

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

**«Aplicación de técnicas histológicas para la
determinación de parámetros reproductores
en tres teleósteos marinos (Serranidae, Serranus)»**

**Autor: María Mercedes García Díaz
Director: Dr. D. José Antonio González Pérez
Dr. D^a. María José Lorente Carchano
Dr. D. Ignacio José Lozano Soldevilla**

Departamento de Biología Animal

D. JOSÉ ANTONIO GONZÁLEZ PÉREZ, Doctor en Ciencias Biológicas,
Coordinador de Programas de Biología Pesquera del Instituto Canario de Ciencias
Marinas del Gobierno de Canarias,

HACE CONSTAR:

Que la presente Memoria, titulada “**Aplicación de técnicas histológicas para la determinación de parámetros reproductores en tres teleósteos marinos (Serranidae, *Serranus*)**”, ha sido realizada bajo su dirección, habiendo sido revisada y aceptada su presentación para la colación del Grado de Doctora en Biología por la Universidad de La Laguna.

En Telde (Las Palmas), a 1 de febrero de 2000.

Dr. José A. González Pérez

Director



UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Dña. MARÍA JOSÉ LORENTE CARCHANO, Doctora en Biología, Profesora Titular de Biología Animal del Departamento de Biología Animal de la Universidad de Valencia,

HACE CONSTAR:

Que la presente Memoria, titulada “**Aplicación de técnicas histológicas para la determinación de parámetros reproductores en tres teleósteos marinos (Serranidae, *Serranus*)**”, ha sido realizada bajo su dirección, habiendo sido revisada y aceptada su presentación para la colación del Grado de Doctora en Biología por la Universidad de La Laguna.

En Valencia, a 1 de febrero de 2000.

Dra. M^a José Lorente Carchano
Directora



UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
FACULTAD DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL (CIENCIAS MARINAS)
C/. ASTROFISICO FRANCISCO SANCHEZ, S/N.
TFNO. 922 - 25 33 48 EXT. 514
38206 LA LAGUNA, TENERIFE, ISLAS CANARIAS
E S P A Ñ A

D. IGNACIO JOSÉ LOZANO SOLDEVILLA, Doctor en Ciencias Biológicas, Profesor Titular de Biología Animal del Departamento de Biología Animal de la Universidad de La Laguna,

HACE CONSTAR:

Que la presente Memoria, titulada “**Aplicación de técnicas histológicas para la determinación de parámetros reproductores en tres teleósteos marinos (Serranidae, *Serranus*)**”, ha sido ratificada para su presentación para la colación del Grado de Doctora en Biología por la Universidad de La Laguna, conteniendo el rigor científico imprescindible que requieren las Tesis Doctorales.

La Laguna, a 1 de febrero de 2000.

Dr. Ignacio J. Lozano Soldevilla
Tutor

*A mis padres y a Víctor,
que me han soportado
me están soportando
y es de esperar
seguirán soportándome.*

Mercedes

ÍNDICE

ÍNDICE

PARTE I: GENERALIDADES

INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	2
ASPECTOS TAXONÓMICOS, BIOLÓGICOS Y PESQUEROS	4
Posición taxonómica del género <i>Serranus</i>	4
<i>Serranus atricauda</i> Günther, 1874	4
<i>Serranus cabrilla</i> (Linnaeus, 1758)	8
<i>Serranus scriba</i> (Linnaeus, 1758)	11
ÁREA DE ESTUDIO	14
Localización	14
Características oceanográficas	15
Archipiélago Chinijo	15
Gran Canaria	15
Fuerteventura	16

PARTE II: ASPECTOS MORFOLÓGICOS DE LA GAMETOGÉNESIS

INTRODUCCIÓN	17
MATERIAL BIOLÓGICO	23
METODOLOGÍA	23
Microscopía óptica (MO)	23
Microscopía electrónica	24
Obtención y tratamiento de muestras	24
Microscopía electrónica de transmisión (MET)	25
Microscopía electrónica de barrido (MEB)	26
Observación e interpretación de imágenes	26
RESULTADOS	28
Estados de desarrollo del ovocito	28
Fase previtelogénica	29
Fase vitelogénica	30

Fases de reabsorción del folículo	32
Procesos de degeneración del ovocito	34
Estados de espermatogénesis	54
Células de Sertoli	54
Espermatocitogénesis	55
Meiosis	55
Espermiogénesis	56
Morfología comparada del espermatozoide	56
DISCUSIÓN	74
Estados de desarrollo del ovocito	74
Estados de espermatogénesis	81

PARTE III: PARÁMETROS BIOLÓGICOS DE LA REPRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN	85
Sexualidad y estados de madurez	85
Época de puesta	87
Curva de madurez	88
Fecundidad	89
MATERIAL BIOLÓGICO	92
METODOLOGÍA	95
Muestreo	95
Sexualidad y estados de madurez sexual	96
Época de puesta	97
Curva de madurez	98
Fecundidad	100
Fecundidad parcial	100
Frecuencia de puesta	101
Fecundidad total	101
RESULTADOS	102
Sexualidad.....	102
Identificación de estados de madurez sexual	103
Clasificación macroscópica	103
Clasificación histológica	112

Precisión de la clasificación macroscópica	120
Descripción del ciclo reproductor	120
Época de puesta	128
<i>Serranus atricauda</i>	128
<i>Serranus cabrilla</i>	135
<i>Serranus scriba</i>	142
Curva de madurez sexual	150
<i>Serranus atricauda</i>	150
<i>Serranus cabrilla</i>	152
<i>Serranus scriba</i>	154
Fecundidad	156
Fecundidad parcial	156
Frecuencia de puesta	157
Fecundidad total	157
DISCUSIÓN	159
Sexualidad y fertilización	159
Estados de madurez sexual	162
Época de puesta	166
Curva de madurez sexual	170
Fecundidad	171
PARTE IV: CONCLUSIONES	
CONCLUSIONES	173
PARTE V: AGRADECIMIENTOS	
AGRADECIMIENTOS	177
PARTE VI: BIBLIOGRAFÍA	
BIBLIOGRAFÍA	181
PARTE VII: APÉNDICES	
APÉNDICE A: DESCRIPCIÓN DE TÉCNICAS	
HISTOLÓGICAS	209
APÉNDICE B: PUBLICACIONES DE LA TESIS DOCTORAL	215

GENERALIDADES

I

“... sólo puedo señalar que si no encontrase mis propias payasadas y las de mis prójimos, los animales —desde políticos hasta pavos reales—, irresistiblemente cómicas, no tendría el valor de hacer lo que estoy haciendo. La situación actual del mundo, biológicamente hablando, es tan seria, y el futuro parece tan negro, que uno necesita las luciérnagas del humor para alumbrarse el camino”

Gerald Durrell

INTRODUCCIÓN

La determinación del sexo y de los cambios en las fases de madurez que ocurren durante un ciclo anual son de enorme importancia para adquirir un conocimiento completo de la biología general de una población explotada y forman parte de su evaluación fundamental. La morfología microscópica constituye un elemento clave en el estudio de la biología, ya que sirve como elemento integrante de las diversas ramas de la ciencia, permitiendo armonizar datos puramente morfológicos con aspectos fisiológicos, genéticos o ecológicos. El estudio comparado de la estructura microscópica de los animales contribuye a trazar las líneas maestras que han presidido el desarrollo evolutivo y la adaptación a los diferentes ambientes, a la par que pone de manifiesto la unidad esencial de todos los seres vivos (Paniagua y Nistal, 1983).

La información obtenida a partir de análisis microscópicos proporciona conocimientos sobre la biología reproductora, utilizándose posteriormente para establecer parámetros tales como la talla a la que los peces alcanzan la madurez sexual, el momento de la reproducción, duración del ciclo reproductor o estimaciones de fecundidad. Asimismo, el conocimiento de estos parámetros biológicos es fundamental para la ordenación, regulación y conservación de los recursos pesqueros (Holden y Raitt, 1975).

Los estudios sobre sexualidad y aspectos reproductores realizados en especies ictiológicas de Canarias pueden considerarse escasos y, en su totalidad, han sido llevados a cabo mediante la metodología tradicional, la cual consiste en el examen macroscópico de las glándulas sexuales y en sistemas subjetivos de asignación de estados de madurez. Es el caso de los trabajos sobre *Mullus surmuletus* (Pajuelo, 1997), *Sparisoma cretense* (González, 1991a; González y Lozano, 1992; González *et al.*, 1993), *Promethichthys prometheus* (Lorenzo y Pajuelo, 1995), *Scomber japonicus* (Lorenzo, 1992), *Pagrus pagrus* (González *et al.*, 1990; Pajuelo y Lorenzo, 1996), *Pagellus acarne* (Pajuelo y Lorenzo, 1994), *Dentex gibbosus* (Pajuelo y Lorenzo, 1995) y otros espáridos (González *et al.*, 1990; Lozano *et al.*, 1990a). Sin embargo, únicamente se han aplicado técnicas histológicas en trabajos de reproducción en *Sparisoma cretense* (González, 1991a) y en algunas especies de morenas (Murenidae) (Jiménez, 1997), si bien, dichos estudios se refieren a caracterizaciones generales de la estructura gonadal sin llegar a relacionarlas, en

ningún caso, con aspectos reproductores.

A la vista de lo anterior, la información disponible sobre la biología reproductora de las especies ícticas en Canarias es incompleta y puede ser insuficiente para su control y gestión, máxime cuando en los últimos años se están observando grandes desequilibrios ecológicos que indican un alto grado de sobreexplotación de muchas especies (Franquet y Brito, 1995; Pajuelo, 1997).

Se puede concluir que, a pesar de la importancia de este tipo de trabajos, los estudios sobre histología gonadal en peces, y su aplicación al campo de la biología y ordenación de las pesquerías, constituyen una nueva línea de investigación en Canarias.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La disminución de errores en la asignación de estados de madurez sexual y en la estimación de la fecundidad en teleósteos, así como un cálculo más realista de los parámetros reproductores, constituyen la base de la investigación reciente.

Teniendo en consideración que en Canarias los estudios sobre la reproducción de peces se han basado, hasta ahora, en características externas de las gónadas, en el presente trabajo se pretende llevar a cabo una serie de análisis histológicos que definan con exactitud el desarrollo ovárico y testicular de peces ovíparos, las etapas que atraviesan las glándulas sexuales durante el ciclo reproductor y la aplicación de estos conocimientos en estudios biológico-pesqueros.

Entre las especies que han sido abordadas en diferentes proyectos de investigación del Instituto Canario de Ciencias Marinas y del Departamento de Biología Animal de la Universidad de La Laguna, se seleccionaron las del género *Serranus* Cuvier, 1817 presentes en Canarias, es decir, *S. atricauda* Günther, 1874, *S. cabrilla* (Linnaeus, 1758) y *S. scriba* (Linnaeus, 1758). La elección de tales especies se debe a su intensa explotación pesquera en el archipiélago canario, siendo los serránidos con mayores capturas de las Islas (Pérez-Barroso *et al.*, 1993; Franquet y Brito, 1995; Pajuelo, 1997).

Por otra parte, la familia Serranidae está especializada en gran variedad de mecanismos reproductores, presentando diversos modelos estructurales y

funcionales de sexualidad. Las especies del género *Serranus* exhiben el modelo más primitivo de hermafroditismo dentro de la familia Serranidae (Smith, 1965). Sin embargo, en Canarias no existen estudios sobre sexualidad y reproducción referidos a estos tres Serránidos y, a pesar de su interés económico, la información disponible sobre su biología reproductora es, hoy en día, prácticamente nula. La fuerte explotación a que están sometidos estos recursos, unida a su elevada representatividad cualitativa y cuantitativa en las capturas, abocan a la necesidad de ordenar y regular sus pesquerías.

En consecuencia, el presente trabajo tiene como objetivos generales los siguientes:

(1) Descripción del desarrollo ovárico y testicular, como base previa e imprescindible para el conocimiento preciso del ciclo reproductor. Este primer objetivo se aborda más específicamente en la parte II: aspectos morfológicos de la gametogénesis.

(2) Determinación de aspectos de la biología reproductora de las especies a través de la observación macroscópica y microscópica de las gónadas, identificación de los problemas concernientes al uso de escalas de clasificación tradicional y, finalmente, la influencia de los mismos en la determinación de diferentes parámetros biológicos básicos. Este segundo objetivo se aborda más específicamente en la parte III: aspectos biológicos de la reproducción.

El presente trabajo es, por tanto, el primero de estas características que se realiza en Canarias.

ASPECTOS TAXONÓMICOS, BIOLÓGICOS Y PESQUEROS DE LAS ESPECIES

POSICIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO *SERRANUS*

La posición taxonómica de las especies del género *Serranus* ha sido establecida de acuerdo con Nelson (1994):

SUPERCLASE GNATHOSTOMATA

Grado Teleostomi

Clase Actinopterygii

Subclase Neopterygii

División Teleostei

Subdivisión Euteleostei

Superorden Acanthopterygii

Serie Percomorpha

Orden Perciformes

Suborden Percoidei

Superfamilia Percoidea

Familia Serranidae

Subfamilia Serraninae

Género *Serranus* Cuvier, 1817

Serranus atricauda Günther, 1874

Nombre vulgares

FAO: Español- Serrano imperial

Inglés - Blacktail comber

Francés - Serran à queue noir

Islas Canarias: Cabrilla negra, cabrilla ruana.

Diagnosis

Cuerpo alargado. Cabeza en forma de cuña con 3 espinas operculares y el espacio interorbitario desnudo. Dientes caniniformes en ambas mandíbulas.

Rama inferior del primer arco branquial con 14 ó 15 branquiespinas. Escamas ctenoideas de pequeño tamaño, presentando desde 80 a 90 en la línea lateral, de las cuales entre 73 y 80 tienen forma tubular. Aleta caudal de aspecto truncado a ligeramente escotado. Las fórmulas radiales son D: X + 15-16, A: II + 8 (Lozano y Rey, 1952; Smith, 1981, 1990; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987) (Fig. I-1).



Figura I-1. Ejemplar de cabrilla negra, *Serranus atricauda*. (Foto: J.M. Falcón).

Coloración

Flancos laterales pardo oscuro y vientre rosáceo, atravesados por 4 ó 5 bandas marrón oscuro, entre las que hay otras menores irregulares del mismo color. El borde superior del maxilar presenta una línea azul oblicua y otra paralela. Los lóbulos caudales tienen el extremo negro. Las aletas dorsal, anal y caudal presentan punteaduras azules. Las aletas pectorales y ventrales son de color pardo pálido (Lozano y Rey, 1952; Smith, 1981, 1990; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987).

Tamaño y crecimiento

La talla máxima recogida en la literatura es de 35 cm de longitud estándar, oscilando sus tallas más comunes alrededor de 25 cm en el Atlántico y entre 20

y 30 cm en el Mediterráneo (Smith, 1981; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987; Costa *et al.*, 1998).

En Canarias se ha observado una longitud total máxima de 45 cm (Franquet y Brito, 1995; Uiblein *et al.*, 1998). La especie crece de forma continuada durante todo el año, si bien la etapa de crecimiento más lento tiene lugar en primavera-verano; los parámetros de crecimiento son: $L_{\infty}= 49,52$ cm LT, $k= 0,111$ años⁻¹ y $t_0=-0,762$ años (Tuset, 2000).

Distribución geográfica

Esta especie se distribuye por el Atlántico oriental: desde el Golfo de Vizcaya hasta el sur de Mauritania, incluidas las islas Azores, Madeira y Canarias. En el Mediterráneo es poco común y se localiza en las costas de Marruecos, Argelia, España y sur de Francia (Tortonese, 1986; Francour y Harmelin, 1988).

Hábitat

Se trata de una especie demersal que habita sobre fondos rocosos o coralinos de la plataforma continental superior, hasta una profundidad de 90 m (Smith, 1981; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987).

En Canarias la especie vive en un hábitat bentónico sobre fondos rocosos y rocoso-arenosos hasta unos 150 m de profundidad (Pizarro, 1985; Lozano *et al.*, 1990b; Brito, 1991; González *et al.*, 1993; Franquet y Brito, 1995).

Alimentación

En el Mediterráneo la especie es carnívora y se alimenta de peces e invertebrados (Smith, 1981; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987). En el Atlántico (islas Azores) sus presas principales son peces y crustáceos decápodos, apareciendo ocasionalmente gasterópodos, bivalvos y taliáceos (Morato, 1995).

En Canarias Rico *et al.* (1996) indicaron una dieta similar a las anteriormente descritas, predominando los crustáceos de la familia Galatheidae.

Consideraciones pesqueras

En el Mediterráneo se realizan capturas de la especie en la pesca artesanal y deportiva. Los métodos de pesca consisten en artes de playa, artes de arrastre, redes de enmalle, palangres de fondo, líneas de mano y nasas. Raramente presente en los mercados, se comercializa en fresco (Bauchot, 1987).

En el Atlántico centro-oriental no existen estadísticas de captura separadas para esta especie, que es pescada mediante líneas de mano, artes de arrastre de fondo y redes de enmalle. Su comercialización es en fresco (Smith, 1981).

En Canarias es común, objeto de una pesquería artesanal de cierta importancia local (González, 1991b) sobre las plataformas y taludes superiores de todas las Islas, aunque el nivel de capturas oscila enormemente según las islas, e incluso según los puertos. La especie es principalmente capturada por medio de artes de anzuelo (líneas y palangres de fondo) (apareciendo junto a su congénere *Serranus cabrilla* (Linnaeus, 1758)) y mediante nasas camaroneras (junto a *Plesionika narval* (J.C. Fabricius, 1787) y *Plesionika edwardsii* (Brandt, 1851)) y, en menor medida, por medio de nasas para peces y artes de enmalle (Pérez-Barroso *et al.*, 1993). Ambos serránidos son las especies más abundantes en las capturas realizadas con nasas entre 110 y 200 m en Gran Canaria (Lozano *et al.*, 1990b). En general no existen estadísticas pesqueras fiables ni tan siquiera completas y, en las disponibles, las descargas de ambas especies de *Serranus* se reúnen conjuntamente bajo el epígrafe de “cabrillas” (Pérez-Barroso *et al.*, 1993). Carrillo *et al.* (1985) cifraron en 9,3 Tm las descargas de éstas en las dos islas más orientales (Lanzarote y Fuerteventura), prácticamente capturadas en su totalidad con líneas de mano entre 1982 y 1983. González *et al.* (1991, 1992) dieron la cifra de alrededor de 50 Tm descargadas en el puerto de Mogán (Gran Canaria) entre 1981 y 1991. Pérez-Barroso *et al.* (1993) registraron una descarga de 29,8 Tm para un conjunto de puertos de las cinco islas más occidentales durante el trienio 1988-1990. Del conjunto de estas estadísticas fragmentadas puede estimarse una captura anual alrededor de 35 Tm para todo el Archipiélago. Franquet y Brito (1995) argumentan que dichas especies se encuentran en franca regresión al ser muy buscadas en la pesquería litoral y, como consecuencia de ello, sus capturas han disminuido considerablemente desde 10 Tm en 1987 a 5 Tm en 1993 (La Restinga, El Hierro).

Serranus cabrilla (Linnaeus, 1758)

Nombres vulgares

FAO: Español - Cabrilla

Inglés - Comber, cabrilla seabass

Francés - Serran chèvre, serran cabrille

Islas Canarias: Cabrilla, cabrilla reina, cabrilla rubia, cabrilla de fuera, cabrilla melera.

Diagnosis

Cuerpo alargado y ligeramente comprimido. La cabeza tiene forma de cuña con 3 espinas operculares y el espacio interorbitario desnudo. Los dientes son caniniformes en ambas mandíbulas. La rama inferior del primer arco branquial contiene entre 13 y 16 branquiespinas. Las escamas son ctenoideas y de pequeño tamaño, presentando un número inferior a 80 (normalmente entre 72 y 78) en la línea lateral, de las cuales entre 63 y 66 tienen aspecto tubular. Aleta caudal de aspecto truncado a ligeramente escotado. Las fórmulas radiales son D: X + 13-15, A: II + 7-8 (Robins y Starck, 1961; Smith, 1981, 1990; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987) (Fig. I-2).



Figura I-2. Ejemplar de cabrilla rubia, *Serranus cabrilla*. (Foto: J.M. Falcón).

Coloración

Presenta el fondo amarillo-rojizo, amarillento grisáceo o rojizo. Los flancos presentan 2 ó 3 líneas longitudinales más oscuras amarillas o rojizas, que se cruzan con 7 ó 9 bandas transversales parduscas. Los laterales de la cabeza tienen 3 líneas oblicuas amarillas o anaranjadas. Las aletas impares tienen puntos brillantes violeta pálido. La coloración puede variar con el sexo, la edad y el hábitat, estando menos coloreados los individuos de aguas más profundas (Robins y Starck, 1961; Oliver *et al.*, 1980; Smith, 1981, 1990; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987).

Tamaño y crecimiento

La talla máxima citada en la literatura para esta especie es de 40 cm de longitud estándar, oscilando sus tallas más comunes entre 20 y 25 cm en el Atlántico y desde 10 hasta 25 cm en el Mediterráneo (Smith, 1981, 1990; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987).

En Canarias se ha observado una longitud total máxima de 45 cm (Franquet y Brito, 1995). La especie crece de forma continuada durante todo el año, si bien la etapa de crecimiento más lento tiene lugar en primavera-verano; los parámetros de crecimiento son: $L_{\infty} = 27,39$ cm LT, $k = 0,214$ años⁻¹ y $t_0 = -1,101$ años (Tuset, 2000).

Distribución geográfica

Esta especie se distribuye por todo el Mediterráneo y mar Negro sur-occidental. En el Atlántico oriental, desde el sur de Inglaterra (ocasionalmente en el mar del Norte) hasta Angola, incluidas las islas Azores, Madeira y Canarias; en Sudáfrica (hasta Natal) y en el mar Rojo (Smith, 1981, 1990; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987).

Hábitat

Se trata de una especie demersal que habita sobre fondos rocosos, praderas de fanerógamas, fondos arenosos y fangosos de la plataforma continental y del

talud superior. Habita desde la costa hasta alrededor de 450-500 m de profundidad en el Mediterráneo (Smith, 1981, 1990; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987).

En Canarias la especie vive principalmente sobre fondos rocosos, aunque los juveniles se encuentran también en los rocoso-arenosos entre 5 y 300 m, aunque es más abundante por debajo de los 50 m (Pizarro, 1985; Lozano *et al.*, 1990b; Brito, 1991; González *et al.*, 1993; Franquet y Brito, 1995).

Alimentación

En el Mediterráneo la especie se alimenta principalmente de crustáceos (galateidos, carideos y misidáceos), complementando su dieta con peces y cefalópodos (Bell y Harmelin-Vivien, 1983; Benmouna *et al.*, 1986; Tuset *et al.*, 1997).

En Canarias Tuset *et al.* (1996, 1997) encontraron una dieta similar a la descrita en el Mediterráneo, predominando los crustáceos de la familia Galatheidae.

Consideraciones pesqueras

En el Mediterráneo se realizan capturas accesorias de la especie en la pesca semi-industrial (Sicilia, Túnez y Chipre), artesanal y deportiva, alrededor de 20 Tm por año en la ex-Yugoslavia y 6 Tm en Chipre (Bauchot, 1987). Los métodos de pesca consisten en artes de playa, artes de arrastre, redes de enmalle, palangres de fondo, líneas de mano y nasas. Regularmente presente en los mercados de Italia (incluida Sicilia), Turquía, Grecia, Marruecos, Chipre y Túnez, se comercializa en fresco y congelada (Bauchot, 1987).

En el Atlántico centro-oriental los lugares de pesca actuales se encuentran ampliamente repartidos por el conjunto de las plataformas continentales. No existen estadísticas de captura separadas para esta especie, que es pescada mediante líneas de mano, artes de arrastre de fondo y redes de enmalle. Se comercializa fresca, salada y posteriormente secada, y ahumada; también es transformada en harina de pescado por las flotas de altura (Smith, 1981).

En Canarias la especie es objeto de una pesquería artesanal de cierta importancia local (González, 1991b). Para más información ver consideraciones pesqueras sobre *S. atricauda*.

***Serranus scriba* (Linnaeus, 1758)**

Nombres vulgares

FAO: Español - Serrano
Inglés - Painted comber
Francés - Serran écriture
Islas Canarias: Cabrilla pintada, vaquita.

Diagnosis

Cuerpo alargado y ligeramente comprimido. La cabeza tiene forma puntiaguda con 3 espinas operculares y el espacio interorbitario desnudo. Los dientes son caniniformes en ambas mandíbulas. La rama inferior del primer arco branquial contiene entre 12 y 14 branquiespinas. Las escamas son ctenoideas y de pequeño tamaño, presentando entre 65 y 75 en la línea lateral, de las cuales entre 59 y 61 tienen aspecto tubular. Aleta caudal de aspecto truncado a ligeramente redondeado. Las fórmulas radiales son D: X + 14-16, A: II + 7-8 (Robins y Starck, 1961; Smith, 1981; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987) (Fig. I-3).

Coloración

Presenta el fondo ocre rojizo que pasa a rosado en la región cefálica y pectoral, y anaranjado en la región caudal. En la parte baja de los flancos, por encima de la región anal, suele presentar una mancha azulada. Los flancos presentan 5 ó 7 líneas verticales parduscas frecuentemente ramificadas por abajo. Los costados de la cabeza están surcados por numerosas líneas azul o lila que forman un retículo semejante a signos de escritura (= *scriba*) desconocida (Lozano Rey, 1952; Robins y Starck, 1961; Smith, 1981, 1990; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987).

Tamaño y crecimiento

La talla máxima referida en la literatura para esta especie es 36 cm de longitud

estándar, oscilando sus tallas más comunes alrededor de 25 cm en el Atlántico y entre 10 y 25 cm en el Mediterráneo (Smith, 1981; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987).

En Canarias se ha observado una longitud total máxima de 36 cm (Franquet y Brito, 1995). La especie crece de forma continuada durante todo el año, si bien la etapa de crecimiento más lento tiene lugar en primavera-verano; los parámetros de crecimiento son: $L_{\infty}= 34,18$ cm LT, $k= 0,125$ años⁻¹ y $t_0=-2,504$ años (Tuset, 2000).

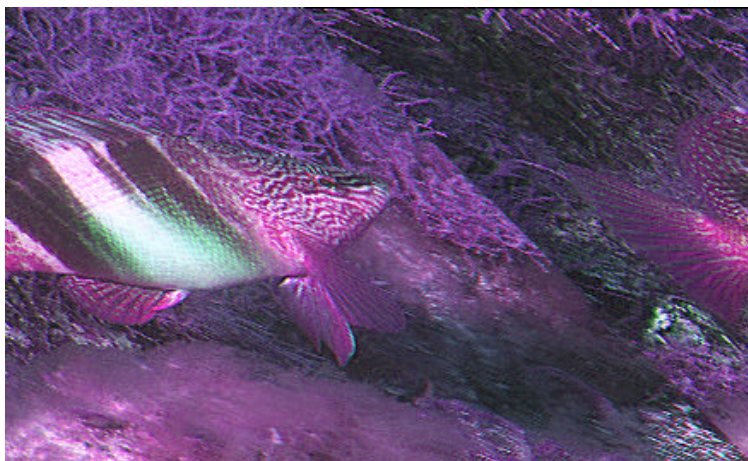


Figura I-3. Ejemplar de vaquita, *Serranus scriba*. (Foto: J.M. Falcón).

Distribución geográfica

Esta especie se distribuye por todo el Mediterráneo, mar Negro y, en el Atlántico oriental, desde el Golfo de Vizcaya hasta Senegal, incluyendo las islas Azores, Madeira y Canarias, incluso localizándose algunos ejemplares en Suráfrica (hasta Natal) (Smith, 1981, 1990; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987).

Hábitat

Se trata de una especie demersal que habita sobre fondos rocosos o praderas de fanerógamas, desde la costa hasta unos 150 m de profundidad, aunque es más común hasta 30 m (Smith, 1981; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987).

En Canarias la especie es frecuente en las islas orientales y ocasional en las occidentales. Bentónica, habita sobre fondos rocosos y rocoso-arenosos litorales, especialmente en los cubiertos de algas, hasta 80 m de profundidad (Cruz *et al.*, 1990; Brito, 1991; González *et al.*, 1993; Franquet y Brito, 1995).

Alimentación

En el Mediterráneo la especie es un predador voraz que se alimenta principalmente de crustáceos, complementando su dieta con peces y moluscos (Robins y Starck, 1961; Smith, 1981; Benmouna *et al.* 1986; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987; Arcuelo *et al.*, 1993).

En Canarias Moreno-López *et al.* (en revisión, b) han encontrado una dieta similar a la descrita en el Mediterráneo, predominando los crustáceos (familias Galatheididae, Majidae, Xanthidae y Alpheidae) y osteictios.

Consideraciones pesqueras

En el Mediterráneo se realizan capturas de la especie en la pesca artesanal y deportiva. Los métodos de pesca consisten en artes de playa, artes de arrastre, redes de enmalle, palangres de fondo, líneas de mano y nasas. Habitual u ocasionalmente presente en los mercados, se comercializa en fresco (Bauchot, 1987).

En el Atlántico centro-oriental los lugares de pesca actuales se encuentran ampliamente repartidos por el conjunto de las plataformas continentales. No existen estadísticas de captura separadas para esta especie, que es pescada mediante líneas de mano y, ocasionalmente, con artes de arrastre. Se comercializa sobre todo en fresco (Smith, 1981).

En Canarias sus capturas son escasas, concentrándose en zonas concretas de las islas orientales (Cruz *et al.*, 1990). La especie es principalmente capturada por medio líneas de mano, nasas y redes de enmalle (Franquet y Brito, 1995). No existen estadísticas de pesca disponibles, ya que el volumen de capturas es bajo (Pérez-Barroso *et al.*, 1993). Debido al pequeño tamaño de las poblaciones insulares y al efecto negativo de la actividad pesquera, *S. scriba* está incluida en la lista de especies amenazadas en las islas Canarias (Bonnet Fernández-Trujillo y Rodríguez-Fernández, eds., 1992).

ÁREA DE ESTUDIO

Para la realización de este trabajo se estudiaron individuos pertenecientes al género *Serranus* recolectados en las islas Canarias (Atlántico centro-oriental).

LOCALIZACIÓN

Las islas Canarias conforman un archipiélago atlántico que se localiza entre 27° 35' y 29° 25' de latitud Norte, y entre 13° 25' y 18° 16' de longitud Oeste, cerca de la costa oeste africana. Este archipiélago está constituido por siete islas mayores -Lanzarote, Fuerteventura, Gran Canaria, Tenerife, La Gomera, El Hierro y La Palma- y una serie de islotes o roques (Lobos, entre Fuerteventura y Lanzarote; y La Graciosa, Alegranza, Montaña Clara, Roque de Este y Roque del Oeste o del Infierno, conformando el “archipiélago chinijo” al norte de Lanzarote).

A continuación señalaremos la situación geográfica y las características oceanográficas más destacadas de las zonas de procedencia del material examinado en el presente estudio (Fig. I-4).

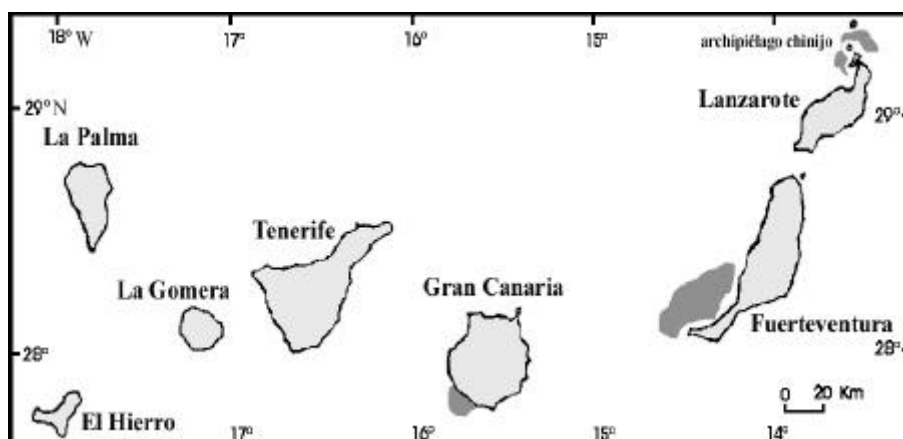


Figura I-4. Localización de áreas de estudio (zonas sombreadas) en el archipiélago canario.

CARACTERÍSTICAS OCEANOGRÁFICAS

Archipiélago chinijo

La Graciosa es el único islote habitado y el más cercano a Lanzarote, por el contrario Alegranza es el más distante (29° 12'-29° 27' latitud Norte, 13° 17'-13° 34' longitud Oeste). Las aguas que circundan estos islotes se caracterizan por estar muy influenciadas por el afloramiento africano, lo que las configura como un ecosistema particular respecto al resto de las Islas (Brito *et al.*, 1997).

En general, la temperatura superficial del agua oscila a lo largo del año entre 18,5 y 21,5°C, observándose un incremento desde marzo hasta septiembre para, a continuación, disminuir hasta marzo. La salinidad varía muy poco anualmente (de 36,8 a 36,9 USP), aunque presenta una tendencia similar a la temperatura, uniforme en primavera y verano y después una ligera disminución (Brito *et al.*, 1997). A nivel de las capas superficiales se han encontrado variaciones de fosfatos, nitratos y nitritos, siendo más altos en diciembre y primavera. Los valores de biomasa, estimada como clorofila *a*, indican un claro ciclo estacional de fitoplancton con máximos en primavera (0,18-0,75 mg Cl *a*/m³) seguidos de valores menores el resto del año (0,07 a 0,13 mg Cl *a*/m³). Siguiendo una distribución cíclica similar al fitoplancton, la producción primaria es más alta en primavera, valores entre 0,37 y 2,09 mg C/m³·h, aunque durante el resto del año la productividad es alta si se compara con el valor medio del resto del Archipiélago. Por su parte, el zooplancton presenta un patrón muy parecido a las biomásas de fitoplancton y producción primaria (Brito *et al.*, 1997).

Gran Canaria

Situada en la zona central del Archipiélago, la localidad de estudio se caracteriza porque la temperatura superficial del agua oscila a lo largo del año entre 18 y 24°C, mostrando un aumento desde marzo hasta septiembre (Bordes *et al.*, 1994). En profundidad, la temperatura disminuye desde 16-17°C, a 200 m, hasta 7-8°C, a 1000 m (Braun, 1980; Llinás *et al.*, 1993; Barton *et al.*, 1998). La salinidad varía muy poco en los primeros metros de la columna de agua, de 36,54 a 36,64 USP en los primeros 100 m, aunque tiende a disminuir con el aumento de la profundidad, 35,13 USP a 1000 m (Llinás *et al.*, 1993; Barton *et al.*, 1998).

Desde el punto de vista de los nutrientes, las aguas de este sector se caracterizan por ser oligotróficas (Llinás *et al.*, 1993; Barton *et al.*, 1998). Estos autores determinaron valores de fosfatos en superficie de $0,18 \text{ } \mu\text{mol/dm}^3$, con un mínimo a 20 m de profundidad ($0,13 \text{ } \mu\text{mol/dm}^3$) y un máximo profundo localizado a 900 m ($1,71 \text{ } \mu\text{mol/dm}^3$). Los valores conjuntos de nitritos y nitratos presentan una tendencia creciente con un mínimo superficial a 30 m ($0,45 \text{ } \mu\text{mol/dm}^3$) y un máximo a 900 m ($26,30 \text{ } \mu\text{mol/dm}^3$). Los silicatos presentan una distribución semejante, con valores comprendidos entre $0,27 \text{ } \mu\text{mol/dm}^3$ a 30 m y $18,62 \text{ } \mu\text{mol/dm}^3$ a 1000 m.

Los valores de biomasa, estimada como clorofila *a* son muy bajos, oscilando entre $0,15\text{-}0,25 \text{ mg Cl a/m}^3$ (Bordes *et al.*, 1987; Arístegui, 1990; Barton *et al.*, 1998). Los índices de producción fitoplanctónica suelen ser paralelos a la temperatura, apareciendo el máximo de productividad en los sectores donde se producen desplazamientos de las masas de agua (Bordes *et al.*, 1994). Por su parte el zooplancton presenta un máximo estacional a finales de invierno y principios de primavera (Braun, 1981).

Fuerteventura

Localizada entre Gran Canaria y Lanzarote, es la isla con mayor plataforma continental. A diferencia de las otras dos zonas de estudio, no existen trabajos que recojan la variación anual de los parámetros físico-químicos del agua. No obstante, los análisis realizados hasta la fecha señalan, de forma inequívoca, que en el archipiélago canario existe un importante gradiente este-oeste condicionado por el afloramiento costero africano, observándose una fuerte influencia en las islas de Lanzarote y Fuerteventura donde las aguas son menos salinas y de mayor contenido en nutrientes (Barton, 1992a, b; Llinás *et al.*, 1994). De las distintas campañas realizadas por el Departamento de Oceanografía del ICCM en dicha isla (datos no publicados), se deduce que existe una variación similar a la señalada con anterioridad en la isla de Lanzarote: a 10 m de profundidad la temperatura varía anualmente desde 19 a $22 \text{ } ^\circ\text{C}$, y la salinidad entre $36,50$ y $37,00 \text{ USP}$, siendo estos valores más bajos a finales del invierno y más altos al acabar el verano. En consecuencia y para la presente Memoria, se considerará que el patrón de los parámetros oceanográficos varía en esta isla de igual manera que en Lanzarote.

ASPECTOS MORFOLÓGICOS DE LA GAMETOGENESIS

II

“Desde hace tiempo resultó evidente que la clave de cualquier problema biológico finalmente ha de buscarse en la célula, ya que cualquier organismo viviente es, o ha sido alguna vez, una célula.”

Edmund B. Wilson

INTRODUCCIÓN

La diversidad de especies en teleósteos se pone de manifiesto en una amplia variedad de estrategias reproductoras. El interés en la reproducción de peces ha aumentado paralelamente a su importancia económica, debido a que es necesario un conocimiento exhaustivo de aquélla, para asegurar la supervivencia de las especies (Selman y Wallace, 1989).

Los estudios sobre reproducción, tales como los relativos a delimitación de época de puesta, cálculo de tallas de madurez y estimación de fecundidades, requieren el conocimiento del estado de desarrollo gonadal (West, 1990), utilizándose generalmente para su determinación métodos basados en el peso o en la apariencia externa de la gónada (Grunwaldt, 1986; Pajuelo y Lorenzo, 1994, 1996; Lorenzo y Pajuelo, 1995). Frecuentemente, para conocer la condición reproductora de una población se realizan muestreos representativos de ésta o, en especies de talla grande, se lleva a cabo por canulación a través del poro genital de cada individuo (Selman y Wallace, 1989). Estos métodos son imprecisos y subjetivos (West, 1990), por lo que un conocimiento más completo requiere análisis más detallados usando técnicas histológicas, las cuales ofrecen una visión de los cambios ocurridos a nivel celular (Polder, 1961; Treasurer y Holliday, 1981; Isaac-Nahum, 1981; Crim y Glebe, 1990; Patino *et al.*, 1996). Por consiguiente, el entendimiento del desarrollo del ovocito y del espermatozoido es requisito previo para evaluar apropiadamente la condición reproductora de una especie (Wallace y Selman, 1981; Selman y Wallace, 1986, 1989; Mayer *et al.*, 1990; Grau *et al.*, 1996). Sin embargo, la mayor parte de la información existente sobre gametogénesis proviene de un número relativamente pequeño de “especies de laboratorio” (de fácil obtención y/o manipulación) y fundamentalmente de aquéllas que proceden de cultivo o tienen gran importancia comercial (Jamieson, 1991; Nagahama, 1994; Tyler y Sumpter, 1996), siendo escasos los estudios relativos a especies de menor valor económico o que, aun siendo relevantes, pertenecen a pesquerías regionales.

En sentido estricto, la ovogénesis consiste en la transformación de la ovogonia en ovocito primario, mientras que la foliculogénesis comienza cuando los ovocitos se recubren con una capa de células planas denominada folículo (Dodd, 1977). Sin embargo, numerosos trabajos utilizan el término ovogénesis como el proceso de crecimiento y maduración desde la ovogonia hasta el ovocito maduro (Iwamatsu *et al.*, 1988; Kjesbu y Kryvi, 1989;

GAMETOGÉNESIS

Nagahama *et al.*, 1993; Nagahama, 1994; Grau *et al.*, 1996).

Se han realizado diversas revisiones del crecimiento del ovocito observándose un comportamiento básico general en la mayoría de las especies (Wallace y Selman, 1981; DeVlaming, 1983; Selman y Wallace, 1986, 1989; Tyler y Sumtper, 1996). Según esto, se establecen tres modelos básicos en la organización dinámica del ovario de teleósteos: sincrónico, sincrónico por grupos y asincrónico (Marza, 1938 en Wallace y Selman, 1981). En el ovario sincrónico todos los ovocitos se desarrollan y ovulan al unísono, no habiendo reposición de estados de crecimiento iniciales y presentándolo aquellos teleósteos que ovulan una sola vez y después mueren. Este es el caso de *Anguilla anguilla* y *Oncorhynchus spp.* (Wallace y Selman, 1981). En el modelo sincrónico por grupos, el ovario contiene, al menos, dos grupos de ovocitos al mismo tiempo; un grupo homogéneo de ovocitos grandes y otro heterogéneo con células de menor tamaño desde el cual se recluta el primer grupo. Este modelo se observa en *Clupea harengus* (Bowers y Holliday, 1961 en Wallace y Selman, 1981), *Dicentrarchus labrax* (Mayer *et al.*, 1990), *Seriola dumerili* (Grau *et al.*, 1996), *Centropristis striata* (Cerdá *et al.*, 1996), *Lepidopus caudatus* (Moreno-López *et al.*, en revisión, a), etc. Por último, el ovario asincrónico presenta, durante la época de puesta, todos los estados de desarrollo del ovocito al mismo tiempo. Este tipo de ovario lo posee gran número de teleósteos marinos, tales como *Seriphys politus* (DeMartini y Fountain, 1981), *Solea solea* (Ramos, 1983), *Gadus morhua* (Kjesbu y Krivi, 1989), *Diplectrum formosum* (Obando y León, 1989), *Scomber scombrus* (Witthames y Greer Walker, 1991), *Ophidion barbatum* (Casadevall *et al.*, 1993), *Engraulis capensis* (Melo, 1994a, b) o *Micropogonias undulatus* (Barbieri *et al.*, 1994).

Además de ovocitos en diferente estado de desarrollo, en un ovario activo se han identificado diferentes procesos de degeneración y reabsorción de folículos post-ovulatorios y atrésicos, clasificándolos en una serie de estados histológicos que son de gran importancia en determinados estudios biológico-pesqueros (Hunter y Macewicz, 1985a; Clarke, 1987; Pérez Contreras *et al.*, 1992a, b; Melo, 1994a, b; Akkers *et al.*, 1996; Yoneda *et al.*, 1998).

La atresia es un fenómeno universal en ovarios de vertebrados que afecta a todos los estados de crecimiento del ovocito y ocurre con independencia de la edad, estado reproductor, condiciones ambientales (estación, temperatura, fotoperíodo, disponibilidad de alimento, etc.) y, en general, de

la salud del animal (Saidapur, 1978; Dodd, 1977). En algunos estudios experimentales se ha señalado que la principal causa de atresia es el estrés ambiental, aunque también se ha atribuido a una pobre nutrición o a factores reductores de los niveles de gonadotropina (Wallace y Selman, 1981). Sin embargo, particularmente en ovarios de vertebrados no mamíferos, se ha puesto muy poca atención en el estudio de la atresia folicular (Saidapur, 1978). La atresia se ha estudiado en poblaciones de peces naturales, indicándose que su aparición varía con el estado del ciclo reproductor, pero que en general su incidencia es baja (Withames y Greer Walker, 1991; Hsiau *et al.*, 1994). La degeneración del ovocito, por tanto, puede ocurrir en cualquier estado de desarrollo, jugando un importante papel en la determinación del número de ovocitos que son reclutados en los sucesivos estados y que eventualmente formarán huevos maduros (Tyler y Sumpter, 1996). En especies con desarrollo ovárico asincrónico o que realizan varias puestas a lo largo del ciclo anual, los procesos atrésicos ocurren fundamentalmente al final de la época de puesta (Wallace y Selman, 1981), lo que permite conocer en que momento finaliza la freza y separar individuos en estado de post-puesta de ejemplares inmaduros (Hunter y Lo, 1997). Moser (1967) observó en *Sebastes paucispinis* que los folículos post-ovulatorios pueden usarse para determinar el momento de puesta. A partir de estos resultados, Hunter y Goldberg (1980) y Hunter y Macewicz (1980) desarrollaron criterios histológicos para asignar edades a folículos post-ovulatorios. Finalmente, se estableció un método para estimar la frecuencia de puesta en poblaciones naturales de peces pelágicos con puestas múltiples, puesto que las descripciones establecidas en *Engraulis mordax* pueden ser usadas como guía general para identificar folículos post-ovulatorios en otras especies de peces (Hunter y Macewicz, 1985a).

La espermatogénesis en teleósteos ha sido estudiada por diversos autores (Grier, 1981; Bruslé, 1983; Billard, 1986; Billard *et al.*, 1992). Tradicionalmente, el testículo ha sido dividido en dos tipos según la distribución de las espermatogonias: espermatogonial continuo o no restringido, y discontinuo o restringido (Grier *et al.*, 1980; Grier, 1981). En base a la estructura testicular, se distinguen otros dos modelos que corresponden respectivamente a los anteriores: lobular y tubular (Billard *et al.*, 1982; Billard, 1986; Callard, 1991; Grier, 1992). El primero, lobular continuo o no restringido, es típico de la mayoría de teleósteos y similar al observado en mamíferos, mientras que el segundo tipo, tubular discontinuo o restringido, se presenta fundamentalmente en Atheriniformes (Grier, 1981). Sin embargo, la filogenia de la estructura testicular de cordados se ha

GAMETOGÉNESIS

interpretado recientemente y ha dado lugar a una nueva terminología revisada (Grier, 1992, 1993). Actualmente se reconocen tres tipos de estructura testicular en peces teleósteos: tubular anastomosado con distribución espermatogonial no restringida, lobular con espermatogonias distribuidas a lo largo de la longitud del lóbulo (no restringido), y lobular con espermatogonias restringidas a la parte distal del lóbulo (restringido). Esta última modalidad corresponde al tipo de testículo único de Atheriniformes (Grier y Parenti, 1994). No obstante, dada la extrema diversidad reproductora encontrada entre teleósteos, la estructura testicular puede variar de unas especies a otras (Hoar, 1969; Grier, 1981; Billard *et al.*, 1982; Nagahama, 1983, 1986).

