (11.09 ± 0.70 cm de LT) con la formación de los conductos deferentes.

El desarrollo gonadal es más precoz en la lobina rayada que en la lubina europea (*Dicentrarchus labrax*). En *M. saxatilis* ocurrió entre el día 32 con la formación del primordio gonadal y culminó a los 40 dde (2.57 ± 0.40 cm de LT) para los ovarios y a los 100 dde (11.09 ± 0.70 cm de LT) para los testículos. En *D. labrax* los ovarios comienzan a desarrollarse a los 168 dde (83 mm LS) y los testículos entre los 168 dde (83 - 95 mm LS) y 250 dde (118 mm LS).

En el ovario de *M. saxatilis* los ovocitos primarios se desarrollaron a partir de los 102 dde (11.99 ± 0.98 cm de LT).

Tomando en consideración a la posición relativa del sitio de proliferación de las células germinales en la región cortical de las gónadas primordiales, los machos de *Morone saxatilis* se diferenciaron a partir de los 140 dde (13.75 ± 3.43 cm de LT), aunque se observaron ejemplares indiferenciados a partir de los 52 dde (carentes de cavidad ovárica), que se podrían clasificar como posibles machos.

Las lamelas ovígeras de *M. saxatilis* se definieron a los 140 dde (13.75 ± 3.43 cm de LT).

La proporción sexual observada para los datos agrupados (52 a 300 dde) fue de 1.5 hembras por macho.

Las malformaciones que se presentaron en la lobina rayada pueden ser causadas por distintos factores, por lo que se recomienda realizar un estudio más detallado del tema.

Literatura citada

- Aerle, V. R., Runnalls, T. J. y Tyler, C. R. (2004). Ontogeny of gonadal sex development relative to growth in fathead minnow. *Journal of fish biology*, 64(2), 355-369.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.0022-1112.2004.00296.x>.
- Andersen, L., Abernathy, J., Berlinsky, D., Bolton, G., Booker, M., Borski, R., Brown, T., Cerini, D., Ciaramella, M., Clark, R., Frinsko, M., Fuller, S. A., Gabel, S., Green, B., Herbst, E., Hodson, R., Hopper, M., Kenter, L., Lopez, F., McGinty, A., Nash, B., Parker, M., Pigg, S., Rawles, S., Riley, K., Turano, M., Webster, C., Weirich, C., Won, E., Woods III, L., Reading, B. y StriperHub. (2021). The status of striped bass, *Morone saxatilis*, as a commercially ready species for U. S. marine aquaculture. *J World Aquac Soc*: 52, 710-730.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jwas.12812>.
- Arechavala-López, P., Cabrera-Álvarez, M. J., Maia, C. M. y Saraiva, J. L. (2021). Environmental enrichment in fish aquaculture: A review of fundamental and practical aspects. *Aquaculture*. 14(2), 704-728.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/raq.12620>.
- Argüello-Guevara, W., Bohórquez-Cruz, M. y Silva, A. (2014). Malformaciones craneales en larvas y juveniles de peces cultivados. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 42 (5), 950-962.
<https://www.redalyc.org/pdf/1750/175032686002.pdf>.
- Babin, P. J., Cerda, J. y Lubzens, E. (2007). The fish Oocyte. Springer. España.
<https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4020-6235-3>.
- Baltazar-Guerrero, P. M. y Palacios-León, J. (2020). Malformaciones congénitas en larvas de *Oreochromis niloticus* durante la incubación en criadero. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 31 (4), el7342. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172020000400019.
- Boglione, C., Gavaia, P., Koumoundouros, G., Gisbert, E., Moren, M., Fontagné, S. y Witten, P. E. (2013). Skeletal anomalies in reared european fish larvae and juveniles. Part 1: normal and anomalous skeletogenic processes. *Reviews in Aquaculture*. 5 (1), S99-S120.
<https://doi.org/10.1111/raq.12015>.
- Cabrera-Lozano, R. (2019). Efecto de la temperatura en la proporción de sexos de *Totoaba macdonaldi*. [Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. Repositorio institucional <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/2827>.
- Camargo-Buitrago, J. D. (2017). Análisis de las malformaciones del embrión de trucha *Oncorhynchus mykiss* (WALBAUM, 1792) en condiciones de laboratorio bajo los efectos de dosis sub letales de carbofurano (2,2-dimethyl-2,3-dihydro-1-benzofuran-7-yl methylcarbamate). [Tesis de licenciatura. Universidad del Bosque]. https://repositorio.unbosque.edu.co/bitstream/handle/20.500.12495/5528/Camargo_Buitrago_Juan_David_2017.pdf?sequence=1.
- Carrillo-Estévez, M. A. (2009). La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura. Fundación Observatorio Español de Acuicultura. <https://www.observatorio->