Durante la espermatogénesis, proceso en el que se produce la transición desde células germinales activas hasta espermatozoides, ocurren muchos aspectos de diferenciación; éstos incluyen la renovación celular procedente de espermatogonias, dos divisiones mitóticas reduccionales y la espermiogénesis (Nagahama, 1986).

El espermatozoide de vertebrados está altamente especializado para la tarea de ceder su ADN al óvulo. En general, se trata de una célula pequeña y compacta, con un núcleo extraordinariamente condensado y un largo flagelo, aunque exhibe diferencias importantes en talla, forma y estructura interna (Alberts *et al.*, 1986; Jamieson, 1991).

La ultraestructura del espermatozoide puede ser útil en filogenia y taxonomía de peces, tal como se ha demostrado en otros grupos animales particularmente en platelmintos (Mattei, 1991). En este sentido, diversos trabajos realizados con microscopía óptica y electrónica de un espectro de espermatozoides han demostrado la existencia de importantes diferencias morfológicas entre distintas especies, utilizándose la estructura del espermatozoide como criterio en clasificaciones filogenéticas y taxonómicas de cerca de 280 especies de peces (Ginzburg, 1968; Mattei, 1970, 1991; Mattei y Mattei, 1974; Baccetti *et al.*, 1984; Jamieson, 1991; Gwo y Gwo, 1993; Afzelius y Mims, 1995; Lahnsteiner y Patzner, 1995, 1996; Yao *et al.*, 1995; Pavlov *et al.*, 1997; Taborsky, 1998). La organización del espermatozoide de muchas especies marinas resulta completamente desconocida o sólo se conocen breves caracterizaciones (Lahnsteiner y Patzner, 1995). Estudios comparativos entre especies de géneros muy distintos, en los que se ilustra la diversidad en la ultraestructura del esperma (Mattei, 1970; Koch y Lambert, 1990; Lahnsteiner y Patzner, 1990, 1995, 1996; Gwo *et al.*, 1994), son frecuentes. Sin embargo, trabajos sobre especies estrechamente relacionadas que pertenecen a un mismo género son

particularmente escasos (Baccetti *et al.*, 1984; Gwo *et al.*, 1994; Burns *et al.*, 1995).

Existen numerosos trabajos que describen los procesos de ovogénesis y espermatogénesis en teleósteos (v. g., López de León *et al.*, 1992; Casadevall *et al.*, 1993; Gordo, 1995; Bullock *et al.*, 1996; Crabtree *et al.*, 1997; De Sylva y Rasquin, 1997; Lehodey *et al.*, 1997). Sin embargo, se ha puesto muy poca atención en el conocimiento de aspectos dinámicos del desarrollo del ovocito y del espermatozoido, a partir del que se puede adquirir considerable información sobre los cambios cíclicos estacionales que ocurren en ovario y testículo, siendo esta información de gran importancia para el entendimiento de la biología de los teleósteos (Wallace y Selman, 1986; Mayer *et al.*, 1990; West, 1990; Grau *et al.*, 1996; Mann y Buxton, 1998; Rideout *et al.*, 1999). La mayoría de trabajos biológico-pesqueros carecen de un estudio previo para caracterizar las particularidades citomorfológicas de la gónada y, si lo presentan, el testículo suele excluirse de la mayoría de ellos, ya que resulta más complicado de clasificar y muestra cambios menos acusados que el ovario (Forberg, 1982; Wallace y Selman, 1986; West, 1990), además de que la identificación de cambios celulares en el testículo puede ser compleja en secciones de parafina. Por tanto, la realización de análisis histológicos que proporcionen un conocimiento previo de la biología de las especies, es fundamental a la hora de entender y determinar convenientemente los parámetros reproductores en peces. En este sentido, los estudios ultraestructurales pueden resolver las dificultades encontradas con microscopía óptica y proporcionar información básica a biólogos pesqueros, reproductores y celulares (Wallace y Selman, 1981; Selman y Wallace, 1983, 1986; West, 1990; Wallace *et al.*, 1993; Dias *et al.*, 1998).

Para finalizar, se señalan a continuación los objetivos concretos que se pretenden desarrollar en la Parte II de la presente Memoria:

(1) descripción del desarrollo del ovocito con el fin de averiguar su modelo de reclutamiento y el modo de reproducción de la especie, así como un pre-requisito en la evaluación de su condición reproductora; (2) medición de diámetros ovocitarios característicos de las especies para conocer a partir de qué tamaño los ovocitos se consideran viables en estimaciones de fecundidad; (3) identificación y clasificación de folículos post-ovulatorios para determinar los procesos de reabsorción y degeneración del ovario; (4) caracterización de estados atrésicos como marcadores histológicos del final del periodo reproductor y como criterio esencial para separar individuos en post-puesta de inmaduros; (5) análisis de la estructura testicular con el fin de averiguar el modo de reproducción de la especie y como pre-requisito en la

GAMETOGENESIS

evaluación de la condición reproductora; y (6) descripción de la ultraestructura del espermatozoide con el propósito de utilizarla como parámetro de comparación entre especies del mismo género.

MATERIAL BIOLÓGICO

Entre abril de 1996 y junio de 1998, un total de 100, 34 y 20 ejemplares de *Serranus atricauda*, *S. cabrilla* y *S. scriba*, respectivamente, se recolectaron durante el transcurso de tres campañas pesqueras realizadas en las islas de Fuerteventura y Gran Canaria, a bordo del B/O “Taliarte” y de embarcaciones auxiliares adscritas al Instituto Canario de ciencias Marinas. El objetivo se centró en obtener individuos vivos para la realización de estudios gonadales mediante microscopía óptica y electrónica.

METODOLOGÍA

MICROSCOPIA ÓPTICA (MO)

A) Fijación y tratamiento de muestras

Los individuos se sacrificaron colocándolos en recipientes que contenían altas dosis de anestésico clorobutanol (1,1,1, tricloro-2-metil-2-propanol). Inmediatamente después, se realizó la extracción de las gónadas y se separó el lóbulo izquierdo. Las muestras de tejido se fragmentaron en tres trozos y se fijaron en formol tamponado con fosfato (24-48 h) y solución de Bouin (12-24 h). Transcurrido el tiempo de fijación, se lavaron abundantemente con agua destilada, y después con alcohol de 70° para eliminar los restos de ácido pícrico. Posteriormente, se almacenaron a temperatura ambiente en alcohol de 80° hasta su posterior procesado.

B) Procesamiento de tejidos y confección de bloques

Los tejidos se cortaron en piezas pequeñas, se orientaron dentro de casetes histológicos y se introdujeron en un procesador de tejidos automático con bomba de vacío (Leica, Jung Histokinette 2000 220/2). Se deshidrataron empleando una serie de alcoholes de concentración creciente, se aclararon en xileno y se infiltraron mediante baños sucesivos en parafina fundida, aplicando durante el último baño un sistema de extracción de gases mediante una bomba de vacío (Parte VII, apéndice A).

La elaboración de los bloques se efectuó en una estación de inclusión (Leica, Jung Histoembedder) que consta de dispensador de parafina líquida, placa caliente para orientar las piezas y placa fría para solidificar los

GAMETOGÉNESIS

bloques. Los tejidos se orientaron en moldes de base metálica (teniendo en cuenta que la cara inferior del bloque sería la superficie de corte) y en ellos se encajaron los casetes que llevaban la muestra histológica. Finalmente, cada casete se etiquetó para su correcta identificación.

C) Obtención y tinción de cortes

Antes de empezar a cortar se eliminó el exceso de medio de inclusión y se procedió al enfriamiento del bloque para conseguir una consistencia óptima de la parafina. Para ello, se almacenaron los bloques en una cámara frigorífica a 4 °C durante 1-2 h. Los cortes se realizaron en un microtomo de rotación o tipo Minot (Leica, Jung Autocut 2055). Las secciones longitudinales y transversales se obtuvieron con un espesor de 4-6 µm de grosor y se estiraron en un baño de agua caliente a 45 °C. A continuación, se montaron sobre portaobjetos y se mantuvieron en estufa a 60 °C durante 2 h, o se dejaron secar a 37 °C durante 24 h. Las secciones se tiñeron con hematoxilina-eosina, PAS (Martoja y Martoja-Pierson, 1967, 1970) y diferentes tricrómicos: VOF (Gutiérrez, 1967), Mallory y Masson (García del Moral, 1993) (Parte VII, apéndice A). La observación de las preparaciones se efectuó mediante microscopio óptico (Leica, Leitz DMR) y las fotomicrografías se tomaron con una cámara acoplada al microscopio.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Obtención y tratamiento de muestras

Los animales se anestesiaron suministrándoles clorobutanol (0,7 ml por cada litro de agua de mar). Pasados unos minutos, se realizó un corte longitudinal a nivel ventral desde la abertura anal hasta la región cefálica para facilitar el acceso al corazón. Con ayuda de un catéter, se procedió a inyectar en el ventrículo 100 ml de solución salina fisiológica (CINa 9 ‰) a velocidad constante, con el propósito de limpiar el sistema circulatorio. A continuación, se hizo un pequeño corte en el hígado facilitando de este modo la circulación del suero por el torrente sanguíneo. Inmediatamente después, se inyectaron 100 ml de fijador de Karnovsky a velocidad constante. Posteriormente, se extrajeron las gónadas y se diseccionaron en piezas de tamaño inferior a 1 ó 2 mm³, introduciéndolas en botes de cristal que contenían solución fijadora y permaneciendo en ellos durante 2-4 h a una temperatura de 4 °C (Parte VII, apéndice A).

Microscopía electrónica de transmisión (MET)

A) Inclusión en araldita

El fijador de Karnovsky se sustituyó por una solución lavadora de tampón fosfato 0,1 M y las muestras se mantuvieron a 4 °C realizando varios cambios de esta solución (durante aproximadamente 68-70 h). La postfijación se realizó con tetróxido de osmio (OsO_4) al 1 % en tampón fosfato 0,1 M durante 2 h y se sometieron a 3-4 baños de agua destilada de 15 min cada uno, todo ello a una temperatura de 4 °C. La deshidratación se realizó utilizando soluciones de acetona de concentración creciente a temperatura ambiente. Tras dos baños de 60 min en óxido de propileno, se procedió a embeber el tejido en araldita (Durcupan, Fluka). Las muestras se pasaron sucesivamente por mezclas de óxido de propileno-araldita I en proporciones 3:1 (2 h), 1:1 (2 h) y 1:3 (12 h). Las piezas se introdujeron en dos baños de araldita I durante 2 y 24 h respectivamente, y en un baño de araldita II durante 1 h, manteniéndolas en estufa a una temperatura de 60 °C. Finalmente se confeccionaron los bloques con araldita II, colocando y orientando las muestras en los moldes, y se dejaron polimerizar durante 72 h en estufa a temperatura de 60-70 °C (Parte VII, apéndice A).

B) Obtención y tinción de cortes

Antes de comenzar a cortar, se talló el bloque hasta conseguir que el tejido inmediatamente rodeado de araldita quedara en forma de pirámide truncada. Se realizaron cortes semifinos de 1 μm de grosor mediante ultramicrotomo (Ultracut-E, Reichert-Jung). Las secciones se tiñeron con azul de toluidina al 0,1 % conteniendo borato sódico al 1 %, sobre una placa calefactora a 70 °C durante aproximadamente 1 min, y se examinaron y fotografiaron en microscopio óptico (Leica, Leitz DMR). También se obtuvieron secciones ultrafinas que se recogieron en rejillas de cobre de 200 mesh (Aname, G200) y se contrastaron con acetato de uranilo al 2 % en acetona al 70 % durante 30 min, y con citrato de plomo (Reynolds, 1963) durante 20 min (Parte VII, apéndice A). Tras el posterior lavado y secado, se procedió a examinar las rejillas, observándose y fotografiándose en microscopio electrónico (Philips CM 10 y Jeol 100S). Las fotomicrografías seleccionadas se digitalizaron con un escáner a una resolución de 1200 ppp (pixels por pulgada) y posteriormente se trataron con el programa informático Adobe Photoshop 4.0.

Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Las muestras se deshidrataron en soluciones de etanol de concentraciones crecientes (30°-50°-70°-100°) y se desecaron mediante la obtención del punto crítico con dióxido de carbono líquido en un desecador (Tousimis, Autosamdri 814). Posteriormente, se montaron en soportes de aluminio, utilizando plata coloidal como adherente, y se recubrieron con una aleación de oro-paladio (25-30 nm de grosor) utilizando un sombreador (Biorad SC 500). Durante el examen de las preparaciones se utilizó un microscopio Hitachi S4100 FE, conectado a un ordenador que permitió la captación directa de imágenes mediante el software E.M.I.P (Electron Microscopy Image Processing) con resolución de 1024 ppp y, posteriormente, se trataron con el programa informático Adobe Photoshop 4.0.

El protocolo de microscopía electrónica se llevó a cabo en el Servicio Central de Soporte a la Investigación Experimental, Sección de Microscopía Electrónica de la Universidad de Valencia.

OBSERVACIÓN E INTERPRETACIÓN DE IMÁGENES

La clasificación de los estados de desarrollo del ovocito u ovogénesis se basó en criterios morfológicos tales como: tamaño, apariencia del núcleo y nucléolo y aparición, tipo y localización de inclusiones citoplasmáticas. La descripción de los estados de crecimiento del ovocito se realizó a nivel de MO y se dividió en cinco estados, empleando la terminología de Selman *et al.* (1993): estado I (crecimiento primario), en el que se engloban el estado IA (fase pre-folicular) y estado IB (fase folicular); estado II (formación de vesículas de vitelo); estado III (vitelogénesis); estado IV (maduración del ovocito); estado V (huevo maduro). Los folículos post-ovulatorios (FPO) se dividieron en tres estados histológicos en función de los procesos de deterioración y reabsorción de los folículos. Se empleó el sistema de clasificación establecido por Hunter y Goldberg (1980), en el cual se asigna una edad específica que constituye el tiempo transcurrido desde la puesta, estableciéndose de esta manera los siguientes estados: FPO de edad “0 días”, “1 día” y “2 días”. La degeneración del ovocito o atresia se clasificó en tres estados secuenciales utilizando la nomenclatura y características generales definidas por Hunter y Macewicz (1985b): ovocito atrésico en estado alfa (α), folículo atrésico en estado beta (β) y folículo atrésico en

gamma (γ).

En la clasificación de las células espermatogénicas se aplicaron los siguientes criterios: tamaño y morfología celular, y presencia de orgánulos.

Las medidas del diámetro ovocitario se tomaron a partir de secciones de parafina y semifinas, considerando exclusivamente aquellos ovocitos seccionados a través del núcleo.

La captación de imágenes se realizó con el programa informático Rainbow Runner Studio PC-VCR Remote 2.0, a diferentes aumentos según el tipo de célula: oogonias y ovocitos en estado IA se captaron a 40 aumentos, en estado IB y II a 20 aumentos, en estado III a 10 aumentos, y en estado IV y V a 5 aumentos. Posteriormente, se realizaron las medidas oportunas utilizando el programa Image Tool para Windows 2.0. y se almacenaron en bases de datos.

Los detalles ultraestructurales del ovario y las células testiculares se midieron en secciones ultrafinas de *S. atricauda*. El estudio ultraestructural del espermatozoide se realizó en las tres especies. Todas las medidas efectuadas se expresaron como media \pm desviación estándar, con un tamaño muestral de 500, en secciones de parafina y semifinas, y de 10 en secciones ultrafinas.

RESULTADOS

ESTADOS DE DESARROLLO DEL OVOCITO

Los ovarios de *Serranus atricauda*, *S. cabrilla* y *S. scriba* presentan un modelo ovárico de tipo asincrónico, es decir, todos los estados de desarrollo del ovocito se encuentran presentes en gónadas maduras (Lámina II-1, Figs. 1a, b y 2)

El primer estado de desarrollo de los gametos femeninos son las oogonias, las cuales se encuentran formando cistos embebidos dentro del epitelio germinal que forman las lamelas ováricas (Lámina II-1, Fig. 3). Presentan citoplasma claro, y un gran núcleo con un único nucléolo altamente condensado y moderadamente basófilo (Lámina II-1, Figs. 4a, b). Después de un período de proliferación por divisiones mitóticas entran en la profase de la primera división meiótica y se diferencian en ovocitos. El ovocito entra en un período de crecimiento y diferenciación. El estado I o de crecimiento primario se divide a su vez en estado IA (los ovocitos se encuentran formando cistos) y estado IB (se sitúan dentro del folículo definitivo). Los estados I y II constituyen la fase previtelogénica, mientras que los restantes estados se agrupan dentro de la fase vitelogénica.

Los diámetros medios y desviación estándar de cada tipo de ovocito en *S. atricauda*, *S. cabrilla* y *S. scriba* se muestran en la tabla II-1.

Tabla II-1. Diámetro medio (μm) de los estados de crecimiento del ovocito de *Serranus spp.* **A**, estado IA; **B**, estado IB (inicial); **C**, estado IB (final); **D**, estado II; **E**, estado III (inicial); **F**, estado III (final); **G**, estado IV; **H**, estado V.

Especies	A	B	C	D	E	F	G	H
<i>S. atricauda</i>	9 ± 4	26 ± 9	68 ± 17	132 ± 25	221 ± 45	436 ± 40	509 ± 37	616 ± 79
<i>S. cabrilla</i>	8 ± 4	26 ± 8	67 ± 13	129 ± 28	217 ± 40	372 ± 58	491 ± 53	595 ± 69
<i>S. scriba</i>	10 ± 3	34 ± 21	80 ± 20	138 ± 20	253 ± 56	451 ± 56	547 ± 49	701 ± 121

Fase previtelogénica

Estado I: crecimiento primario

El estado de crecimiento primario en las especies de *Serranus* estudiadas se divide en dos fases, las cuales se identifican por eventos nucleares y por la localización del ovocito dentro de un cisto o del folículo definitivo.

Estado IA: fase pre-folicular del crecimiento primario

Los ovocitos en fase pre-folicular se sitúan formando cistos en la periferia de las lamelas ovígeras. Constan de un gran núcleo rodeado por pequeñas cantidades de citoplasma (ooplasma) de aspecto claro (Lámina II-2, Figs. 5a, b). Al MET se observa en el citoplasma la presencia de material electro denso, grupos de mitocondrias y complejos de Golgi. En el núcleo se observan nucléolos de tamaño variable y cromatina de apariencia finamente granular.

Estado IB: fase folicular del crecimiento primario

Al comienzo de este estado el ovocito aparece rodeado por una única capa de células foliculares. Estas células son fusiformes, con núcleo estrecho y grumos de cromatina condensada, distribuidos irregularmente y asociados a la membrana nuclear. La basofilia del citoplasma del ovocito comienza a aumentar gradualmente durante este período. El núcleo contiene múltiples nucléolos (entre 3 y 16) situados junto a la envoltura nuclear. El ovocito entra en un período de crecimiento, al mismo tiempo que se produce la diferenciación de sus componentes foliculares (Lámina II-2, Figs. 6 y 7). Adquiere un aspecto fuertemente basófilo mostrando vesículas claras dispersas por toda la superficie del ooplasma. Se observa la capa tecal externa, formada por células de morfología similar a las descritas en la fase inicial, y la capa granulosa interna, ambas delimitadas por una lámina basal. Aparece una zona clara llamada “espacio subfolicular” (Kjesbu y Kryvi, 1989) que se encuentra entre la capa granulosa y la superficie del ovocito. La capa granulosa está compuesta por células de morfología plana, las cuales presentan pequeñas prolongaciones hacia la superficie del ovocito atravesando el espacio subfolicular.

GAMETOGÉNESIS

Al final del estado, el espacio subfolicular es ocupado progresivamente por material de aspecto homogéneo que constituye la primera manifestación de la zona radiada. Corresponde a la formación de la capa externa de dicha zona, también denominada corion, envoltura primaria o vitelina, y zona pelúcida. La capa externa, con apariencia homogénea, presenta una zona intermedia clara con bordes de alta densidad electrónica y las prolongaciones citoplasmáticas de las células de la granulosa fluyen entre los numerosos poros o canales que la atraviesan.

Finalmente, el folículo consiste en a) un ovocito¹ rodeado por una capa de células granulosas, b) una capa tecal irrigada por capilares sanguíneos, y c) una delgada capa de tejido epitelial.

Fase vitelogénica

Estado II: formación de vesículas de vitelo

El ovocito se caracteriza por la aparición en el citoplasma de inclusiones que no contienen vitelo en el sentido estricto y se denominan vesículas de vitelo (Wallace y Selman, 1981). Son estructuras esféricas que aparecen limitadas por membrana en *S. cabrilla* y *S. scriba*, mientras que no presentan membrana en *S. atricauda*. En todos los casos son de tamaño variable, muestran apariencia clara al MO y al MET se observa en su interior contenido granular en forma de red (Lámina II-2, Fig. 8a). Inicialmente se sitúan alrededor del núcleo, y gradualmente incrementan en número y tamaño, desplazándose hacia la periferia del ooplasma. La zona radiada está constituida por una única capa de aproximadamente 0,38 μm de grosor y está atravesada por numerosas microvellosidades de las células de la granulosa y del citoplasma del ovocito que se extienden radialmente hacia el espacio subfolicular a través de canales o poros (Lámina II-2, Fig. 8b). El ooplasma pierde basofilia por la aparición progresiva de inclusiones lipídicas en el citoplasma del ovocito en *S. atricauda* (Lámina II-3, Fig. 9a) y *S. cabrilla*, mientras que en *S. scriba* (Lámina II-3, Fig. 9b) se forman posteriormente.

¹ El ovocito está compuesto por citoplasma, membrana plasmática y zona radiada, siendo estos componentes los que dan lugar al huevo. El folículo está formado por el ovocito y los tejidos somáticos que lo rodean (capa granulosa, teca y epitelio) (Dodd, 1977; Tyler y Sumpter, 1996).

Estado III: vitelogénesis

Este estado comienza con la aparición de pequeños gránulos de vitelo alrededor del núcleo (Lámina II-3, Figs. 10a, b). Ultraestructuralmente se observa que los gránulos de vitelo están delimitados por una doble membrana y, a alta amplificación, se descubre una matriz central muy densa de estructura laminar rodeada por una estrecha banda amorfa (Lámina II-3, Fig. 10c). Las vesículas de vitelo aumentan en tamaño y se distribuyen hacia la periferia. Las inclusiones lipídicas aumentan en número y se dispersan por el ooplasma en *S. atricauda* y *S. cabrilla*, comenzando a aparecer en el citoplasma del ovocito de *S. scriba* (Lámina II-4, Figs. 11a, b). Los gránulos de vitelo incrementan su tamaño y número, distribuyéndose por toda el área citoplasmática durante este estado (Lámina II-4, Figs. 12a, b). Los ovocitos presentan retículo endoplasmático rugoso, complejos de Golgi y mitocondrias.

La zona radiada está compuesta por dos capas de diferente grosor y densidad: una capa externa (que comenzó su formación en el estado anterior) con aspecto claro y homogéneo y una capa intermedia compacta y homogénea de aproximadamente 1,74 μm de grosor (Lámina II-4, Figs. 12c, d). Rodeando a la zona radiada se encuentran las células de la granulosa, de figura cúbica; tienen un gran núcleo con cromatina condensada, la cual puede estar asociada o no a la membrana nuclear (Lámina II-4, Fig. 12e). Su citoplasma presenta aspecto granular y contiene numerosas mitocondrias, ribosomas libres e inclusiones lipídicas. Exteriormente a ellas se sitúan las células de la teca, más o menos fusiformes, poseyendo un núcleo con heterocromatina asociada a la membrana nuclear; su citoplasma es escaso, mostrando numerosas mitocondrias y ribosomas libres.

Comienza la formación de la capa interna de la zona radiada que presenta organización multilaminar (Lámina II-5, Fig. 13a). Alcanza un grosor de alrededor de 0,61 μm y al MEB se observó que está formada por 10 láminas. Las microvellosidades de las células foliculares y del ovocito crecen en longitud, mostrando en la zona radiada numerosos canales distribuidos irregularmente, a través de los cuales fluyen las microvellosidades que le confieren apariencia estriada (Lámina II-5, Figs. 13b, c, d).

Estado IV y V: maduración del ovocito y huevo maduro

Durante estos estados, las inclusiones lipídicas que se concentraban alrededor del núcleo (Lámina II-4, Fig. 12b), comienzan a unirse en una única gota de grasa, que junto al núcleo (Lámina II-6, Fig. 14), migra hacia

GAMETOGÉNESIS

la periferia del ovocito. Progresivamente, los gránulos de vitelo comienzan a fusionarse para formar una masa fluida y continua de vitelo. Sin embargo, este hecho no es fácilmente observable con microscopía óptica convencional (Lámina II-6, Fig. 15a) y sí en cambio con microscopía electrónica de transmisión (Lámina II-6, Figs. 15b, c). Finalmente, el ovocito aumenta considerablemente de tamaño y es ovulado al lumen central del ovario, denominándose “ovocito hidratado” (Hunter y Macewicz, 1985a; Tricas y Hiramoto, 1989). En este estado, el núcleo no es visible dado que al llegar a la periferia del ovocito la membrana nuclear se desintegra dispersando su contenido en el ooplasma, (Lámina II-6, Fig. 15c). El núcleo queda reducido a una banda periférica que rodea la masa de vitelo central (Lámina II-6, Fig. 15d). Los gránulos de vitelo se fusionan completamente proporcionando al ovocito apariencia homogénea, densa, finamente granular y débilmente basófila (Lámina II-7, Fig. 16a). Conforme aumenta el proceso de hidratación, el contenido del ooplasma presenta aspecto fibroso de menor densidad (Lámina II-7, Fig. 16b). El citoplasma basal presenta grandes vacuolas irregulares y pequeñas vesículas ovals. Estas vesículas, llamadas "alvéolos corticales" de acuerdo con Selman *et al.* (1988), tiene apariencia similar pero son de menor tamaño que las vesículas de vitelo, finalmente se rompen y liberan su contenido en el citoplasma (Lámina II-7, Fig.16c). La zona radiada disminuye en grosor, sus poros alcanzan un diámetro de aproximadamente 0,48 μm y sus estriaciones transversales no son evidentes debido a que las prolongaciones del citoplasma de las células de la granulosa ya no la atraviesan (Lámina II-6, Fig. 15c).

Fases de reabsorción del folículo

Durante la ovulación, los ovocitos completamente hidratados se liberan de sus correspondientes folículos. Cuando el ovocito es expulsado al lumen ovárico, las células de la capa granulosa y de la teca permanecen en el estroma ovárico como folículos post-ovulatorios, los cuales se dividen en una serie de estados histológicos con una edad asignada o tiempo de puesta.

Folículos post-ovulatorios de “edad 0 días”

Son aquéllos que se observan en el ovario desde la ovulación hasta 23 horas después de ésta. Presentan forma de cordón suelto muy curvado. Las células de la granulosa son alargadas y estrechas, núcleo central muy prominente y citoplasma con vacuolas de contenido eosinófilo claro. Las células de la granulosa se tornan de forma columnar, con núcleos muy

evidentes localizados inicialmente en el polo apical y algo más tarde en la parte basal de la célula. En algunos tramos conservan parte de la capa tecal y vasos sanguíneos (Lámina II-8, Fig. 17). Conforme avanza el estado de reabsorción, la estructura se hace más pequeña, pierde los pliegues y presenta una figura irregular.

Folículos post-ovulatorios de “edad 1 día”

Son los folículos que permanecen en el ovario entre 19 y 28 h después de la puesta. El folículo está muy reducido en tamaño, la figura es menos irregular que en estructuras más tempranas y presenta pocos pliegues. El lumen también está muy reducido y puede contener material granular. Las células de la granulosa aparecen desordenadas con núcleos picnóticos². Normalmente aparecen numerosas vacuolas y sólo pequeñas zonas de la membrana celular permanecen intactas (Lámina II-8, Fig. 18).

Folículos post-ovulatorios de “edad 2 días”

Es la estructura resultante después de transcurrir 48 h desde la puesta. Presenta tamaño inferior a un folículo medio, entre la mitad y un cuarto más pequeño. El lumen es muy reducido o ausente, y no presenta gránulos eosinófilos. Las paredes celulares están ausentes y sólo queda remanente algo de tejido de la capa de la granulosa, con escasas vacuolas y núcleos eosinófilos. La teca está todavía presente pero a menudo es difícil de observar porque se incorpora al tejido del estroma ovárico (Lámina II-8, Fig. 19).

Procesos de degeneración del ovocito

Los procesos degenerativos o atrésicos ocurren durante todo el ciclo reproductor, pero son particularmente abundantes después de la puesta debido a que los ovocitos maduros que no han sido expulsados comienzan

²Picnosis: Alteración de la estructura del núcleo celular. Éste pierde su estructura, desapareciendo la red cromática y pasando la cromatina al jugo nuclear en disolución. El núcleo se colorea de modo uniforme a la vez que cambia su consistencia, haciéndose más fluido. De esta manera, llega a transformarse en una masa esférica-homogénea o a fragmentarse en granos esféricos desiguales. Estos últimos se caracterizan por su afinidad por la materia colorante del núcleo y precisamente de este fenómeno deriva el término picnosis. Por fin el núcleo puede fragmentarse y disolverse por completo. Al mismo tiempo se observan una serie de modificaciones del protoplasma que se hincha y se hace transparente, acabando por licuarse; su aspecto es entonces el de una vesícula limitada por una membrana muy tenue (Espasa-Calpe, 2000).

GAMETOGÉNESIS

su reabsorción. Por tanto, la condición atrésica del ovario es un índice sensible o clave histológica del estado reproductor durante la estación de puesta y puede ser usado para identificar el final de la freza o periodo de post-freza y, en consecuencia, separar a estos individuos de los inmaduros (Hunter y Macewicz, 1985a; Hunter *et al.*, 1986). La degeneración del ovocito en las especies del género *Serranus* ha sido dividida en tres estados atrésicos secuenciales que se describen a continuación: ovocito atrésico en estado alfa (") y folículo atrésico en estado beta (\$) y gamma (C).

Ovocito atrésico en estado alfa (")

El comienzo de la atresia lo marca la desintegración del núcleo que presenta figura irregular y coloración fuertemente basófila. En grados iniciales de reabsorción se observa una gota de grasa. El citoplasma del ovocito presenta dos zonas entremezcladas, una homogénea basófila con muchas inclusiones de pequeño tamaño y otra formada por los gránulos de vitelo que empiezan a perder refringencia (Lámina II-9, Fig. 20a). Éstos comienzan a adquirir formas irregulares fusionándose y expandiéndose por el ooplasma formando un área eosinófila. Las células de la granulosa se hipertrofian, presentan el citoplasma altamente vacuolizado, aumentan considerablemente de tamaño e invaden el ooplasma desplazando la zona radiada centrípetamente. Las prolongaciones citoplasmáticas de las células de la granulosa y del citoplasma del ovocito se retraen y no atraviesan la zona radiada, por lo que ésta deja de exhibir el aspecto estriado característico, presentando figura y tamaño irregulares terminando por fragmentarse en pequeñas porciones (Lámina II-9, Fig. 20b). En el citoplasma los gránulos de vitelo pierden por completo la refringencia y se encuentran inmersos entre grandes vacuolas lipídicas. Las células de la teca presentan núcleos muy basófilos y estrechos rodeados por vasos sanguíneos. En procesos de degeneración avanzados, el citoplasma, rodeado por la capa tecal, se encuentra invadido por las células de la granulosa muy vacuolizadas y con núcleos picnóticos, observándose a modo de pequeños puntos fuertemente basófilos. Ocasionalmente se pueden observar pequeños fragmentos de la zona radiada totalmente desfigurados (Lámina II-9, Fig. 20c). El estado atrésico " es el más abundante en los ovarios de las especies del género *Serranus* pudiéndose observar varios grados de reabsorción del ovocito. Finalmente, la estructura resultante (atresia \$) es de tamaño inferior al ovocito inicial y, puesto que se ha completado la reabsorción del ovocito y sólo queda el folículo, el término de ovocito atrésico únicamente se emplea para aquéllos en estado de atresia ". Los siguientes estados de

reabsorción se denominan folículos atrésicos (Hunter y Macewicz, 1985a).

En ovocitos previtelogénicos el proceso es similar. Comienza con una zonación del ooplasma en función del grado de afinidad por el colorante, una fracción homogénea situada en la periferia y otra alrededor del núcleo mostrando numerosas inclusiones. El contorno del citoplasma y el núcleo se tornan irregulares. El núcleo se desintegra. La zona radiada (aún incompletamente formada), si está presente, comienza a disolverse. Las células de la granulosa fagocitan al ovocito, aunque el proceso de vacuolización de estas células es menor que en aquéllas en fase vitelogénica.

Folículo atrésico en estado beta (\$)

En este estado se produce la mayor degeneración y reabsorción del folículo. El folículo atrésico en estado \$ es una estructura compacta rodeada por la capa tecal muy estrechada y por vasos sanguíneos. Presenta un tamaño menor que en el estado anterior, figura irregular y aspecto eosinófilo. Está formado por células de la granulosa desorganizadas, con núcleos redondeados basófilos y grandes vacuolas vacías en el citoplasma. En ocasiones se observan cavidades entre las células de la granulosa (Lámina II-9, Figs. 21a, b).

Folículo atrésico en estado gamma (C)

El folículo presenta tamaño similar a los ovocitos previtelogénicos. Es una estructura poco compacta, ligeramente eosinófila. En este estado, continúa la regresión de la teca y aparecen grandes cavidades intercelulares. Las células de la granulosa presentan núcleos débilmente basófilos en forma de media luna. En el citoplasma se observan grandes vacuolas que contienen material finamente granular, eosinófilo claro (Lámina II-9, Fig. 22).

GAMETOGENESIS

Lámina II-1

Figura 1. (a) Superficie de lámina ovárica (MEB). *S. atricauda*.

O. Ovocito

SL. Superficie de la lámina

TA. Túnica albugínea

(b) Sección de un ovario maduro (MO). *S. scriba*, azul de toluidina, 100 x.

Figura 2. Lámina ovárica madura (MO). *S. scriba*, azul de toluidina, 40 x.

Opv. Ovocitos previtelogénicos

Ov. Ovocitos vitelogénicos

Figura 3. Lámina ovárica inmadura (MO). *S. cabrilla*, azul de toluidina, 200 x.

C. Citoplasma

LO. Lámina ovárica

N. Núcleo

n. Nucléolo

Figura 4. Cisto de ogonias (MO).

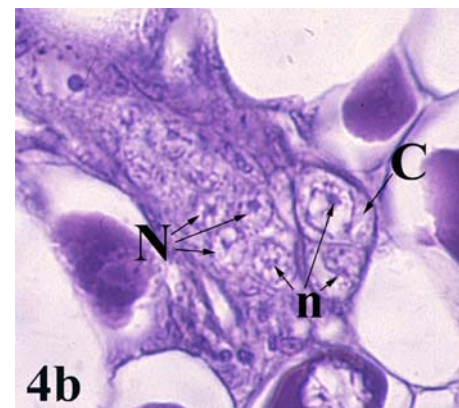
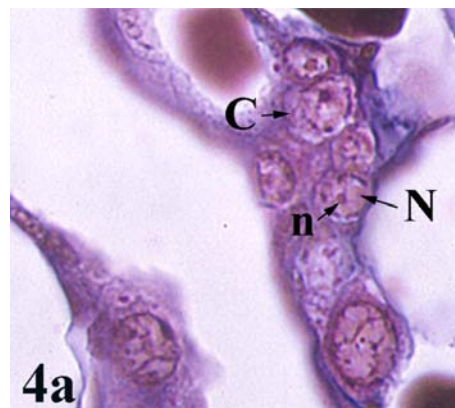
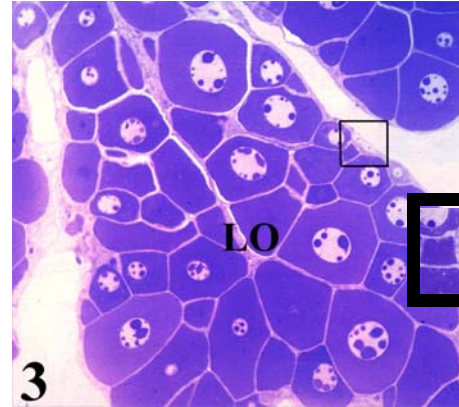
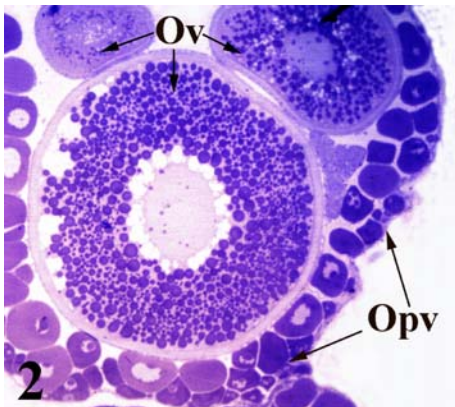
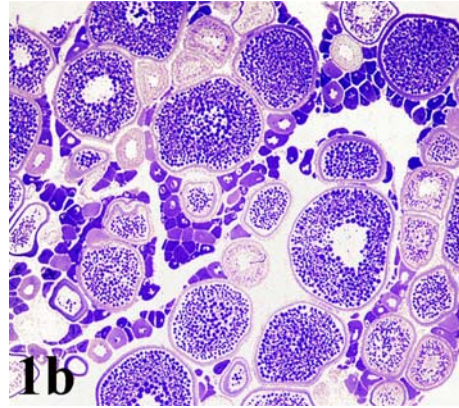
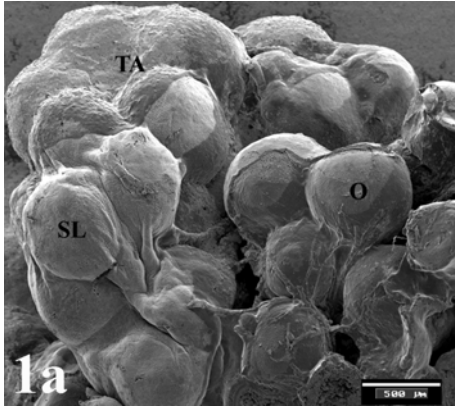
(a) *S. cabrilla*, tricrómico de Mallory, 1000 x.

(b) *S. cabrilla*, hematoxilina-eosina, 1280 x.

C. Citoplasma

N. Núcleo

n. Nucléolo



GAMETOGENESIS

Lámina II-2

Figura 5. Cisto de ovocitos en fase pre-folicular del crecimiento primario (MO).

(a) *S. atricauda*, azul de toluidina, 1000 x.

Eg. Epitelio germinal

C. Citoplasma

N. Núcleo

(b) *S. scriba*, azul de toluidina, 1280 x.

C. Citoplasma

N. Núcleo

Figura 6. Ovocitos en estado de crecimiento primario (MO). *S. cabrilla*, azul de toluidina, 400 x.

Figura 7. Detalle de un ovocito en fase folicular del crecimiento primario (MO). *S. atricauda*, azul de toluidina, 1000 x.

C. Citoplasma

N. Núcleo

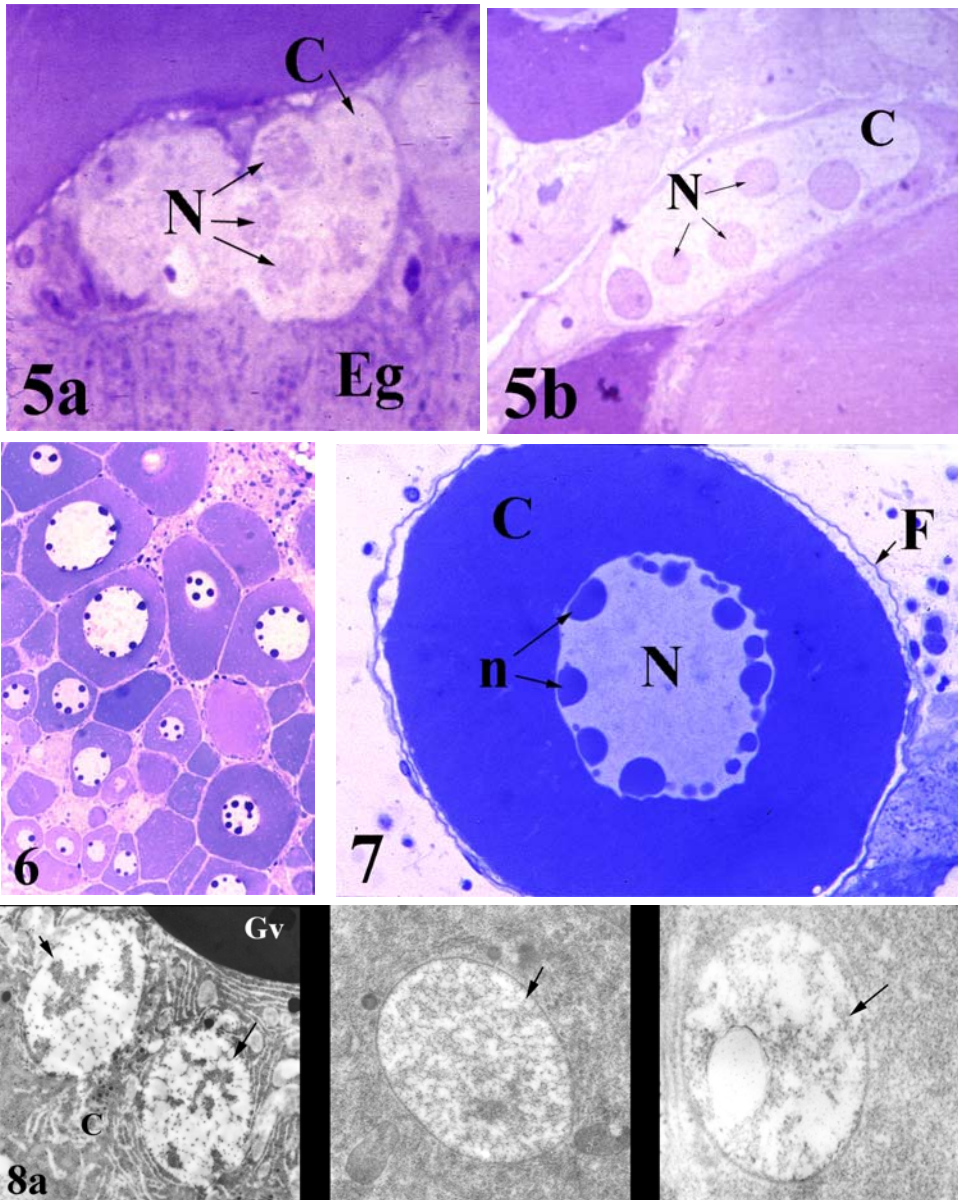
n. Nucléolo

F. Folículo

Figura 8. (a) Aspecto de las vesículas de vitelo (MET). *S. atricauda*, 6600 x (izquierda); *S. cabrilla*, 8900 x (central); *S. scriba*, 52000 x (derecha).

Gv. Gránulo de vitelo

! . Vesícula de vitelo



GAMETOGENESIS

Lámina II-3

Figura 8. (b) Ovocito en estado de formación de vesículas (MET). *S. atricauda*, 6610 x.

B. Lámina basal

C. Citoplasma

Cg. Células granulosas

N. Núcleo

Pcg. Prolongaciones citoplasmáticas de células granulosas

Pco. Prolongaciones citoplasmáticas del ovocito

S. Espacio subfolicular

T. Teca

ZI. Zona radiada externa

Figura 9. Ovocito en estado de formación de vesículas (MO).

(a) *S. atricauda*, azul de toluidina, 1000 x.

(b) *S. scriba*, azul de toluidina, 512 x.

C. Citoplasma

Cg. Células granulosas

Il. Inclusiones lipídicas

N. Núcleo

n. Nucléolo

T. Teca

Vv. Vesículas de vitelo

Zr. Zona radiada

Figura 10. Ovocito vitelogénico inicial (MO).

(a) *S. atricauda*, azul de toluidina, 1000 x.

(b) *S. scriba*, azul de toluidina, 200 x.

Cg. Células granulosas

Gv. Gránulo de vitelo

Il. Inclusiones lipídicas

N. Núcleo

Vv. Vesículas de vitelo

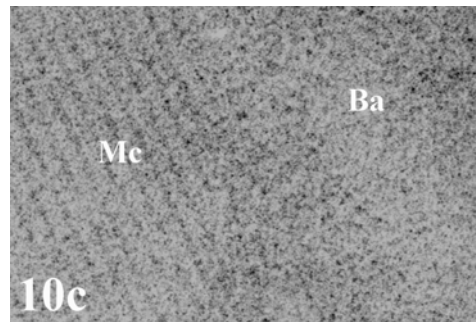
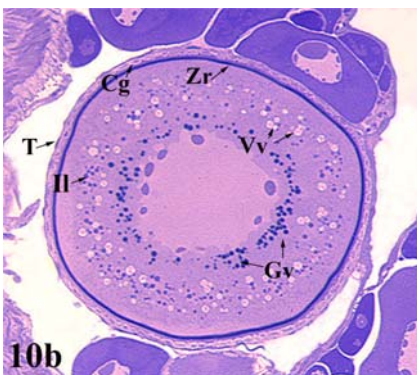
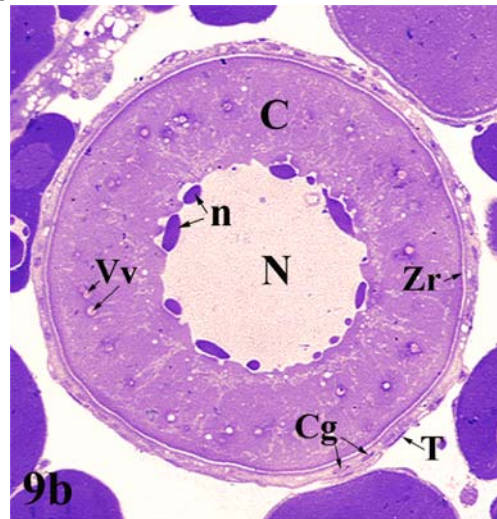
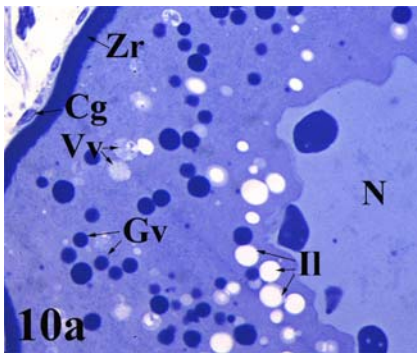
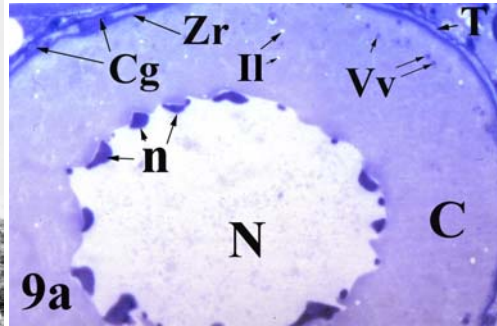
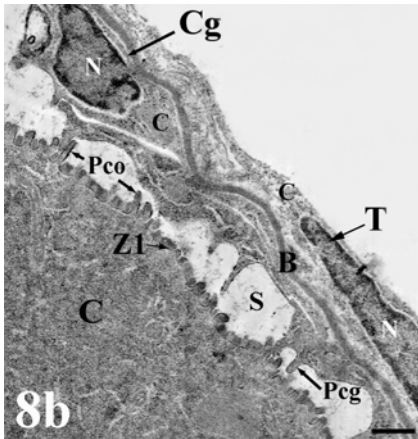
T. Teca

Zr. Zona radiada

(c) Gránulo de vitelo a alta magnificación (MET). *S. atricauda*, 145000 x.

Ba. Banda amorfa

Mc. Matriz central



GAMETOGÉNESIS

Lámina II-4

Figura 11. Aspecto de ovocito vitelogénico inicial (derecha) y final (izquierda) (MO).

(a) *S. cabrilla*, azul de toluidina, 1000 x.

Cg. Células granulosas

Gv. Gránulos de vitelo

Il. Inclusiones lipídicas

n. Nucléolo

T. Teca

Vv. Vesículas de vitelo

Zr. Zona radiada

(b) *S. scribea*, hematoxilina-eosina, 200 x.

Figura 12. (a) Ovocito vitelogénico final (MO). *S. cabrilla*, azul de toluidina, 200 x.

Gv. Gránulos de vitelo

Il. Inclusiones lipídicas

Vv. Vesículas de vitelo

(b) Detalle ovocito vitelogénico final (MO). *S. scribea*, azul de toluidina, 400 x.

Ac. Alvéolos corticales

Il. Inclusiones lipídicas

N. Núcleo

(c) Sección sagital de la zona radiada (MO). *S. cabrilla*, azul de toluidina, 1000 x.

C. Citoplasma

Cg. Células granulosas

Cs. Capilar sanguíneo

T. Teca

Zr. Zona radiada

(d) Sección longitudinal de zona radiada (MO). *S. atricauda*, azul de toluidina, 1280 x.

Cg. Células de la granulosa

Eg. Epitelio germinal

Gv. Gránulo de vitelo

T. Teca

Vv. Vesículas de vitelo

Z1. Zona radiada externa

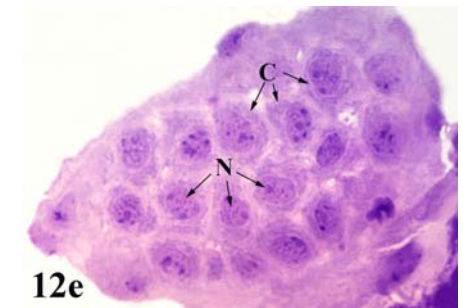
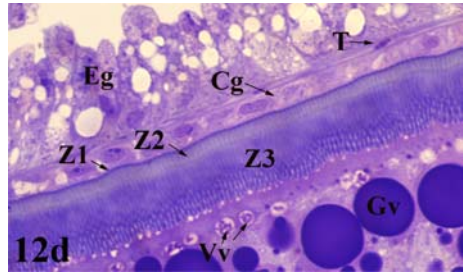
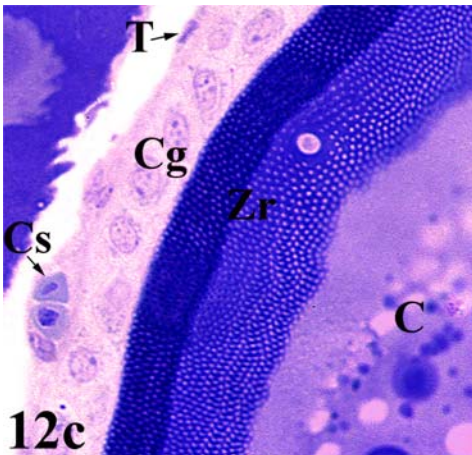
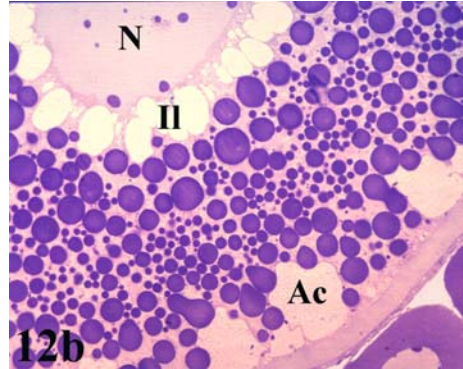
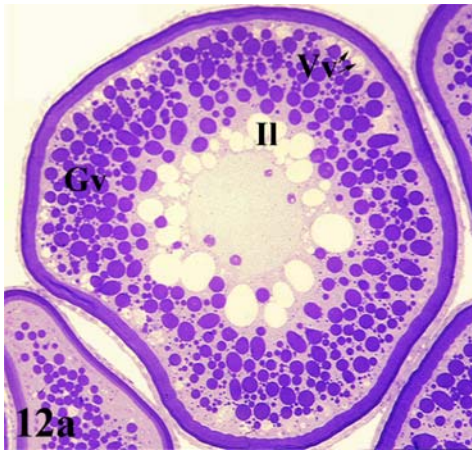
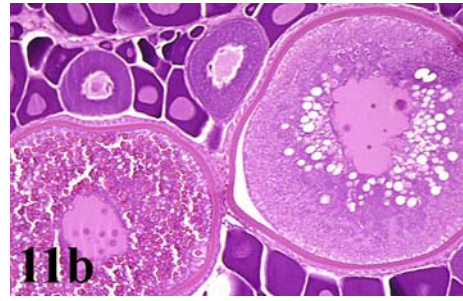
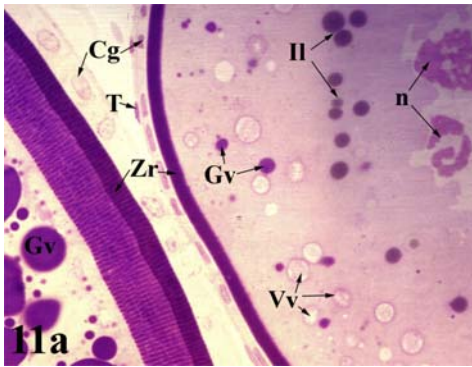
Z2. Zona radiada intermedia

Z3. Zona radiada interna o multilaminar

(e) Células de la granulosa (MO). *S. atricauda*, azul de toluidina, 1000 x

C. Citoplasma

N. Núcleo



GAMETOGENESIS

Lámina II-5

Figura 13. (a) Capas que rodean a un ovocito vitelogénico (MET). *S. atricauda*, 3900 x.

C. Citoplasma

Cg. Células de la granulosa

Gv. Gránulo de vitelo

N. Núcleo

Pcg. Prolongaciones citoplasmáticas de las células granulosas

Pco. Prolongaciones citoplasmáticas del ovocito

Re. Retículo endoplasmático

S. Espacio subfolicular

Vv. Vesícula de vitelo

Z1. Capa externa de la zona radiada

Z2. Capa intermedia de la zona radiada

Z3. Capa interna o multilaminar de la zona radiada

** Láminas*

(b) Detalle de la capa multilaminar (Z3) de la zona radiada (MEB). *S. atricauda*, 7000 x.

C. Citoplasma

Pco. Prolongaciones citoplasmáticas del ovocito

** Láminas*

(c) Superficie externa de la zona radiada (MEB). *S. atricauda*.

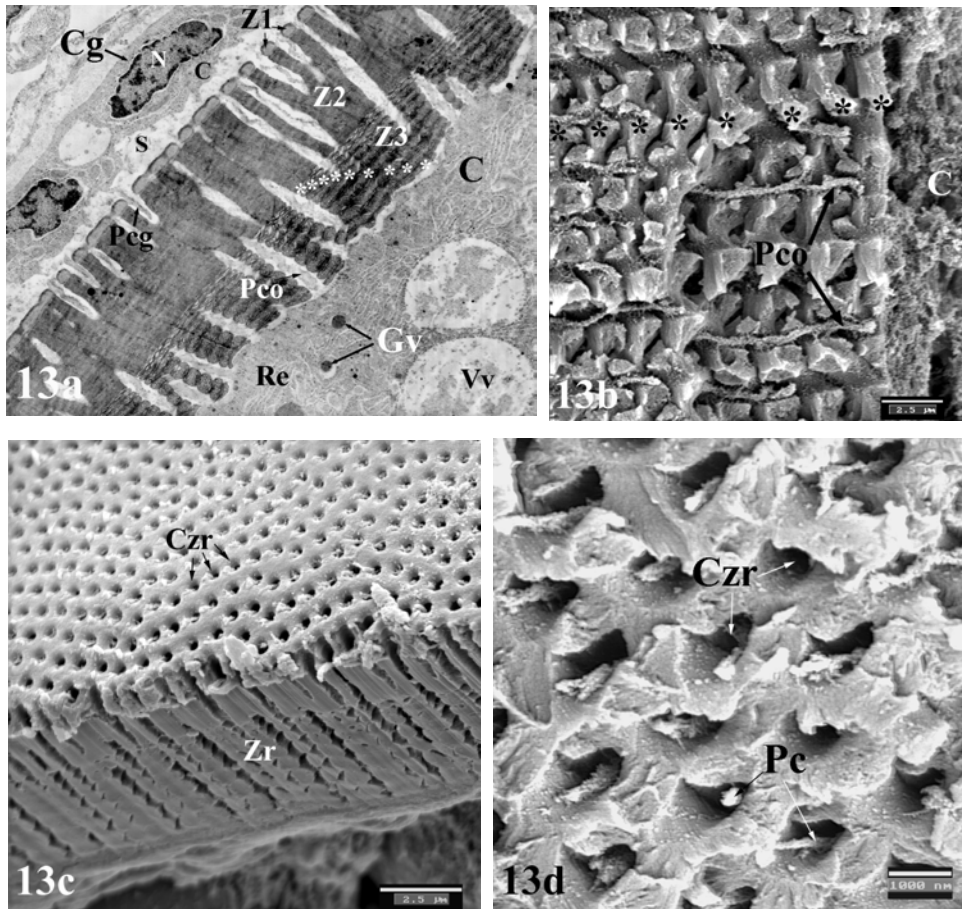
Czr. Canales de la zona radiada

Zr. Zona radiada

(d) Canales o poros que atraviesan la zona radiada (MEB). *S. atricauda*.

Czr. Canales de la zona radiada

Pc. Prolongaciones citoplasmáticas



GAMETOGENESIS

Lámina II-6

Figura 14. Ovocito en estado maduro (MO). *S. cabrilla*, VOF, 100 x.

Gg. Gota de grasa

N. Núcleo

Figura 15. (a) Aspecto de un ovocito hidratado después del proceso histológico de rutina (MO). *S. scriba*, hematoxilina-eosina, 100 x.

C. Citoplasma

Zr. Zona radiada

(b) Ovocito hidratado con el núcleo presente (MO). *S. cabrilla*, azul de toluidina, 1280 x.

C. Citoplasma

N. Núcleo

(c) Ovocito hidratado después de la desintegración del núcleo (MO). *S. atricauda*, azul de toluidina, 200 x.

Ac. Alvéolos corticales

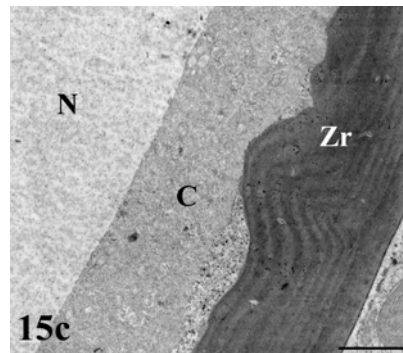
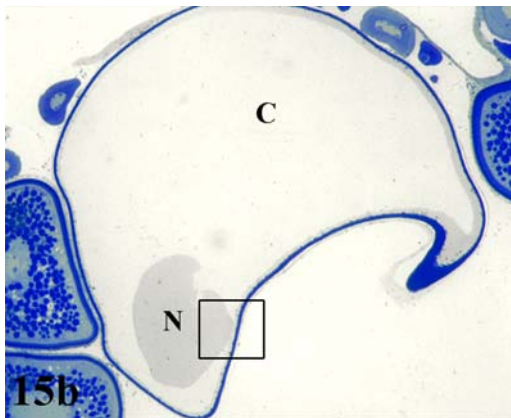
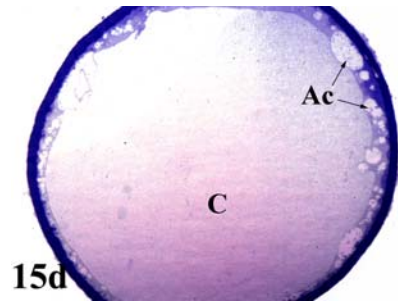
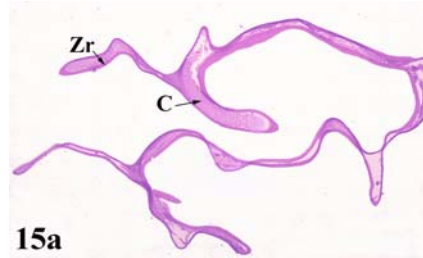
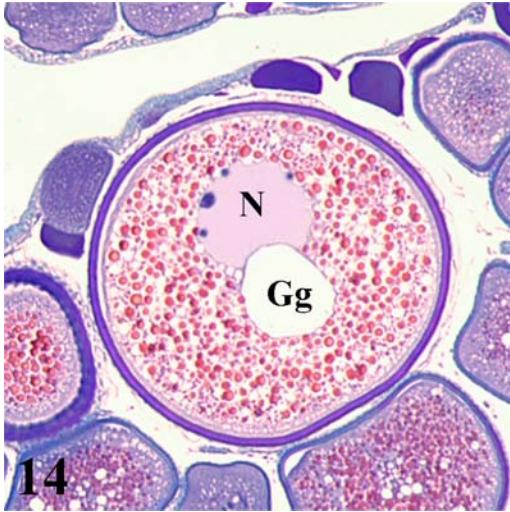
C. Citoplasma

(d) Detalle de la zona externa del ovocito hidratado (MET). *S. atricauda*, 3900 x.

C. Citoplasma

N. Núcleo

Zr. Zona radiada



GAMETOGENESIS

Lámina II-7

Figura 16. Aspecto del citoplasma del ovocito conforme avanza el proceso de hidratación (MO). *S. atricauda*, azul de toluidina, 1000 x.

(a) Inicial

Ac. Alvéolo cortical

C. Citoplasma

Zr. Zona radiada

(b) Final

Ac. Alvéolo cortical

C. Citoplasma

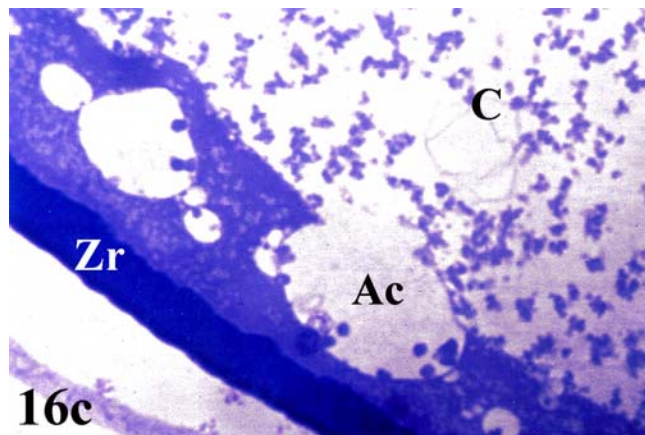
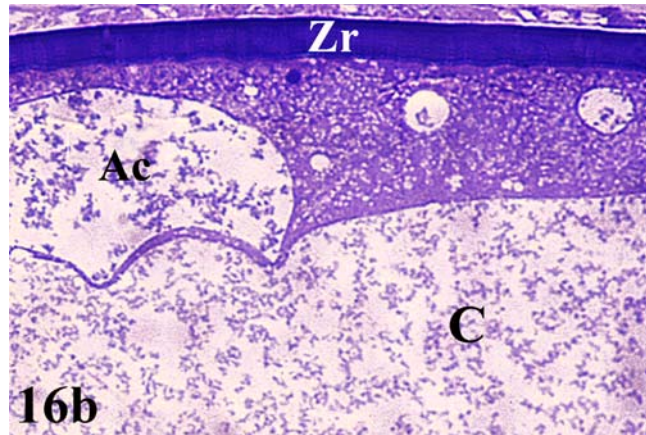
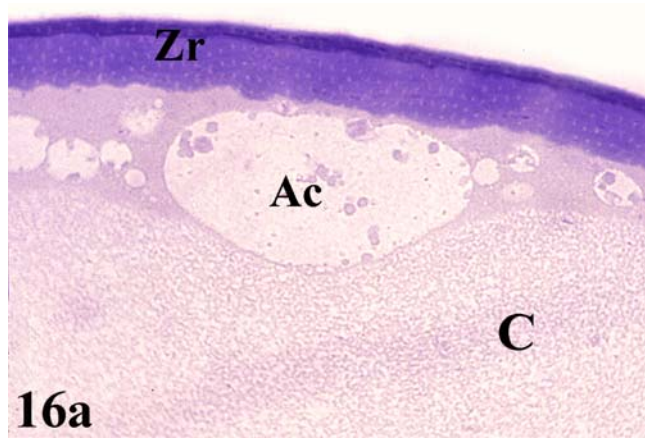
Zr. Zona radiada

(c) Rotura de alvéolos corticales

Ac. Alvéolo cortical

C. Citoplasma

Zr. Zona radiada



GAMETOGENESIS

Lámina II-8

Figura 17. Folículo post-ovulatorio de edad “0 días” (MO). *S. atricauda*, hematoxilina-eosina, 200 x.

Cg. Células granulosas

L. Lumen

N. Núcleo

T. Teca

Figura 18. Folículo post-ovulatorio de edad “1 día” (MO). *S. atricauda*, hematoxilina-eosina, 200 x.

L. Lumen

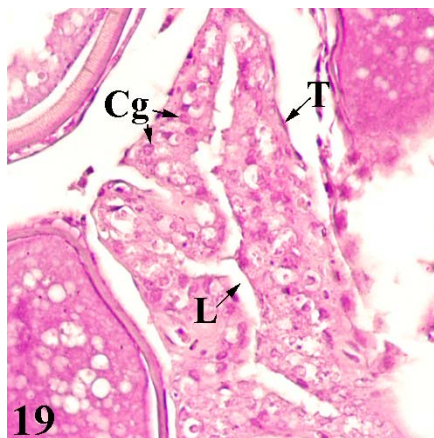
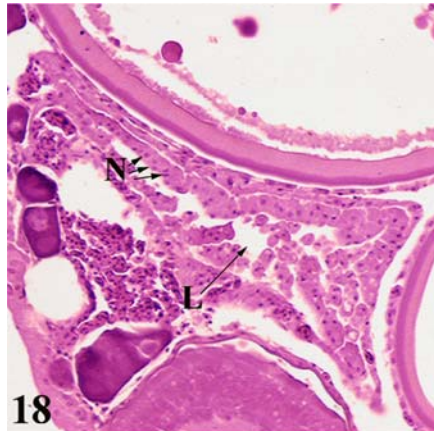
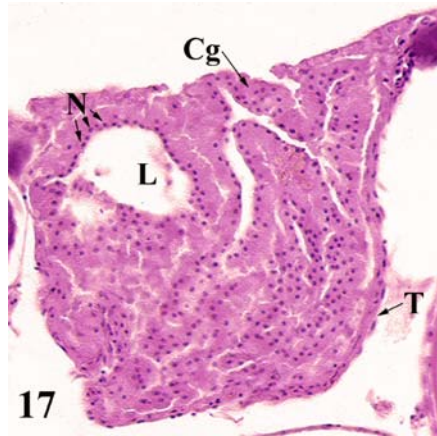
N. Núcleo

Figura 19. Folículo post-ovulatorio de edad “2 días” (MO). *S. cabrilla*, hematoxilina-eosina, 400 x.

Cg. Células granulosas

L. Lumen

T. Teca



GAMETOGÉNESIS

Lámina II-9

Figura 20. Ovocitos atrésicos alfa (") en grado creciente de reabsorción (MO).

- (a) *S. cabrilla*, azul de toluidina, 200 x.
 - Cg. Células de la granulosa*
 - Gv. Gránulos de vitelo*
 - Il. Inclusiones lipídicas*
 - T. Teca*
 - Zr. Zona radiada*

- (b) *S. atricauda*, hematoxilina-eosina, 100 x.
 - Cg. Células de la granulosa*
 - Gv. Gránulos de vitelo*
 - Il. Inclusiones lipídicas*
 - T. Teca*
 - Zr. Zona radiada*

- (c) *S. cabrilla*, azul de toluidina, 400 x.
 - Cg. Células de la granulosa*
 - Il. Inclusiones lipídicas*
 - N. Núcleo*
 - T. Teca*
 - V. Vacuolas lipídicas*
 - Zr. Zona radiada*

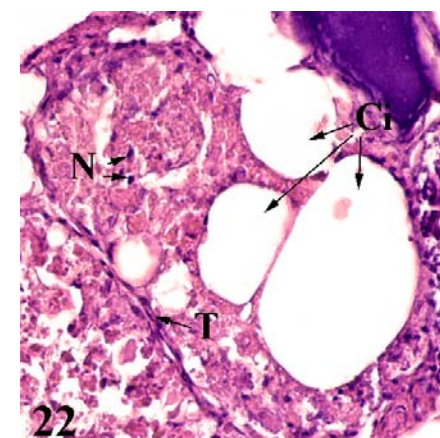
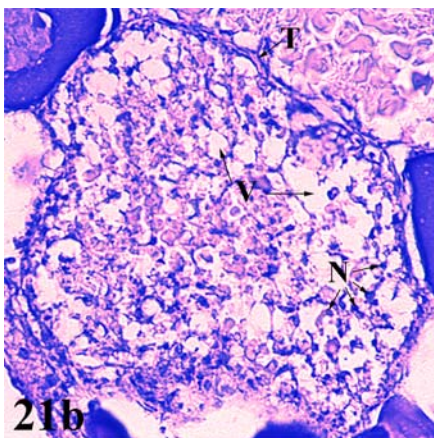
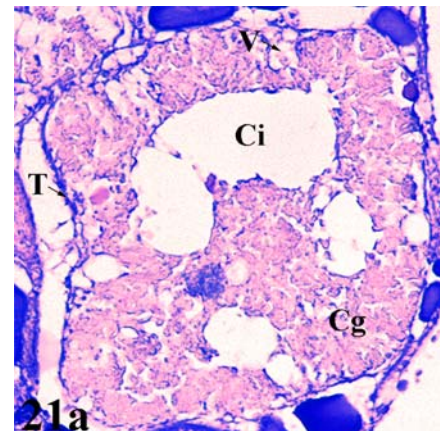
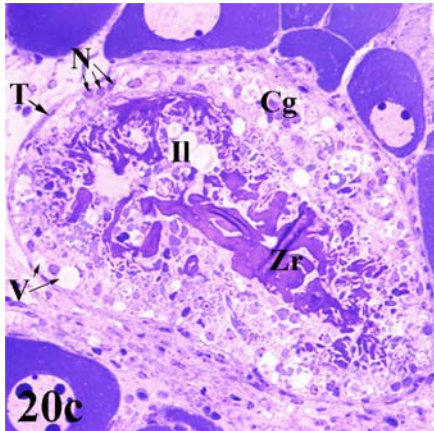
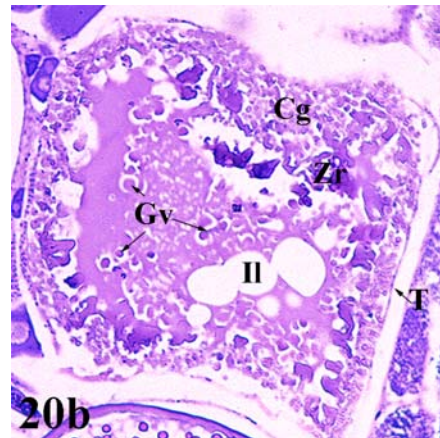
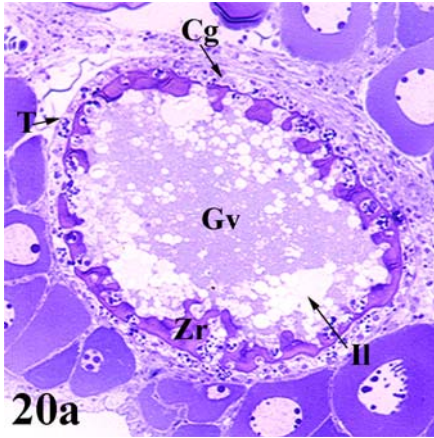
Figura 21. Folículos atrésicos beta (\$) en grado creciente de reabsorción (MO).

- (a) *S. cabrilla*, hematoxilina-eosina, 400 x.
 - Cg. Células de la granulosa*
 - Ci. Cavidades intercelulares*
 - T. Teca*
 - V. Vacuolas lipídicas*

- (b) *S. cabrilla*, hematoxilina-eosina, 200 x.
 - N. Núcleo*
 - T. Teca*
 - V. Vacuolas lipídicas*

Figura 22. Folículo atrésico gamma (∅) (MO). *S. cabrilla*, hematoxilina-eosina, 400 x.

- Ci. Cavidades intercelulares*
- N. Núcleo*
- T. Teca*



ESTADOS DE ESPERMATOGÉNESIS

El testículo de *S. atricauda*, *S. cabrilla* y *S. scribe* es de tipo lobular de acuerdo con Billard (1986) y espermatogonial continuo o no restringido de acuerdo con Grier (1981) y Grier y Parenti (1994) (Lámina II-10, Fig 23a). Está formado por numerosos lóbulos espermatogénicos anastomosados y orientados de forma irregular (Lámina II-10, Fig. 23b) que convergen lateralmente a nivel de la pared gonadal en el conducto espermático, donde se recolecta el esperma (Lámina II-11, Figs. 24a, b, c).

Las células germinales en diferentes estados de espermatogénesis se disponen formando cistos que se desarrollan sincrónicamente dentro de los lóbulos seminíferos, encontrándose aproximadamente en el mismo estado de desarrollo (Lámina II-12, Fig. 25a). Durante la espermatogénesis, las espermatogonias situadas a lo largo de toda la longitud de los lóbulos maduran hasta formar espermatozoides, éstos se liberan al lumen por ruptura de las paredes testiculares y, finalmente, se acumulan en el conducto espermático desde donde son expulsados al exterior (Lámina II-12, Fig. 25b).

Células de Sertoli

Están localizadas en la cara interna de los lóbulos seminíferos y presentan proyecciones citoplasmáticas que se extienden a través de las células germinales (Lámina II-12, Fig. 26). Pueden rodear una sola espermatogonia o a cistos compuestos por varias espermatogonias, espermatocitos o espermátidas. El núcleo es de figura irregular y mide aproximadamente 5,42 μm de longitud y 2,37 μm de diámetro. El material cromatínico del núcleo es finamente granular con algunos grumos asociados a la membrana nuclear, pero no se han observado nucléolos. El citoplasma, de moderada densidad electrónica, contiene numerosas vesículas claras, mitocondrias, numerosas gotas de lípidos y cuerpos multivesiculares electrodensos asociados a lisosomas.

La espermatogénesis se ha dividido en tres fases principales (Selman y Wallace, 1986; Fawcett, 1987): espermatocitogénesis, meiosis y espermiogénesis.

Espermatocitogénesis

La espermatocitogénesis es el proceso en cual las espermatogonias proliferan por división mitótica, dando lugar a varias generaciones sucesivas hasta que la última origina espermatocitos primarios. Las espermatogonias presentan alrededor de $6,73 \mu\text{m}$ de diámetro. Se encuentran situadas junto a la membrana basal de los lóbulos seminíferos, aisladas o agrupadas en cistos (Lámina II-12, Fig. 27a). Son células redondeadas con un gran núcleo central de aproximadamente $4,11 \mu\text{m}$ de diámetro que contiene pequeños grumos de cromatina y uno o dos nucléolos (Lámina II-13, Fig. 27b). Presentan citoplasma claro con numerosas mitocondrias irregularmente distribuidas, ribosomas libres, cisternas de retículo endoplasmático rugoso y material electrodense. Las espermatogonias primarias se transforman en espermatogonias secundarias cuando sufren una citocinesis incompleta formando un sincitio celular. Las espermatogonias secundarias son células de menor tamaño que permanecen unidas por pliegues intercelulares y que, finalmente, dan lugar a espermatocitos primarios.

Meiosis

En esta fase tiene lugar la formación de espermatocitos secundarios y espermátidas, a partir de espermatocitos primarios.

Los espermatocitos primarios y secundarios están siempre agrupados en cistos (Lámina II-13, Fig. 28a) y aparecen conectados por pliegues celulares (Lámina II-13, Fig. 28b). Las divisiones celulares, visibles al MO, son frecuentes dentro de cada cisto y ocurren bajo un cierto patrón asincrónico. Ambos tipos de espermatocitos presentan forma oval y relaciones nucleoplasmáticas altas y, aunque difieren en talla y morfología, poseen características ultraestructurales similares (Lámina II-12, Fig. 25a).

Los espermatocitos primarios alcanzan un diámetro de aproximadamente $6,35 \mu\text{m}$. Su núcleo, de alrededor de $3,34 \mu\text{m}$, contiene cromatina condensada en grumos asociados a la membrana o distribuidos a través de la superficie nuclear. Su citoplasma muestra mitocondrias y ribosomas libres.

Los espermatocitos secundarios presentan aproximadamente la mitad del tamaño de sus precursores, alcanzando un diámetro medio de $4,52 \mu\text{m}$. El núcleo tiene un diámetro aproximado de $2,38 \mu\text{m}$, es altamente electrodense y presenta apariencia granular. Está rodeado por una estrecha banda de citoplasma claro.

GAMETOGÉNESIS

Espermioogénesis

Durante esta última fase tienen lugar importantes cambios nucleares y citoplasmáticos, produciéndose la transformación de las espermátidas en espermatozoides.

Las espermátidas presentan un diámetro celular de alrededor de 2,58 μm y nuclear de 1,59 μm (Lámina II-13, Fig. 29a). Durante la diferenciación el núcleo, que contiene cromatina finamente granular, comienza a indentarse y se forma la “fosa nuclear” (Selman y Wallace, 1986), lugar donde reside el complejo centriolar. Este complejo, que consiste en un centriolo proximal y otro distal asociados a material satélite, presenta una estructura de nueve pares de microtúbulos periféricos y ningún microtúbulo central. Concomitante con la condensación nuclear, el flagelo se proyecta desde el centriolo distal, revelando una configuración de axonema típico con nueve pares de microtúbulos periféricos y dos microtúbulos centrales. El citoplasma es abundante y tiene moderada densidad electrónica; contiene mitocondrias distribuidas irregularmente, retículo endoplasmático y vesículas de retículo endoplasmático liso (Lámina II-13, Fig. 29b).

En *S. scriba*, las espermátidas presentan una proliferación membranosa unida a la parte anterior de la envuelta nuclear (Lámina II-13, Fig. 29c).

Hacia el final de la espermioogénesis el núcleo comienza a condensarse, haciéndose más compacto y presentado cromatina granular electrodensa. Las células comienzan a eliminar el exceso de citoplasma, observándose cuerpos residuales de varias formas y tamaños en el lumen del cisto. Algunos espermatozoides no están completamente diferenciados cuando son liberados al lóbulo seminífero. Sin embargo, la mayoría de ellos se encuentran, completamente diferenciados, libres en la luz del lóbulo desde donde pasan al conducto espermático para ser finalmente expulsados al exterior.

Morfología comparada del espermatozoide

Los espermatozoides de las especies de *Serranus* estudiadas son de tipo primitivo. En las tres especies el espermatozoide tiene cabeza ovoide, pieza intermedia corta con varias mitocondrias, flagelo largo y carece de acrosoma (Lámina II-14, Fig. 30).

La cabeza y la pieza intermedia no están claramente separadas, presentando citoplasma residual con apariencia granular. El flagelo muestra una estructura típica de nueve pares de microtúbulos periféricos y dos

centrales. El núcleo contiene cromatina granular altamente electrodensa. La invaginación o fosa nuclear no es profunda y sus dimensiones son similares a las del complejo centriolar (Lámina II-14, Fig 31a, b, c).

El complejo centriolar se encuentra situado en la pieza intermedia, formado por el centriolo proximal y distal, y separado del flagelo por el “canal citoplasmático” (Mattei, 1970; Koch y Lambert, 1990; Lahnsteiner y Patzner, 1995) (Lámina II-15, Fig. 32). Los dos centriolos están orientados perpendicularmente uno respecto del otro, colocados en ángulo recto en la base de la cabeza. El centriolo proximal está alojado en la fosa nuclear, consta de nueve pares de microtúbulos periféricos y carece de microtúbulos centrales (Lámina II-15, Fig. 33a). El centriolo distal consiste en nueve pares de microtúbulos periféricos y dos microtúbulos centrales, los cuales forman el cuerpo basal del axonema (Lámina II-15, Fig. 33b).

El tamaño y número de mitocondrias varía en los espermatozoides de las tres especies, exhibiendo características comunes que se pueden describir de forma generalizada.

Por último, el flagelo muestra una estructura típica de nueve pares de microtúbulos periféricos y dos centrales (Lámina II-15, Fig. 33c).

Morfología del espermatozoide de *Serranus atricauda* y *S. cabrilla*

La organización general del espermatozoide de ambas especies es similar, presentando morfología simétrica con inserción central del flagelo.

La cabeza, junto a la pieza intermedia, mide 2,33 y 1,58 μm de longitud, con diámetro máximo de 1,92 y 1,52 μm , en *S. atricauda* y *S. cabrilla*, respectivamente. El núcleo ovoide tiene 1,19 μm en el eje longitudinal y 1,39 μm en el eje lateral en *S. atricauda*, y 0,98 μm en longitud y 1,34 μm en anchura en *S. cabrilla*. La fosa nuclear tiene 0,28 μm de longitud y un diámetro de 0,39 μm en *S. atricauda*, y alcanza valores de 0,27 μm en longitud y 0,37 μm en anchura en *S. cabrilla* (Tabla II-2).

La pieza intermedia del esperma contiene cinco mitocondrias esféricas de igual tamaño con un diámetro de 0,54 μm en *S. atricauda*, y cuatro con un diámetro de 0,57 μm en *S. cabrilla* (Lámina II-15, Fig. 34). El canal citoplasmático tiene 0,32 μm de diámetro y su longitud es de 0,41 μm en *S. atricauda*, y 0,37 μm de longitud y 0,21 μm de anchura en *S. cabrilla*. El centriolo proximal presenta un diámetro de 0,21 μm y 0,18 μm de longitud en *S. atricauda*, mientras en *S. cabrilla* tiene 0,21 μm de largo y 0,19 μm de anchura. El centriolo distal mide 0,20 y 0,17 μm en diámetro en *S. atricauda* y *S. cabrilla*, respectivamente (Tabla II-2).

GAMETOGÉNESIS

El flagelo tiene una longitud de alrededor de 43 μm y un diámetro de 0,19 μm en *S. atricauda* y, toma valores de alrededor de 40 μm en longitud y 0,18 μm de ancho en *S. cabrilla* (Tabla II-2).

Morfología del espermatozoide de *Serranus scriba*

La morfología del espermatozoide es asimétrica debido a la inserción lateral de un flagelo (Lámina II-15, Fig. 35 y lámina II-16, Figs. 36 y 37).

La cabeza, junto con la pieza intermedia, tiene una longitud de 2,83 μm y una anchura de 1,71 μm . El núcleo ovoide es asimétrico, mide 1,39 μm de longitud y 1,22 μm de anchura, consistiendo en material cromatínico granular densamente empaquetado. Aunque carece de acrosoma, en la parte apical del núcleo se observa una estructura peculiar formada por un apilamiento de membranas (1 ó 2) sobre la envoltura nuclear, delimitando una cisterna perinuclear que contiene material electroclaro (Lámina II-16, Fig. 38) que podría constituir un vestigio de la vesícula acrosómica. La fosa nuclear está localizada en el eje longitudinal del espermatozoide, con 0,34 μm de longitud y 0,21 μm de diámetro (Tabla II-2).

La pieza intermedia contiene cuatro mitocondrias (diámetro de 0,71 μm): tres aparecen juntas formando un triángulo rectángulo y una aislada junto al complejo centriolar (Lámina II-16, Fig 39). El citoplasma muestra varias inclusiones lipídicas. El canal citoplasmático tiene 0,33 μm de diámetro y su longitud es de 1,13 μm . El centriolo proximal mide 0,25 μm de longitud y 0,30 μm de ancho. El centriolo distal tiene un diámetro de 0,30 μm . El flagelo presenta una longitud aproximada de 47 μm y un diámetro de 0,30 μm (Tabla II-2).

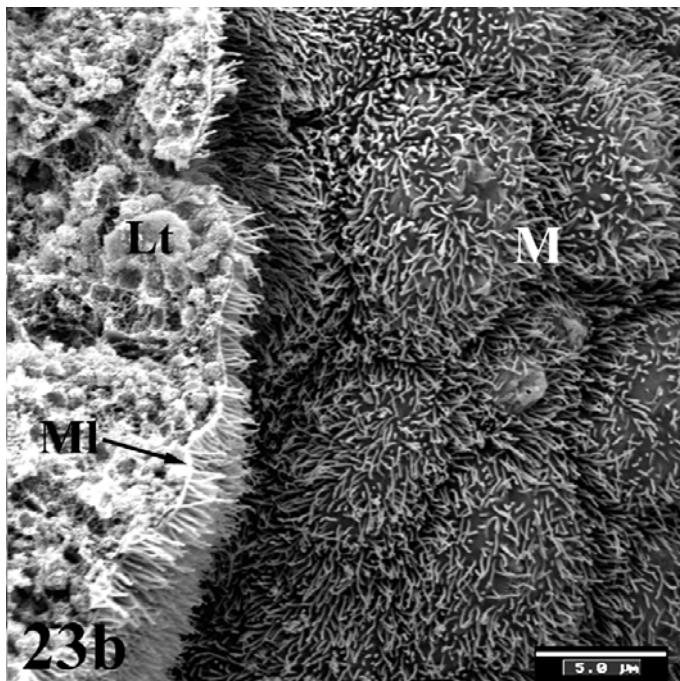
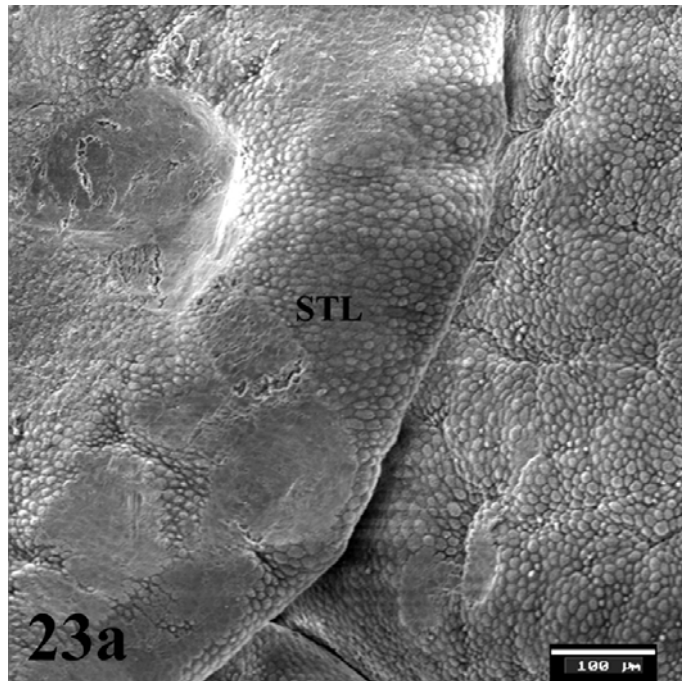
Tabla II-2. Características morfológicas de los espermatozoides de *Serranus spp.* l, longitud (μm); d, diámetro (μm); n, número.

Características		<i>S. atricauda</i>	<i>S. cabrilla</i>	<i>S. scriba</i>
Cabeza + pieza intermedia	l	$2,33 \pm 0,25$	$1,58 \pm 0,10$	$2,83 \pm 0,20$
	d	$1,92 \pm 0,15$	$1,52 \pm 0,15$	$1,71 \pm 0,15$
Núcleo	l	$1,19 \pm 0,12$	$0,98 \pm 0,09$	$1,39 \pm 0,15$
	d	$1,39 \pm 0,13$	$1,34 \pm 0,11$	$1,22 \pm 0,13$
Fosa nuclear	l	$0,28 \pm 0,04$	$0,27 \pm 0,06$	$0,34 \pm 0,07$
	d	$0,39 \pm 0,05$	$0,37 \pm 0,04$	$0,21 \pm 0,05$
Mitocondrias	n	5	4	4
	d	$0,54 \pm 0,08$	$0,57 \pm 0,06$	$0,71 \pm 0,18$
Canal citoplasmático	l	$0,41 \pm 0,04$	$0,37 \pm 0,05$	$1,13 \pm 0,08$
	d	$0,32 \pm 0,02$	$0,21 \pm 0,03$	$0,33 \pm 0,03$
Centriolo proximal	l	$0,18 \pm 0,03$	$0,21 \pm 0,03$	$0,25 \pm 0,02$
	d	$0,21 \pm 0,02$	$0,17 \pm 0,02$	$0,30 \pm 0,02$
Centriolo distal	d	$0,20 \pm 0,02$	$0,17 \pm 0,02$	$0,30 \pm 0,02$
Flagelo	l	43	40	47
	d	$0,19 \pm 0,03$	$0,18 \pm 0,05$	$0,30 \pm 0,04$

Lámina II-10

Figura 23. (a) Superficie de los lóbulos testiculares (MEB). *S. atricauda*.
STL. Superficie lóbulo testicular

(b) Interior y membrana del lóbulo testicular (MEB). *S. atricauda*.
M. Microvellosidades
MI. Membrana lobular
Lt. Lóbulos testiculares



GAMETOGENESIS

Lámina II-11

Figura 24. Sección de un testículo (MO).

(a) *S. atricauda*, tricrómico VOF, 400 x.

TE. Testículo

TA. Túnica albugínea

(b) *S. cabrilla*, tricrómico de Mallory, 200 x.

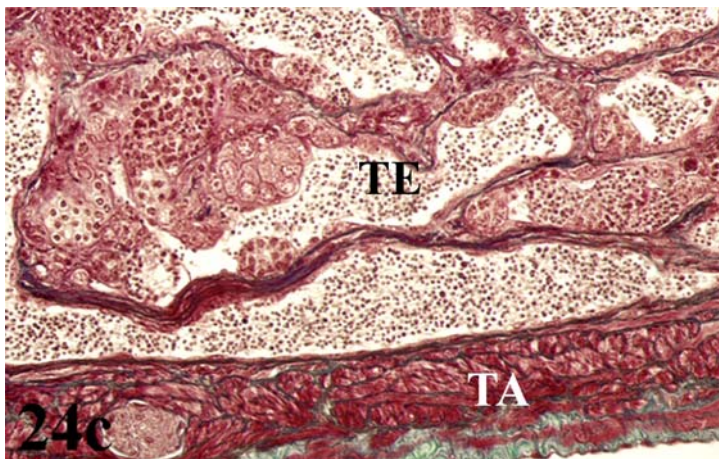
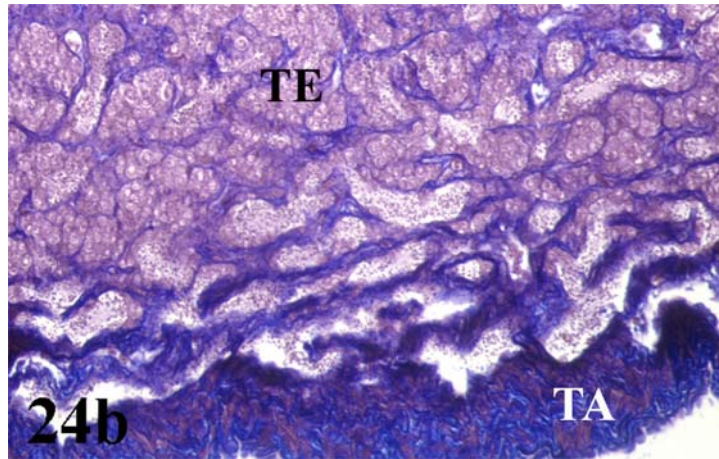
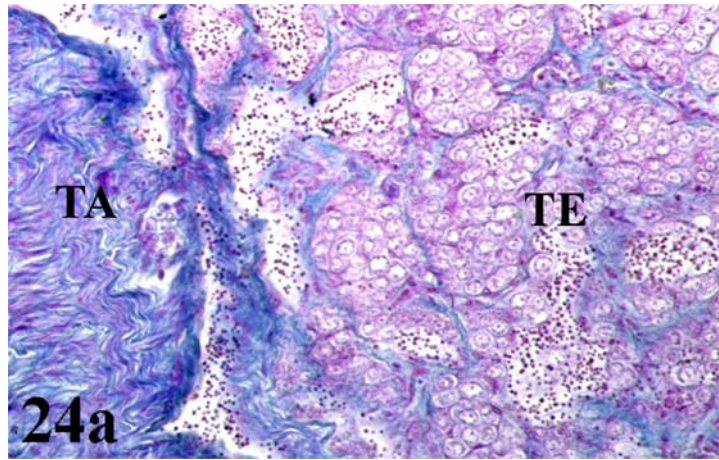
TE. Testículo

TA. Túnica albugínea

(c) *S. scribea*, tricrómico de Masson, 400 x.