[acuicultura.es/sites/default/files/images/adjuntos/libros/reproduccion en peces obra completa web.pdf](http://acuicultura.es/sites/default/files/images/adjuntos/libros/reproduccion%20en%20peces%20obra%20completa%20web.pdf).

- Ching-Fong, C., Shin-Chieh L. y Hsin-Yiu, C. (1995). Gonadal histology and plasma sex steroids during sex differentiation in grey mullet, *Mugil cephalus*. *Journal of experimental zoology*. 272(5), 395-406. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jez.1402720509>.
- Chuaire, L. y Sánchez, M. C. (2002). Células germinativas primordiales femeninas: origen y migración hacia los primordios gonadales. *Colombia Médica*. 33(4), 171-178. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=28333405>.
- Clark, R. W., Henderson-Arzapalo, A., Sullivan, C. V. (2005). Disparate effects of constant and annually-cycling daylength and water temperature on reproductive maturation of striped bass (*Morone saxatilis*). *Aquaculture*. 249(1-4), 497-513. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848605001948?via%3Dihub>.
- Cota, N. J. (2016). Ontogenia del sistema digestivo y caracterización de la actividad enzimática de las larvas de chita *Anisotremus scapularis* (Tschudi, 1846). [Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. Repositorio institucional <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/1357/1/245481.pdf>.
- Del Río-Zaragoza, O. B., Cavalheiro-Araújo, B. y Viana, M. T. (2021). Health status evaluation of striped bass (*Morone saxatilis*) exposed to low temperature in sea cage culture during the grow-out. *Aquaculture Research*. 52(6), 2435-2445. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/are.15093>.
- Devlin, R. H. y Nagahama, Y. (2002). Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*. 208, 191-364. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848602000571?via%3Dihub>.
- Dörner, J. N. (2018). Evaluación de patrones de expresión génica en respuesta a distintas concentraciones DHA en tejido hepático y mandibular de *Seriola lalandi* in vitro. [Tesis de doctorado. Universidad de Chile]. <https://repositorio.be-anid.com/server/api/core/bitstreams/f898408a-f7f8-4293-97b9-edf80a43a516/content>.
- Enciclovida. Imágenes de Lobina rayada del Atlántico (*Morone saxatilis*). <https://enciclovida.mx/especies/37135-morone-saxatilis>.
- Escuredo-Vielba, R. (2018). Identificación y caracterización de las células germinales primordiales (CGPs) en embriones y larvas de *Totoaba macdonaldi*. [Tesis de doctor en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. Repositorio institucional <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/2535>.
- Extravour, C. G., Akam, M. (2003). Mechanisms of germ cell specification across the metazoans: epigenesis and preformation. *Development*. 130(24), 5869-84. <https://journals.biologists.com/dev/article/130/24/5869/42159/Mechanisms-of-germ-cell-specification-across-the>.
- Gajbhiye, D. S., Oz, I., Columbus-Shenkar, Y. Y. y Golan, M. (2022). Larval development staging table for hatchery-reared sunshine bass (*Morone chrysops*♀ x *Morone saxatilis*♂). *Aquaculture*. 546,

737379.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848621010425?via%3Dihub>.