TE. Testículo

TA. Túnica albugínea



GAMETOGÉNESIS

Lámina II-12

Figura 25. (a) Lóbulos seminíferos (MO). *S. atricauda*, azul de toluidina, 400 x.

- Spc*₁. Espermatocitos primarios
- Spc*₂. Espermatocitos secundarios
- Spg*. Espermatogonia
- Spt*. Espermatidas
- Spz*. Espermatozoides
- * Cistos celulares en división

(b) Acumulación de espermatozoides en el canal deferente. *S. scriba*, hematoxilina-eosina, 100 x.

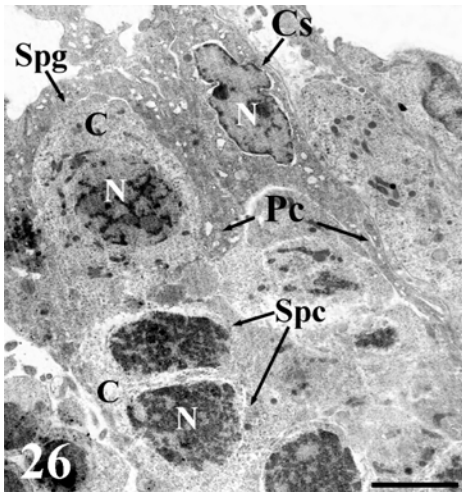
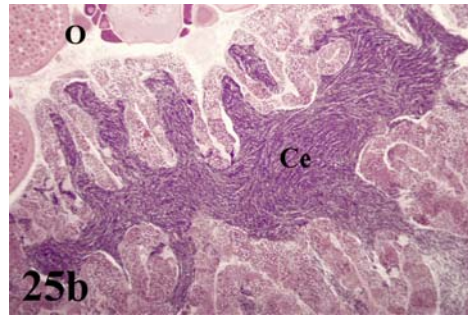
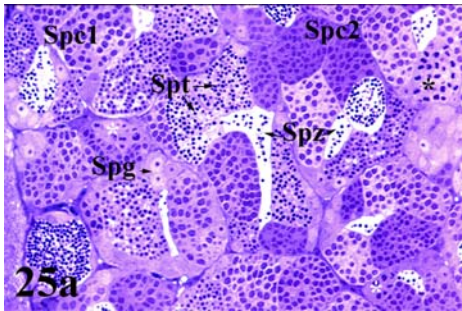
- Ce*. Conducto espermático
- O*. Ovario

Figura 26. Célula de Sertoli rodeando a una espermatogonia (MET). *S. atricauda*, 2950 x.

- C*. Citoplasma
- N*. Núcleo
- Pc*. Prolongaciones citoplasmáticas
- Cs*. Célula de Sertoli
- Spc*. Espermatocitos
- Spg*. Spermatogonia

Figura 27. (a) Cisto de espermatogonias (MO). *S. atricauda*, azul de toluidina, 1000 x.

- C*. Citoplasma
- N*. Núcleo
- n*. Nucléolo
- Pl*. Pared lobular
- Spz*. Espermatozoide



GAMETOGÉNESIS

Lámina II-13

Figura 27. (b) Espermatogonia (MET). *S. scriba*, 7000 x.

C. Citoplasma

N. Núcleo

n. Nucléolo

! . Material electrodensso

Figura 28. (a) Cisto de espermátocitos (MEB). *S. atricauda*.

Ll. Luz del lóbulo

Spc. Espermátocitos

Spz. Espermatozoide

(b) Cisto de espermátocitos (MET). *S. scriba*, 14000 x.

Mi. Mitocondria

N. Núcleo

! . Puentes intercelulares

Figura 29. (a) Cisto de espermátidas (MET). *S. atricauda*, 2200 x.

(b) Espermátida (MET). *S. atricauda*, 21000 x.

C. Citoplasma

Cd. Centriolo distal

Fla. Flagelo

N. Núcleo

(c) Espermátida (MET). *S. scriba*, 18000 x.

Cd. Centriolo distal

Cp. Centriolo proximal

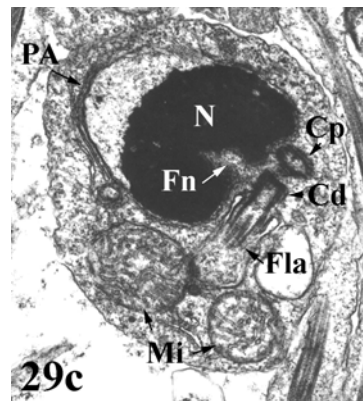
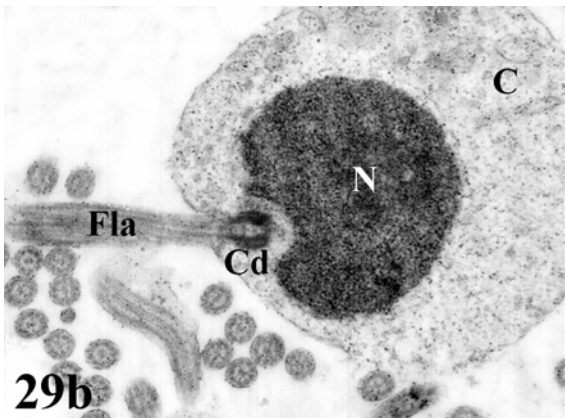
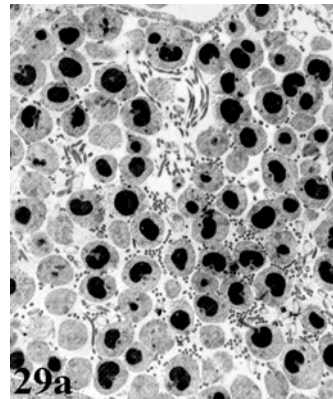
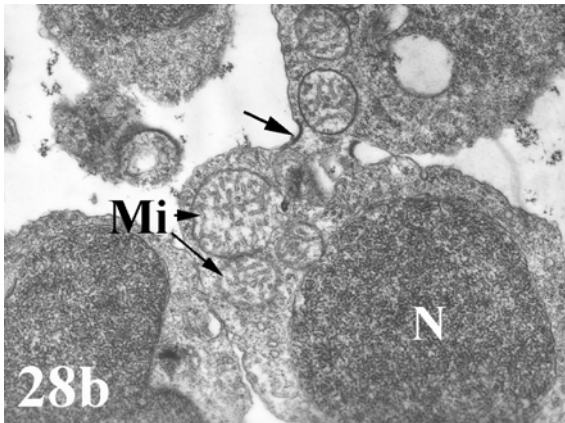
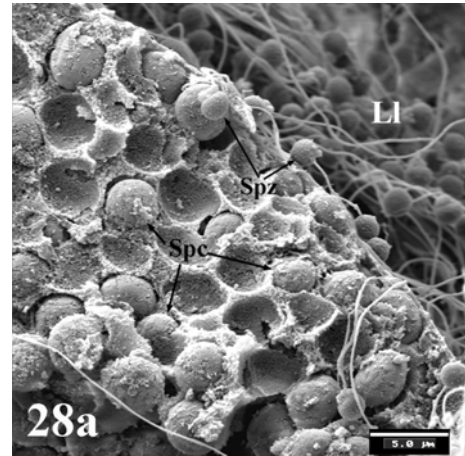
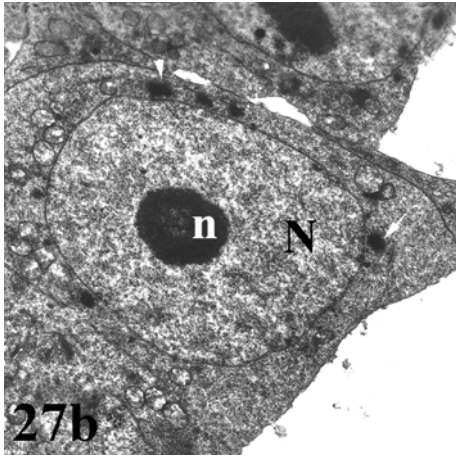
Fla. Flagelo

Fn. Fosa nuclear

Mi. Mitocondria

N. Núcleo

PA. Pseudoacrosoma



GAMETOGENESIS

Lámina II-14

Figura 30. Espermatozoides en la luz del lóbulo (MEB). *S. atricauda*.

Figura 31. (a) Espermatozoide en la luz del túbulo (MEB). *S. atricauda*.

Ca. Cabeza

Fla. Flagelo

Mi. Mitocondrias

(b) Sección longitudinal de un espermatozoide (MET). *S. atricauda*, 10000 x.

Cd. Centriolo distal

Cp. Centriolo proximal

Fla. Flagelo

Mi. Mitocondria

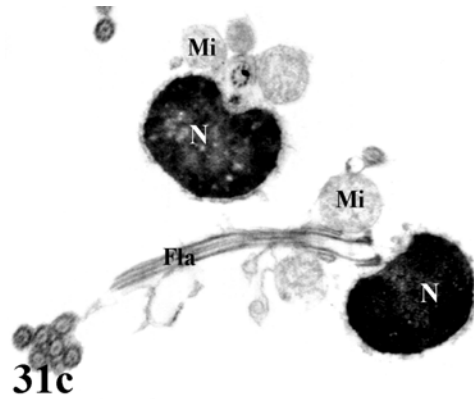
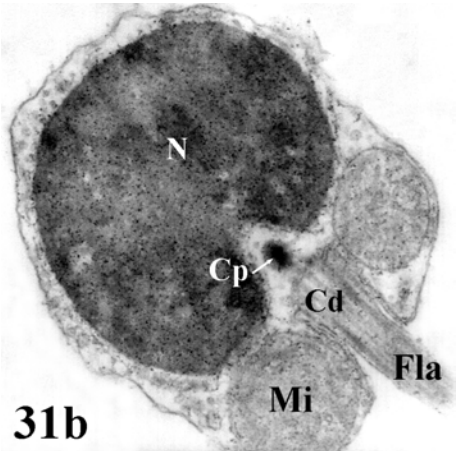
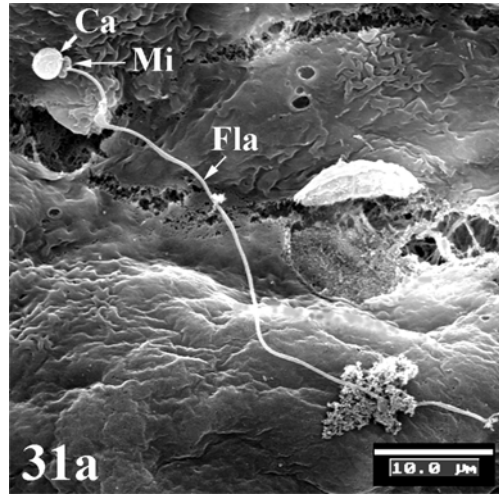
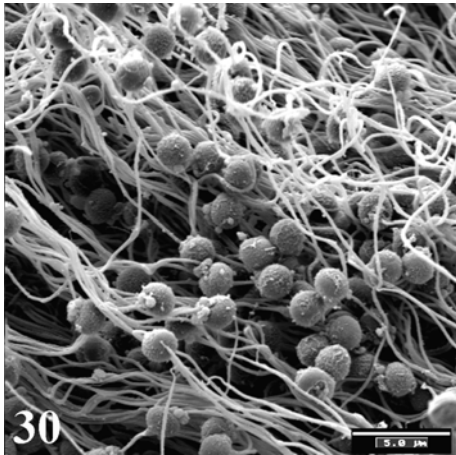
N. Núcleo

(c) Sección longitudinal y transversal de espermatozoides (MET). *S. atricauda*, 28500 x.

Fla. Flagelo

Mi. Mitocondria

N. Núcleo



GAMETOGENESIS

Lámina II-15

Figura 32. Sección longitudinal de un espermatozoide (MET). *S. cabrilla*, 27500 x.

Cc. Canal citoplasmático

Cd. Centriolo distal

Fla. Flagelo

Mi. Mitocondria

Nu. Núcleo

Figura 33. (a) Sección transversal de un centriolo proximal (MET). *S. cabrilla*, 27500 x.

Fn. Fosa nuclear

m. Par de microtúbulos periféricos

N. Núcleo

(b) Sección transversal de un flagelo (MET). *S. cabrilla*, 46000 x.

Cc. Canal citoplasmático

Fla. Flagelo

(c) Sección transversal de varios flagelos (MET). *S. atricauda*, 39000 x.

Figura 34. Sección transversal de una pieza intermedia (MET). *S. cabrilla*, 15500 x.

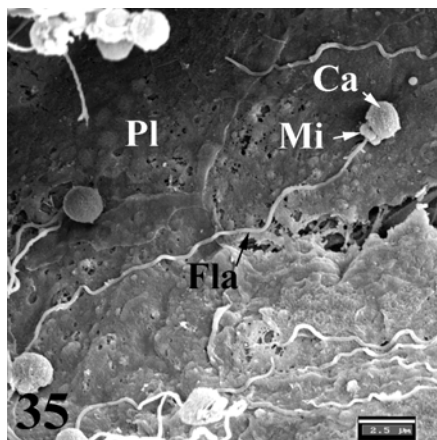
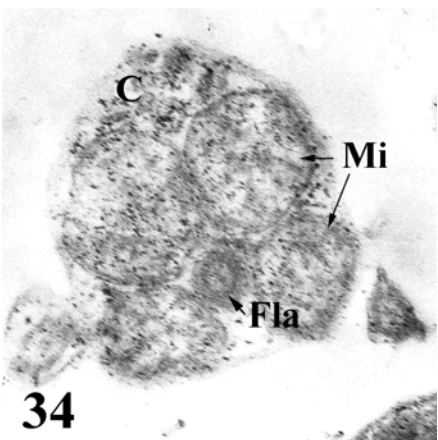
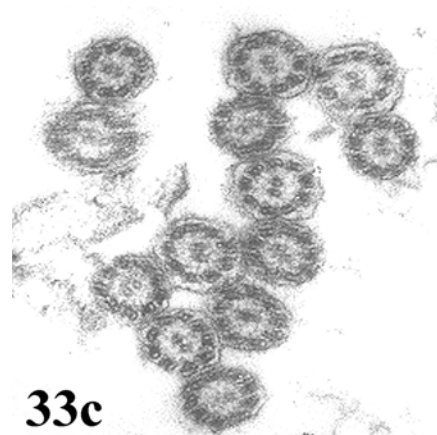
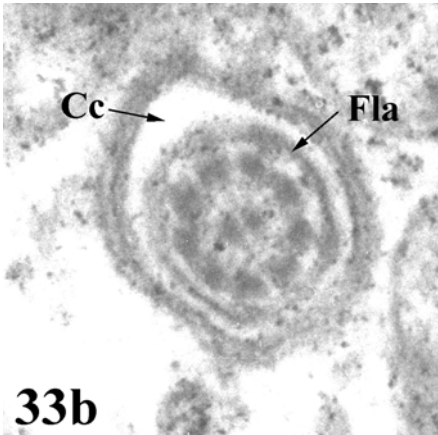
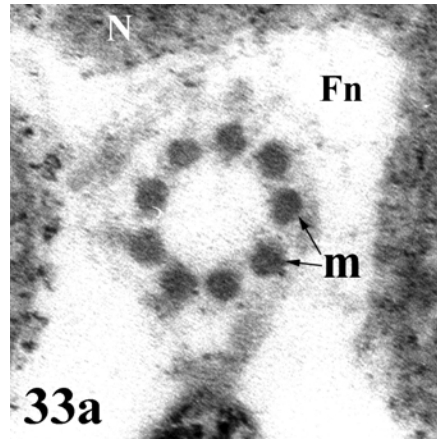
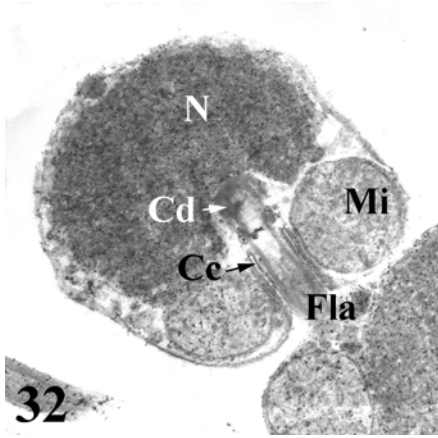
Figura 35. Espermatozoide en la luz del túbulo (MEB). *S. scriba*.

Ca. Cabeza

Fla. Flagelo

Mi. Mitocondrias

Pl. Pared del lóbulo



GAMETOGENESIS

Lámina II-16

Figura 36. Detalle de la inserción de un flagelo (MEB). *S. scriba*.

Ca. Cabeza

Fla. Flagelo

Mi. Mitocondria

Figura 37. Sección longitudinal de un espermatozoide (MET). *S. scriba*, 18000 x.

Cc. Canal citoplasmático

Mi. Mitocondrias

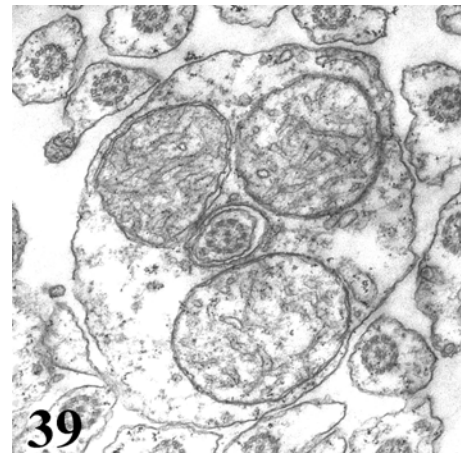
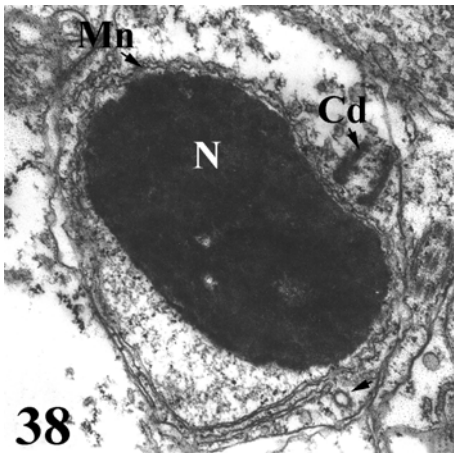
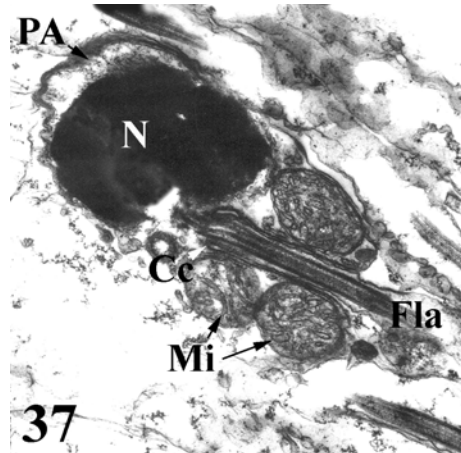
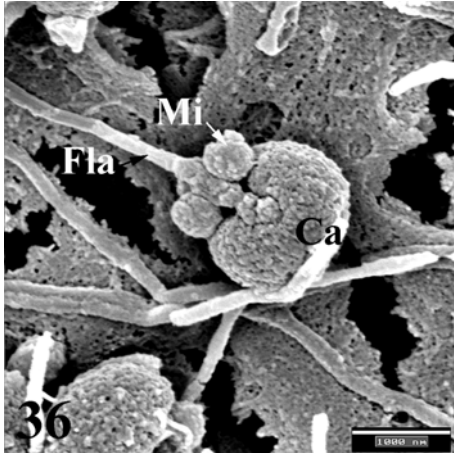
N. Núcleo

PA. Pseudoacrosoma

Figura 38. Región anterior del núcleo de un espermatozoide (MET). *S. scriba*, 27500 x.

N. Núcleo

Figura 39. Sección transversal de la pieza intermedia de un espermatozoide (MET).
S. scriba, 18000 x.



DISCUSIÓN

ESTADOS DE DESARROLLO DEL OVOCITO

El crecimiento y el desarrollo del ovocito constituyen un aspecto importante en la biología de peces y pesquerías (Tyler y Sumpter, 1996). Las especies estudiadas del género *Serranus* presentan ovarios asincrónicos, dentro de los cuales los ovocitos son reclutados de una población heterogénea de ovocitos en desarrollo, consecutivamente ovulados y expulsados en varios actos de puesta durante cada estación de freza. Debido a que realizan varios desoves a lo largo del período reproductor, se puede asumir que son reproductores parciales, heterocronos, múltiples o seriales, pero no podemos predecir la duración de dicho período.

En algunos casos, el modelo de desarrollo ovárico se ha relacionado incorrectamente con el tipo de puesta, existiendo cierta confusión al emplear conceptos histológicos en estudios de biología pesquera. West (1990) argumentó que el problema surge cuando se aplican términos referidos al tipo de puesta y sin embargo todo lo que se conoce es el modelo de desarrollo del ovocito.

En estudios histológicos, los ovarios se clasifican dentro de tres modelos básicos: sincrónico, sincrónico por grupos y asincrónico (Marza, 1938 en Wallace y Selman, 1981).

Por otra parte, en estudios biológico-pesqueros se proponen dos modelos de puesta: total o isocrono y parcial o heterocrono (Holden y Raitt, 1975). Los reproductores totales se definen como especies que desarrollan sincrónicamente todos los gametos femeninos y masculinos, para ser emitidos en un solo periodo de reproducción corto (una semana más o menos). Y reproductores parciales, aquellas especies que presentan ovarios con ovocitos en maduración en fases muy diferentes de desarrollo y en los que el período de reproducción es muy largo.

En función de ambos puntos de vista, West (1990) concluyó que peces con desarrollo ovárico sincrónico por grupos se denominan reproductores totales o isocronos y presentan épocas de puesta cortas, mientras que peces con ovario asincrónico se llaman reproductores parciales, heterocronos, múltiples o seriales, y ponen varias veces a lo largo de una estación de freza prolongada, excluyendo de esta clasificación a aquellas especies con ovarios en los que el desarrollo del ovocito ocurre de forma sincrónica. Tyler y Sumpter (1996) clasificaron el desarrollo del ovario como sincrónico

(incluyendo los que presentan ovario sincrónico y sincrónico por grupos) y asincrónico, asumiendo que estos últimos son los únicos capaces de realizar varios actos de puesta y denominándolos por ello reproductores parciales.

Sin embargo, los términos total/parcial y sincrónico/asincrónico parecen no reflejar todos los modelos de puesta existentes. Por ejemplo, aquellas especies que presentan ovarios con desarrollo del ovocito por grupos sincrónicos podrían incluirse en cualquiera de las dos categorías, ya que entrarían en una u otra, debido a que pueden ovular una o más veces y su época de puesta puede tener una duración corta o larga, respectivamente. Estas especies pueden desovar sucesivas veces a lo largo de una estación de freza larga, como sucede en *Dicentrarchus labrax* (Mayer *et al.*, 1990), *Archosargus probatocephalus* (Render y Wilson, 1992), *Pogonias chromis*, *Sciaenops ocellatus* (Wilson y Nieland, 1994) y *Trichiurus lepturus* y *T. nanhaiensis* (Kwok y Ni, 1999), entre otras. Pero por el contrario, también ocurre que realicen un sólo acto de puesta dentro de una temporada de reproducción corta, como ocurre en algunas especies de la familia Nototheniidae (Butskaya y Faleeva, 1987) y en *Hoplostethus atlanticus* (Koslow *et al.*, 1995). En este sentido, Tyler y Sumpter (1996) señalan que los términos de reproductor “sincrónico” y “asincrónico” describen dos extremos de un proceso continuo, y que en teleósteos es muy probable que existan todas las estrategias posibles.

Por consiguiente, parece más razonable considerar reproductores totales o isocronos aquellas especies con desarrollo ovárico sincrónico, las cuales desarrollan y ovulan sincrónicamente todos los ovocitos, ponen y después mueren. Y denominar reproductores parciales, heterocronos, múltiples o seriales a especies que presentan ovarios con desarrollo sincrónico por grupos y ovarios con desarrollo asincrónico, y que producen uno o varios desoves a lo largo de la época de puesta.

Por otra parte, la duración de la estación reproductora no parece ser un buen criterio, a la vez que resulta ambiguo e indeterminado, para diferenciar las distintas estrategias o modelos de puesta en teleósteos. Una estación de puesta prolongada no necesariamente implica puestas múltiples para cada individuo, ya que esto puede explicarse por la falta de sincronía en el desarrollo gonadal de la población (De Vlaming, 1983; West, 1990). Hunter y Goldberg (1980) asumieron que en latitudes altas muchos peces producen una única puesta por año, mientras que peces característicos de mares subtropicales y tropicales producen varios desoves. Burt *et al.* (1988) asocian puestas múltiples con ambientes menos estacionales y tamaños pequeños de cuerpo y ovario. García-Cagide *et al.* (1983) encontraron que peces de latitudes frías presentan desarrollo sincrónico del ovocito,

GAMETOGÉNESIS

estaciones de puesta cortas y reproducción total, mientras que en latitudes templadas el desarrollo del ovocito puede ser sincrónico y asincrónico, con puesta total y parcial. Finalmente en peces tropicales, aunque el desarrollo ovárico puede ser sincrónico es frecuentemente asincrónico, y muestran muchos tipos de gametogénesis y estrategias de puesta. Por consiguiente, la duración de dicho periodo variará según la fluctuación de diferentes factores biológicos y ambientales (temperatura, fotoperiodo, oxígeno, salinidad, etc.) (Hoar *et al.*, 1983; Tucker, 1994; Sadovy, 1996) y no en función del modelo de desarrollo ovárico que presente la especie.

La descripción de los diferentes estados de desarrollo del ovocito de *S. cabrilla* y *S. scriba*, mediante microscopía óptica, ha sido realizada por diversos autores (Reinboth, 1962, 1970; Smith, 1965; Zanuy y Carrillo, 1973; Febvre *et al.*, 1975; Zanuy, 1977; Ezzat *et al.*, 1988; Abd-el-Aziz y Ramadan, 1990; Siau y Bouain, 1994). El modelo de desarrollo ovárico asincrónico que presentan ambas especies en Canarias coincide con el encontrado por estos autores en otras áreas geográficas. Sin embargo, *S. atricauda* se estudia por primera vez en el presente trabajo y por lo tanto, no se puede comparar con otras poblaciones.

El tipo de desarrollo del ovocito no es, necesariamente, una característica fija de la especie. Fox (1978) encontró modelos distintos para diferentes poblaciones de *Cottus gobio*, mientras que Urban (1991) y Witthames y Greer Walker (1995) determinaron que dos stocks de la misma especie pueden tener estrategias de puesta diferentes.

Aunque existen pequeñas diferencias estructurales, el modelo de crecimiento básico del ovocito en las especies del género *Serranus* de Canarias es similar al descrito por varios autores en otros teleósteos (Yamamoto, 1956; Wallace y Selman, 1981; Selman y Wallace, 1989; Selman *et al.*, 1986, 1993). Las observaciones al MO ponen de manifiesto que la diferencia más notable encontrada entre las tres especies de *Serranus* es el momento de la aparición de las diferentes inclusiones citoplasmáticas. Durante la vitelogénesis de teleósteos se forman generalmente tres tipos de inclusiones, aunque la frecuencia de aparición varía ampliamente con la especie (Grau *et al.*, 1996). En *S. atricauda* y *S. cabrilla*, la secuencia de aparición es la siguiente: vesículas de vitelo, gránulos de vitelo y finalmente inclusiones lipídicas, mientras que en *S. scriba* aparecen inclusiones lipídicas antes que gránulos de vitelo. La fase de crecimiento vitelogénica se ha dividido en endógena, y exógena o verdadera vitelogénesis (Wallace y Selman, 1981). El hecho de que las primeras inclusiones que aparecen sean vesículas de vitelo, parece indicar que éstas son los marcadores del

comienzo de la vitelogénesis endógena (Selman y Wallace, 1989; González de Canales *et al.*, 1992; Sarasquete *et al.*, 1993; Grau *et al.*, 1996).

En la mayoría de teleósteos aparecen primero vesículas de vitelo seguidas por inclusiones lipídicas (Selman y Wallace, 1986, 1989; Landry y McQuinn, 1988; Begen *et al.*, 1991; Sarasquete *et al.*, 1993). Sin embargo, existen ejemplos de un rango de ovocitos de peces desprovistos de estas inclusiones (Yamamoto y Yamazaki, 1961; Khoo, 1979; Wallace y Selman, 1981; Landry y McQuinn, 1988; Selman y Wallace, 1989) y en otras, como *Pagrus major* (Matsuyama *et al.*, 1987), son las últimas estructuras en formarse. En *Dicentrarchus labrax* se acumulan primero inclusiones lipídicas, seguidas por gránulos de vitelo y finalmente vesículas de vitelo (Mayer *et al.*, 1988). En otras especies como *Blennius pholis* (Shackley y King, 1977), *Morone saxatilis* (Groman, 1982), *Oryzias latipes* (Iwamatsu *et al.*, 1988) y *Seriola dumerili* (Grau *et al.*, 1996), primero aparecen inclusiones lipídicas, después vesículas de vitelo y por último gránulos de vitelo.

Diversos trabajos han señalado que las vesículas de vitelo del ovocito inmaduro dan lugar a los alvéolos corticales del ovocito maduro (Wallace y Selman, 1981; Selman y Wallace, 1986). En el presente trabajo, se ha llevado a cabo un análisis minucioso de estas inclusiones en el ovario de *S. atricauda*, *S. cabrilla* y *S. scribe*. Las observaciones realizadas con MO sugieren que ambas estructuras tienen apariencia similar. Sin embargo, exámenes con MET evidencian morfología diferente en cuanto al contenido de ambas inclusiones. Además se encontró que en *S. cabrilla* y *S. scribe* aparece una membrana limitante en las vesículas de vitelo, mientras que *S. atricauda* no la presenta. Por el contrario, Selman *et al.* (1988) encontraron en *Fundulus heteroclitus* que vesículas de vitelo y alvéolos corticales tienen morfología y composición bioquímica similar y observaron que las vesículas de vitelo están rodeadas por membrana.

Los exámenes con MET de ovocitos vitelogénicos en *S. atricauda* sugieren que la zona radiada está formada por 9 láminas, pero posteriores observaciones con MEB confirman la presencia de 10 láminas. Parece ser que la estructura y el número de capas y láminas que presenta la zona radiada varían no sólo entre especies sino también dentro de una misma especie (Hyllner, 1994). Por ejemplo, Lönning (1972) diferenció dos poblaciones de platijas (*Platichthys flesus* y *Limanda limanda*) utilizando la ultraestructura de la zona radiada. Tradicionalmente este tipo de observaciones se han realizado mediante microscopía electrónica de transmisión. Davenport *et al.* (1981) utilizaron el número de láminas y el grosor de la zona radiada como criterios para describir el corion del bacalao

GAMETOGÉNESIS

(*Gadus morhua*) de diferentes áreas geográficas. Sin embargo, en la misma especie, Kjesbu y Kryvi (1989) demostraron que tanto el número como la posición de las láminas varían con la orientación de la sección de corte. A la vista de los resultados obtenidos en *S. atricauda*, la microscopía electrónica de barrido parece ser la técnica más idónea en este tipo de estudios.

Por otra parte, el volumen del huevo proporciona información directa sobre la reserva de vitelo que contiene y que sirve de sustento al embrión (Tyler *et al.*, 1990). En *Serranus* hemos encontrado diferencias importantes en cuanto al diámetro ovocitario que presenta cada especie. Los diámetros encontrados en ovocitos de *S. atricauda* y *S. cabrilla* son muy similares en la fase previtelogénica; sin embargo, a partir del estado de formación de vesículas de vitelo los diámetros de *S. atricauda* aumentan considerablemente con respecto a *S. cabrilla*. Por el contrario, *S. scriba* presenta diámetros superiores a *S. atricauda* y *S. cabrilla* durante el desarrollo del ovocito. Este hecho parece estar relacionado con el hábitat que ocupan las especies, de forma que factores ambientales como la presión pueden influir en el diámetro final del huevo. Así, *S. cabrilla* es la especie más profunda (5-300 m) de las estudiadas presentando diámetros menores que *S. scriba* que es la especie más somera (3-80 m) y posee los mayores huevos. *S. atricauda* se distribuye entre 3 y 150 m y el tamaño del huevo es intermedio.

Tyler y Sumpter (1996) y Brooks *et al.* (1997) indicaron que el tamaño del huevo puede variar entre poblaciones de la misma especie. En este sentido, se han comparado los diámetros ovocitarios de individuos de *S. cabrilla* en diferentes áreas (Tabla II-3), observándose que los valores en la fase previtelogénica son muy similares en Canarias y Blanes (Gerona, Mediterráneo noroccidental), difiriendo bastante con los encontrados en Niza (Mediterráneo francés). Por el contrario, en la fase vitelogénica se alcanzan diámetros mucho mayores en Canarias que en las otras dos áreas geográficas citadas.

Por otra parte, West (1990) señaló que numerosos estudios relacionan el tamaño del ovocito con la talla del pez, encontrando esta relación en especies de talla grande. Sin embargo, aunque en especies de talla pequeña con rango de longitudes estrecho parece que no existe esta relación (Bengtson *et al.*, 1987), se encuentra que *S. cabrilla* en Canarias (donde la especie alcanza tallas superiores, de acuerdo con Tuset (2000)) presenta huevos mayores.

No se conoce como se coordina el crecimiento de los ovocitos en el ovario y aunque se ha sugerido que pueden estar involucrados factores de

GAMETOGENESIS

crecimiento específicos ninguno se ha identificado positivamente (Tata, 1986). Debido a que los huevos son permeables al agua y a las sales (Fulton, 1898 en Solemdal, 1967), el aumento de tamaño del ovocito se produce mediante mecanismos de hidratación causados por ajuste osmótico (Wallace y Selman, 1981). Solemdal (1967) señaló que teleósteos marinos con huevos pelágicos, que generalmente se distribuyen en aguas de baja salinidad, producen huevos de mayor tamaño y gravedad específica menor. En áreas de estas características (baja salinidad), la sangre y el fluido ovárico están menos concentrados y los huevos absorben más cantidad de estos fluidos, causando un incremento en la talla final del huevo. La gravedad específica del fluido ovárico depende de la cantidad de sales disueltas que contenga (concentración osmótica) y, por tanto, los huevos más grandes tienen gravedad específica más baja que huevos de aguas más salinas. Por ejemplo, en estudios realizados en dos poblaciones diferentes de *Pleuronectes flesus*, las diferencias encontradas en el tamaño medio del huevo se explican en función de la concentración osmótica a la que se desarrollan. En este sentido, Selman *et al.* (1993) documentaron que en especies de teleósteos de agua dulce estos cambios son mínimos. Justo antes de la puesta, los huevos absorben grandes cantidades de fluido ovárico. En ambientes con concentraciones osmóticas bajas, absorben más fluido y dan lugar a huevos más grandes (Solemdal, 1967). Morin y Able (1983) sugirieron, en base al tamaño del huevo, la existencia de dos subespecies diferentes de *Fundulus heteroclitus* en dos poblaciones distintas (Selman y Wallace, 1986). Sin embargo, el mecanismo que produce este fenómeno parece ser activado hormonalmente y probablemente está controlado por el ambiente iónico (Wallace y Selman, 1981; Selman *et al.*, 1993). Como consecuencia de esto, la adaptación a bajas salinidades lleva aparejado que la talla del huevo dependa de la concentración del fluido ovárico y, por otra parte, la concentración osmótica en el ovario también afecta a la capacidad de flotar que presentan los huevos (Solemdal, 1967).

GAMETOGÉNESIS

Tabla II-3. Diámetro de cada tipo de ovocito de *S. cabrilla* en diferentes áreas geográficas, expresado (en μm) como media \pm desviación estándar (Canarias y Blanes), o como rango (Niza). **A**, estado IA; **B**, estado IB (inicial); **C**, estado IB (final); **D**, estado II; **E**, estado III (inicial); **F**, estado III (final); **G**, estado IV.

Áreas	A	B	C	D	E	F	G
Canarias	8 \pm 4	26 \pm 8	67 \pm 13	129 \pm 28	217 \pm 40	372 \pm 58	491 \pm 53
Blanes	1 \pm 0,25	27 \pm 2	62 \pm 2	79 \pm 3	171 \pm 7	257 \pm 9	409 \pm 7
Niza	18-20	65-70	80-115	100-200	160-200	240-390	400

Los procesos de degeneración o atrésicos descritos en este estudio para las especies del género *Serranus* son similares a los observados por diversos autores en otros teleósteos (Zamarro, 1992; Melo, 1994b; Witthames y Greer Walker, 1995; Karlou-Riga y Economidis, 1996, 1997; Lowerre-Babieri *et al.*, 1996a). La atresia folicular tiene lugar en cualquier momento del ciclo anual y en cualquiera de los estados de desarrollo del ovocito, pero se ha observado que aparece en baja proporción durante el año y aumenta sobre todo después de la puesta. Saidapur (1978) señaló que en el momento anterior y posterior a la freza se produce un incremento en el número de huevos que sufren atresia, estando estrechamente relacionado este fenómeno con el hecho de que los niveles de gonadotropina disminuyan significativamente durante estos periodos. La presencia y abundancia de estados histológicos de los folículos atrésicos es el primer criterio para identificar ovarios en regresión (Hunter *et al.*, 1992; Hunter y Lo, 1997).

Por el momento no se conoce la causa por la que algunos ovocitos se desarrollan y ovulan normalmente, mientras que otros en las mismas condiciones degeneran. El mecanismo o mecanismos de tal selección germinal todavía no se comprenden (Saidapur, 1978). Parece ser que los procesos atrésicos no tienen demasiada importancia si ocurren durante la época de puesta, ya que no influyen en la fisiología normal del ovario (Wallace y Selman, 1981; Tyler y Sumpter, 1996). Sin embargo, particularmente en peces con ovarios asincrónicos, la atresia juega un importante papel al final de la estación de freza en la que comienza una operación de limpieza y regeneración (Wallace y Selman, 1981), siendo necesario el análisis de las atresias para separar correctamente ovarios en estado de post-puesta de ovarios en estado inmaduro (Hunter y Lo, 1997).

La ovulación da lugar a la formación de folículos vacíos o post-ovulatorios en el ovario. Inicialmente son fáciles de identificar pero degeneran rápidamente (Hunter y Macewicz, 1985a; West, 1990). En las especies del género *Serranus* se han identificado tres tipos de folículos: de edad 0 días, 1 día y 2 días, presentando dichas estructuras idéntica morfología en las tres especies. En este sentido, Hunter y Macewicz (1985a) señalaron que los folículos post-ovulatorios de especies que ponen huevos pelágicos son muy similares y solamente varían en detalles sin importancia, concluyendo que las descripciones proporcionadas para la anchoa del Norte (*Engraulis mordax*) pueden ser usadas como guía general en la identificación de folículos post-ovulatorios de otras especies.

ESTADOS DE ESPERMATOGÉNESIS

A pesar de que los detalles de la espermatogénesis pueden variar considerablemente entre especies de teleósteos estrechamente relacionadas (Grier, 1981), en las especies del género *Serranus* las diferencias más notables se encuentran a nivel de morfología del esperma.

Los espermatozoides de las tres especies estudiadas en este trabajo exhiben morfología primitiva como la que presentan otros teleósteos de fertilización externa (Koch y Lambert, 1990; Jamieson, 1991; Gwo *et al.*, 1995; Lahnsteiner y Patzner, 1996), diferenciándose por presentar cabeza ovoide, pieza intermedia de pequeño tamaño y cola.

La cabeza del espermatozoide es morfológicamente similar a la descrita para algunos teleósteos, como *Scorpaena angolensis* (Mattei, 1970), *Rhodeus sericeus sinensis* (Guan y Afzelius, 1991), *Amia calva* (Afzelius y Mims, 1995), *Macrozoarces americanus* (Yao *et al.*, 1995), *Diplodus sargus* y *Uranoscopus scaber* (Lahnsteiner y Patzner, 1995, 1996). La pieza intermedia es pequeña y contiene 5 mitocondrias en *S. atricauda* y 4 en *S. cabrilla* y *S. scriba*. El número de mitocondrias es muy variable dentro de los teleósteos, por ejemplo se observa 1 mitocondria en *R. sericeus sinensis* (Guan y Afzelius, 1991), 5 y 1 mitocondrias en *D. sargus* y *Mullus barbatus* (Lahnsteiner y Patzner, 1995) respectivamente, más de 9 en *M. americanus* (Yao *et al.*, 1995), y *Acanthopagrus schlegelli*, *Epinephelus malabaricus* y *Micropogonias undulatus* contienen 4, 6 y 3 respectivamente (Gwo, 1995).

El estudio comparativo del espermatozoide en el género *Serranus* revela importantes desigualdades morfológicas entre las especies, observándose variaciones en el tamaño, dimensiones de los orgánulos y número y posición de las mitocondrias. El espermatozoide de *S. atricauda* y *S. cabrilla* es simétrico, como en algunas especies de las familias Balistidae, Soleidae,

GAMETOGÉNESIS

Monacanthidae, Diodontidae, Scorpaenidae (Boissin *et al.*, 1969; Jamieson, 1991), Mullidae (Mattei, 1970; Lahnsteiner y Patzner, 1995) y Zoarcidae (Yao *et al.*, 1995). Por el contrario, el de *S. scribea* es asimétrico.

Las características específicas del espermatozoide de *S. scribea* indican que su morfología es más primitiva que la de sus congéneres. El espermatozoide de peces teleósteos no presenta acrosoma porque lo pierde durante la evolución, considerando a esta estructura como una característica ancestral (Afzelius, 1978; Koch y Lambert, 1990). La presencia de vestigios de la vesícula acrosómica en forma de apilamiento de membranas sobre la envoltura nuclear, aunque ha sido observada en algunos teleósteos (*Gambusia affinis*, *Lepadogaster lepadogaster* y *Oncorhynchus mykiss*) (Billard, 1983; Koch y Lambert, 1990; Mattei y Thiaw, 1993), es una característica anormal. Otra característica primitiva del espermatozoide de *S. scribea* es la inserción lateral del flagelo, que se traduce en alas laterales asimétricas y en la consecuente pérdida en eficiencia de las ondulaciones flagelares y estructuras de estabilización, no siendo común en especies de teleósteos (Lahnsteiner y Patzner, 1995). Este tipo de inserción puede explicar la distribución de las mitocondrias en diferentes planos y la disminución del tamaño de la mitocondria más cercana al núcleo. Consecuentemente, durante la evolución del espermatozoide de las especies de este género, ocurren dos hechos: (i) el cambio de posición del flagelo como consecuencia del movimiento de la mitocondria más cercana al complejo centriolar hacia el plano ocupado por las otras mitocondrias, y (ii) la pérdida del apilamiento membranoso situado sobre la envoltura nuclear.

Se ha sugerido que la morfología del esperma refleja, en un alto grado, el modelo reproductor de los individuos. En este sentido, teleósteos con fertilización interna exhiben el núcleo y la pieza intermedia muy alargados, mientras que especies con fertilización externa presentan un modelo de espermatozoide denominado primitivo o “acuaesperma” caracterizado por un núcleo de forma esferoidal y pieza intermedia corta (Grier, 1981; Jamieson, 1991; Mattei, 1991; Lahnsteiner *et al.*, 1997; Pavlov *et al.*, 1997). Sin embargo, en la familia Zoarcidae (Jamieson, 1991) y en un miembro de la familia Atherinidae (*Labidesthes sicculus*) donde la fertilización es interna (ver Grier *et al.*, 1990), las hembras son inseminadas con el típico acuaesperma. De este modo, queda demostrado que la elongación del núcleo no es característica imprescindible para que la fertilización se produzca internamente (ver Burns *et al.*, 1995).

Las diferencias encontradas en el tamaño del espermatozoide podrían estar relacionadas con aspectos ambientales. De las tres especies estudiadas,

S. scribea es la de hábitat más somero, presentando cabeza, mitocondrias y flagelo de mayor tamaño; *S. cabrilla* habita en aguas profundas y tiene el espermatozoide más pequeño; mientras que *S. atricauda* vive en aguas intermedias y muestra un espermatozoide de tamaño medio. Estos resultados sugieren que la disminución de la talla del espermatozoide puede estar directamente relacionada con la profundidad del hábitat. En aguas muy profundas la presión es mayor que en aguas superficiales (Brown *et al.*, 1989), por lo tanto una estructura pequeña y redondeada facilitaría notablemente la natación. Jamieson (1991) y Lahnsteiner y Patzner (1995) argumentaron que las diferencias en la forma del espermatozoide, el número de mitocondrias y la disposición de los centriolos, así como la presencia de alas flagelares laterales, en especies de teleósteos pueden tener consecuencias en la velocidad y comportamiento natatorio del esperma. Taborsky (1998) expuso que la longitud del esperma determina su velocidad debido a que cuanto más largo es el flagelo, mayor resulta su fuerza de propulsión. Sin embargo, en peces marinos el conocimiento de la morfología en relación con la movilidad del espermatozoide es todavía muy limitado (Lahnsteiner y Patzner, 1995) y se sabe muy poco sobre el significado funcional de otras medidas del esperma (tales como la cabeza y las proporciones dimensionales) que varían considerablemente en teleósteos (Taborsky, 1998).

Por otra parte, en los últimos años se ha considerado que las divergencias en la estructura del esperma son principalmente filogenéticas (Gwo y Gwo, 1993). Los espermatozoides de teleósteos son muy variables y existen notables diferencias entre el esperma de diferentes familias, mientras que es muy similar dentro ellas (Mattei, 1969, 1970; Bruslé, 1981; Jamieson, 1991; Gwo *et al.*, 1994). Los estudios de especies pertenecientes a un mismo género no han encontrado altas variaciones, por ejemplo, Bruslé (1981) observó, con excepción de pocos detalles, morfologías muy similares en espermatozoides de *Liza spp.* Sin embargo, en este estudio se demuestra la existencia de importantes diferencias entre las especies del género *Serranus*, siendo la morfología del esperma de *S. atricauda* y *S. cabrilla* similar frente a la de *S. scribea*. Aunque los factores ambientales, tales como la presión, pueden influir en la forma del espermatozoide, esta afinidad morfológica puede tener implicaciones filogenéticas observándose una estrecha relación entre estas especies y considerándose a *S. scribea* como la menos evolucionada de las tres. En este sentido, Tuset (2000), realizando estudios morfológicos del otolito en estas especies, ha encontrado idénticas relaciones filogenéticas. Consecuentemente, las diferencias morfológicas en el espermatozoide de las especies del género *Serranus* indican que la

GAMETOGENESIS

ultraestructura de estas células puede ser útil como carácter adicional en clasificaciones taxonómicas, determinando relaciones filogenéticas e interpretando cambios evolutivos.

PARÁMETROS BIOLÓGICOS DE LA REPRODUCCIÓN

III

*“Cualquier científico que se haya
enamorado sabe que puede
entenderlo todo sobre hormonas
sexuales, pero que la experiencia
real es algo absoluta y
completamente diferente”*

Kathleen Lonsdale

INTRODUCCIÓN

La reproducción es el proceso, en el ciclo de la vida de cualquier ser vivo, que asegura la continuidad de las especies. De ahí la importancia que el estudio de los aspectos reproductores tiene, en particular, en el campo de la biología pesquera y, en general, en cualquier disciplina de la biología (Lorenzo, 1992). Además, en el área de investigación pesquera, para abordar el estudio de la dinámica de poblaciones sometidas a explotación, resulta indispensable conocer algunos de los aspectos relacionados con la reproducción de las especies implicadas. La información referente a algunos parámetros reproductores puede incluso constituir, por sí sola, un instrumento básico para organizar y regular la pesca (González, 1991a).

SEXUALIDAD Y ESTADOS DE MADUREZ

La determinación del sexo y de los estados de madurez sexual tiene su aplicación primordial en proporcionar conocimientos fundamentales de la biología reproductora de una población. Tales aspectos son de enorme importancia, pues permiten adquirir un conocimiento completo de la biología general de una población explotada y forman parte de su evaluación fundamental (González, 1991a).

Existen cerca de 20.000 especies de teleósteos que viven en una gran variedad de hábitats ecológicos. La gran diversidad de este grupo de vertebrados se manifiesta por una amplia pluralidad de estrategias reproductoras y modelos sexuales (Warner, 1988; Tyler y Sumpter, 1996). El sistema genital de los peces ofrece la particularidad de ser el único que tiene morfología, anatomía y fisiología doble (para hembras y machos). Por regla general cada individuo pertenece a un sexo definido, pero debido a varios procesos genéticos, los peces ofrecen un amplio margen de sexualidad (Rojo, 1988). Muchas de estas especies presentan una clara y permanente separación de sexos (gonocorismo), apareciendo individuos que actúan como hembras o machos a través de toda su vida. Por otra parte, se ha reconocido un tipo de hermafroditismo anormal en especies que presentan, en una pequeña porción de la población, elementos masculinos y femeninos dentro de la misma gónada (Buxton y Garratt, 1990). Sin embargo, existen familias de peces en las cuales el hermafroditismo no sólo es común, sino que también es funcional (Reinboth, 1970), constituyendo en muchas especies de determinadas familias el modo normal de

REPRODUCCIÓN

reproducción (hermafroditismo funcional) (Chan y Yeung, 1983; Buxton y Garratt, 1990; Petersen, 1990). Los modelos sexuales hermafroditas se categorizan en función de que los individuos se desarrollen y funcionen como un sexo y después cambien al otro (hermafroditismo secuencial), o bien presenten en mayor o menor grado ambos sexos sincrónicamente (hermafroditismo simultáneo) (Sadovy y Colin, 1995). Dentro del más diverso grupo de especies hermafroditas se encuentran los peces pertenecientes a la familia Serranidae, los cuales exhiben un amplio rango de modelos sexuales (Petersen y Fischer, 1986; Fischer y Petersen, 1987; Sadovy y Colin, 1995).

El hermafroditismo en Serránidos es un modo reproductor que se ha desarrollado a través de diferentes vías. Los tipos generales de hermafroditismo que se encuentran en esta familia han servido como un útil carácter sistemático. A la vista de lo anterior, se propuso un escenario hipotético para la evolución de los Perciformes basado en la morfología de la gónada (Bortone, 1977). El modelo reproductor de las especies del género *Serranus* se considera el más primitivo dentro de la familia Serranidae (Smith, 1965) y, junto a la posibilidad de auto-fertilización (Atz, 1965), ha promovido varias descripciones detalladas de la morfología gonadal en algunas de estas especies (p.e. Abd-el-Aziz y Ramadan, 1990).

Por otra parte, la caracterización de las principales fases evolutivas o estados de madurez de las glándulas sexuales es necesaria para obtener información sobre la época de puesta, tipo de desove, fecundidad o conocimiento general del ciclo reproductor de una especie. Tal caracterización se realiza esencialmente en base a dos criterios de orden morfológico: macroscópico e histológico.

La clasificación macroscópica es una de las técnicas más ampliamente usadas en estudios reproductores de peces; sin embargo, aunque se ha cuestionado su precisión, se han hecho pocos esfuerzos para valorarla. Los criterios utilizados en dicha clasificación, tales como coloración, consistencia, importancia de la vascularización superficial, etc., por importantes que sean, son poco rigurosos e inevitablemente subjetivos, debiendo ser completados por evaluaciones cuantitativas (McQuinn, 1989; West, 1990; González, 1991a). En este sentido, el análisis histológico se basa en la caracterización citológica de los gametos durante los diferentes estados de desarrollo gonadal, proporcionando información más precisa sobre los distintos procesos ocurridos durante la diferenciación, maduración y degeneración y reabsorción de las glándulas sexuales.

Mientras que la descripción macroscópica puede ser un método subjetivo, con resolución limitada de algunos estados, el análisis histológico, aún siendo el método más costoso y laborioso para el uso rutinario, proporciona información más objetiva y completa, siendo el método más certero en la clasificación del desarrollo gonadal (p.e., Bowers y Holliday, 1961; Cayré y Lalöe, 1986; McQuinn, 1989; West, 1990; Karlou-Riga y Economidis, 1996; De Sylva y Rasquin Breder, 1997). West (1990) indicó que los resultados obtenidos de la clasificación macroscópica, cuando se usan como atributo de peces individuales, pueden ser inaceptables; sin embargo, cuando son usados en grupos estadísticos, tales como modelos generales de desarrollo, los errores producidos pueden ser asumibles. En este sentido, ambos métodos contribuyen, en diverso grado, al conocimiento del ciclo reproductor y permiten el establecimiento de una escala óptima de madurez sexual, o más adecuada para la especie de que se trate (Robb, 1982; Howell, 1983; Landry y McQuinn, 1988; Bowden *et al.*, 1990; González, 1991a; Cunha, 1992; Dias *et al.*, 1998).

En el campo de la ordenación y desarrollo pesqueros, estos datos biológicos tienen varios usos prácticos, tales como el cálculo de edad y talla de primera madurez sexual, época de puesta y etapa de freza masiva, o estimación de fecundidades.

ÉPOCA DE PUESTA

La época de puesta y etapa de freza masiva se pueden emplear para desarrollar y organizar la pesca, ya que muchas especies son más accesibles cuando se congregan para la reproducción; recíprocamente, puede juzgarse aconsejable ordenar y regular una pesquería, limitando la captura de ejemplares (vedas, ...) de una población sobreexplotada en la que el reclutamiento futuro pelagra debido a una capacidad de reproducción pequeña (González, 1991a).

La duración de la freza anual se establece normalmente de forma mensual y se refiere al tiempo, dentro de cada año, en el cual una población realiza la puesta (Sadovy, 1996). Para su determinación, además de los métodos cualitativos (escala de madurez) anteriormente comentados, se utilizan conjuntamente otros métodos cuantitativos tales como diversos índices de madurez y distribuciones de frecuencias de talla del diámetro ovocitario (Cayré y Lalöe, 1986; N'Da y Déniel, 1993).

REPRODUCCIÓN

Los factores o índices de madurez son sencillos de calcular y ampliamente usados. Se obtienen de la relación entre peso gonadal o hepático y peso o talla del pez (por ejemplo el índice gonadosómico y hepatosómico) o entre peso y longitud de los individuos (por ejemplo el factor de condición), etc. Todos ellos proporcionan una medida que indica el estado de disponibilidad reproductora durante la estación de puesta (DeVlaming *et al.*, 1982; Cayré y Laløe, 1986; N'Da y Déniel, 1993; Sadovy, 1996). La ventaja de estos índices sobre otros métodos usados para cuantificar el ciclo reproductor (por ejemplo exámenes histológicos de las gónadas o medidas del diámetro del ovocito) es que requieren menos trabajo y se obtienen resultados con mayor rapidez.

En este sentido, el uso, por ejemplo, del índice gonadosómico (IGS) puede ser inapropiado dado que el crecimiento de la gónada a menudo es alométrico. Los ciclos reproductores se caracterizan por pronunciadas variaciones en el tamaño gonadal, sin embargo dependen del tamaño corporal de los individuos. Para cuantificar los ciclos reproductores, los investigadores han usado gran variedad de índices intentando eliminar dicha dependencia (DeVlaming *et al.*, 1982; Erickson *et al.*, 1985). Sin embargo, cuando se clasifica la actividad gonadal, se consideran animales de tallas diferentes y generalmente se asume que el peso de las glándulas sexuales depende de la talla del ejemplar y del estado de desarrollo.

CURVAS DE MADUREZ

La maduración sexual es un punto de transición importante porque representa el periodo en el que los individuos entran a formar parte de la población reproductora y adquieren el potencial necesario para contribuir a futuras generaciones. Los administradores pesqueros están interesados en la talla de maduración relativa a la talla de captura (TPM y TMM) para reducir la pesca de individuos inmaduros o para determinar con qué periodicidad los individuos pasan a formar parte de la población reproductora (Sadovy, 1996). Kartas y Quignard (1984) señalaron que la determinación de la talla de primera madurez en teleósteos es uno de los problemas a resolver, siendo uno de sus aspectos decidir a partir de qué talla debe considerarse que una población es adulta. Las preguntas que se plantean a este respecto se centran en decidir a partir: 1) de qué estado sexual debe considerarse que un individuo es adulto, y 2) de qué estado sexual debe entenderse que una cohorte o población son adultas.

La respuesta más juiciosa a la primera pregunta es la elección de un estado de madurez bastante avanzado (en vías de maduración o pre-puesta), que permita eliminar el máximo número de individuos inmaduros (Kartas y Quignard, 1984). En cuanto a la segunda cuestión, aunque la talla de primera madurez se ha expresado según diferentes criterios, finalmente la más usada se considera aquella longitud a la cual el 50% de individuos alcanza la madurez sexual, y la talla de maduración masiva se define p.e., como la longitud a la que el 95 % de los individuos se hallan maduros (González, 1991a; Jiménez, 1997).

La edad y la talla de primera madurez sexual son de importancia para evaluar la edad óptima de captura de una especie, permitiendo regular la talla mínima legal de captura de sus ejemplares (González, 1991a).

FECUNDIDAD

El conocimiento de la fecundidad de una especie es un factor importante para la explotación racional de una población íctica (Holden y Raitt, 1975). Aporta información sobre la capacidad prolfica de las especies, la naturaleza de sus modos de ocupación del medio y el tipo de estrategia que adoptan. Además, la estimación de la fecundidad es a menudo utilizada en la individualización de poblaciones de peces. Desde un punto de vista más práctico, el conocimiento de la fecundidad contribuye a resolver ciertos problemas de gestión y administración de los recursos pesqueros y es tanto más indispensable en cuanto que constituye uno de los primeros términos de transición esenciales entre el stock y el reclutamiento. De hecho, ofrece a los especialistas en dinámica de poblaciones un medio necesario para la elaboración de modelos previsores de estimación de stocks (Bagenal y Braum, 1971; Kartas y Quignard, 1984; Sparre *et al.*, 1989; González, 1991a).

Tradicionalmente, las estimaciones de fecundidad en peces se han basado en la asunción de que el número total de huevos puestos cada año (fecundidad anual) está predeterminado antes del comienzo de la freza. El problema reside en la estimación de la fecundidad de peces ovíparos, y en si se puede estimar o no la fecundidad anual a partir del stock de ovocitos desarrollados en el ovario antes del comienzo de la estación reproductora (Hunter *et al.*, 1985).

Tanto en reproductores totales como en parciales con desarrollo sincrónico del ovario mediante grupos de ovocitos, el stock de ovocitos dentro de un cierto rango de madurez se considera representativo de la

REPRODUCCIÓN

fecundidad anual. Aunque en el segundo caso (reproductores parciales), los peces ponen repetidamente durante la época de puesta, el stock permanente de ovocitos vitelogénicos también se considera representativo de la fecundidad anual. Dicha condición se conoce como “fecundidad determinada” (Hunter *et al.*, 1992).

Sin embargo, diversos estudios (Hunter y Goldberg, 1980; Hunter y Macewicz, 1985a; Hunter *et al.*, 1985; Horwood y Greer-Walker, 1990; Karlou-Riga y Economidis, 1997) indican que en muchos peces de zonas tropicales y templadas (generalmente reproductores parciales con ovario de desarrollo asincrónico), la fecundidad anual no puede ser estimada a partir del stock de ovocitos desarrollados porque los ovocitos previtelogénicos siguen madurando y continúan siendo puestos a través de la estación de freza. Esta condición se denomina “fecundidad indeterminada” (Hunter *et al.*, 1992) y requiere estimaciones de “fecundidad parcial” (número de huevos liberados en cada acto de puesta) y de “frecuencia de puesta” (número de desoves durante la estación de freza) (Hunter y Macewicz, 1985a; Hunter *et al.*, 1985, 1992).

La fecundidad parcial se puede estimar de dos formas: 1) identificación del grupo modal más adelantado y estimación del número de ovocitos que lo forman (método de distribución de frecuencias de talla del ovocito) y; 2) estimación del número de ovocitos en una puesta parcial por recuento del número de ovocitos hidratados (método de ovocitos hidratados) (Hunter, 1985).

La frecuencia de puesta es difícil de determinar. La evidencia de puestas múltiples o parciales deriva de observaciones directas de puestas repetidas de los individuos, o a través de métodos indirectos como el examen de ovocitos y de estados de madurez. Dada la dificultad de la observación directa, los métodos indirectos son los más usados para calcular la frecuencia de puesta (Sadovy, 1996). Como consecuencia, en estudios biológicos interesados en factores que puedan controlar la fecundidad es imprescindible la descripción previa de los procesos de desarrollo del ovocito (Foucher y Beamish, 1977). La frecuencia de puesta puede ser determinada mediante la presencia/ausencia de folículos post-ovulatorios (FPO) y ovocitos maduros o hidratados (Hunter y Goldberg, 1980; Hunter y Macewicz, 1985a; Hunter *et al.*, 1985; Karlou-Riga y Economidis, 1997).

Finalmente, multiplicando la fecundidad parcial por el número de puestas se obtiene la fecundidad anual (Hunter y Goldberg, 1980; Hunter y Macewicz, 1985a; Karlou-Riga y Economidis, 1997; Collins *et al.*, 1998).

Hasta la fecha, los análisis de fecundidad se han limitado casi por completo a especies con fecundidad determinada, por la dificultad que entraña estimar la fecundidad en reproductores parciales con desarrollo ovárico asincrónico. En este sentido, Fischer y Balboutin (1970) describieron técnicas útiles para distribuir los ovocitos en grupos de tamaño y submuestrearlos en reproductores parciales, mientras que Macer (1974) desarrolló un método para el jurel (Carangidae) basado en el examen histológico de los ovarios en un ciclo reproductor completo. En este sentido, los estudios existentes hasta la fecha en peces con fecundidad indeterminada se han realizado casi exclusivamente en especies pelágicas de gran interés comercial o fácilmente recolectables, tales como *Engraulis mordax* (Hunter y Goldberg, 1980; Hunter y Macewicz, 1985a; Hunter *et al.*, 1985), *Engraulis rigens* (Hunter y Macewicz, 1980; Alheit, 1985), *Seriphus politus* (DeMartini y Fountain, 1981; DeMartini, 1991), *Sardinella brasiliensis* (Isaac-Nahum *et al.*, 1985), *Sardinops sagax* (Hunter y Macewicz, 1985a; Akkers *et al.*, 1996), *Katsuwonus pelamis* (Hunter *et al.*, 1986; Stequert y Ramcharrum, 1995), *Encrasicholina purpurea* (Clarke, 1987), *Clupea harengus pallasii* (Hay *et al.*, 1987), *Trachurus trachurus* (Pérez y Porteiro, 1990; Karlou-Riga y Economidis, 1997), *Sardina pilchardus* (Pérez Contreras *et al.*, 1992a, b), *Engraulis encrasicolus* (Pertierra, 1992), *Engraulis capensis* (Melo, 1994a, b), *Merluccius merluccius* (Murua *et al.*, 1998) y *Lophiomus setigerus* (Yoneda *et al.*, 1998).

Para finalizar, a continuación se señalan los objetivos concretos que se pretenden desarrollar en la Parte III de la presente Memoria: (1) determinar la sexualidad de las especies del género *Serranus* como pre-requisito en la evaluación de los parámetros reproductores, (2) identificar y correlacionar los distintos estados de madurez sexual definidos a partir de criterios macroscópicos e histológicos para establecer correctamente el ciclo reproductor, (3) cuantificar la precisión de la escala de clasificación clásica basada en el aspecto externo de la gónada, (4) determinar el tiempo y la duración de la actividad de puesta anual y el período de freza masiva de estas especies en las islas Canarias, (5) calcular curvas de madurez sexual y tallas de madurez, (6) averiguar en qué medida afectan los errores de clasificación en la determinación de épocas de puesta y tallas de madurez, (7) estimar la fecundidad parcial, (8) identificar la frecuencia de puesta y, (9) estimar la fecundidad anual.

REPRODUCCIÓN

MATERIAL BIOLÓGICO

Los ejemplares pertenecientes a *S. atricauda* (Tabla III-1) y *S. cabrilla* (Tabla III-2) procedieron de capturas comerciales efectuadas en el sector suroeste de Gran Canaria y Fuerteventura, obteniéndose un total de 425 y 487 individuos respectivamente. En *S. atricauda*, el período de recolección de muestras comprendió desde septiembre de 1992 hasta noviembre de 1994; en *S. cabrilla*, entre septiembre de 1992 y mayo de 1995. Los individuos de Gran Canaria se capturaron con aparejos de anzuelo (palangres y líneas de mano) y trampas (nasas), mientras que la pesca de ejemplares en Fuerteventura se realizó exclusivamente con aparejos de anzuelo. En ambos casos, las muestras se adquirieron a pie de puerto (directamente de los pescadores) o bien en las pescaderías.

Tabla III-1. *Serranus atricauda*. Relación de muestras examinadas. n, número de ejemplares. GC, Gran Canaria; F, Fuerteventura. n = 425 ejemplares.

Fecha (mes/año)	Isla	Método de pesca	n	Fecha (mes/año)	Isla	Método de pesca	n
09/92	GC	Nasa	2	10/93	GC	Nasa	15
10/92	GC	Nasa	20	12/93	GC	Nasa	10
12/92	GC	Nasa	4	02/94	F	Palangre	15
01/93	GC	Nasa	1	04/94	F	Palangre	36
02/93	GC	Nasa	17	05/94	F	Palangre	23
03/93	GC	Nasa	29	06/94	F	Palangre	19
04/93	GC	Nasa	5	07/94	F	Palangre	25
05/93	GC	Nasa	56	09/94	F	Palangre	41
06/93	GC	Nasa	5	10/94	F	Palangre	47
07/93	GC	Nasa	21	11/94	F	Palangre	34

Tabla III-2. *Serranus cabrilla*. Relación de muestras examinadas. n, número de ejemplares. GC, Gran Canaria; F, Fuerteventura. n = 487 ejemplares.

Fecha (mes/año)	Isla	Método de pesca	n	Fecha (mes/año)	Isla	Método de pesca	n
09/92	F	Palangre	29	12/93	GC	Nasa	15
10/92	GC	Nasa	27	01/94	GC	Nasa	9
11/92	F	Palangre	86	02/94	GC	Liña	15
12/92	GC	Nasa	2	03/94	GC	Nasa	5
02/93	GC	Nasa	25	04/94	GC	Nasa	16
03/93	GC	Nasa	57	05/94	GC	Nasa	33
03/93	F	Palangre	5	06/94	GC	Nasa	2
05/93	GC	Nasa	11	08/94	GC	Nasa	6
05/93	F	Palangre	7	09/94	GC	Nasa	10
06/93	GC	Nasa	1	12/94	F	Palangre	3
06/93	F	Palangre	4	01/95	GC	Nasa	19
07/93	GC	Nasa	3	03/95	GC	Nasa	18
07/93	F	Palangre	2	04/95	GC	Nasa	28
10/93	GC	Nasa	4	05/95	GC	Nasa	41
11/93	GC	Nasa	4				

REPRODUCCIÓN

Por el contrario, los 350 ejemplares pertenecientes a *S. scribea* se obtuvieron de capturas comerciales desembarcadas por la flota artesanal del puerto de Caleta del Sebo en La Graciosa (Lanzarote), durante el período comprendido entre septiembre de 1995 y agosto de 1996. Estos ejemplares se capturaron con aparejos de anzuelo (líneas de mano) y se seleccionaron aleatoriamente a pie de playa, cubriendo el rango de longitudes más amplio posible (Tabla III-3).

Tabla III-3. *Serranus scribea*. Relación de muestras examinadas. n, número de ejemplares. GRA, La Graciosa. n = 350 ejemplares.

Fecha (mes/año)	Isla	Método de pesca	n	Fecha (mes/año)	Isla	Método de pesca	n
09/95	GRA	Liña	22	03/96	GRA	Liña	45
10/95	GRA	Liña	29	04/96	GRA	Liña	30
11/95	GRA	Liña	27	05/96	GRA	Liña	41
12/95	GRA	Liña	23	06/96	GRA	Liña	38
01/96	GRA	Liña	32	07/96	GRA	Liña	24
02/96	GRA	Liña	21	08/96	GRA	Liña	18

El muestreo anual en las tres especies se caracterizó por la escasez o ausencia de muestras en los meses de verano, debido a que la flota artesanal desvía su esfuerzo pesquero a otros recursos como el bonito listado (Bas *et al.*, 1995; Franquet y Brito, 1995; Jiménez, 1997) y al mal tiempo reinante en la mar a lo largo del presente estudio.

El intervalo de tallas y pesos muestreados en cada especie se presenta en la tabla III-4.

Tabla III-4. Rangos de tallas (cm) y pesos (g) por especie. Mín, valor mínimo; Máx, valor máximo; n, número de ejemplares.

Especie	n	Longitud total	Longitud estándar	Peso total	Peso eviscerado
		Mín-Máx	Mín-Máx	Mín-Máx	Mín-Máx
<i>S. atricauda</i>	425	15,7-43,2	11,9-35,8	49,5-1104,0	47,5-1043,4
<i>S. cabrilla</i>	487	14,1-27,6	11,4-21,9	30,0-239,0	29,0-225,4
<i>S. scribea</i>	350	15,0-29,4	11,9-23,3	41,7-349,7	39,9-307,0

METODOLOGÍA

MUESTREO

Los muestreos se efectuaron siempre por los mismos investigadores, siendo la forma de proceder similar en todos los casos. En cada pez se midieron la longitud total (L_t) (distancia comprendida entre el extremo anterior del rostro, con la boca cerrada, y el extremo de los lóbulos caudales) y estándar (L_s) (distancia entre el extremo anterior del rostro, con la boca cerrada, y el primer hueso del urostilo) (Fig. III-1). Ambas medidas se tomaron sobre un ictiómetro, colocando al animal sobre el costado derecho y siguiendo una dirección paralela al eje céfalo-caudal del cuerpo (Rojo, 1988). Estas variables se expresaron en centímetros con aproximación de 0,1.

Seguidamente se tomó el peso total (P_t) (peso del ejemplar con vísceras), con precisión a la décima de gramo. A continuación se realizó un corte longitudinal a nivel ventral, desde la abertura anal hasta la región cefálica, asignándose macroscópicamente el sexo y el estado de madurez sexual (EMS) de cada individuo. Posteriormente, se extrajeron la gónada y el hígado y se anotaron el peso gonadal (P_g) y hepático (P_h) y, finalmente se separó el tracto digestivo y se tomó, de nuevo, el peso de cada ejemplar (P_e) (peso del individuo sin vísceras). Todas las medidas se obtuvieron con una balanza electrónica (Sartorius modelo 150 9001) y se expresaron en gramos con precisión de 0,1.

REPRODUCCIÓN

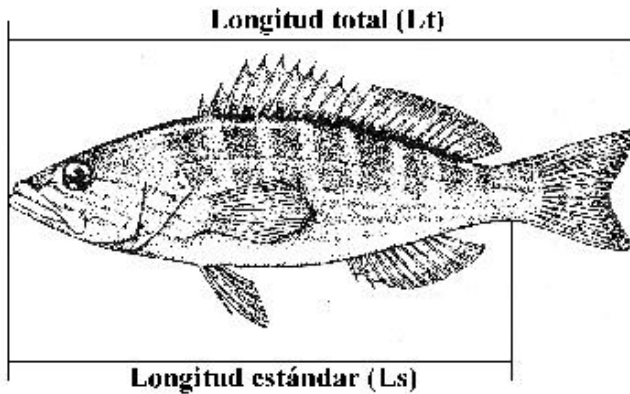


Figura III-1. Esquema ilustrativo de las variables morfométricas tomadas en cada ejemplar.

SEXUALIDAD Y ESTADOS DE MADUREZ

Como ya se ha indicado, la determinación del sexo se efectuó inicialmente mediante criterios macroscópicos. En individuos pequeños o inmaduros la asignación del sexo fue en algunos casos imposible, considerando a estos ejemplares como hembras al no poderse diferenciar parte testicular alguna. Posteriormente se realizó el estudio histológico (ver metodología utilizada en microscopía óptica, parte II) y se les asignó el sexo correcto. A lo largo de este estudio no se han encontrado ejemplares indiferenciados.

En la asignación macroscópica del EMS se utilizó la escala de cinco puntos propuesta por Holden y Raitt (1975) para reproductores parciales o heterocronos (Tabla III-5), se describió su morfología externa y se fotografiaron gónadas en estados representativos. Más tarde se verificó el EMS asignado macroscópicamente con el correspondiente EMS histológico.

Tabla III-5. Escala de madurez para reproductores parciales (Holden y Raitt, 1975).

Fase	Estado	Descripción
I	Inmaduro	Ovarios y testículos cerca de 1/3 de la longitud de la cavidad abdominal. Ovarios rosáceos, translúcidos; testículos blancuzcos. Huevos invisibles a simple vista.
II	Virgen madurando o recuperando	Ovarios y testículos cerca de 1/3 de la longitud de la cavidad abdominal. Ovarios rosáceos, transparentes; testículos blancuzcos, más o menos simétricos. Huevos invisibles a simple vista.
III	Madurando	Ovarios y testículos cerca de 2/3 de la longitud de la cavidad abdominal. Ovarios de color rosáceo amarillo con aspecto granular; testículos blancuzcos a crema. No hay huevos transparentes o translúcidos visibles.
IV	Maduro	Ovarios y testículos ocupan entre 2/3 y toda la longitud de la cavidad abdominal. Ovarios de color naranja rosáceo con vasos sanguíneos superficiales visibles. Grandes huevos maduros, transparentes. Testículos blancuzcos o de color crema.
V	Después de la puesta	Ovarios y testículos contraídos cerca de 1/3 de la longitud de la cavidad abdominal. Paredes flojas. Los ovarios pueden contener restos de huevos opacos, maduros, en desintegración, oscurecidos o translúcidos. Testículos sanguinolentos y flácidos.

La identificación histológica de los diferentes EMS se realizó en función del desarrollo de la pared gonadal (túnica albugínea), ovario y testículo, así como a partir de la presencia/ausencia de diferentes clases de ovocitos y espermatozoides. De esta manera, se confeccionó una escala de madurez a nivel histológico apropiada para las especies del género *Serranus*.

ÉPOCA DE PUESTA

La determinación del periodo reproductor se efectuó mediante un método cualitativo, analizando la evolución mensual del porcentaje de individuos maduros (EMS III y/o IV) clasificados mediante criterios macroscópicos e histológicos. Y por métodos cuantitativos como el índice gonadosomático (IGS), el índice hepatosomático (IHS) y el factor de condición (Kn), a partir de las siguientes ecuaciones:

REPRODUCCIÓN

$$\text{Índice gonadosomático: } IGS = Pg / X 10^n$$

$$\text{Índice hepatosomático: } IHS = Ph / X 10^n$$

$$\text{Factor de condición: } Kn = Pe / Lt^b 10^n$$

siendo X la variable mejor correlacionada con el peso gonadal y hepático respectivamente, calculada a partir de una regresión múltiple entre el peso gonadal y hepático y peso total, eviscerado, longitud total y longitud total al cubo; b el coeficiente que relaciona la talla total y el peso eviscerado, tomando valores de 3,20 en *S. atricauda*, 2,84 en *S. cabrilla* y 3,08 en *S. scriba* (Tuset, 2000). Los coeficientes 10^n se eligieron convenientemente de forma que redujeran el número de cifras decimales. Estos índices se estimaron para cada ejemplar y, a partir de los datos individuales obtenidos, se calcularon los valores promedio de cada mes.

Como método cuantitativo también se utilizó el diámetro del ovocito (DO), empleando la metodología propuesta por Howell (1983). El cálculo del DO se realizó mediante un micrómetro ocular con precisión a la micra más próxima. Se midieron los primeros 100 ovocitos de secciones histológicas obtenidas a partir de 5 peces escogidos al azar de cada mes (procurando que siempre estuvieran representados todos los EMS que aparecían en el mes). El diámetro se tomó siempre de ovocitos seccionados a través del núcleo. Si en algún caso, la muestra mensual fue inferior a 5 ejemplares se midieron 500 ovocitos a partir del número de individuos disponibles. Finalmente, a partir de los datos individuales obtenidos, se calcularon los valores máximo y medio de cada mes.

CURVA DE MADUREZ

La determinación de curvas de madurez se ha realizado tomando en consideración el total de ejemplares muestreados, agrupándolos en clases de talla de 1 cm de intervalo. Para cada clase de talla se obtuvo el porcentaje de individuos maduros (EMS III, IV y V) respecto al total de ejemplares de su clase. La representación gráfica de los pares de valores se ajustó mediante una curva sigmoide simétrica (modelo logístico) (p.e., Pope *et al.*, 1983; Lozano *et al.*, 1990a; González y Lozano, 1992).

$$p = 100 / [1 + \exp - (a + b TL)]$$

donde p es la probabilidad de individuos maduros por clase de talla (TL ,

en cm), mientras que a y b son parámetros que pueden fluctuar con el tiempo. La obtención de los parámetros se realizó mediante transformación logarítmica de la ecuación del modelo hasta conseguir la ecuación de una recta:

$$- \ln ((1 - p) / p) = a + b TL$$

donde a es la ordenada en el origen y b la pendiente. Los valores de los parámetros se obtienen entonces por el método de mínimos cuadrados (Zar, 1996). La determinación de curva logística de madurez se realizó considerando todos los pares de valores, a excepción de aquéllos en que $p = 0$ ó $p = 100$, y en cuyo intervalo no se alcancen nunca los valores excluidos (Lozano *et al.*, 1990a; González y Lozano, 1992; Jiménez, 1997).

No obstante, cuando el número de ejemplares era reducido se emplearon factores de ponderación para el cálculo de curvas logísticas de madurez, donde p es la probabilidad en tanto por uno (Astudillo y Sánchez, 1989). Los factores de ponderación (F) utilizados son los propuestos por Paloheimo y Cadima (1964):

$$F_1 = n p (1 - p) ; F_2 = F_1 p / (F_1 p)_{\text{máximo}}$$

A partir de los parámetros de las curvas de madurez determinadas se calcularon (Larrañeta, 1970; Balguerías, 1989, 1993; Lozano *et al.*, 1990a; González, 1991a; González y Lozano, 1992; Jiménez, 1997, entre otros):

- Talla de primera madurez sexual (TPM), longitud a la que al menos el 50 % de los individuos se encuentran maduros.
- Talla de maduración masiva (TMM), longitud a la que el 95 % de los individuos se hallan maduros.

Además, a partir de la observación de los diferentes EMS se obtuvieron:

- Talla mínima de primera maduración sexual (TPM mín.), la menor longitud a la que algún ejemplar está maduro.
- Talla máxima de primera maduración sexual (TPM máx.), la menor longitud a la que el 100 % de los individuos están maduros.

Las curvas de madurez se determinaron separadamente con datos macroscópicos e histológicos, comparándose posteriormente mediante aplicación de una prueba estadística de análisis de covarianza (ANCOVA) (Karlou-Riga y Economidis, 1996; Zar, 1996).

REPRODUCCIÓN

FECUNDIDAD

Dada la complejidad metodológica que este tipo de estudio supone en reproductores parciales con fecundidad indeterminada, sólo se llevó a cabo de manera experimental en *S. atricauda*.

Fecundidad parcial

Para la determinación de la fecundidad parcial, se recolectaron gónadas de individuos en estados de madurez sexual macroscópico de pre-puesta y puesta durante el período mensual de máxima actividad reproductora de la especie.

El lóbulo gonadal derecho se utilizó para el análisis histológico (según metodología de microscopía óptica, Parte II), reclasificando y eliminando las gónadas cuya asignación era errónea y/o presentaban folículos post-ovulatorios (FPO). El lóbulo izquierdo se pesó y se almacenó en líquido de Gilson modificado por Simpson (1951) para estimaciones de fecundidad parcial en las que se empleó el método de distribución de frecuencias de diámetro del ovocito (Hunter *et al.*, 1985). Este método se basa en cuantificar el número de ovocitos que componen la última clase modal, siendo para ello necesario construir la distribución del diámetro del ovocito.

Con este fin, el lóbulo gonadal se filtró a través de un tamiz con luz de malla de 100 μm (aproximadamente el diámetro mínimo de un ovocito en fase de vitelogénesis). Las estimaciones de fecundidad se realizaron por el método gravimétrico (Bagenal y Braum, 1971; DeMartini y Fountain, 1981; Hunter *et al.*, 1989). Los ovocitos se dejaron secar durante 24 h sobre papel de filtro y se pesaron en una balanza (Mettler H31AR) con precisión de 0,001 g. Se extrajo una submuestra que constituyó 0,2 g del total (Lowerre-Barbieri y Barbieri, 1993). Ésta se situó en una placa de recuento sumergida en unas gotas de glicerina y mediante lupa binocular (Wild M3 Heerbrugg) se contó el número de ovocitos utilizando un contador digital de accionamiento manual.

Previamente al recuento de ovocitos, de cada individuo se obtuvo la distribución de diámetro a partir de 200 ovocitos (Nieland y Wilson, 1993), los cuales se midieron utilizando un proyector de perfiles Nikon V-12A. Por último, la moda más avanzada se separó mediante el método de máxima probabilidad de Hasselblad (Sparre y Venema, 1995) con la ayuda del programa informático Fisat 1.0. A partir del número de ovocitos vitelogénicos y, teniendo en cuenta el porcentaje de ovocitos que

pertenecían a la moda más avanzada, por extrapolación se obtuvo el número total de ovocitos en la última moda por lóbulo. Finalmente, el número total de ovocitos dentro de la clase de talla que constituye el grupo modal más avanzado de la gónada se consideró igual a la *fecundidad parcial* (F_p) (Hunter *et al.*, 1985).

Frecuencia de puesta

La frecuencia de puesta se estimó a partir de la presencia de ovocitos hidratados durante el período de máxima actividad reproductora (método de ovocitos hidratados) (Hunter y Macewicz, 1985a; Hunter *et al.*, 1986). Para ello, la fracción de puesta se calculó a partir de la relación entre el número de individuos con ovarios hidratados y el total de ejemplares maduros (EMS III y IV). La inversa de la fracción de puesta indicó el número medio de días que transcurren entre los distintos actos de puesta (Collins *et al.*, 1998).

Fecundidad total

Una vez estimado el número de actos de puesta y el número de huevos por acto de puesta, se definió la *fecundidad total* (F_T) como la fecundidad parcial por la frecuencia de puesta (Hunter y Goldberg, 1980; Hunter y Macewicz, 1985a). Finalmente, la relación entre la fecundidad total y la talla y entre aquélla y el peso corporal del individuo se estableció mediante un modelo potencial:

$$Fecundidad = a X^b$$

siendo a y b los coeficientes de relación entre ambas variables y representando X la longitud total, el peso total o el peso eviscerado. Para determinar estos coeficientes se ajustó el modelo a la serie de datos transformados en logaritmos, realizándose un análisis de regresión lineal mediante el método de mínimos cuadrados (Zar, 1996):

$$\text{Log}(Y) = \text{Log}(a) + b \text{Log}(X)$$

Todos los cálculos estadísticos se obtuvieron con la ayuda del paquete estadístico SPSS/PC+ 7.5.

RESULTADOS

SEXUALIDAD Y FERTILIZACIÓN

Las especies del género *Serranus* presentan dos lóbulos gonadales que forman un único órgano bilobulado, suspendido desde la superficie dorsal de la cavidad abdominal por delgadas membranas peritoneales llamadas mesenterios. El órgano está externamente cubierto por una cápsula de músculo liso y tejido conjuntivo denominada pared gonadal o túnica albugínea. Vasos sanguíneos, conductos linfáticos y nervios penetran rostralmente en la gónada a través del mesenterio y continúan caudalmente por la pared gonadal. Ambos lóbulos, con forma de cilindro rugoso, son de tamaño similar y se unen posteriormente en un conducto común, el cual desemboca en el orificio genital localizado en situación posterior al ano (Lámina III-1, Fig. 2).

No obstante, debido a la gran plasticidad que presentan las glándulas sexuales es posible encontrar toda clase de incidencias. Por ejemplo, uno de los lóbulos gonadales presentado un alto grado de atrofia (Lámina III-1, Fig. 3), o incluso diferentes cuerpos extraños (algas, guijarros, etc.) ajenos al animal incrustados dentro del órgano.

Durante el examen macroscópico de las gónadas de las especies de *Serranus* no se observó parte testicular en individuos inmaduros por lo que inicialmente se les asignó sexo femenino. En individuos en vías de maduración y estados consecutivos, se determinó que la mayoría de la gónada está ocupada por tejido ovárico, mientras que el testículo se encuentra limitado a la posición ventrolateral (Lámina III-1, Fig. 4 y 5). Posteriormente, el análisis histológico de las gónadas reveló que todos los individuos muestreados presentaban ovario y testículo en la misma gónada y que la maduración de los gametos en los tejidos ovárico y testicular, de un mismo ovotestículo, tiene lugar de forma simultánea en el tiempo, lo que demostró que la especie es hermafrodita sincrónica. En consecuencia, el examen macroscópico y el posterior análisis histológico de los ovotestículos estudiados demostraron, sin lugar a dudas, la existencia de un único tipo sexual: hermafrodita funcional simultáneo.

Las especies del género *Serranus* exhiben un hermafroditismo territorial en el que los tejidos ovárico y testicular están separados, aunque no aparece una verdadera separación y entre ellos sólo existe tejido conectivo. Oviducto y espermiducto están completamente separados por lo que aparentemente no

existe posibilidad de autofertilización interna. Sin embargo, durante el examen de la estructura gonadal de *S. atricauda* con MEB se encontraron varios espermatozoides sobre un huevo hidratado en el interior del lumen ovárico (Lámina III-1, Fig. 6), por lo que la reproducción parece ocurrir por “asociación gamética interna”. La explicación a este hecho podría encontrarse en la presencia de una estructura accesoria a la gónada situada en la parte posterior dorsal en ejemplares de *S. atricauda* (Lámina III-1, Fig. 4 y 7). Aunque en los individuos examinados dicha estructura se encontró vacía, ésta podría tener una función de almacenamiento de gametos maduros antes de ser liberados al exterior.

IDENTIFICACIÓN DE ESTADOS DE MADUREZ SEXUAL

Las observaciones realizadas sobre el aspecto exterior de las gónadas, las modificaciones sufridas en el transcurso del proceso de maduración sexual y la correspondencia con las imágenes histológicas características constituyen la base necesaria para la delimitación de los estados de madurez sexual.

En este sentido, se realizaron exámenes macroscópicos y análisis histológicos para conocer la naturaleza y estructura de las gónadas, y para determinar los diferentes estados de maduración de las mismas.

Clasificación macroscópica

En el ámbito externo el diagnóstico se construyó sobre la base de una clasificación macroscópica para especies gonocóricas y reproductoras parciales (Holden y Raitt, 1975) que, de forma paulatina, se adaptó convenientemente a las especies objetivo. Durante el ciclo de desarrollo, las gónadas atraviesan una serie de fases o estados de madurez y crecen desde estructuras de pequeño tamaño situadas en la parte posterior de la cavidad abdominal hasta llenarla casi por completo: estado I (inmaduro), estado II (virgen madurando o recuperando), estado III (madurando), estado IV (maduro) y estado V (post-puesta).

REPRODUCCIÓN

Lámina III-1

Figura 2. Morfología externa del ovotestículo dentro de la cavidad abdominal. *Serranus spp.*

Cab. Cavidad abdominal
Gd. Gonoducto
Lgd. Lóbulo gonadal derecho
Lgi. Lóbulo gonadal izquierdo
T. Testículo
Vs. Vaso sanguíneo

Figura 3. Visión dorsal de una gónada con el lóbulo derecho atrofiado. *S. atricauda.*

Figura 4. Morfología externa del ovotestículo. *S. atricauda.*

Ba. Bolsa de almacenamiento
O. Ovario
Sp. Esperma
T. Testículo

Figura 5. Sección histológica del ovotestículo (MO). *S. cabrilla*, hematoxilina-eosina, 6,5 x.

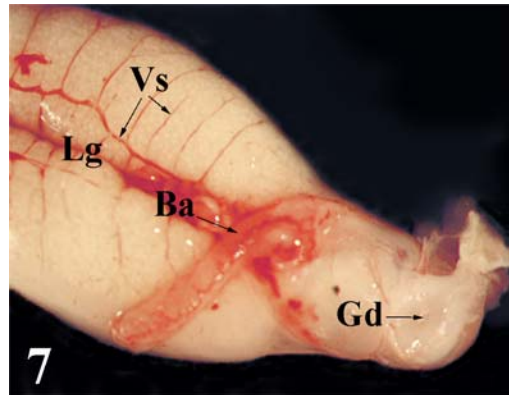
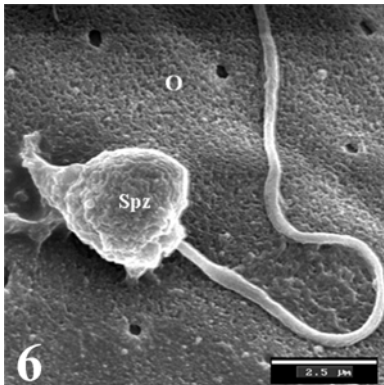
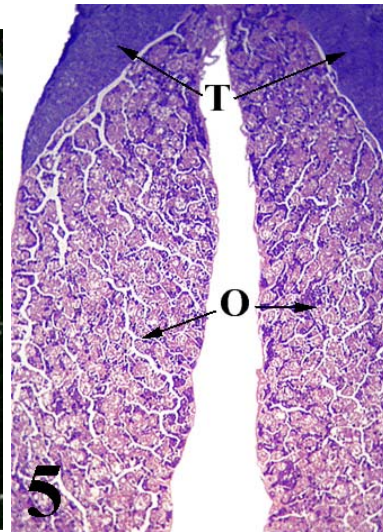
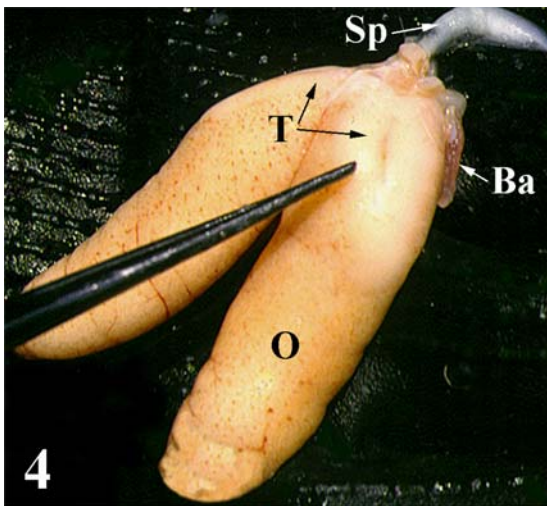
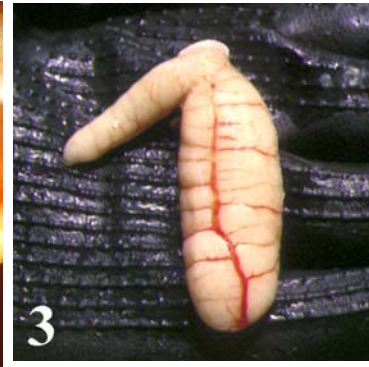
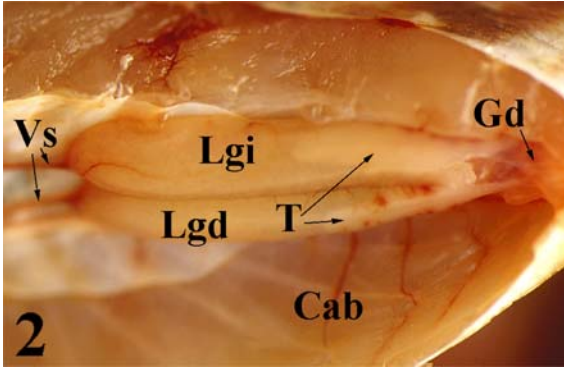
O. Ovario
T. Testículo

Figura 6. Espermatozoide en la superficie de un ovocito hidratado (MEB). *S. atricauda.*

O. Ovario
Spz. Espermatozoide

Figura 7. Detalle de la ubicación de la bolsa de almacenamiento. *S. atricauda.*

Ba. Bolsa de almacenamiento
Gd. Gonoducto
Lg. Lóbulos gonadales
Vs. Vasos sanguíneos



REPRODUCCIÓN

Estado de madurez I (inmaduro): la gónada ocupa menos del 25 % de la cavidad abdominal. De color amarillo-translúcido o casi transparente que toma coloraciones más oscuras a medida que progresa el desarrollo. Esto puede estar relacionado con el aumento del número de células y la progresiva consolidación de la estructura gonadal. No se observan huevos a simple vista. El testículo tampoco se observa a simple vista (Lámina III-2, Figs. 8a, b).