- García, O. (2016). Descripción del desarrollo esquelético de *Totoaba macdonaldi*, caracterización de sus malformaciones y su efecto en el desempeño biológico. [Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. Repositorio institucional <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1007/1359/1/245511.pdf>.
- Gervasi, C. L. (2015). The reproductive biology of striped bass (*Morone saxatilis*) in Chesapeake Bay. *Dissertation, Theses, and Masters Projects*. Paper 1539617959. <https://scholarworks.wm.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=3089&context=etd>.
- Gómez-Gaspar, A. (1995). Desarrollo gonadal y sexualidad de peces teleósteos. *Saber*. 7(2), 7-17. <http://saber.udo.edu.ve/index.php/saber/article/view/1002/795>.
- Good View International Enterprise S.A. DE C.V. (2019). Cultivo de Lobina (*Morone saxatilis*). Lorax consultores, S. A. DE C.V. https://sinat.semarnat.gob.mx/Gacetas/archivos2019/gaceta_54-19.pdf.
- Groman, D. B. (1982). Histology of the striped bass. American Fisheries Society. Maryland. https://www.academia.edu/69633587/Histology_of_the_striped_bass.
- Guerrero-Estévez, S. y Moreno-Mendoza, N. (2010). Sexual determination and differentiation in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. 20, 101-121. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1095-8649.2011.03196.x>.
- Guerrera, M. C., Arfuso, F., Rizzo, M., Saoca, C., Fazio, F., Fortino, G., Santualli, A. y Piccione, G. (2016). Gonadal sexual differentiation of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L. 1758) of fingerlings in different size classes. *Marine and freshwater behaviour and physiology*. 49(5), 347-354. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10236244.2016.1223785>.
- Harrell, R. M. (1997). Striped bass and other Morone culture. Volume 30. Development in Aquaculture and fisheries Science. <https://www.sciencedirect.com/bookseries/developments-in-aquaculture-and-fisheries-science/vol/30/suppl/C>.
- Hollema, H. M., Kneebone, J., McCormick, S. D., Skomal, G. B. y Danylchuk, A. J. 2017. Movement patterns of striped bass (*Morone saxatilis*) in a tidal coastal embayment in New England. *Fisheries Research*. 187, 168-177. <https://www.bio.umass.edu/biology/mccormick/pdf/FR2017.pdf>.
- Koumoundouros, G., Maingot, G., Divanach, P. y Kentouri, M. (2002). Kyphosis in reared sea bass (*Dicentrarchus labrax*): ontogeny and effects on mortality. *Aquaculture*. 209, 49-58. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00821-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00821-3).
- Lubzens, E., Bobe, J., Young, G. y Sullivan, C. V. (2017). Maternal investment in fish oocytes and eggs: The molecular cargo and its contributions to fertility and early development. *Aquaculture*. 472, 107-143. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.10.029>.
- Lubzens, E., Young, G., Bobe, J. y Cerdà, J. (2010). Oogenesis in teleosts: How fish eggs are formed. *General and Comparative Endocrinology*. 165, 367-389. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.05.022>.

- Lv, X., Wang, Y., Xiao, Z., Liu, Q., Xu, S., Zhai, J. y Li, J. (2019). Skeletal ontogeny and deformity during the early fry culture process for *Epinephelus lanceolatus*. *Aquaculture*. 508, 113-126. (<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.059>).
- Medina-Henríquez, P. J. (2019). Retinoic acid signaling pathway: gene regulation during the onset of puberty in the European sea bass. [Tesis de doctorado en Ciencias Marinas. Polytechnic University of Catalonia (UPC)]. <https://digital.csic.es/handle/10261/186672?mode=full>.
- Molés, G. (2011). Caracterización biológica de las gonadotrofinas de lubina (*Dicentrarchus labrax*) y desarrollo de herramientas biotecnológicas e inmunológicas para su estudio. [Tesis de doctorado. Universidad Politécnica de Valencia]. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/12619/tesisUPV3678.pdf?sequence=1>.
- Morais, R. D. V. S., Thomé, R. G., Lemos, F. S., Bazzoli, N. y Rizzo, E. (2012). Autophagy and apoptosis interplay during follicular atresia in fish ovary: a morphological and immunocytochemical study. *Cell Tissue Res*. 347, 467-478. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00441-012-1327-6>.
- Nagano, N., Hozawa, A., Fujiki, W., Yamada, T., Miyaki, K., Sakakura, Y. y Hagiwara, A. (2007). Skeletal development and deformities in cultured larval and juvenile seven-band grouper, *Epinephelus septemfasciatus* (Thunberg). *Aquaculture*. 38, 121-130. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01627.x>.
- Nakamura, M., Kobayashi, T., Chang, X. y Nagahama, Y. (1998). Gonadal sex differentiation in teleost fish. *The journal of experimental zoology*. 281, 362-372. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-010X\(19980801\)281:5<362::AID-JEZ3>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(19980801)281:5<362::AID-JEZ3>3.0.CO;2-M).
- Nishimura, T. y Tanaka, M. (2014). Gonadal development in fish. *Sex Dev*. 8(5), 252-261. <https://doi.org/10.1159/000364924>.
- Papadaki, M., Piferrer, F., Zanuy, S., Maingot, E., Divanach, P. y C. C. Mylonas. (2005). Growth, sex differentiation and gonad and plasma levels of sex steroids in male- and female-dominant populations of *Dicentrarchus labrax* obtained through repeated size grading. *Journal of Fish Biology*. 66, 938 – 956. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.0022-1112.2005.00639.x>.
- Paredes Martínez, A. E. (2018). Descripción de la gonadogénesis e identificación del periodo de diferenciación sexual de *Totoaba macdonaldi*. [Tesis de maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California]. Repositorio institucional <https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/2064>.
- Patiño, R., Davis, K. B., Schoore, J. E., Uguz, C., Strüssmann, C. A., Parker, N. C., Simco, B. A. y Goudie, C. A. (1996). Sex differentiation of channel catfish gonads: Normal development and effects of temperature. *Journal of experimental zoology*. 276(3), 209-218. [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1097-010X\(19961015\)276:3%3C209::AID-JEZ5%3E3.0.CO;2-R](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1097-010X(19961015)276:3%3C209::AID-JEZ5%3E3.0.CO;2-R).
- Pavlidis, M., Koumoundouros, G., Sterioti, A., Somarakis, S., Divanach, P. y Kentouri, M. (2000). Evidence of temperature-dependent sex determination in the european sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Journal of experimental zoology*. 287, 225-232. [https://doi.org/10.1002/1097-010X\(20000801\)287:3<225::AID-JEZ4>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/1097-010X(20000801)287:3<225::AID-JEZ4>3.0.CO;2-D).