Estado de madurez II (virgen madurando o recuperando): la gónada ocupa alrededor del 25 % de la cavidad abdominal. El ovario presenta un color amarillo-blancuzco. Los huevos son invisibles a simple vista. En este estado, el testículo todavía no es visible (Lámina III-2, Figs. 9a, b).

Estado de madurez III (madurando): la gónada ocupa alrededor del 50 % de la cavidad abdominal. El ovario tiene color amarillo-rojizo y aspecto granular. Los huevos son transparentes al principio y muestran aspecto opaco conforme progresa el estado. Este cambio coincide con la progresiva aparición de gránulos de vitelo en el citoplasma del ovocito (vitelogénesis). Este criterio, e incluso el del tamaño gonadal, es más objetivo que el color. El testículo es prominente y de color blanco, ocupando menos de la mitad de la longitud gonadal (Lámina III-2, Figs. 10a, b).

Estado de madurez IV (maduro) (Lámina III-3, Figs. 11a, b y 12a, b): la gónada ocupa más del 75 % de la cavidad abdominal. El ovario es de color blanco-rosáceo o amarillo-anaranjado, muy irrigado, con vasos sanguíneos superficiales. Se observan ovocitos opacos y ocasionalmente grandes huevos transparentes. El mejor criterio para separar el estado III y IV es, sin lugar a duda, la observación, cuando los hay, de huevos transparentes (estado IV). El testículo aparece muy prominente, de color crema, ocupando más de la mitad de la longitud gonadal.

Estado de madurez V (post-puesta): la gónada ocupa alrededor del 25 % de la cavidad abdominal, está flácida y parcialmente vacía. A veces, en estados cercanos al final de la puesta, quedan restos de huevos opacos y transparentes. El testículo es difícil de reconocer ya que pierde la coloración blanco-crema y sólo se dibuja débilmente el contorno que ocupa. En estados muy avanzados de reabsorción, el criterio que fundamentalmente se utilizó para separar el estado V del II fue la observación a simple vista de la parte

REPRODUCCIÓN

testicular (estado V). El vaso sanguíneo aparece muy desarrollado e irrigado a nivel rostral (Lámina III-3, Figs. 13a, b).

REPRODUCCIÓN

Lámina III-2

Figura 8. (a). Ejemplar de *S. scribe* inmaduro.

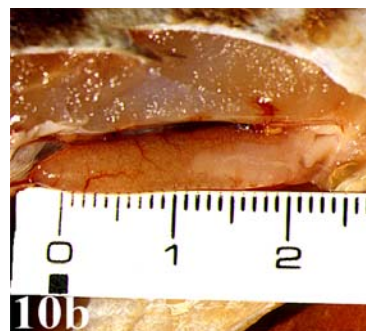
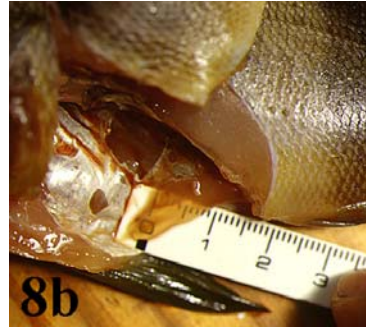
(b). Detalle de la gónada anterior.

Figura 9. (a). Ejemplar de *S. cabrilla* virgen madurando o recuperando.

(b). Detalle de la gónada anterior.

Figura 10. (a). Ejemplar de *S. cabrilla* madurando.

(b). Detalle de la gónada anterior.



REPRODUCCIÓN

Lámina III-3

Figura 11. (a). Ejemplar de *S. cabrilla* maduro.

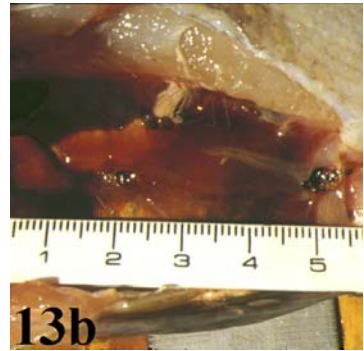
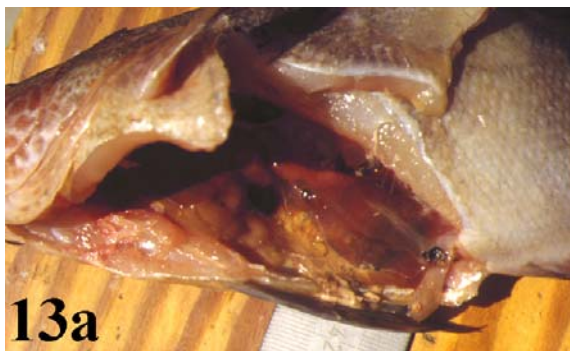
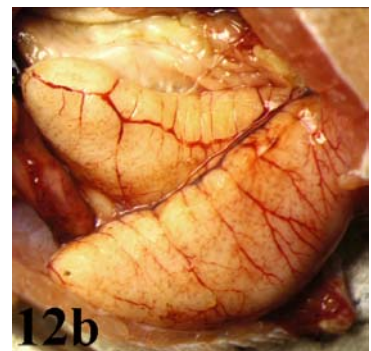
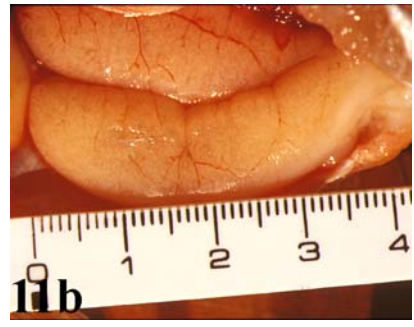
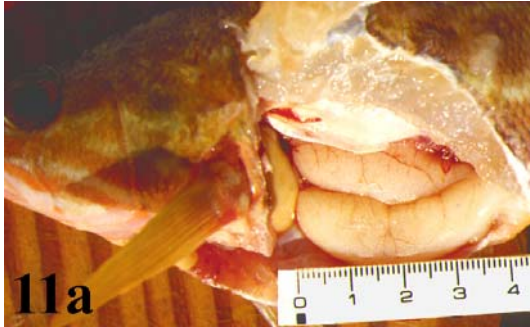
(b). Detalle de la gónada anterior.

Figura 12. (a). Ejemplar de *S. atricauda* maduro e hidratado.

(b). Detalle de la gónada anterior.

Figura 13. (a). Ejemplar de *S. scriba* en post-puesta.

(b). Detalle de la gónada anterior.



REPRODUCCIÓN

Clasificación histológica

La caracterización histológica correspondiente a los diferentes estados de madurez sexual descritos macroscópicamente se detalla a continuación:

Estado de madurez I (inmaduro) (Lámina III-4, Fig. 14): en la gónada comienza la organización del tejido conectivo y del sistema vascular, así como la producción de células sexuales. En el ovario aparecen oogonias y ovocitos en crecimiento primario (estados IA y IB) organizados en láminas ováricas anchas y compactas. En el testículo se observan numerosas espermatogonias formando cistos celulares, pudiendo aparecer algunos cistos conteniendo espermatoцитos primarios. La pared gonadal, formada por dos capas de tejido muscular (longitudinal y circular), aparece muy delgada.

Estado de madurez II (virgen madurando o recuperando): en este caso, a nivel histológico se distinguen dos etapas que, obviamente, sobre la base de criterios macroscópicos no hubiera sido posible establecer. Cuando el individuo proviene del estado I, es decir, se trata de un ejemplar virgen que se incorpora por primera vez al stock reproductor (Lámina III-4, Fig. 15a), el ovario está organizado en láminas ováricas anchas y consistentes que se disponen radialmente desde la pared gonadal hasta el lumen ovárico. Contienen ovocitos en estado de crecimiento primario, presentando en fases avanzadas ovocitos en estado de formación de vesículas de vitelo. Constituye una etapa intermedia entre la transición desde la inmadurez al comienzo de la maduración. A partir de este estado, la observación de oogonias es cada vez más dificultosa. El testículo presenta la periferia de lóbulos seminíferos con cistos de células en el mismo estado de desarrollo, dejando vacía la luz del lóbulo que constituirá el enclave de futuros espermatozoides después de pasar por sucesivas etapas de maduración. La pared gonadal aparece más gruesa que en el estado I.

Por otra parte, cuando los individuos han terminado una temporada de puesta y se recuperan para la siguiente, el aspecto del ovotestículo es muy diferente a la etapa anteriormente descrita. Proliferan abundantemente oogonias y espermatogonias; en el ovario puede quedar algún ovocito en reabsorción de la freza anterior pero no es lo habitual. Sin embargo, en el testículo las espermatogonias comparten el espacio celular con células maduras (espermatozoides) que todavía persisten en la gónada de la puesta ya finalizada (Lámina III-4, Fig. 15b). Tanto el ovario como el testículo tienen aspecto poco consistente, las lamelas ováricas y los lóbulos

testiculares presentan respectivamente numerosos folículos y cistos espermáticos vacíos (Lámina III-4, Fig. 15c) rodeados por una pared gonadal relativamente gruesa teniendo en cuenta que es un estado II.

Estado de madurez III (madurando): al igual que en el estado anterior, a nivel microscópico podemos apreciar dos situaciones diferentes que no son percibibles externamente. En la primera de ellas, el ovario contiene los ovocitos que han ido desarrollándose en los anteriores estados de crecimiento y que se encuentran en él durante todo el año; junto a ellos aparecen progresivamente ovocitos en estado de vitelogénesis (Lámina III-4, Figs. 16a, b).

Por otra parte, en el estado III podemos encontrar individuos que han realizado una puesta parcial y se preparan para volver a poner de nuevo. En este caso, en el ovario aparecen ovocitos maduros en diversos estados de reabsorción o atresia mezclados con los tipos ovocitarios típicos del estado que constituyen el grupo o “nidada” que forma la futura puesta parcial. El testículo contiene células en todos los estados de espermatogénesis y aparecen células maduras (espermatozoides) en pequeño número y sólo en unos pocos lóbulos seminíferos. En este estado la pared gonadal es muy gruesa.

Estado de madurez IV (maduro): en el ovario aparecen, además de los estados de desarrollo ya mencionados, ovocitos maduros (Lámina III-5, Fig. 17). Momentos antes de la puesta, esta fracción de ovocitos maduros, sufre un proceso de hidratación (Lámina III-5, Fig. 18) y son ovulados en un corto espacio de tiempo. Este evento supone un aumento considerable del volumen total de la gónada y algunos autores la denominan “gónada hidratada” (Hunter y Macewizc, 1985a). De la misma forma que en los estados anteriores, las gónadas pueden presentar dos aspectos diferentes en función de que sea, a) una puesta parcial del ciclo interno, o b) el último acto de puesta dentro del periodo reproductor anual. En el primer caso, aparecen ovocitos previtelogénicos, vitelogénicos y el grupo o nidada de ovocitos hidratados que van a ser liberados durante el acto; si se ha producido una puesta anterior, aparecerán también folículos post-ovulatorios (FPO). En el segundo caso, los ovocitos previtelogénicos y una pequeña fracción de vitelogénicos aparecen en diferentes grados de reabsorción o atrésicos junto al grupo de hidratados y FPO que constituyen la última fracción de puesta. El testículo presenta la mayoría de lóbulos repletos de células en diferentes grados de espermiogénesis; los

REPRODUCCIÓN

espermatozoides se acumulan en el conducto espermático junto a la pared de la gónada, desde donde son expulsados al exterior (Lámina III-5, Fig. 19).

Estado de madurez V (post-puesta) (Lámina III-5, Fig. 20): el ovario presenta folículos post-ovulatorios (FPO) que permanecen en el ovario después de la evacuación del ovocito. Éstos son difíciles de observar en las preparaciones histológicas dado que permanecen poco tiempo en el ovario (normalmente se reabsorben en 24-48 h en material fresco (Hunter y Macewicz, 1985a)). Si el tejido se encuentra en alto estado de degradación, normalmente no se observan. También aparecen ovocitos que, en estado avanzado de vitelogénesis, no han sido expulsados y se atresian. Aunque la atresia también ocurre, por diferentes causas ya mencionadas (ver parte II), en los estados de madurez sexual II, III y IV, es en este momento cuando el proceso atrésico es más notable. En un estado avanzado de post-puesta se pierde la organización laminar y los ovocitos que permanecen en el ovario empiezan a atresarse y reabsorberse. El testículo aparece parcial o totalmente vacío dependiendo de lo avanzado del estado. Aunque ya se ha señalado que el desarrollo del ovario y del testículo ocurre de forma sincrónica y simultánea, existe una pequeña desincronización entre ambos ya que alcanza antes la madurez el testículo y permanece todavía maduro cuando el ovario ya está en regresión. El contenido residual (espermatozoides) de los lóbulos seminíferos completa su reabsorción generalmente, antes del final de la multiplicación espermatogonial. Ocasionalmente, el esperma residual persiste durante más tiempo, permaneciendo en este caso en la porción central de los lóbulos seminíferos rodeado por espermatogonias (estado de madurez sexual II o de recuperación). La pared gonadal adquiere consistencia flácida debido a la brusca disminución de volumen después de la ovulación.

Los estados de madurez de la escala propuesta por Holden y Raitt (1975), como ya se ha indicado anteriormente, fueron adaptadas a las especies del género *Serranus*, y en general corresponden a los establecidos mediante análisis histológico. No obstante, los diferentes estados histológicos presentan gran complejidad que se manifiesta en una gama de fases en diferente grado de desarrollo que, obviamente, no es recogida por la escala macroscópica. La descripción de los estados de madurez sexual, comparando las observaciones macroscópicas con los análisis histológicos, se indica en la Tabla III-7.

Tabla III-7. Características de los estados de madurez sexual según examen macroscópico y análisis histológico.

Estado	Examen macroscópico	Análisis histológico
I Inmaduro	Gónada ocupando menos del 25 % de la cavidad abdominal. Ovario blancuzco-translúcido. Huevos invisibles a simple vista. Testículo no visible.	Ovario formado por oogonias y ovocitos en estado de crecimiento primario (estados IA y IB). Testículo formado fundamentalmente por espermatogonias y espermatoцитos primarios.
II Virgen madurando o recuperando	Gónada ocupando alrededor del 25 % de la cavidad abdominal. Ovario amarillo-blancuzco. Huevos invisibles a simple vista. Testículo no visible.	Presentes oogonias, ovocitos en estado de crecimiento primario y formación de vesículas de vitelo (estado II). Testículo con cistos de espermatogonias, espermatoцитos primarios y secundarios.
III Madurando	Gónada ocupando alrededor del 50 % de la cavidad abdominal. Ovario amarillo-rojizo de aspecto granular. Por primera vez los ovocitos se observan a simple vista. Testículo blanco, ocupando menos de la mitad de la longitud gonadal.	Disminuye la cantidad de oogonias, ovocitos en estados I y II presentes. Aparecen progresivamente ovocitos vitelogénicos (estado III). En el testículo, disminuyen los cistos de espermatogonias, espermatoцитos primarios y secundarios, proliferando espermatidas y espermatozoides.
IV Maduro	Gónada ocupando más del 75 % de la cavidad abdominal. Ovario blanco-rosáceo con vasos sanguíneos superficiales. Ovocitos opacos y, en ocasiones, grandes huevos transparentes. Testículo crema, ocupando más de la mitad de la longitud gonadal. Gónada irrigada por numerosos vasos sanguíneos.	Ovario con ovocitos en estado de desarrollo I, II y III. Aparecen ovocitos maduros (estado IV), y cuando la puesta es inminente, huevos hidratados (estado V). Generalmente se observan FPO. Testículo con algunas células inmaduras, lóbulos y conducto espermático repletos de espermatozoides.
V Post-puesta	Gónada flácida ocupando cerca del 25 % de la cavidad abdominal, a veces con restos de huevos transparentes y opacos. Testículo difícil de reconocer. Presencia de vaso sanguíneo anterior muy desarrollado.	Ovario con ovocitos atrésicos y en reabsorción, en ocasiones se observan FPO. Pérdida de la organización en láminas ováricas. Testículo parcial o totalmente vacío.

REPRODUCCIÓN

Lámina III-4

Figura 14. Sección de un ovotestículo en estado de madurez sexual inmaduro (MO). *S. atricauda*, hematoxilina-eosina, 100 x.

O. Ovario

T. Testículo

Figura 15. (a). Sección de un ovotestículo en estado de madurez sexual virgen madurando (MO). *S. atricauda*, hematoxilina-eosina, 50 x.

O. Ovario

T. Testículo

(b). Sección de testículo en estado de recuperación o reposo (MO). *S. scriba*, VOF, 400 x.

*Sp**g.* Espermatogonia

*Sp**z.* Espermatozoides

Ta. Túnica albugínea

(b). Sección de un ovotestículo en estado de recuperación o reposo (MO). *S. atricauda*, hematoxilina-eosina, 50 x.

O. Ovario

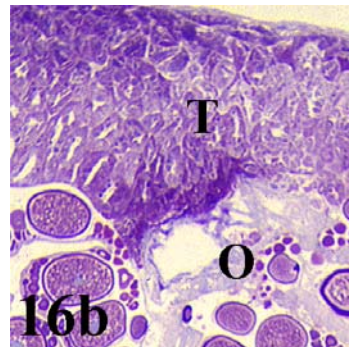
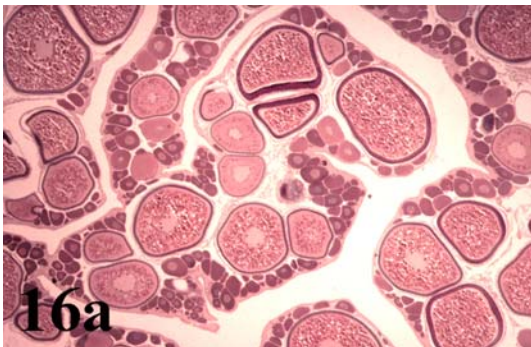
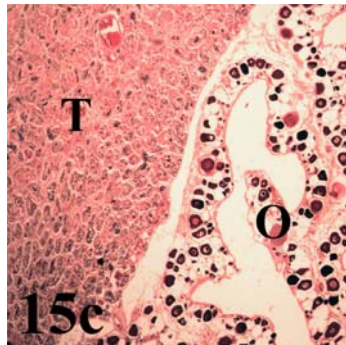
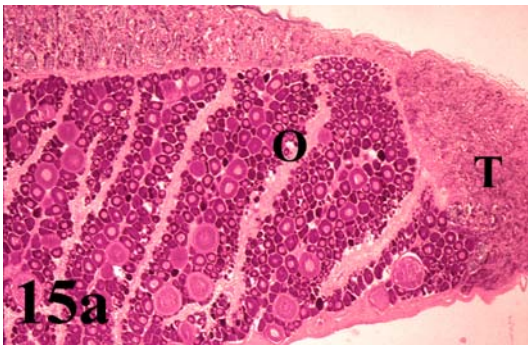
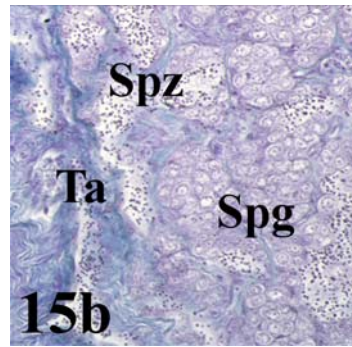
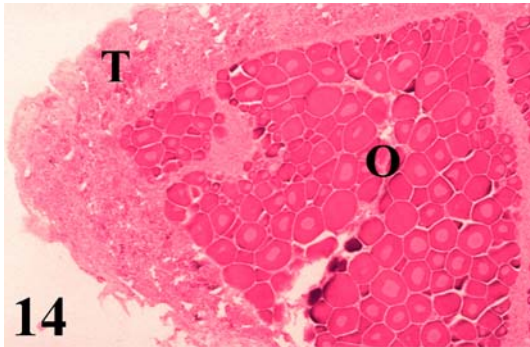
T. Testículo

Figura 16. (a). Sección de ovario en estado de madurez sexual madurando (MO). *S. atricauda*, hematoxilina-eosina, 50 x.

(b). Sección de un ovotestículo en estado de madurez sexual madurando (MO). *S. atricauda*, hematoxilina-eosina, 50 x.

O. Ovario

T. Testículo



REPRODUCCIÓN

Lámina III-5

Figuras 17. Sección de un ovotestículo en estado maduro (MO). *S. cabrilla*, VOF, 50 x.

O. Ovario

T. Testículo

Figura 18. Sección de ovario en estado maduro e hidratado (MO). *S. atricauda*,
hematoxilina-eosina, 50 x.

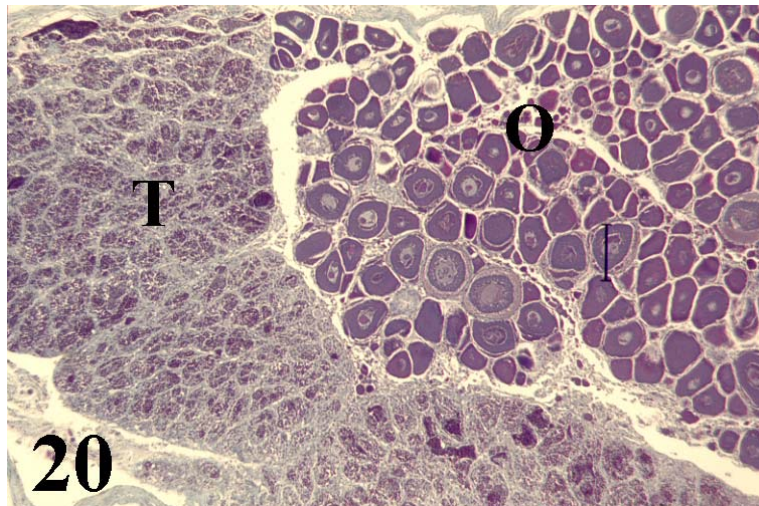
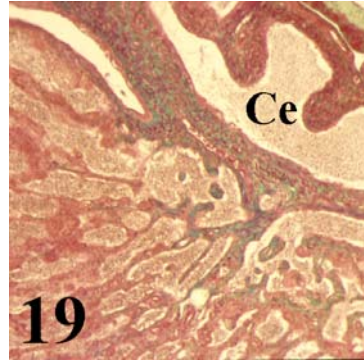
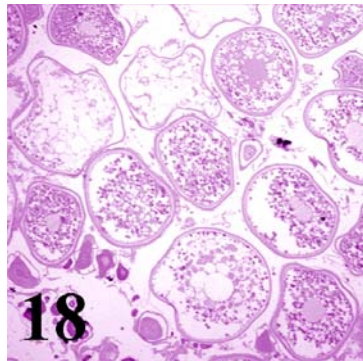
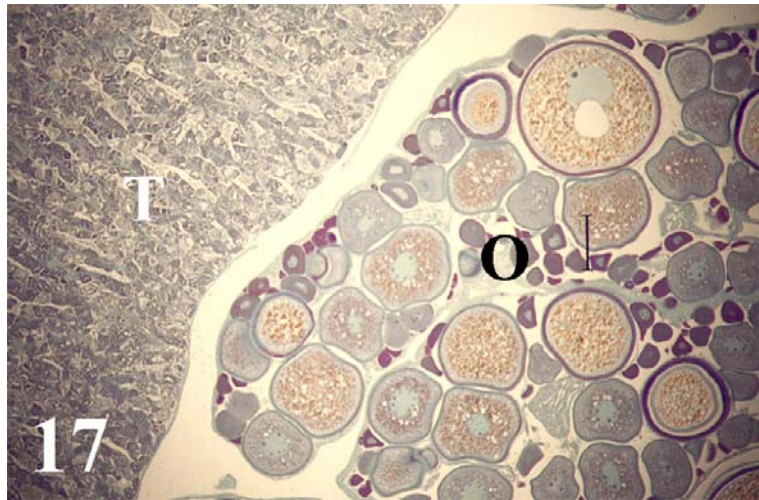
Figura 19. Sección de testículo maduro mostrando el conducto espermático y los lóbulos
repletos de espermatozoides (MO). *S. scribea*, Tricrómico de Mallory, 100 x.

Ce. Conducto espermático

Figura 20. Sección de un ovotestículo en estado de post-puesta (MO). *S. scribea*,
hematoxilina-eosina, 50 x.

O. Ovario

T. Testículo



REPRODUCCIÓN

Precisión de la clasificación macroscópica

El estudio comparativo de asignación de estados de madurez sexual por criterios macroscópicos e histológicos proporcionó porcentajes globales de coincidencia del 73,4, 64,9 y 66,3 % en *S. atricauda*, *S. cabrilla* y *S. scriba* respectivamente. En el caso de gónadas maduras (EMS IV) los porcentajes se elevaron hasta un 87,7 % en *S. atricauda*, 79,6 % en *S. cabrilla* y 80,2 % en *S. scriba*. El estudio detallado de las diferencias encontradas al comparar ambos criterios permitió tipificar los errores más frecuentes:

- Error tipo A (Lámina III-6). Macroscopía: ovario parcialmente lleno de ovocitos visibles a simple vista, asignado a EMS III (madurando). Histología: ovario conteniendo ovocitos atrésicos en reabsorción, asignado a EMS V (post-puesta temprana). El 28,3, 26,6 y 29,9 % de los ovarios clasificados macroscópicamente como EMS III correspondían a un EMS V según criterio histológico, en *S. atricauda*, *S. cabrilla* y *S. scriba*, respectivamente.

- Error tipo B (Lámina III-7). Macroscopía: gónadas alargadas, estrechas y consistentes, asignadas a EMS II (virgen madurando o recuperando). Histología: ovocitos en reabsorción y tejido testicular vacío o con restos celulares, asignándose a EMS V (post-puesta tardía). El 20,3, 24,3 y 25,5 % de las gónadas clasificadas macroscópicamente como EMS II correspondían a un EMS V según criterio histológico, en *S. atricauda*, *S. cabrilla* y *S. scriba*, respectivamente.

- Error tipo C (Lámina III-8). Macroscopía: gónadas flácidas y vacías, asignadas a EMS V (post-puesta). Histología: ovocitos en recuperación, asignados a un EMS II (recuperando). El 26,3, 19,4 y 29,7 % de las gónadas clasificadas macroscópicamente como EMS V correspondían a un EMS II según criterio histológico, en *S. atricauda*, *S. cabrilla* y *S. scriba*, respectivamente.

Descripción del ciclo reproductor

El ciclo reproductor de las especies estudiadas del género *Serranus*, basado en la distribución temporal de estados de madurez y en el modelo de desarrollo del ovocito, se representa en el diagrama esquemático de la figura III-24. El comportamiento reproductor de estas especies está representado por un ciclo interno (constituido por maduración, hidratación y ovulación) que corresponde al número de puestas parciales realizadas dentro del ciclo general o época reproductora (Fig. III-24).

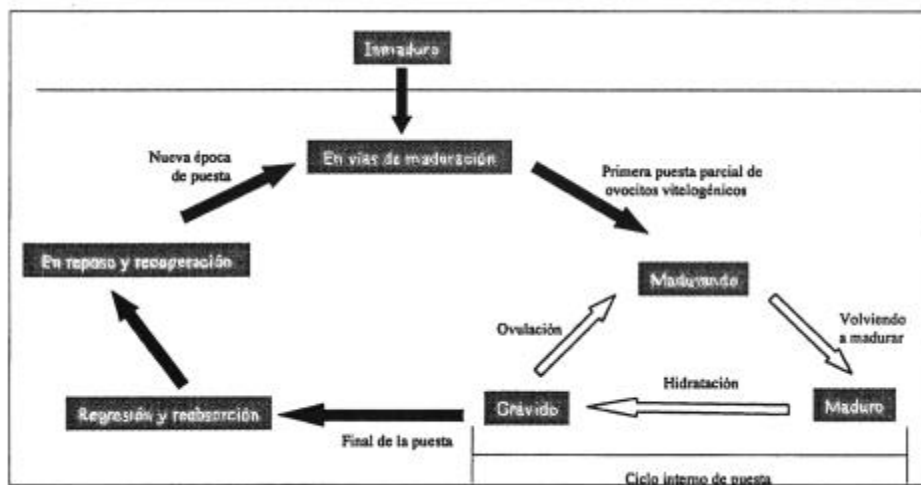


Figura III-24. Diagrama esquemático del ciclo reproductor.

El ciclo comienza bien con individuos inmaduros que entran en él por primera vez y/o con ejemplares pertenecientes al stock reproductor que ya han alcanzado la madurez sexual y se encuentran en estado de reposo y recuperación. Al inicio de cada estación de puesta, tanto unos (inmaduros que no se han reproducido nunca) como otros (individuos que ya se han reproducido al menos una vez) inician la maduración y comienzan un nuevo ciclo reproductor. Llegado este punto, los individuos se introducen en un ciclo interno o fase de puesta que caracteriza el modelo de puesta parcial, múltiple o serial de estas especies. Durante la fase de puesta, los ejemplares en estado de maduración, maduran completamente, experimentan el proceso de hidratación y, más tarde, son ovulados y puestos. Si no se ha completado la época reproductora, la parte de ovocitos que constituía la puesta parcial y que todavía permanece en el ovario se reabsorbe y una nueva “nidada” se recluta del stock de ovocitos vitelogénicos. De esta manera, se inicia de nuevo otro ciclo interno, que se repite tantas veces como puestas parciales se ejecuten a lo largo de la temporada de freza. Por otra parte, si el periodo de puesta ha finalizado, los individuos entran en un estado de regresión y reabsorción que finaliza en el estado de reposo y recuperación hasta la próxima época de puesta.

REPRODUCCIÓN

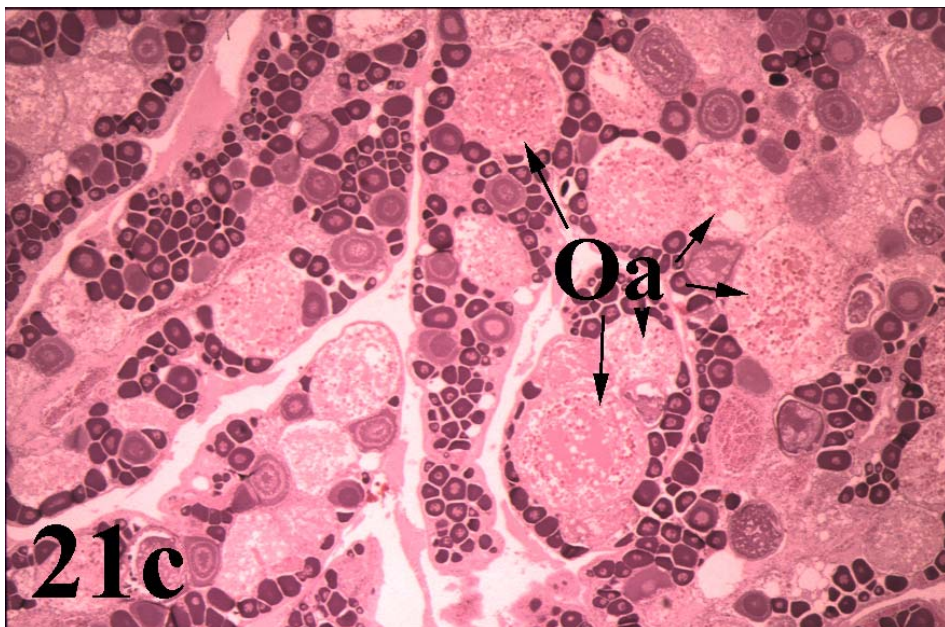
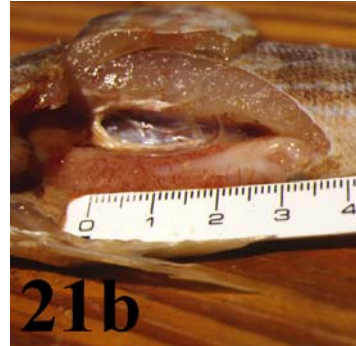
Lámina III-6

Figura 21. (a). Ejemplar de *S. cabrilla* clasificado como EMS III (madurando).

(b). Detalle de la gónada anterior.

(c) Sección histológica de la gónada anterior conteniendo ovocitos atrésicos en reabsorción, reasignado a EMS V (post-puesta temprana). Hematoxilina-eosina, 50 x.

Oa. *Ovocitos atrésicos*



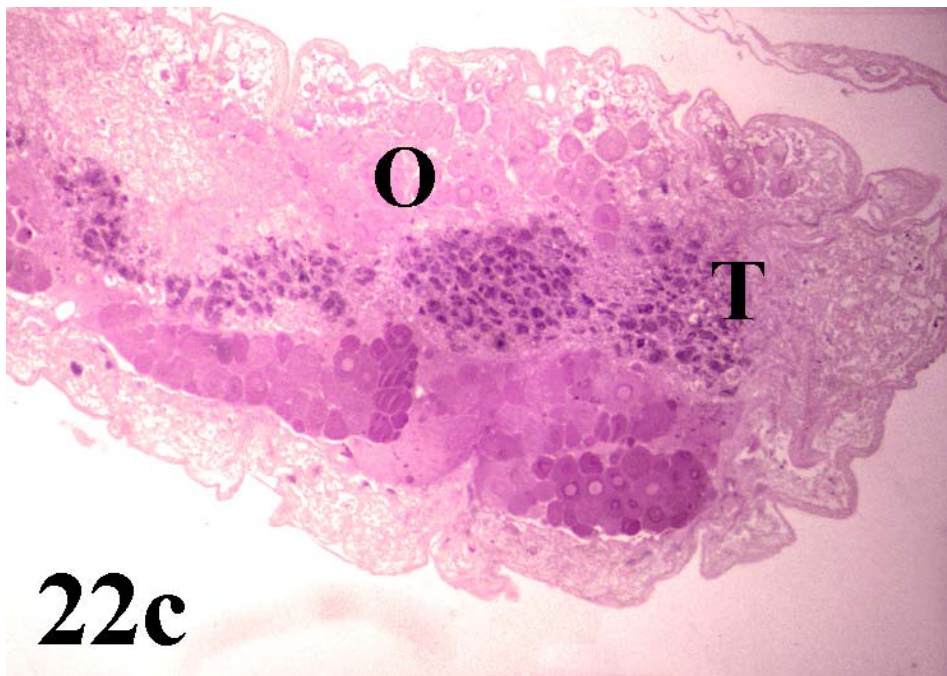
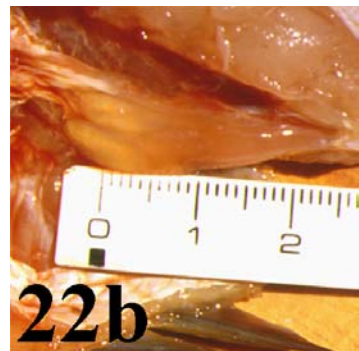
REPRODUCCIÓN

Lámina III-7

- Figura 22.** (a). Ejemplar de *S. scribe* clasificado como EMS II (virgen madurando o recuperando).
(b). Detalle de la gónada anterior.
(c). Sección histológica de la gónada anterior conteniendo ovocitos en reabsorción y tejido testicular vacío o con restos celulares, reasignado a EMS V (post-puesta tardía). Hematoxilina-eosina, 50 x.

O. Ovario

T. Testículo



REPRODUCCIÓN

Lámina III-8

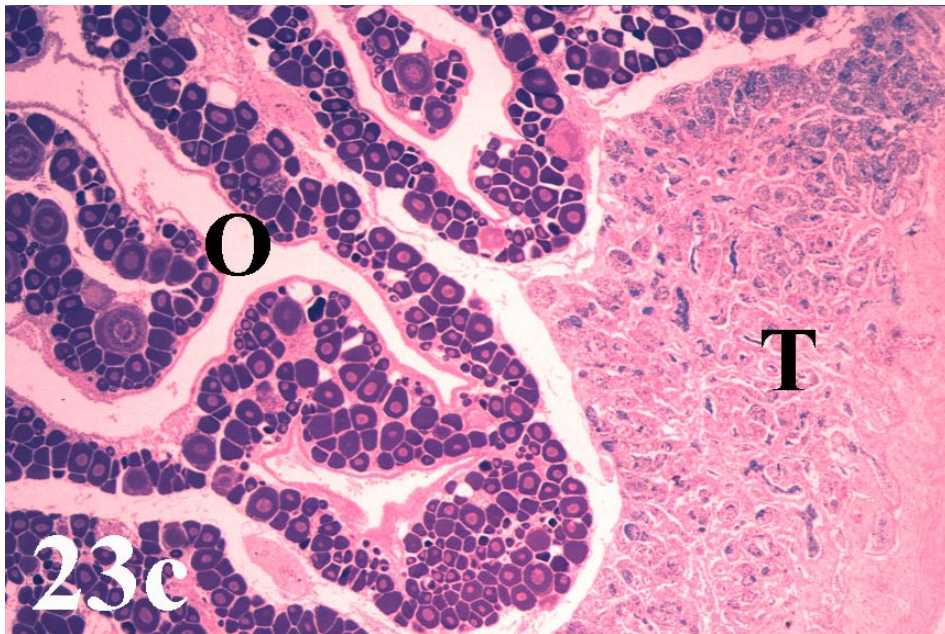
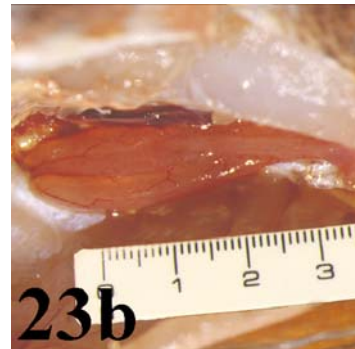
Figura 23. (a). Ejemplar de *S. cabrilla* clasificado como EMS V (post-puesta).

(b). Detalle de la gónada anterior.

(c). Sección histológica de la gónada anterior conteniendo ovocitos en recuperación, reasignado a EMS II (recuperando). Hematoxilina-eosina, 50 x.

O. Ovario

T. Testículo



REPRODUCCIÓN

ÉPOCA DE PUESTA

Serranus atricauda

La distribución mensual de ejemplares por estados de madurez sexual se muestra en la tabla III-8 y su evolución se ilustra en la figura III-25, comparándose datos macroscópicos e histológicos. A tenor de los resultados obtenidos en el estudio macroscópico, los porcentajes más elevados de individuos maduros (EMS III y IV) se encontraron entre febrero (40,6 %) y septiembre (46,5 %), con valor máximo en junio (100 %). El análisis de la información histológica no reveló, en general, diferencias significativas con los datos macroscópicos. Histológicamente, el período en que se encontraron individuos maduros comprendió desde febrero (37,5 %) hasta septiembre (48,8 %), registrándose los mayores porcentajes en mayo y junio (80,5 y 89,8 %). No obstante, tanto a nivel macroscópico como histológico, se observó una pequeña fracción de individuos maduros durante los meses de octubre (23,2 y 7,3 %) y diciembre (21,5 y 21,5 %).

El índice gonadosomático (IGS) mostró claras variaciones mensuales, tomando valores máximos desde marzo (2,06) hasta julio (3,37) con un pico en junio (3,93), y valores mínimos entre septiembre (0,78) y febrero (0,67) (Tabla III-9, Fig. III-26). La variación mensual del índice hepatosomático (IHS) y del factor de condición (Kn) presentó un comportamiento irregular y aserrado (Tabla III-10, Fig. III-27), permaneciendo más o menos constante y sin manifestar tendencias claras. A la vista de lo anterior, se puede concluir que no parece existir ninguna relación entre el IGS y el IHS y el Kn a lo largo del periodo de estudio.

La variación mensual del diámetro del ovocito (DO) se comportó de forma muy similar a la del IGS, mostrando valores medios máximos desde marzo (261,37 μm) hasta julio (275,07 μm) con un pico en junio (365,85 μm), y valores mínimos entre septiembre (103,91 μm) y febrero (136,88 μm) (Tabla III-11, Fig. III-28). En febrero el diámetro medio alcanzó un valor semejante ($132 \pm 25 \mu\text{m}$) al estado II de desarrollo del ovocito (formación de vesículas de vitelo), marcando el inicio de la vitelogénesis y coincidiendo con el comienzo de la época de puesta. En marzo se observó un aumento significativo de diámetro que continúa hasta julio. Durante estos meses los valores se correspondieron con el tamaño del ovocito en estado de vitelogénesis (entre 221 ± 45 y $436 \pm 40 \mu\text{m}$). En abril, mayo y junio los diámetros máximos encontrados se asemejaron a ovocitos y huevos maduros en estado de desarrollo del ovocito IV y V (509 ± 37 y $616 \pm 79 \mu\text{m}$), los

REPRODUCCIÓN

cuales alcanzaron el desarrollo óptimo para ser ovulados. En septiembre y octubre, aunque todavía aparecen diámetros máximos que indican la presencia de individuos maduros, el valor medio disminuye paulatinamente señalando el declive del periodo de freza. Finalmente, en noviembre el diámetro máximo es considerablemente inferior puesto que constituye el momento en el que tiene lugar la recuperación y el reposo gonadal para incrementarse en diciembre y enero, coincidiendo con el inicio de la siguiente época reproductora.

REPRODUCCIÓN

Tabla III-8. *Serranus atricauda*. Distribución mensual de individuos por estados de madurez sexual (EMS) en valores numéricos y porcentuales relativos a nivel macroscópico e histológico. I inmaduro; II virgen desarrollando o recuperando; III madurando; IV maduro; V post-puesta.

Mes	EMS	Examen macroscópico		Análisis histológico	
		N	%	N	%
Enero	II	1	100,0	1	100,0
Febrero	I	3	9,4	3	9,4
	II	15	46,9	9	28,1
	III	5	15,6	3	9,4
	IV	8	25,0	9	28,1
	V	1	3,1	8	25,0
Marzo	I	1	3,4	1	3,4
	II	4	13,8	4	13,8
	III	1	3,4	1	3,4
	IV	14	48,3	14	48,3
	V	9	31,1	9	31,1
Abril	I	4	9,8	1	2,4
	II	2	4,9	5	12,2
	III	6	14,6	6	14,6
	IV	29	70,7	27	65,9
	V	0	0,0	2	4,9
Mayo	I	3	3,9	1	1,3
	II	5	6,3	5	6,3
	III	5	6,3	8	10,1
	IV	66	83,5	63	79,7
	V	0	0,0	2	2,6
Junio	III	2	8,3	1	4,2
	IV	22	91,7	20	83,3
	V	0	0,0	3	12,5
Julio	II	3	6,5	4	8,7
	III	6	13,1	6	13,0
	IV	34	73,9	29	63,0
	V	3	6,5	7	15,3
	Septiembre	II	7	16,3	6
III		12	27,9	16	37,2
IV		8	18,6	5	11,6
V		16	37,2	16	37,2
Octubre		I	5	6,1	7
	II	12	14,6	19	23,2
	III	14	17,1	5	6,1
	IV	5	6,1	1	1,2
	V	46	56,1	50	61,0
Noviembre	II	15	44,1	27	79,4
	V	19	55,9	7	20,6
	Diciembre	I	5	35,7	1
II		5	35,7	9	64,3
III		2	14,4	1	7,1
IV		1	7,1	2	14,4
V		1	7,1	1	7,1

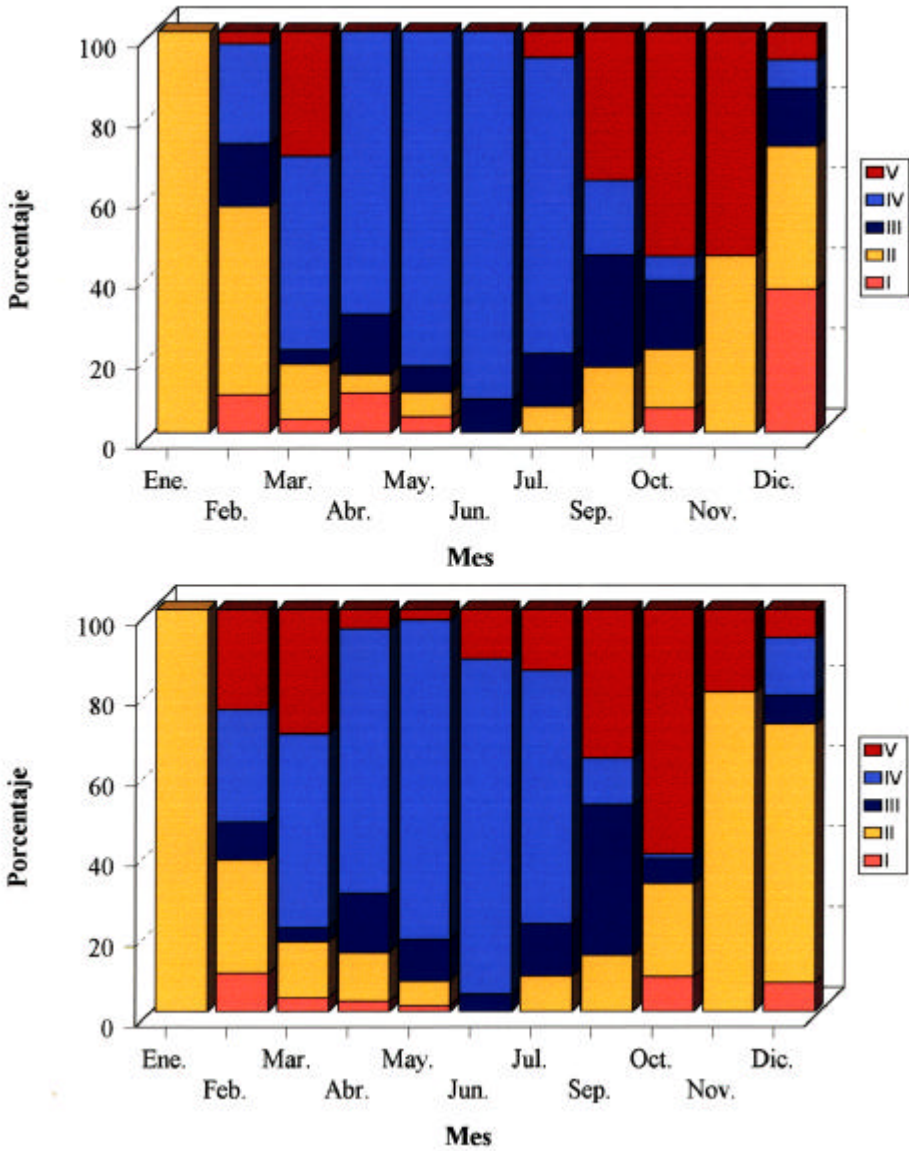


Figura III-25. *Serranus atricauda*. Distribución mensual de individuos por estado de madurez sexual (EMS) en valores porcentuales relativos a nivel macroscópico (arriba) e histológico (abajo). I inmaduro; II virgen desarrollando o recuperando; III madurando; IV maduro; V post-puesta.

REPRODUCCIÓN

Tabla III-9. *Serranus atricauda*. Índice gonadosomático (IGS) mensual. N, número de ejemplares; Mín, valor mínimo; Máx, valor máximo; ., valor medio; dt, desviación típica.

Mes	IGS				
	N	Mín	Máx	.	dt
Enero	1	0,39	0,39	0,39	-
Febrero	32	0,06	2,20	0,67	0,58
Marzo	29	0,16	7,50	2,06	2,04
Abril	41	0,41	4,02	1,69	1,01
Mayo	79	0,18	7,09	2,74	1,49
Junio	24	0,45	6,98	3,93	1,96
Julio	46	0,42	8,54	3,37	2,40
Agosto	-	-	-	-	-
Septiembre	43	0,16	1,94	0,78	0,38
Octubre	82	0,11	2,48	0,52	0,40
Noviembre	34	0,26	1,32	0,67	0,31
Diciembre	14	0,11	1,06	0,44	0,33

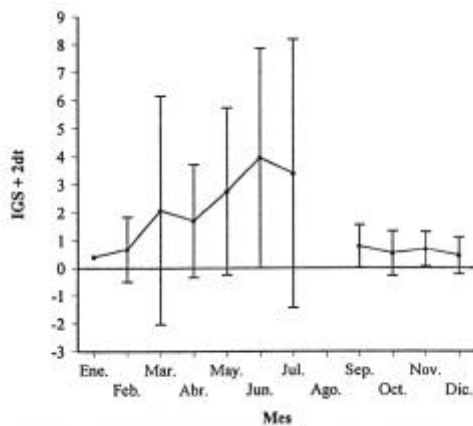


Figura III-26. *Serranus atricauda*. Evolución mensual del índice gonadosomático (IGS) medio.

REPRODUCCIÓN

Tabla III-10. *Serranus atricauda*. Índice hepatosomático (IHS) y factor de condición (Kn) mensuales. N, número de ejemplares; Mín, valor mínimo; Máx, valor máximo; ., valor medio; dt, desviación típica.

Mes	IHS					Kn			
	N	Mín	Máx	.	dt	Mín	Máx	.	dt
Enero	1	0,63	0,63	0,63	-	0,65	0,65	0,65	-
Febrero	32	0,40	1,56	0,85	0,30	0,56	0,76	0,64	0,05
Marzo	29	0,20	1,63	0,85	0,32	0,53	0,69	0,61	0,04
Abril	41	0,19	2,04	1,14	0,42	0,52	0,76	0,64	0,05
Mayo	79	0,19	4,73	1,06	0,68	0,42	0,76	0,59	0,05
Junio	24	0,51	1,65	1,02	0,32	0,45	0,76	0,61	0,06
Julio	46	0,24	2,87	1,16	0,57	0,52	0,70	0,61	0,04
Agosto	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Septiembre	43	0,30	2,39	0,88	0,48	0,48	0,67	0,60	0,03
Octubre	82	0,31	2,42	0,92	0,38	0,47	0,76	0,64	0,05
Noviembre	34	0,35	1,86	0,91	0,38	0,51	0,69	0,60	0,04
Diciembre	14	0,40	2,95	1,13	0,65	0,57	0,71	0,65	0,04

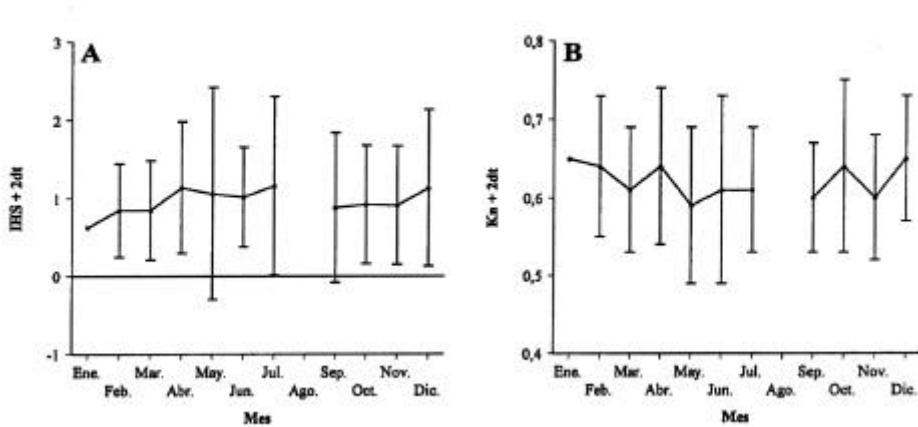


Figura III-27. *Serranus atricauda*. Evolución mensual del índice hepatosomático medio (A) y el factor de condición medio (B).

REPRODUCCIÓN

Tabla III-11. *Serranus atricauda*. Diámetro máximo y medio del ovocito (DO, μm) por mes. Máx, valor máximo; ., valor medio; dt, desviación típica. Número de células medidas por mes = 500.

Mes	Máx	.	dt
Enero	130	48,45	50,35
Febrero	560	136,88	162,11
Marzo	560	261,37	208,60
Abril	660	264,34	196,67
Mayo	690	270,30	189,77
Junio	685	365,85	203,61
Julio	550	275,07	205,36
Agosto	-	-	-
Septiembre	450	103,91	116,58
Octubre	400	59,51	62,36
Noviembre	190	34,28	29,89
Diciembre	345	65,25	92,94

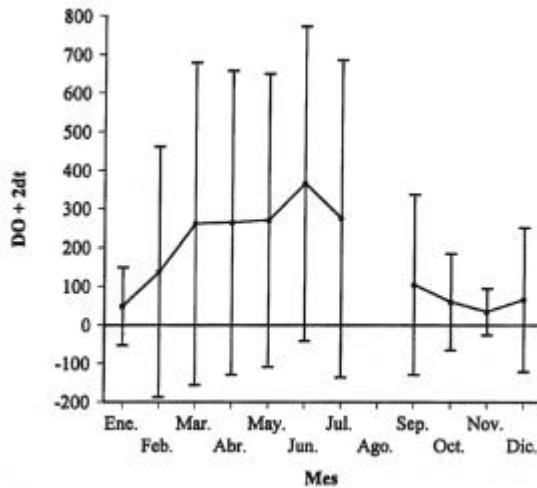


Figura III-28. *Serranus atricauda*. Evolución mensual del diámetro medio del ovocito (DO, μm).

Serranus cabrilla

La distribución mensual de ejemplares por estados de madurez sexual se muestra en la tabla III-12 y su evolución se ilustra en la figura III-29, comparándose datos macroscópicos e histológicos. A tenor de los resultados obtenidos en el estudio macroscópico, los porcentajes más elevados de individuos maduros (EMS III y IV) se encontraron entre febrero (47,5 %) y agosto (50,0 %), con valor máximo en mayo (80,4 %). El análisis de la información histológica no reveló, en general, diferencias significativas con los datos macroscópicos. Histológicamente, el periodo en que se encontraron individuos maduros comprendió desde enero (21,4 %) hasta agosto (16,7 %), registrándose los mayores porcentajes en mayo (72,9 %) y junio (71,5 %). Sin embargo, algunos ejemplares en fase de maduración (EMS III) aparecieron en los meses de septiembre (5,2 %), octubre (16,1 %) y noviembre (1,2 %).

El índice gonadosomático (IGS) mostró claras variaciones mensuales, tomando valores máximos desde enero (1,21) hasta agosto (0,83) con un pico en mayo (2,33), y valores mínimos entre septiembre (0,50) y diciembre (0,42) (Tabla III-13, Fig. III-30). La variación mensual del índice hepatosomático (IHS) y del factor de condición (Kn) presentó un comportamiento aserrado e irregular, sin manifestar ninguna tendencia en ambos casos (Tabla III-14, Fig. III-31). A la vista de lo anterior, se puede concluir que no parece existir ninguna relación entre el IGS y el IHS y el Kn a lo largo del periodo de estudio.

La variación mensual del diámetro del ovocito (DO) se comportó de forma similar a la del IGS, mostrando valores medios máximos desde enero (150,23 μm) hasta agosto (100,35 μm) con un pico en mayo (323,47 μm), y valores mínimos entre septiembre (39,16 μm) y diciembre (35,50 μm) (Tabla III-15, Fig. III-32). En enero el diámetro medio alcanzó un valor semejante ($129 \pm 28 \mu\text{m}$) al estado II de desarrollo del ovocito (formación de vesículas de vitelo), marcando el inicio de la vitelogénesis y coincidiendo con el comienzo de la época de puesta. En febrero se observó un aumento significativo de diámetro que continúa hasta julio. Durante estos meses los valores se corresponden con el tamaño del ovocito en estado de vitelogénesis (entre 217 ± 40 y $372 \pm 58 \mu\text{m}$). En abril y mayo los diámetros máximos encontrados se asemejan a ovocitos y huevos maduros en estado de desarrollo del ovocito IV y V (491 ± 53 y $595 \pm 69 \mu\text{m}$), los cuales alcanzaron el desarrollo óptimo para ser ovulados. En agosto, aunque todavía aparecen diámetros máximos que indican la presencia de individuos

REPRODUCCIÓN

maduros, el valor medio disminuye paulatinamente señalando el declive del periodo de freza. Finalmente, entre septiembre y diciembre el diámetro medio es muy pequeño, constituyendo el momento en que tienen lugar la recuperación y el reposo gonadal, incrementándose en enero coincidiendo con el inicio de la siguiente época reproductora.

Tabla III-12. *Serranus cabrilla*. Distribución mensual de individuos por estados de madurez sexual (EMS) en valores numéricos y porcentuales relativos a nivel macroscópico e histológico. I inmaduro; II virgen desarrollando o recuperando; III madurando; IV maduro; V post-puesta.

Mes	EMS	Examen macroscópico		Análisis histológico	
		N	%	N	%
Enero	I	0	0,0	1	3,6
	II	22	78,6	17	60,7
	III	1	3,6	6	21,4
	V	5	17,8	4	14,3
Febrero	I	11	27,5	7	17,5
	II	9	22,5	9	22,5
	III	7	17,5	2	5,0
	IV	12	30,0	11	27,5
Marzo	V	1	2,5	11	27,5
	I	0	0,0	6	7,0
	II	34	40,0	17	20,0
	III	26	30,6	35	41,2
Abril	IV	20	23,5	18	21,2
	V	5	5,9	9	10,6
	I	1	2,3	0	0,0
	II	11	25,0	8	18,3
Mayo	III	10	22,7	13	29,5
	IV	12	27,3	13	29,5
	V	10	22,7	10	22,7
	I	0	0,0	1	1,1
Junio	II	13	14,1	8	8,6
	III	13	14,1	18	19,6
	IV	61	66,3	49	53,3
	V	5	5,5	16	17,4
Julio	II	2	28,6	2	28,6
	III	4	57,1	2	28,6
	IV	1	14,3	3	42,8
	I	0	0,0	2	40,0
Agosto	III	1	20,0	1	20,0
	IV	1	20,0	1	20,0
	V	3	60,0	1	20,0
	III	2	33,3	1	16,7
Septiembre	IV	1	16,7	0	0,0
	V	3	50,0	5	83,3
	II	11	28,2	13	33,3
	III	0	0,0	2	5,2
Octubre	V	28	71,8	24	61,5
	I	2	6,5	3	9,7
	II	6	19,3	5	16,1
	III	0	0,0	1	3,2
Noviembre	V	23	74,2	22	71,0
	I	7	7,8	3	3,3
	II	62	68,9	48	53,3
	III	0	0,0	1	1,2
Diciembre	V	21	23,3	38	42,2
	I	9	6,2	7	35,0
	II	7	36,3	8	40,0
	V	4	22,2	5	25,0

REPRODUCCIÓN

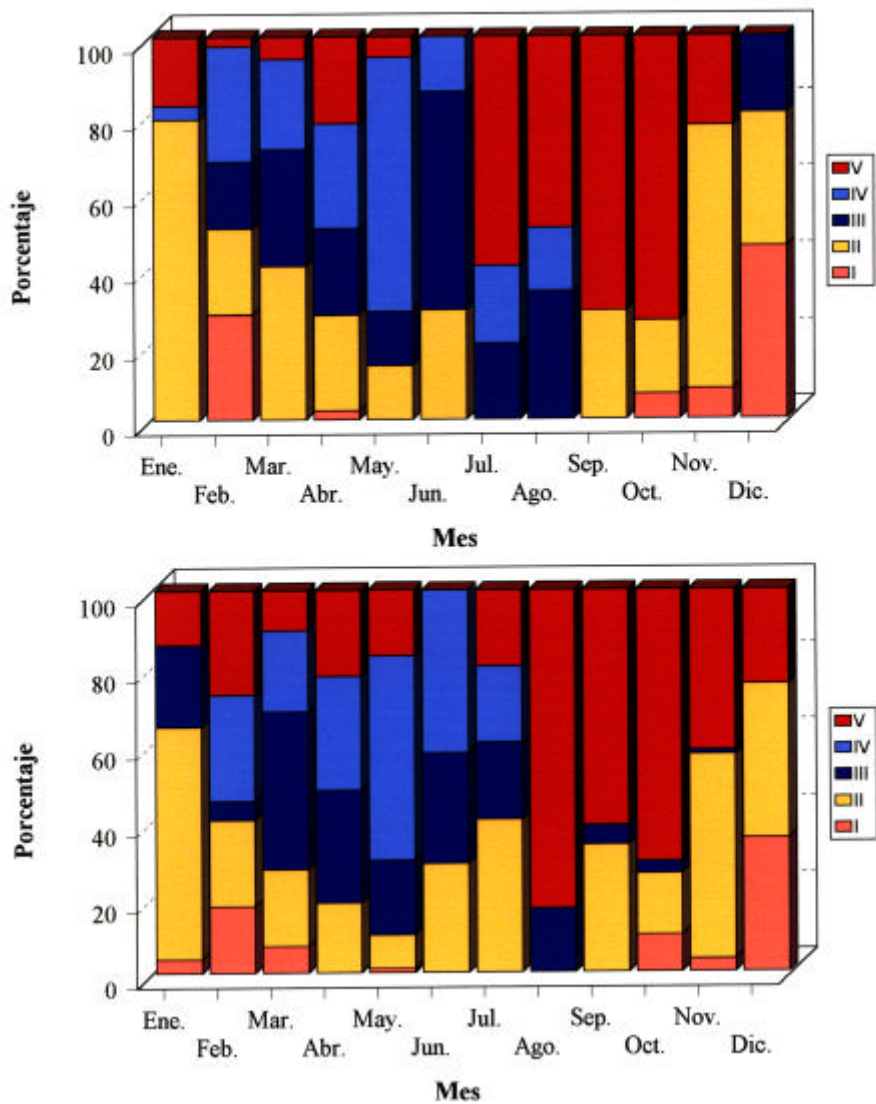


Figura III-29. *Serranus cabrilla*. Distribución mensual de individuos por estado de madurez sexual (EMS) en valores porcentuales relativos a nivel macroscópico (arriba) e histológico (abajo). I inmaduro; II virgen desarrollando o recuperando; III madurando; IV maduro; V post-puesta.

Tabla III-13. *Serranus cabrilla*. Índice gonadosomático (IGS) mensual. N, número de ejemplares; Mín, valor mínimo; Máx, valor máximo; ., valor medio; dt, desviación típica.

Mes	IGS				
	N	Mín	Máx	.	dt
Enero	28	0,29	3,25	1,21	0,73
Febrero	40	0,10	5,06	1,25	1,39
Marzo	85	0,14	5,66	1,30	1,18
Abril	44	0,25	7,01	1,71	1,47
Mayo	92	0,18	7,20	2,33	1,38
Junio	7	0,31	3,16	1,42	1,21
Julio	5	0,40	2,60	0,96	0,93
Agosto	6	0,14	2,98	0,83	1,07
Septiembre	39	0,17	1,75	0,50	0,40
Octubre	31	0,13	0,52	0,30	0,11
Noviembre	90	0,08	1,41	0,32	0,16
Diciembre	20	0,26	0,92	0,42	0,17

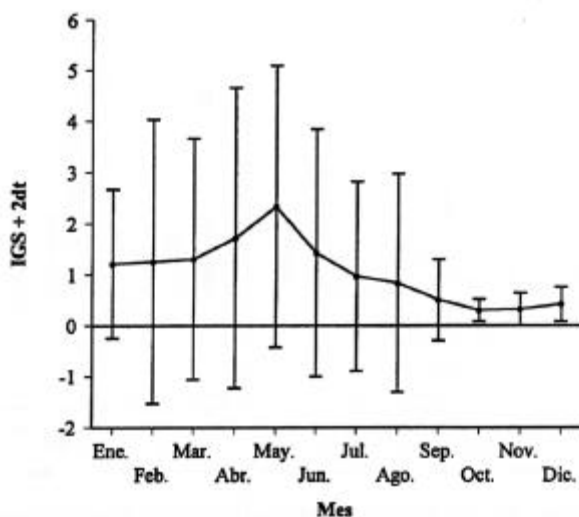


Figura III-30. *Serranus cabrilla*. Evolución mensual del índice gonadosomático (IGS) medio.

REPRODUCCIÓN

Tabla III-14. *Serranus cabrilla*. Índice hepatosomático (IHS) y factor de condición (Kn) mensuales. N, número de ejemplares; Mín, valor mínimo; Máx, valor máximo; ., valor medio; dt, desviación típica.

Mes	IHS					Kn			
	N	Mín	Máx	.	dt	Mín	Máx	.	dt
Enero	28	0,42	3,50	1,68	0,85	1,58	2,16	1,82	0,16
Febrero	40	0,19	1,96	1,07	0,40	1,72	2,41	2,02	0,15
Marzo	85	0,14	2,86	0,97	0,55	1,17	2,60	1,86	0,18
Abril	44	0,15	4,67	1,29	0,80	1,58	2,35	1,92	0,19
Mayo	92	0,07	2,47	1,05	0,43	1,24	5,54	1,90	0,42
Junio	7	0,56	1,37	0,88	0,31	1,59	2,19	1,80	0,20
Julio	5	0,59	0,98	0,82	0,17	1,37	1,84	1,63	0,19
Agosto	6	0,49	2,39	1,01	0,70	1,78	2,11	1,90	0,11
Septiembre	39	0,13	3,45	0,96	0,76	1,42	1,94	1,72	0,13
Octubre	31	0,47	1,72	0,79	0,30	1,50	2,26	1,88	0,15
Noviembre	90	0,20	1,47	0,76	0,26	1,45	2,26	1,81	0,15
Diciembre	20	0,09	1,69	0,75	0,35	1,00	2,37	1,79	0,28

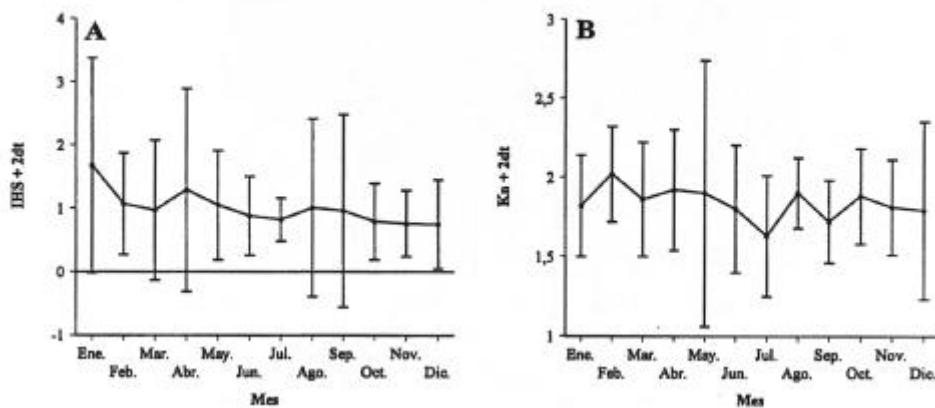


Figura III-31. *Serranus cabrilla*. Evolución mensual del índice hepatosomático medio (A) y del factor de condición medio (B).

Tabla III-15. *Serranus cabrilla*. Diámetro máximo y medio del ovocito (DO, μm) por mes. Máx, valor máximo; ., valor medio; dt, desviación típica. Número de células medidas por mes = 500.

Mes	Máx	.	dt
Enero	275	150,23	85,42
Febrero	590	300,08	178,84
Marzo	582	233,00	153,06
Abril	593	315,32	161,25
Mayo	665	323,47	164,40
Junio	558	216,00	110,76
Julio	556	178,85	99,42
Agosto	351	100,35	75,35
Septiembre	275	39,16	35,04
Octubre	302	74,66	46,81
Noviembre	96	40,53	26,71
Diciembre	90	35,50	21,95

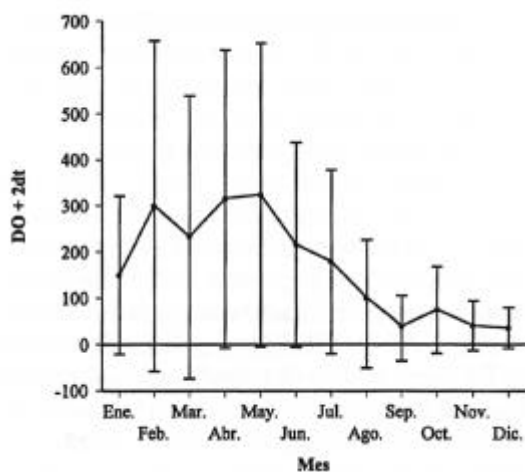


Figura III-32. *Serranus cabrilla*. Evolución mensual del diámetro medio del ovocito (DO, μm).

REPRODUCCIÓN

Serranus scriba

La distribución mensual de ejemplares por estados de madurez sexual se muestra en la tabla III-16 y su evolución se ilustra en la figura III-33, comparándose datos macroscópicos e histológicos. A tenor de los resultados obtenidos en el estudio macroscópico, los porcentajes más elevados de individuos maduros (EMS III y IV) se encontraron entre enero (43,8 %) y septiembre (54,6 %), con valor máximo en mayo (97,6 %) y junio (92,1 %). El análisis de la información histológica no reveló, en general, diferencias significativas con el examen macroscópico. Histológicamente, el periodo en que se encontraron individuos maduros comprendió desde enero (34,4 %) hasta septiembre (27,2 %), registrándose los mayores porcentajes en junio (81,6 %). Sin embargo, tanto en el estudio macroscópico como histológico, el porcentaje de individuos maduros observado durante el mes de enero se debió exclusivamente a ejemplares en maduración (EMS III); no obstante, este mes se incluyó dentro de la época de puesta porque se considera que la maduración se completaría en los meses sucesivos.

El índice gonadosomático (IGS) mostró claras variaciones mensuales, tomando valores máximos desde febrero (1,21) hasta septiembre (1,24) con un pico en mayo (2,80) y junio (2,81), y valores mínimos entre octubre (0,69) y enero (0,64) (Tabla III-17, Fig. III-34). La variación mensual del índice hepatosomático (IHS) y del factor de condición (Kn) presentó un comportamiento irregular, permaneciendo más o menos constante y sin manifestar ninguna tendencia en ambos casos (Tabla III-18, Fig. III-35). A la vista de lo anterior, se puede concluir que no parece existir ninguna relación entre el IGS y el IHS y el Kn a lo largo del periodo de estudio.

La variación mensual del diámetro del ovocito (DO) se comportó de forma similar a la del IGS, proporcionando valores medios máximos desde enero (168,32 μm) hasta septiembre (178,59 μm) con un pico en mayo (406,56 μm), y valores mínimos entre octubre (126,32 μm) y diciembre (39,25 μm) (Tabla III-19, Fig. III-36). En enero el diámetro medio alcanzó un valor semejante ($138 \pm 20 \mu\text{m}$) al estado II de desarrollo del ovocito (formación de vesículas de vitelo), marcando el inicio de la vitelogénesis y coincidiendo con el comienzo de la época de puesta. En los meses subsiguientes se produjo un aumento paulatino del diámetro medio hasta llegar a mayo, donde se observó el valor máximo y, llegado este punto, disminuyó hasta septiembre. Durante estos meses los valores se corresponden con el tamaño del ovocito en estado de vitelogénesis y de huevos maduros (desde 253 ± 56 hasta $701 \pm 121 \mu\text{m}$), los cuales

REPRODUCCIÓN

alcanzaron el desarrollo óptimo para ser ovulados. En septiembre, aunque todavía aparecen diámetros máximos que indican la presencia de individuos maduros, el valor medio disminuye paulatinamente indicando el declive del periodo de freza. Finalmente, entre octubre y diciembre el diámetro medio disminuye sensiblemente, constituyendo el momento en que tienen lugar la recuperación y el reposo gonadal, incrementándose en enero coincidiendo con el inicio de la siguiente época reproductora.

En consecuencia, en las tres especies estudiadas el índice hepatosomático y el factor de condición no indicaron ningún cambio metabólico relacionado con la época de puesta; el índice gonadosomático y el diámetro medio señalaron los meses de máxima actividad reproductora de la población, pero no proporcionaron información individual de los ejemplares; y finalmente, el porcentaje de individuos maduros, desde el punto de vista histológico, fue el único método útil para la identificación de eventos reproductores específicos.

En *S. atricauda* la época de puesta abarca prácticamente todo el ciclo anual con un pico de freza en mayo-junio, produciéndose un rápido periodo de recuperación o reposo a finales de octubre y en noviembre.

En *S. cabrilla* la puesta comprende desde enero hasta agosto con un máximo en mayo-junio, recuperándose entre septiembre y diciembre. Estos meses no se incluyeron en la época de puesta ya que sólo se encontró una pequeña fracción de ejemplares en estado de maduración (EMS III). El hecho de no observar ningún individuo maduro en los meses subsiguientes sugiere que dicha maduración se debió a factores exógenos puntuales que favorecieron el inicio del desarrollo gonadal, produciéndose la reabsorción y degeneración de los mismos cuando las condiciones óptimas para su desarrollo remitieron.

Finalmente, en *S. scriba* la puesta ocurre desde enero hasta septiembre, con un pico de máxima actividad en junio, siendo el período de recuperación entre octubre y diciembre (Figs. III-37 y III-38).

REPRODUCCIÓN

Tabla III-16. *Serranus scriba*. Distribución mensual de individuos por estados de madurez sexual (EMS) en valores numéricos y porcentuales relativos a nivel macroscópico e histológico. I inmaduro; II virgen desarrollando o recuperando; III madurando; IV maduro; V post-puesta.

Mes	EMS	Examen macroscópico		Análisis histológico	
		N	%	N	%
Enero	I	3	9,4	4	12,5
	II	5	15,6	10	31,3
	III	14	43,8	11	34,4
	V	10	31,2	7	21,8
Febrero	II	7	33,3	7	33,4
	III	8	38,1	8	38,1
	IV	2	9,5	2	9,5
	V	4	19,1	4	19,0
Marzo	II	6	13,3	9	20,0
	III	23	51,1	17	37,8
	IV	5	11,1	8	17,8
	V	11	24,5	11	24,4
Abril	I	1	3,3	0	0,0
	II	3	10,0	5	16,7
	III	14	46,7	6	20,0
	IV	10	33,3	13	43,3
Mayo	V	2	6,7	6	20,0
	II	0	0,0	1	2,4
	III	12	29,3	7	17,1
	IV	28	68,3	24	58,5
Junio	V	1	2,4	9	22,0
	II	1	2,6	2	5,2
	III	14	36,8	7	18,4
	IV	21	55,3	24	63,2
Julio	V	2	5,3	5	13,2
	I	0	0,0	1	4,2
	II	1	4,2	2	8,3
	III	12	50,0	4	16,7
Agosto	IV	6	25,0	8	33,3
	V	5	20,8	9	37,5
	II	2	11,0	4	22,1
	III	10	55,6	3	16,7
Septiembre	IV	1	5,6	1	5,6
	V	5	27,8	10	55,6
	II	2	9,0	2	9,1
	III	4	18,2	1	4,5
Octubre	IV	8	36,4	5	22,7
	V	8	36,4	14	63,7
	I	1	3,4	1	3,4
	II	13	44,8	6	20,7
Noviembre	III	6	20,7	0	0,0
	V	9	31,1	22	75,9
	II	13	48,1	7	25,9
Diciembre	V	14	51,9	20	74,1
	I	1	4,3	1	4,4
	II	2	8,7	11	47,8
	V	20	87,0	11	47,8

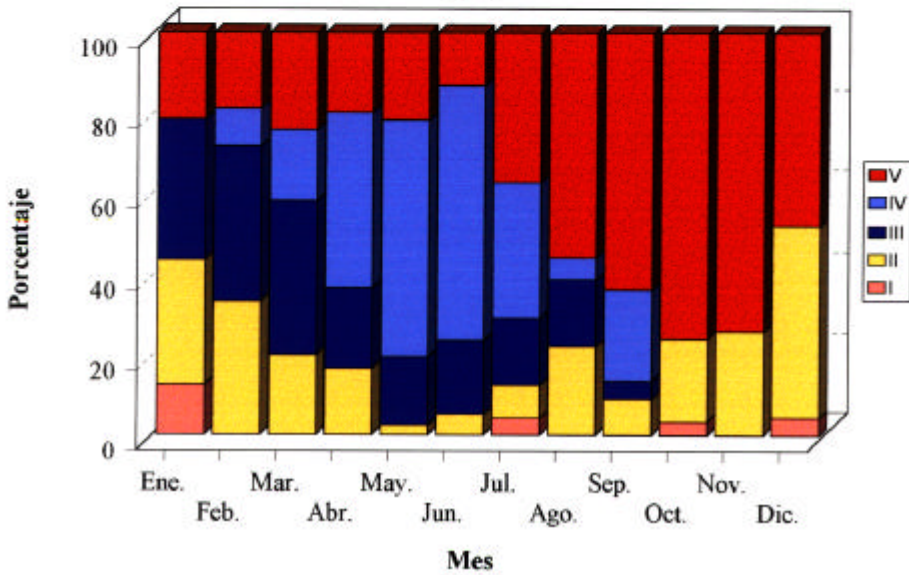
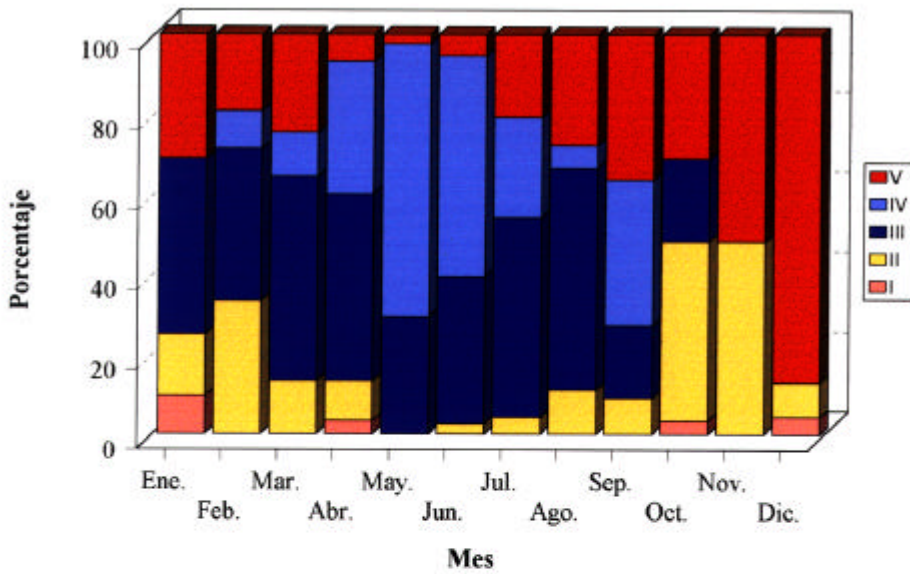


Figura III-33. *Serranus scriba*. Distribución mensual de individuos por estado de madurez sexual (EMS) en valores porcentuales relativos a nivel macroscópico (arriba) e histológico (abajo). I inmaduro; II virgen desarrollando o recuperando; III madurando; IV maduro; V post-puesta.

REPRODUCCIÓN

Tabla III-17. *Serranus scriba*. Índice gonadosomático (IGS) mesual. N, número de ejemplares; Mín, valor mínimo; Máx, valor máximo; ., valor medio; dt, desviación típica.

Mes	IGS				
	N	Mín	Máx	.	dt
Enero	32	0,25	1,00	0,64	0,19
Febrero	21	0,38	2,79	1,21	0,55
Marzo	45	0,40	2,92	1,12	0,55
Abril	30	0,41	3,58	1,52	0,85
Mayo	41	0,39	6,36	2,80	1,24
Junio	38	0,47	6,59	2,81	1,43
Julio	24	0,15	4,61	1,93	1,16
Agosto	18	0,28	4,67	1,31	1,02
Septiembre	22	0,16	3,76	1,24	0,94
Octubre	29	0,18	1,26	0,69	0,26
Noviembre	27	0,40	0,94	0,65	0,15
Diciembre	23	0,19	0,99	0,60	0,18

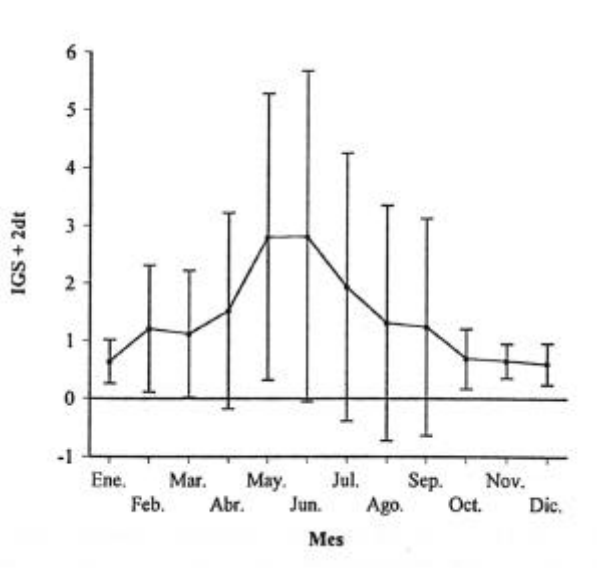


Figura III-34. *Serranus scriba*. Evolución mensual del índice gonadosomático (IGS) medio.

Tabla III-18. *Serranus scriba*. Índice hepatosomático (IHS) y factor de condición (Kn) mensuales. N, número de ejemplares; Mín, valor mínimo; Máx, valor máximo; ., valor medio; dt, desviación típica.

Mes	IHS					Kn			
	N	Mín	Máx	.	dt	Mín	Máx	.	dt
Enero	32	0,32	1,42	0,76	0,31	0,87	1,19	1,01	0,08
Febrero	21	0,27	1,69	0,71	0,34	0,65	1,14	0,96	0,10
Marzo	45	0,06	2,81	0,70	0,47	0,90	1,16	1,00	0,07
Abril	30	0,38	1,72	0,82	0,32	0,89	1,14	1,00	0,06
Mayo	41	0,26	1,87	0,81	0,31	0,80	1,05	0,94	0,07
Junio	38	0,31	2,53	0,96	0,52	0,84	1,09	0,97	0,06
Julio	24	0,43	1,58	0,88	0,30	0,90	1,10	0,98	0,05
Agosto	18	0,29	1,80	0,77	0,39	0,87	1,09	0,95	0,06
Septiembre	22	0,45	0,97	0,69	0,14	0,86	1,10	0,96	0,05
Octubre	29	0,23	2,04	0,77	0,43	0,95	1,15	1,04	0,06
Noviembre	27	0,31	1,38	0,69	0,27	0,86	1,16	1,02	0,07
Diciembre	23	0,25	1,59	0,70	0,35	0,90	1,16	1,00	0,07

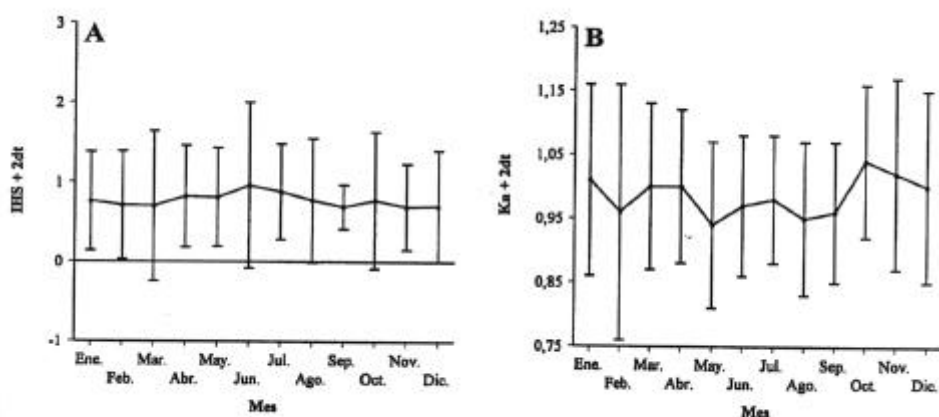


Figura III-35. *Serranus scriba*. Evolución mensual del índice hepatosomático medio (A) y del factor de condición medio (B).

REPRODUCCIÓN

Tabla III-19. *Serranus scriba*. Diámetro máximo y medio del ovocito (DO, μm) por mes. Máx, valor máximo; O, valor medio; dt, desviación típica. Número de células medidas por mes = 500.

Mes	Máx	O	dt
Enero	425	168,32	100,52
Febrero	485	185,56	125,32
Marzo	502	232,15	148,25
Abril	690	315,32	204,56
Mayo	702	406,56	256,23
Junio	694	398,23	231,26
Julio	685	352,05	198,98
Agosto	675	328,15	175,25
Septiembre	695	178,59	159,65
Octubre	181	126,32	75,32
Noviembre	98	48,32	35,67
Diciembre	84	39,25	36,45

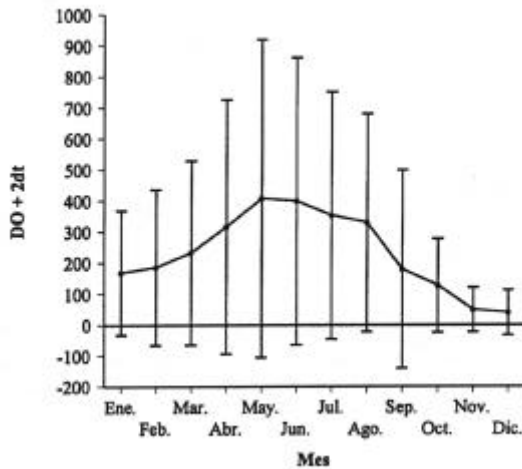


Figura III-36. *Serranus scriba*. Evolución mensual del diámetro medio del ovocito (DO, μm)

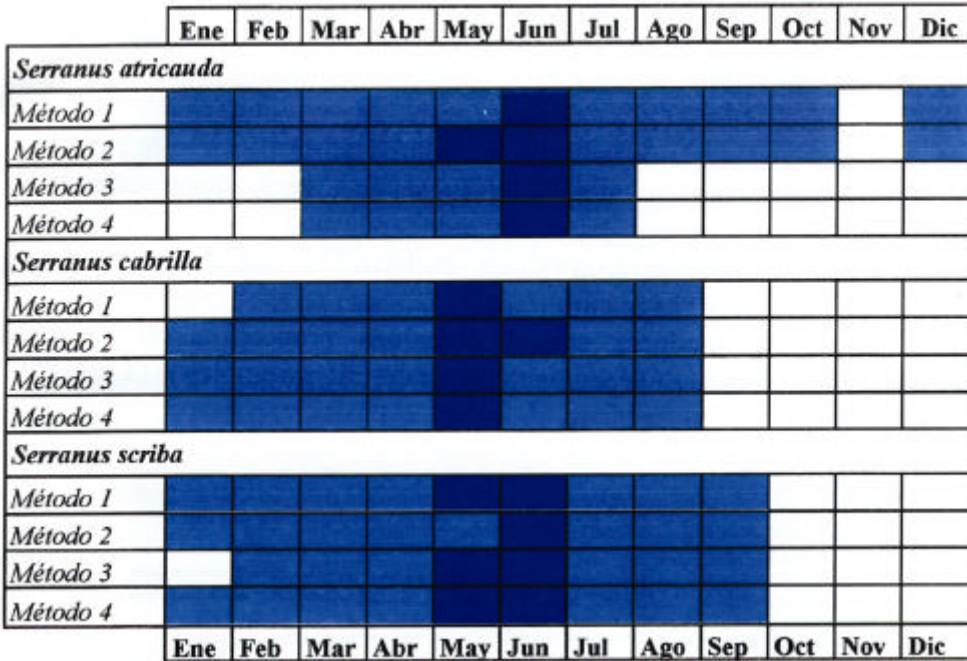


Figura III-37. *Serranus spp.* Época de puesta ■ y pico de máxima puesta ■. Método 1, porcentaje de ejemplares maduros clasificados macroscópicamente; método 2, porcentaje de ejemplares maduros clasificados histológicamente; método 3, evolución mensual del IGS medio; método 4, evolución mensual del diámetro medio del ovocito.

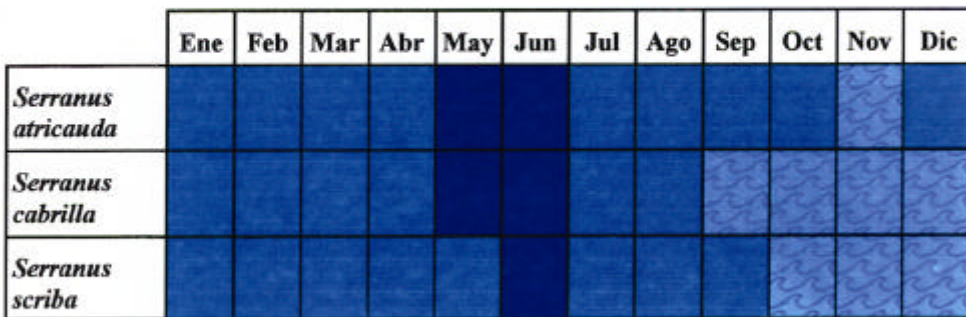


Figura III-38. *Serranus spp.* Época de puesta ■, pico de máxima puesta ■ y etapa de recuperación o reposo ■.

REPRODUCCIÓN

CURVA DE MADUREZ SEXUAL

Serranus atricauda

El número y porcentaje de individuos maduros (EMS III a V) por clase de talla (LT) se muestran en la tabla III-20 según criterio macroscópico e histológico. Analizados los datos obtenidos por uno y otro criterio de asignación de EMS, se observaron valores similares TPM mínima (16,7 y 16,2 cm LT) y distintos en TPM máxima (28,2 y 32,6 cm LT).

Las curvas de madurez sexual obtenidas proporcionaron valores moderadamente elevados independientemente del criterio empleado (Tabla III-21; Fig. III-39).

Tabla III-20. *Serranus atricauda*. Distribución de individuos maduros (EMS III, IV y V) por clase de talla (LT, cm) con asignación macroscópica e histológica de EMS. N, individuos totales; m, especímenes maduros; % m, porcentaje de ejemplares maduros.

Clase de talla	Examen macroscópico			Análisis histológico		
	N	m	% m	N	m	% m
16,0-16,9	7	4	57,1	7	3	42,9
17,0-17,9	17	10	58,8	17	11	64,7
18,0-18,9	22	10	45,5	22	10	45,5
19,0-19,9	37	19	51,4	37	15	40,5
20,0-20,9	32	14	43,8	32	15	46,9
21,0-21,9	18	14	77,8	12	18	66,7
22,0-22,9	17	12	70,6	17	10	58,8
23,0-23,9	18	14	77,8	18	16	88,9
24,0-24,9	12	8	66,7	12	9	75,0
25,0-25,9	13	11	84,6	13	10	76,9
26,0-26,9	8	6	75,0	8	5	62,5
27,0-27,9	29	26	89,7	29	21	72,4
28,0-28,9	20	20	100,0	20	19	95,0
29,0-29,9	12	11	91,7	12	10	83,3
30,0-30,9	27	26	96,3	27	26	96,3
31,0-31,9	27	25	92,6	27	26	96,3
32,0-32,9	32	32	100,0	32	32	100,0
33,0-33,9	19	19	100,0	19	19	100,0
34,0-34,9	13	13	100,0	13	13	100,0
35,0-35,9	17	17	100,0	17	17	100,0
36,0-36,9	11	11	100,0	11	11	100,0
37,0-37,9	5	5	100,0	5	5	100,0
38,0-38,9	5	5	100,0	5	4	80,0
39,0-39,9	2	2	100,0	2	2	100,0
42,0-43,9	1	1	100,0	1	1	100,0

Tabla III-21. *Serranus atricauda*. Parámetros de las curvas de madurez, talla de primera madurez (TPM) y de maduración masiva (TMM) determinados mediante datos macroscópicos (arriba) e histológicos (abajo). LT, longitud total; m, ejemplares maduros; r, coeficiente de correlación.

LT (cm)	m	r	a	b	TPM	TMM
17,0-28,9	148	0,7988	-2,9859	0,1672	17,8	35,5
17,0-32,9	213	0,8315	-4,1455	0,2141	19,3	33,1

La prueba de covarianza (ANCOVA) indicó la existencia de diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las curvas de madurez sexual determinadas a partir de datos macroscópicos e histológicos. Sin embargo, se obtuvieron valores similares de TPM (17,8 y 19,3 cm LT, macroscópico e histológico) y algo distintos en la TMM (35,5 y 33,1 cm LT, respectivamente) (Tabla III-21; Fig. III-39).