- Piferrer, F., Blázquez, M., Navarro, L. y González, A. (2005). Genetic, endocrine, and environmental components of sex determination and differentiation in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *General and Comparative Endocrinology*. 142(1-2), 102-110. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016648005000559?via%3Dihub>.
- Okutzu, T., Suzuki, K., Takeuchi, Y., Takeuchi, T. y Yoshizaki G. (2006). Testicular germ cells can colonize sexually undifferentiated embryonic gonad and produce functional eggs in fish. *Proc Natl Acad Sci USA*. 103(8), 2725-2729. <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.0509218103>.
- Rodríguez-Ibarra, L. E., Abdo-de la Parra, M. I., Velasco-Blanco, G. y Aguilar-Zárate, G. (2017). Desarrollo osteológico de la columna vertebral y del complejo caudal de larvas del pez payaso *Amphiprion ocellari* (Pomacentridae) en condiciones de cultivo. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*. 52(1), 113-119. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572017000100009>.
- Rodríguez-Pulido, J. A., Mira-López, T. M. y Cruz-Casallas, P. E. (2018). Determinación, diferenciación sexual y pubertad en peces. *Orinoquia*. 22(1). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7051749>.
- Saillant, E., Chatain, B., Menu, B., Fauvel, C., Odile Vidal, M. y Fostier A. (2003). Sexual differentiation and juvenile intersexuality in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *J. Zool., Lond.* 260, 53 - 63. <https://zslpublications.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1017/S0952836903003467>.
- Schulz, R. W., Renato de Franca, L., Lareyre, J., LeGac, F., Chiarini-Garia, H., Nobrega, R. H. y Miura, T. (2010). Spermatogenesis in fish. *General and Comparative Endocrinology*. 165, 390-411. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.02.013>.
- Stevenson, A., Obaíd, M., Romina, R. y Vigneaux, L. (2016). Caracterización y marcación de células germinales primordiales. *Int. J. Morphol.* 34(2), 628-636. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022016000200034>.
- Strüssmann, C. A. y Nakamura, M. (2002). Morphology, endocrinology, and environmental modulation of gonadal sex differentiation in teleost fishes. *Fish Physiology and Biochemistry*. 26(1), 13-29. <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1023343023556>.
- Strüssmann, C. A., Takashima, F. y Toda, K. (1996). Sex differentiation and hormonal feminization in pejerrey *Odontesthes bonariensis*. *Aquaculture*. 139(1-2), 31-45. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0044848695011617>.
- Williams, E. P., Peer, A. C., Miller, T. J., Secor, D. H. y Place, A. R. (2012). A phylogeny of the temperate seabasses (Moronidae) characterized by a translocation of the mt-nd 6 gene. *Journal of Fish Biology*. 80, 110-130. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1095-8649.2011.03158.x>.
- Wylie, C. (1999). Germ Cells. *Cell*. 96, 165-174. [https://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674\(00\)80557-7.pdf](https://www.cell.com/cell/pdf/S0092-8674(00)80557-7.pdf).
- Yan, H., Liu, Q., Cui, X., Shen, X., Hu, P., Liu, W., Ge, Y., Zhang, L., Liu, L., Song, C. y Liu, Y. (2019). Growth, development and survival of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae cultured under different light spectra and intensities. *Aquaculture Research*. 50, 2066–2080. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/are.14073>.

- Zavala-Leal, I., Dumas-Lapage, S. y R. Peña-Martínez. (2011). Organogénesis durante el periodo larval en peces. *Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas*. 26(2), 19-30. <https://doi.org/10.37543/oceanides.v26i2.100>.
- Zhao, C., S. Xu, Y. Liu, Y. Wang, Q. Liu y J. Li. (2017). Gonadogenesis analysis and sex differentiation in cultured turbot (*Scophthalmus maximus*). *Fish Physiol Biochem*. 43, 265-278. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10695-016-0284-5>.

Anexos

Anexo A

Solución fijadora Davidson

Tabla 4. Preparación de 1 litro (1000 ml) de solución Davidson (fijador).

Reactivo	Volumen (ml)
<i>Formaldehído 37%</i>	200
<i>Etanol 96%</i>	300
<i>Glicerina</i>	100
<i>Agua de mar filtrada</i>	300
<i>Ácido acético</i>	10

**Agitación antes del uso*

Anexo B

Solución descalcificadora de ácido nítrico

Tabla 5. Reactivos utilizados en la preparación de 100 ml descalcificador con ácido nítrico.

Reactivo	Cantidad
<i>Ácido nítrico concentrado</i>	5 ml
<i>Agua destilada</i>	95 ml

*Agitar durante el proceso

ANEXO C

Deshidratación en procesador de tejidos

Tabla 6. Técnica de deshidratación en procesador (histoquinet).

Reactivo	Tiempo (horas)
<i>Etanol 70%</i>	1
<i>Etanol 96% - I</i>	2
<i>Etanol 96% - II</i>	2
<i>Etanol 100% - I</i>	2
<i>Etanol 100% - II</i>	2
<i>Etanol 100% III</i>	1
<i>Benceno I</i>	2
<i>Benceno II</i>	2
<i>Parafina I</i>	2
<i>Parafina II</i>	2
<i>Parafina III</i>	1
<i>Total (tiempo en horas)</i>	19

ANEXO D

Desparafinación de muestras (antes de la tinción Hematoxilina-Eosina)

Tabla 7. Desparafinación e hidratación de laminillas histológicas.

Reactivo	Tiempo
<i>Xileno I</i>	10 minutos
<i>Xileno II</i>	10 minutos
<i>Etanol 100%</i>	15-20 inmersiones
<i>Etanol 95%</i>	15-20 inmersiones
<i>Etanol 70%</i>	15-20 inmersiones
<i>Etanol 50%</i>	15-20 inmersiones
<i>Etanol 30%</i>	15-20 inmersiones
<i>Agua corriente</i>	Hasta quitar exceso de alcohol

ANEXO E

Tinción Hematoxilina-Eosina

Tabla 8. Tinción Hematoxilina-Eosina.

Reactivo	Tiempo
<i>Hematoxilina de Harris</i>	2 minutos y 3 segundos (agitar lento)
<i>Agua corriente (lavado)</i>	2 minutos
<i>Alcohol ácido (0.3ml HCl / 200ml Etanol 70%)</i>	1 minuto y 5 segundos (agitar lento)
<i>Agua corriente (lavado)</i>	4-5 minutos
<i>Carbonato de Litio</i>	1 minuto
<i>Agua corriente (lavado)</i>	3 minutos
<i>Agua destilada (enjuague)</i>	
<i>Etanol 96%</i>	1 minuto
<i>Eosina "Y"</i>	30 segundos (agitar lento)
<i>Etanol 95% - I</i>	15 inmersiones
<i>Etanol 95% - II</i>	15 inmersiones
<i>Etanol 100%- I</i>	15 inmersiones
<i>Etanol 100% - I</i>	15 inmersiones
<i>Xileno I</i>	3 minutos
<i>Xileno II</i>	8 minutos