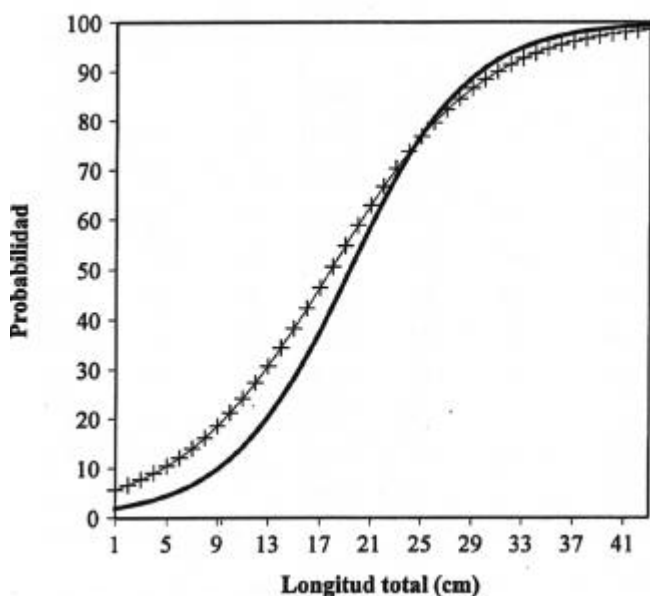


Figura III-39. *Serranus atricauda*. Curva de madurez sexual obtenida con datos macroscópicos (+) e histológicos (—).

REPRODUCCIÓN

Serranus cabrilla

El número y porcentaje de individuos maduros (EMS III a V) por clase de talla (LT) se muestran en la tabla III-22 según criterio macroscópico e histológico. Analizados los datos obtenidos por uno y otro criterio de asignación de EMS, se observaron valores similares de TPM mínima (15,3 y 15,5 cm LT) y distintos en la TPM máxima (27,3 y 23,6 cm LT).

Las curvas de madurez sexual obtenidas proporcionaron valores moderadamente elevados independientemente del criterio empleado ($r = 0,9869$ y $0,9967$, macroscópico e histológico) (Tabla III-23; Fig. III-40).

Tabla III-22. *Serranus cabrilla*. Distribución de individuos maduros (EMS III, IV y V) por clase de talla (LT, cm) con asignación macroscópica e histológica de EMS. N, individuos totales; m, especímenes maduros; % m, porcentaje de ejemplares maduros.

Clase de talla	Examen macroscópico			Análisis histológico		
	N	m	% m	N	m	% m
14,0-14,9	7	-	-	4	2	50,0
15,0-15,9	9	4	44,4	7	5	71,4
16,0-16,9	24	12	50,0	20	10	50,0
17,0-17,9	43	20	46,5	31	19	61,3
18,0-18,9	62	29	46,8	50	32	64,0
19,0-19,9	65	42	64,6	54	42	77,8
20,0-20,9	68	41	60,3	37	27	73,0
21,0-21,9	60	37	61,7	37	34	91,9
22,0-22,9	71	36	50,7	34	28	82,4
23,0-23,9	37	29	78,4	14	14	100,0
24,0-24,9	23	18	78,3	14	11	78,6
25,0-25,9	9	7	77,8	2	2	100,0
26,0-26,9	8	4	50,0	3	3	100,0
27,0-27,9	1	1	100,0	-	-	-

Tabla III-23. *Serranus cabrilla*. Parámetros de las curvas de madurez, talla de primera madurez (TPM) y de macluración masiva (TMM) determinados mediante datos macroscópicos (arriba) e histológicos (abajo). LT, longitud total; m, ejemplares maduros; r, coeficiente de correlación.

LT (cm)	m	r	a	b	TPM	TMM
15,0-18,9	58	0,9869	23,9676	-1,4351	16,7	18,9
14,0-17,9	36	0,9967	17,2597	-1,0383	16,6	19,5

La prueba de covarianza (ANCOVA) indicó que no existen diferencias significativas ($P > 0,05$) entre las curvas de madurez sexual determinadas a partir de datos macroscópicos e histológicos. Además, se obtuvieron valores muy similares de TPM (16,2 y 16,7 cm LT, macroscópico e histológico) y de TMM (18,9 y 19,5 cm LT, respectivamente) (Tabla III-23; Fig. III-40).

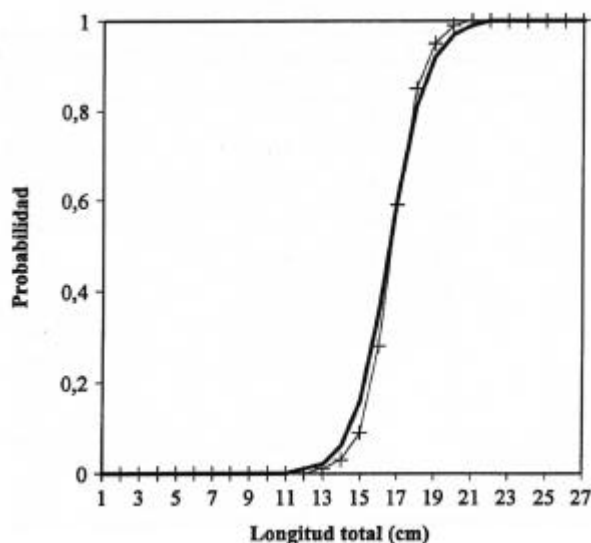


Figura III-40. *Serranus cabrilla*. Curva de madurez sexual obtenida con datos macroscópicos (+) e histológicos (—).

Serranus scriba

REPRODUCCIÓN

Serranus scriba

El número y porcentaje de individuos maduros (EMS III a V) por clase de talla (LT) se muestran en la tabla III-24 según criterio macroscópico e histológico. Analizados los datos obtenidos por uno y otro criterio de asignación de EMS, se observaron valores similares de TPM mínima (16,3 cm LT) y distintos en la TPM máxima (24,6 cm LT).

Las curvas obtenidas proporcionaron valores de madurez sexual moderadamente elevados independientemente del criterio empleado ($r = 0,7672$ y $0,8801$, macroscópico e histológico) (Tabla III-25; Fig. III-41).

Tabla III-24. *Serranus scriba*. Distribución de individuos maduros (EMS III, IV y V) por clase de talla (LT, cm) con asignación macroscópica e histológica de EMS. N, individuos totales; m, especímenes maduros; % m, porcentaje de especímenes maduros.

Clase de talla	Examen macroscópico			Análisis histológico		
	N	m	% m	N	m	% m
17,0-17,9	16	6	37,5	16	6	37,5
18,0-18,9	18	16	88,9	18	11	61,1
19,0-19,9	36	29	80,6	36	26	72,2
20,0-20,9	26	25	96,2	26	23	88,5
21,0-21,9	42	39	92,9	42	34	81,0
22,0-22,9	37	36	97,3	37	36	97,3
23,0-23,9	45	42	93,3	45	41	91,1
24,0-24,9	25	25	100,0	25	25	100,0
25,0-25,9	13	13	100,0	13	13	100,0
26,0-26,9	5	5	100,0	5	5	100,0
27,0-27,9	1	1	100,0	1	1	100,0
28,0-28,9	2	2	100,0	2	2	100,0

Tabla III-25. *Serranus scriba*. Parámetros de las curvas de madurez, talla de primera madurez (TPM) y de maduración masiva (TMM) determinados mediante datos macroscópicos (arriba) e histológicos (abajo). LT, longitud total; m, ejemplares maduros; r, coeficiente de correlación.

LT (cm)	m	r	a	b	TPM	TMM
16,0-23,9	194	0,7672	-7,5729	0,4857	15,6	21,7
16,0-23,9	178	0,8801	-9,4361	0,5453	17,3	22,7

La prueba de covarianza (ANCOVA) indicó que no existen diferencias significativas ($P>0,05$) entre las curvas de madurez sexual determinadas a partir de datos macroscópicos e histológicos. Además, se obtuvieron valores parecidos de TPM (15,6 y 17,3 cm LT, macroscópico e histológico) y TMM (21,7 y 22,7 cm LT, respectivamente) (Tabla III-25; Fig. III-41).

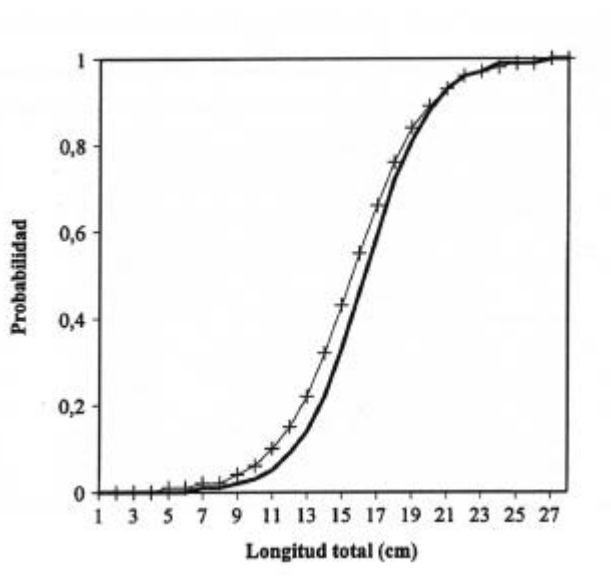


Figura III-41. *Serranus scriba*. Curva de madurez sexual obtenida con datos macroscópicos (+) e histológicos (—).

REPRODUCCIÓN

FECUNDIDAD

Fecundidad parcial

Método de distribución de frecuencias de diámetro del ovocito

Las estimaciones de fecundidad parcial mediante el método de distribución de frecuencias de diámetro del ovocito se realizaron en 28 gónadas maduras (EMS III y IV) pertenecientes al mes de mayo, oscilando entre de 21.774 y 369.578 ovocitos con valor medio de $121.024,43 \pm 97.611,29$ ovocitos. Estas estimaciones se obtuvieron a partir de individuos entre 22,2 y 39,8 cm de Lt, 127,2 y 896,6 g de Pt, 122,9 y 834,6 de Pe, y 1,3 y 41,3 de Pg (Tabla III-26).

Tabla III-26. *Seranus atricauda*. Datos usados en las estimaciones de fecundidad parcial. Lt, longitud total (cm); Pt, peso total (g); Pe, peso eviscerado (g); Pg, peso gonadal (g); Fp, estimación de la fecundidad parcial.

Lt	Pt	Pe	Pg	Fp	Lt	Pt	Pe	Pg	Fp
22,2	127,2	122,9	1,3	44.436	31,7	365,5	346,3	12,5	81.544
22,5	132,5	125,3	2,9	21.774	31,9	439,1	411,3	9,1	52.926
24,4	148,1	139,0	3,7	51.012	33,9	629,6	587,6	10,7	80.166
25,1	229,9	216,0	5,5	34.522	34,8	589,3	525,8	15,9	127.410
25,7	183,5	176,9	5,4	25.210	45,6	533,1	429,3	19,9	100.584
26,3	211,7	195,8	5,9	39.508	35,9	653,8	597,2	22,0	132.226
28,1	268,4	245,0	11,0	66.708	35,9	667,9	571,0	25,1	230.538
28,2	237,8	222,1	7,6	51.366	36,2	623,3	569,5	18,9	95.836
28,9	306,9	282,0	9,9	74.616	36,7	675,9	627,7	23,3	241.770
29,1	279,5	260,7	8,5	56.216	33,7	749,7	672,5	35,5	304.674
30,0	329,8	307,8	8,0	100.840	37,4	743,8	629,8	41,3	369.578
31,3	361,4	325,0	5,6	91.188	37,9	724,8	668,0	21,2	115.844
31,4	449,8	401,3	14,3	139.450	38,7	829,2	727,1	29,9	365.082
31,6	359,2	332,7	11,2	94.230	39,8	896,6	834,6	26,8	199.030

Frecuencia de puesta

El método de distribución de frecuencias de diámetro del ovocito proporcionó una estimación de frecuencia de puesta de 42 eventos, observándose un 26,5 % (45/170) de individuos desovando y una media de 3,8 días entre cada acto de puesta.

Fecundidad total

Las estimaciones de fecundidad total, a partir de la fecundidad parcial y el número de actos de puesta, variaron entre 914.508 y 15.522.276 ovocitos, con valor medio de $5.083.026 \pm 4.099.674$ ovocitos.

El análisis de regresión mostró relaciones significativamente positivas entre las estimaciones de fecundidad total (Ft) y las variables longitud total (Lt), peso total (Pt) y peso eviscerado (Pe). Dichas relaciones presentaron coeficientes de determinación muy elevados ($r^2 > 0,72$), siendo el peso total la variable que mejor predice el peso total (Tabla III-27; Fig. III-42).

Tabla III-27. *Serranus atricauda*. Parámetros de las regresiones lineales obtenidas entre estimaciones de fecundidad total y las variables longitud total (Lt, cm), peso total (Pt, g) y peso eviscerado (Pe, g). r^2 , coeficiente de determinación; es (b), error estándar de b. $Lg (Ft) = Lg (a) + b Lg (X)$. $P < 0,01$, $N = 28$.

Variable X	r^2	a	b	es (b)
Lt	0,744	0,755	3,898	0,449
Pt	0,752	3,680	1,120	0,126
Pe	0,726	3,652	1,148	0,136

REPRODUCCIÓN

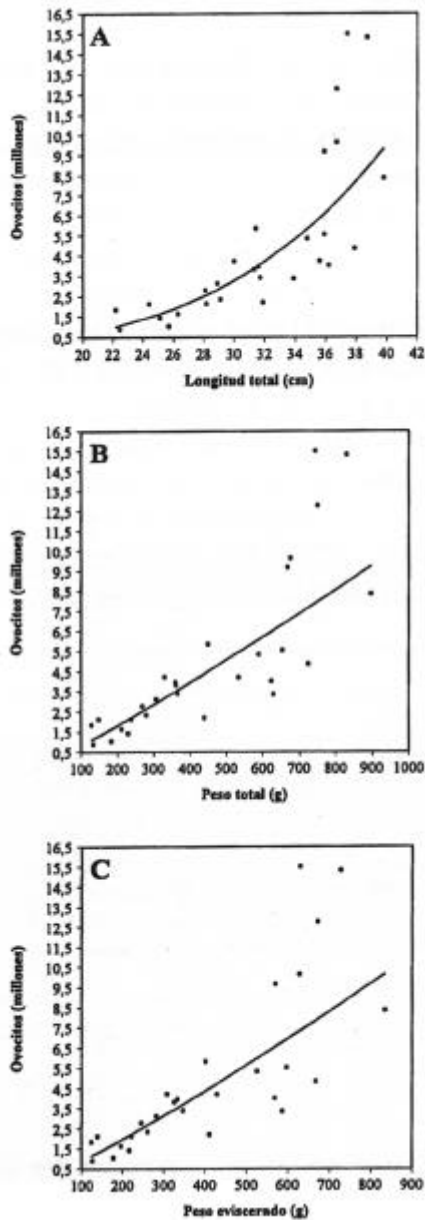


Figura III-42. Relación entre la fecundidad total (número ovocitos) y las variables de longitud total (A), peso total (B) y peso eviscerado (C).

DISCUSIÓN

SEXUALIDAD Y FERTILIZACIÓN

La morfología gonadal de las especies del género *Serranus* en Canarias confirmó que son hermafroditas funcionales simultáneas. Este modelo de sexualidad es común en todas las especies del género (Fisher y Petersen, 1987), denominándose “hermafroditismo territorial” (D’Ancona, 1949). Este mecanismo reproductor se ha encontrado en otras especies de *Serranus* del Atlántico y Mediterráneo: *S. cabrilla* (D’Ancona, 1949, 1950; Dufossé, 1956; Reinboth, 1962; Smith, 1965; Zanuy y Carrillo, 1973; Febvre *et al.*, 1975; Zanuy, 1977; Bauchot, 1987), *S. hepatus* (Reinboth, 1970; Bruslé, 1983), *S. scriba* (Fishelson, 1970; Febvre *et al.*, 1975; Abd-el-Aziz y Ramadan, 1990), *S. subligarius* (Hastings y Bortone, 1980) y *S. tigrinus* (Abd-el-Aziz y Ramadan, 1990). No obstante, en aguas del Mediterráneo oriental, Ezzat *et al.* (1988) encontraron ejemplares hermafroditas y hembras de *S. cabrilla*, mientras que Abd-el-Aziz y Ramadan (1990) observaron la existencia de individuos hembras, hermafroditas y machos en *S. scriba*.

El ovotestículo de las especies de *Serranus* es similar a las gónadas de otros serránidos hermafroditas sincrónicos estudiados (Reinboth, 1962; Smith, 1965; Bortone, 1977; Hastings y Bortone, 1980). La gónada de *S. atricauda* difirió de la de *S. cabrilla* y *S. scriba* en que presenta una estructura sexual accesoria que podría servir para el almacenamiento de los gametos antes de ser liberados. Estructuras similares se han observado en *Hemanthias vivanus*, *Diplectrum bivittatum*, *D. pacificum* y *D. radiale* (Serranidae), cuya función es el mantenimiento de huevos ovulados antes de su liberación al exterior (Hastings y Bortone, 1980; Hastings, 1981; Dias *et al.*, 1998).

Los tejidos ovárico y testicular de *S. atricauda*, *S. cabrilla* y *S. scriba* se encuentran siempre separados y nunca se mezclan. Sin embargo, Reinboth (1962) señaló la presencia ocasional de ovocitos dispersos dentro del tejido testicular en *S. cabrilla*, *S. scriba* y *S. hepatus*. En este sentido, Hastings y Bortone (1980) hallaron un único ovocito dentro del testículo de *S. subligarius*. En ambos casos el modelo sexual es el hermafroditismo, aunque la posibilidad de mezcla de gametos ha llevado a muchos autores a cuestionarse el tipo de fertilización (p.e., Hastings y Bortone, 1980; Abd-El-

REPRODUCCIÓN

Aziz y Ramadan, 1990). En este estudio, los resultados sobre la estructura gonadal y la morfología del esperma revelaron claramente que las especies del género *Serranus* presentes en Canarias son teleósteos con fertilización externa. Sin embargo, la presencia de varios espermatozoides sobre un ovocito hidratado dentro del lumen ovárico de *S. atricauda* sugirió la posibilidad de que la fertilización de algunos huevos ocurra antes de ser liberados al exterior. Este hallazgo podría ser explicado en base a tres hipótesis:

1. Contaminación durante la preparación de la muestra. En este caso, si bien durante la manipulación del ovotestículo podría haber ocurrido la ruptura de los lóbulos testiculares, la presencia de varios espermatozoides sobre un huevo, al menos en parte, parece no ser un artefacto. En el supuesto de que la muestra hubiera sido contaminada, deberíamos haber encontrado más espermatozoides sobre otros ovocitos, hecho que no se observó. Por otra parte, en teleósteos marinos con modelo de puesta múltiple (reproductores parciales, múltiples o seriales) es difícil encontrar huevos maduros en la gónada debido a que el proceso de hidratación, ovulación y puesta ocurre en pocas horas (Zanuy y Carrillo, 1977; Selman *et al.*, 1993; Barbieri, *et al.*, 1994; Cerdá *et al.*, 1996) y, como consecuencia, son rápidamente liberados al exterior permaneciendo poco tiempo dentro en el lumen ovárico. En este sentido, hay que señalar que el hecho de ser estructuras libres del folículo les confiere una consistencia muy frágil por lo que la manipulación y el procesado histológico muchas veces los destruye.

2. Fertilización cruzada. La evolución de la fertilización interna ha ocurrido repetida y presumiblemente de forma independiente a través del reino animal. Los peces presentan una desconcertante serie de mecanismos por los cuales el esperma se introduce en el interior del tracto de la hembra o del individuo que actúe como tal. La fertilización cruzada requiere que los machos presenten caracteres sexuales secundarios, tales como aleta anal y huesos operculares modificados, radios duros de las aletas en forma de gancho, etc (ver Pusey y Stewart, 1989). Existen evidencias de fertilización interna en *Gephyrocharax*, *Corynopoma*, *Pseudocorynopoma*, *Mimagoniates*, *Tytocharax* y *Lepidogalaxias* (Burns *et al.*, 1995). Sin embargo, la ausencia de caracteres sexuales secundarios en *S. atricauda* sugiere que no debe ser considerada la posibilidad de fertilización cruzada interna.

3. Autofertilización. Esta hipótesis puede ser apoyada por tres hechos:

a) Presencia de una estructura sexual accesoria cuya misión parece ser el

almacenamiento de gametos antes de su expulsión. Aparentemente los huevos maduros son trasladados a dicha estructura inmediatamente antes de su liberación, mientras que los espermatozoides están presentes siempre en el conducto espermático, lo que facilitaría notablemente la unión de los gametos.

b) Viabilidad de huevos fertilizados con esperma del mismo individuo. En las especies de *Serranus*, el sistema de apareamiento más común es el monogámico serial. Los individuos están aislados durante el día, pero al atardecer se agrupan en parejas para la reproducción (ver Fischer, 1986), actuando un pez como macho y otro como hembra durante la fertilización cruzada externa. En este sentido, se ha demostrado experimentalmente la posibilidad de autofertilización en algunas especies de serránidos tales como *S. cabrilla*, *S. hepatus*, *S. scriba*, *S. subligarius* y *Chelidoperca hirundinacea* (D'Ancona, 1949; Hastings y Bortone, 1980; Lejeune *et al.*, 1980; Abd-El-Aziz y Ramadan, 1990). De este modo, Clark (1959) obtuvo embriones y larvas de forma artificial a partir de individuos aislados de *S. subligarius* (especie monogámica serial) en un acuario, no encontrando diferencias de desarrollo entre huevos obtenidos por autofertilización y fertilización cruzada.

c) Evento raro o anormal que ocurre en un pequeño número de teleósteos. Aunque ovario y testículo son funcionales al mismo tiempo en las especies del género *Serranus*, las observaciones anatómicas han revelado que la parte testicular de la gónada hermafrodita está completamente separada de la parte ovárica (D'Ancona, 1949). De hecho, basándose en criterios morfológicos, Smith (1965) y Abd-El-Aziz y Ramadan (1990) señalaron que la autofertilización interna es improbable en estas especies, siendo ésta conocida como un evento raro o anormal en un pequeño número de teleósteos (Atz, 1964). En un individuo de *Acipenser oxyrhynchus*, una especie con fertilización externa en la que los tejidos masculino y femenino están separados, Atz y Smith (1976) observaron esperma en la zona radiada de la mayoría de huevos ováricos maduros. Presumiblemente, un individuo que autofertilice una porción de sus huevos contribuirá más con sus genes a generaciones sucesivas que otro individuo que utilice la fecundación cruzada externa. Sin embargo, las consecuencias del incremento resultante en homocigosis genética son perjudiciales a través de fenómenos de endogamia. Un nivel moderado o bajo de autofertilización puede ser un compromiso entre los efectos perjudiciales del incremento de homocigosis y las posibles ventajas del incremento de la entrada de genes en sucesivas generaciones (Hastings y Bortone, 1980). Lejeune *et al.* (1980) afirmaron

REPRODUCCIÓN

que la autofertilización externa es posible en *S. scriba*, pudiendo constituir un medio de supervivencia de la especie para un individuo aislado. Diversos autores señalaron la posibilidad de autofecundación externa en *S. cabrilla* (e.g. D'Ancona, 1950; Dufossé, 1956; Reinboth, 1962; Smith, 1965; Zanuy y Carrillo, 1973; Zanuy, 1977). El hermafroditismo sincrónico es un fenómeno excepcional en los vertebrados, constituyendo un evento insólito que tanto el tejido masculino como el femenino presentes en la gónada de un mismo individuo lleguen simultáneamente a la madurez. De hecho, habría que preguntarse cuál es el significado exacto de este modo de reproducción en condiciones naturales (Lejeune *et al.*, 1980).

Por otra parte, el comportamiento monogámico serial que presentan las especies de *Serranus* en aguas de las islas Canarias (observaciones *in situ* de J.M. Falcón) parece indicar que el modo de reproducción usual de estas especies consiste en la fertilización cruzada externa. No obstante, en ejemplares aislados, debido a la presencia simultánea de huevos y espermatozoides maduros, podría ocurrir la liberación simultánea de ambos gametos produciéndose así la autofertilización externa. Sin embargo, el descubrimiento de varios espermatozoides sobre un ovocito hidratado en *S. atricauda* parece reflejar un caso anormal de autofertilización interna o, concretamente, una modalidad de reproducción denominada “asociación gamética interna” (Burns *et al.*, 1995; Munehara *et al.*, 1997). En este sentido, estudios sobre varias especies revelaron que la fertilización, cuando se define estrictamente como la fusión de los gametos femenino y masculino, no ocurre hasta que el ovocito es liberado y contacta con el agua de mar, aunque los espermatozoides hayan sido introducidos en el ovario anteriormente (Burns *et al.*, 1995). El proceso de asociación gamética interna se produce en varias especies de teleósteos. Está considerada como una modalidad reproductora enmarcada en la fertilización interna, aunque si bien la inseminación es interna, la fertilización fisiológica no tiene lugar hasta la puesta y por tanto la fertilización real ocurre externamente (Burns *et al.*, 1995; Koya *et al.*, 1995).

ESTADOS DE MADUREZ SEXUAL

En este estudio, el empleo de una escala de clasificación basada en la observación macroscópica de las gónadas ocasionó dos problemas fundamentales:

1. Subjetividad. Se consideran caracteres tan subjetivos como el tamaño de la gónada relativo al volumen de la cavidad abdominal, y el color de la

glándula.

2. Detección de desove reciente. Este tipo de clasificación es adecuado en especies que liberan todos sus huevos en un sólo acto de puesta (reproductores totales o isocronos) donde los cambios de volumen y vascularización son muy bruscos. Sin embargo en especies reproductoras parciales, múltiples o seriales, la liberación secuencial de cantidades de ovocitos es imperceptible a simple vista.

Estos dos inconvenientes son muy difíciles de solucionar ya que son intrínsecos al propio sistema de clasificación. Dado que las escalas macroscópicas no tienen en cuenta el tipo de desarrollo del ovocito, estrategia reproductora ni particularidades anatómicas de la especie, algunos autores consideran imprescindible la realización de escalas particulares para cada especie (West, 1990; Dias *et al.*, 1998). No obstante, la escasa variación en el desarrollo de la gónada de teleósteos no justifica la proliferación de esquemas de clasificación (Treasurer y Holliday, 1981). Por todo ello, y teniendo en cuenta el modelo del desarrollo del ovocito (sincrónico, sincrónico por grupos y asincrónico), se podrían establecer tantos esquemas de clasificación como modelos de crecimiento ovárico existentes.

Del paralelismo establecido entre el estado de madurez sexual atribuido a un mismo individuo por diagnóstico macroscópico e histológico, se verificó que no siempre la apariencia externa se corresponde con la realidad, lo que lleva a cometer errores en la clasificación gonadal. Por ello, el método de determinación del grado de madurez gonadal por medio de inspección macroscópica carece de suficiente precisión, tal como se ha descrito en la literatura, aunque poco se ha escrito sobre las causas que provocan errores de clasificación (Cayré, 1981; Howell, 1983; Cayré y Laløe, 1986; West, 1990; Dias *et al.*, 1998). Algunos autores señalaron que las gónadas en post-puesta parcial contienen ovocitos desde el estado de crecimiento primario hasta el estado vitelogénico, haciendo la clasificación de tales individuos muy dificultosa (error tipo A) y resultando imposible en la mayoría de los casos distinguir entre gónadas completamente desarrolladas (EMS III) y parcialmente en puesta (EMS V) (Hunter y Macewicz, 1985a; Barbieri *et al.*, 1994).

En el presente estudio se comprobó que la diferencia entre los estados I y II es extremadamente sutil, siendo imposible su distinción de forma macroscópica. A nivel externo, tomando como referencia el tamaño de la gónada relativo a la cavidad abdominal, se podría establecer que se trata de un individuo indiferenciado o inmaduro, pero también se clasificaría como

REPRODUCCIÓN

virgen madurando o recuperando. De la misma forma, tampoco es posible distinguir externamente una gónada virgen iniciando la maduración (EMS II) de otra que ha desovado y se encuentra en reposo o recuperación (EMS II). Por otra parte, la distinción de los estados II y III, que depende del tamaño y visibilidad de los ovocitos a simple vista, varía no sólo de un observador a otro, sino también con la condición física de la muestra; además, las gónadas en estado III abarcan una gama de desarrollo de huevos bastante amplia. También ocurre con frecuencia que, al clasificar un ovotestículo dentro del estado III, realmente se trate de un individuo en estado V, donde los peces han puesto recientemente y aunque se observan huevos a simple vista éstos no son viables debido a que presentan diferentes fenómenos de atresia y reabsorción. En gónadas cuya apariencia externa se muestra idéntica al estado II, el análisis histológico mostró la existencia de ovocitos en desarrollo (EMS III). En las fases más avanzadas del estado III es posible encontrar algunos huevos maduros que aún se encuentran firmemente asentados en el folículo; además resulta imposible distinguir externamente la presencia de ovocitos maduros (núcleo migrando al polo animal junto a una gota de grasa; ver Parte II), fenómeno que marca la madurez y separa el estado III del IV. Sin embargo, cuando los ovocitos se hidratan, la precisión de la clasificación es muy alta. Después del análisis histológico se concluye que, por ejemplo, la presencia y el tamaño del testículo constituye un criterio recomendable para distinguir macroscópicamente los estados II y V, ya que en este último (EMS V), si las muestras no se encontraban en buen estado de conservación, el color no fue un buen indicador. Se observó que en muchos casos no existe equivalencia entre las diversas tonalidades que presenta la gónada externamente y el estado histológico, debido a que éstas pueden variar según el efecto del arte de pesca empleado para capturar los ejemplares o el tiempo transcurrido desde la captura hasta la extracción y fijación de los órganos sexuales.

Los porcentajes de coincidencia obtenidos en gónadas maduras pueden considerarse elevados. En relación con esto, los autores han obtenido resultados dispares, p.e., June (1953) obtuvo un 90 % de concordancia en *Thunnus albacares*, en estudios no publicados del CSIRO (en West, 1990) se da un porcentaje de coincidencia del 61 % en *Lutjanus vittus*, mientras que Dias *et al.* (1998) detectaron valores desde el 33 % hasta el 100 % en diferentes especies.

En el caso de las especies del género *Serranus*, el presente estudio comparado sobre la asignación de estados de madurez sexual por criterios macroscópicos e histológicos proporcionó resultados más satisfactorios en

S. atricauda (73,4 %). El aumento del porcentaje global de coincidencia podría estar relacionado con el incremento en talla de la especie. De tal modo que, el hecho de presentar un mayor rango de tallas podría traducirse en cambios más notables de tamaño y morfología gonadal que, posiblemente, permiten diferenciar mejor los diversos estados de desarrollo y, de esta manera, mejoran la clasificación a nivel macroscópico.

Tal como se ha comentado, la clasificación macroscópica es práctica en trabajos de campo donde se realiza una determinación rápida y poco rigurosa del estado de madurez, pero debido a su imprecisión y subjetividad este método no resulta el más adecuado para describir los procesos de madurez sexual (Cayré y Lalöe, 1986). La gama de fases encontradas durante el presente estudio histológico obviamente no ha sido detectada a nivel macroscópico. Por todo esto y para concluir, dependiendo de la naturaleza del estudio se puede optar por simplificar el método agrupando los estados I y II en una única categoría de individuos inmaduros; III y IV como ejemplares maduros; y V para individuos que ya han terminado la temporada de puesta. Debido a que la escala macroscópica no es válida para la interpretación de los distintos cambios estacionales ocurridos a lo largo del ciclo reproductor, la agrupación de estados puede ser una medida satisfactoria porque simplifica y facilita notablemente la clasificación gonadal. West (1990) y Hunter *et al.* (1992) indicaron que, en estudios de biología reproductora de peces, las técnicas histológicas son las más precisas, aunque requieren mucho tiempo y son costosas. La mayoría de trabajos sobre reproducción de teleósteos tienen como factor limitante la gran cantidad de gónadas para analizar histológicamente, por lo que frente a la subjetividad e inexactitud del criterio macroscópico, diversos autores recomendaron el uso de lupa binocular para clasificar los ovocitos por tamaño y apariencia externa (ver West, 1990). Éste, por tanto, constituiría un método intermedio entre el sistema de clasificación microscópico, la evolución mensual del diámetro medio del ovocito y el uso de técnicas clásicas mediante clasificación macroscópica e índices gonadales. Este método requiere que la apariencia de todos los ovocitos se relacione con su estado de desarrollo el cual debe ser establecido previamente por análisis histológico. Sin embargo, el método presenta muchas de las limitaciones observadas en las metodologías clásicas: a) las gónadas en estado II típico, así como en estado de reposo o recuperación no serían identificables puesto que la diferencia entre ambos estados no es el tipo de ovocitos que presentan sino su organización dentro de la gónada; b) distinción de ovocitos viables frente a aquéllos atrésicos o en degeneración y reabsorción; y c) detección

REPRODUCCIÓN

de folículos post-ovulatorios. En este sentido, el nivel de precisión de esta clasificación es sensiblemente superior a la de los métodos clásicos, pero insuficiente para estudios en los que se pretenda obtener información sobre el tipo de desarrollo gonadal, modelo y ciclo reproductor, duración precisa de la temporada de puesta o fecundidad.

Por tanto, aunque debe ser completada con análisis microscópicos que permitan una definición más objetiva y precisa de los diferentes estados de madurez sexual, así como con información previa sobre el tipo de desarrollo ovocitario de la especie, estrategia de puesta, etc., la escala de cinco puntos empleada resulta simplificadora, práctica y de fácil aplicación. Sin embargo, la clasificación histológica es el mejor método para determinar el estado reproductor de los peces y, dependiendo de la naturaleza del estudio, puede ser el único satisfactorio (Hunter y Macewicz, 1985b; McQuinn, 1989; West, 1990; Hunter *et al.*, 1992).

ÉPOCA DE PUESTA

La duración de la época de puesta en teleósteos se obtiene a partir de la determinación de los cambios estacionales ocurridos en las gónadas durante el ciclo reproductor. En el examen de dichos cambios se utilizan tanto caracterizaciones de la apariencia gonadal a nivel macroscópico como histológico; se aplican diversos índices somáticos (p.e., IGS, IHS y Kn) y/o se estudia la evolución del diámetro ovocitario (DO) (Howell, 1983; Hay *et al.*, 1987; DeMartini, 1991; Dee y Parrish, 1994; Sadovy *et al.*, 1994; Chellappa *et al.*, 1995; George, 1995; Bullock *et al.*, 1996; Karlou-Riga y Economidis, 1996; Fréon *et al.*, 1997; Jiménez, 1997; Lehodey *et al.*, 1997; Mann y Buxton, 1998; Kwok y Ni, 1999).

Los dos métodos cualitativos empleados en este estudio, escala de madurez macroscópica e histológica, han proporcionado informaciones similares sobre época de puesta y freza masiva, debido a que macroscópicamente las gónadas maduras son fácilmente distinguibles y, como se ha comentado, los errores que se cometen en esta clasificación son bastante bajos. Sin embargo, cuando el objetivo es interpretar los cambios que se producen durante el ciclo reproductor, el estudio citológico e histológico del ovotestículo constituye un análisis más adecuado ya que evita los errores producidos por escalas macroscópicas. En este sentido, Eltink (1991), Dickerson *et al.* (1992) y Karlou-Riga y Economidis (1996) señalaron que el uso de criterios anatómicos macroscópicos en reproductores múltiples proporciona una precisión muy inferior de la

madurez del pez en comparación con la suministrada por métodos histológicos.

Por su parte, los índices cuantitativos (IGS, IHS, Kn y DO) son, *a priori*, más adecuados en estudios de biología reproductora, debido a su objetividad. Sin embargo, muchos autores han discutido la aplicación de dichos índices. En relación con el IGS, Sadovy (1996) señaló que éste sólo proporciona una generalización de la máxima actividad de puesta. Además, puede estar sesgado cuando se comparan muestras de ejemplares de diferentes tallas, debido a que no sólo dependen del estado del desarrollo gonadal si no también del tamaño corporal (p.e., DeVlaming *et al.* 1982; Erickson *et al.*, 1985; West, 1990; Wootton, 1990; Render y Wilson, 1992; Shapiro *et al.*, 1993). Karlou-Riga y Economidis (1996) puntualizaron que, en reproductores múltiples, el IGS es mucho menos importante que las descripciones histológicas puesto que no distingue individuos en puesta parcial, de los que ya han terminado la freza de esa temporada. En nuestro estudio se puso de manifiesto que el IGS sólo detectó la actividad máxima reproductora, pero no fue un buen indicador del comportamiento reproductor de la población. No obstante, en la literatura existen numerosos trabajos que utilizan este índice de forma exitosa (Hastings y Bortone; 1980; Obando y León, 1989; Krug, 1990; Pajuelo y Lorenzo, 1994; Siau y Bouain, 1994; Jiménez, 1997; Pajuelo, 1997). En relación al DO, éste constituye un método ampliamente empleado como criterio de maduración en estudios de peces (p.e., Amin, 1985; Hay *et al.*, 1987; Hunter *et al.*, 1992; D'Auteuil y Gregoire, 1993; Fouda *et al.*, 1993; Gartner, 1993; N'Da y Déniel, 1993; Barbieri *et al.*, 1994; Shashi y Akela, 1996). Sin embargo, es mucho más laborioso y proporciona idénticos resultados que el IGS. Ambos métodos reflejan exclusivamente los valores más significativos (máxima puesta) dentro de la época reproductora, siendo por tanto, poco sensibles a ligeras variaciones dentro del ciclo.

Ni los valores medios mensuales del Kn ni los del IHS exhibieron tendencias claras a lo largo del año, presentando una fluctuación irregular. Normalmente, estas variaciones están asociadas a procesos reproductores, ya que la maduración sexual repercute en el estado fisiológico de los individuos, los cuales suelen hacer acopio de energía para dicho proceso (Hoar *et al.*, 1983; Howell, 1983; N'Da y Déniel, 1993; Jiménez, 1997). Durante los períodos de almacenamiento de energía en músculo o hígado, los individuos pueden tener un peso mayor de lo habitual para una talla determinada, debido a un aumento relativo del hígado y contenido estomacal (Busacker *et al.*, 1990). En consecuencia, durante el período

REPRODUCCIÓN

reproductor suele producirse una disminución de la actividad alimentaria, siendo el hígado la principal fuente energética de los peces (Wootton, 1990). En las especies del género *Serranus* de Canarias no se encontró ninguna tendencia del tamaño relativo del hígado frente a la gónada a lo largo del ciclo anual. Ello se debe a que en estas especies la actividad alimentaria no cambia a lo largo del ciclo reproductor (Morato, 1995; Tuset *et al.*, 1996, 1997; Labropoulou *et al.*, 1998; Moreno-López *et al.*, en revisión, b), debido a que cortejo y el apareamiento tienen lugar durante 2 ó 3 horas al día manteniendo su actividad normal durante el resto de la jornada (Morato, 1995). Por lo tanto, al ser innecesario el aprovisionamiento de energía previo al apareamiento, los índices relacionados con el hígado o peso corporal no son indicativos de los cambios metabólicos que tienen lugar en su organismo. En el Mediterráneo, sin embargo, las mismas especies parecen comportarse de forma diferente, ya que diversos autores han encontrado una relación directa entre este índice y el período reproductor (Bouain, 1981; Siau y Bouain, 1994), produciéndose un cambio de actividad metabólica antes de la maduración gonadal. Ello es debido a que, generalmente, la dieta alimentaria cambia de forma estacional (Macpherson, 1977; Han *et al.*, 1996) y parece ejercer una fuerte influencia sobre el peso hepático frente a otros eventos fisiológicos asociados a la reproducción.

En consecuencia, los valores cuantitativos y cualitativos suelen proporcionar interpretaciones similares (Howell, 1983; Barbieri *et al.*, 1994; Isidro, 1996; Karlou-Riga y Economidis, 1996; Jiménez, 1997; Pajuelo, 1997; Kwok y Ni, 1999). Sin embargo, la clasificación histológica es el método más preciso para determinar el ciclo reproductor de los peces y, dependiendo de la naturaleza del estudio, puede ser el único satisfactorio (Hunter y Macewicz, 1985b; McQuinn, 1989; West, 1990; Karlou-Riga y Economidis, 1996; Sadovy, 1996; Tyler y Sumpter, 1996).

Una revisión bibliográfica exhaustiva sobre la época de puesta de las especies objeto de estudio indicó que existe escasa información sobre biología reproductora de *S. atricauda*, mientras que de *S. cabrilla* y *S. scriba* hay algunos estudios en diferentes áreas geográficas. En *S. atricauda* en Azores, Morato (1995) y Lourinho y Santos (1998) encontraron que el periodo reproductor es de seis meses (marzo-agosto), mientras que en Canarias abarca todo el año (presente estudio). En *S. cabrilla* comprende dos meses (julio-agosto) en el canal de La Mancha (Wheeler, 1968), cinco (abril-agosto) en el Mediterráneo (Bini, 1968; Bruslé y Bruslé, 1975; Tortonese, 1975; Bouain, 1981; Bauchot, 1987; Fischer *et al.*, 1987), entre

cinco y seis (mayo-junio y marzo-agosto, respectivamente) en el Mediterráneo suroriental (Túnez y Egipto, respectivamente) (Ezzat *et al.*, 1988; Siau y Bouain, 1994) y ocho (enero-agosto) en Canarias (presente estudio). No obstante, el periodo de freza masiva determinado en Canarias es muy similar al hallado en distintos sectores del Mediterráneo (abril) (Bruslé y Bruslé, 1975; Ezzat *et al.*, 1988) e idéntico en Túnez (mayo-junio). Finalmente, en *S. scriba* el periodo reproductor abarca cuatro meses (mayo-agosto) en el Mediterráneo (Bini, 1968; Bruslé y Bruslé, 1975; Tortonese, 1975; Bouain, 1981; Bauchot, 1987; Fischer *et al.*, 1987), entre cinco y seis meses (junio-octubre y abril-septiembre) en el Mediterráneo suroriental (Egipto y Túnez, respectivamente) (Abd-el-Aziz y Ramadan, 1990; Siau y Bouain, 1994) y nueve (enero-septiembre) en Canarias (presente estudio). No obstante, el periodo de freza máxima en *S. scriba* en Túnez se encuentra desplazado un mes (julio y agosto) (Siau y Bouain, 1994) respecto a Canarias.

En cualquier caso, la amplitud de la época de puesta de estas especies aumenta a medida que disminuye la latitud geográfica. Ello es debido fundamentalmente a que en áreas tropicales y subtropicales las variaciones ambientales y los factores hidrológicos no siguen un patrón tan periódico como en las zonas templadas (Tuset, 2000). La temperatura, disponibilidad de alimento y/o fotoperíodo pueden inducir a la actividad reproductora (p.e., Hoar *et al.*, 1983; Fernández-Palacios *et al.*, 1997). En las especies analizadas de Canarias, la puesta se realiza cuando la temperatura del agua es más cálida (Bordes *et al.*, 1994; Brito, 1997) y el fotoperíodo más elevado (Pajuelo, 1997). Como se ha comentado anteriormente, la alimentación de estas especies no cambia a lo largo del año por lo que este factor no es regulador de la reproducción.

CURVAS DE MADUREZ

Las curvas de madurez sexual obtenidas con datos macroscópicos e histológicos fueron significativamente diferentes en *S. atricauda* y prácticamente iguales en *S. cabrilla* y *S. scriba*. No obstante, los valores de talla mínima de primera maduración sexual (TPM mín.), talla de primera madurez (TPM) y talla de madurez masiva (TMM) calculados a partir de ambos tipos de datos son muy similares en las tres especies. Las diferencias encontradas se debieron a errores de clasificación gonadal tipos B y C, que al no estar afectados por la talla de los individuos y producirse en proporciones muy parecidas terminaron por contrarrestarse entre sí. Estos

REPRODUCCIÓN

resultados concuerdan con las observaciones realizadas por Karlou-Riga y Economidis (1996), quienes indicaron que la separación entre individuos maduros e inmaduros por examen macroscópico de las gónadas es relativamente imparcial, aunque un número de individuos en EMS II y V se clasifican erróneamente.

El hecho de que los valores de la talla de primera madurez obtenidos a partir de la clasificación histológica sean mayores a los macroscópicos puede tener importancia a nivel pesquero, debido a que en Canarias la regulación de tallas se basa en datos macroscópicos. Ello significa que las tallas de primera madurez establecidas por la Administración se encuentran ligeramente infravaloradas (15 cm de longitud total en *S. atricauda* y *S. cabrilla*, según Real Decreto nº 2134 del 19 de septiembre de 1986 y Decreto nº 155 del 9 de octubre de 1986 del Gobierno de Canarias), lo que *a priori* podría producir un efecto beneficioso sobre las poblaciones insulares de estas especies. Por otro lado, en los últimos años se ha planteado la posibilidad de regular la captura de ejemplares grandes, ya que su aporte al stock reproductor es muy importante (A. Brito, com. pers.). Sin embargo, y a diferencia de la talla de primera madurez, la clasificación macroscópica puede sobrevalorar la talla de madurez masiva (como ocurre en *S. atricauda*), de tal manera que cualquier tipo de actuación en este sentido podría ser perjudicial para el recurso.

En consecuencia, los resultados obtenidos revelan que el error producido en el cálculo de estos parámetros biológicos aumenta con la talla máxima de la especie cuando se utiliza una escala de clasificación macroscópica. Las especies trabajadas en este estudio son de tamaño medio, sin embargo, en la literatura existen muy pocos trabajos de esta índole por lo que no se conoce el efecto de la clasificación macroscópica en especies de tallas grandes (merluza, sama, bocinegro, jurel, etc.), siendo esta línea de investigación imprescindible en estudios futuros.

Una revisión bibliográfica exhaustiva sobre la tallas de madurez sexual pone de manifiesto la ausencia de datos referentes a *S. atricauda*. Por otro lado, la TPM de *S. cabrilla* obtenida en este trabajo resultó ser semejante a la determinada en el Mediterráneo por Bauchot (1987) y muy diferente a la calculada por Bouain (1981) y Leal y Cano (1995) (entre 10 y 13 cm de LT). Finalmente, en *S. scriba* el valor de TPM en Canarias es ligeramente superior al encontrado por Bouain (1981) en el Mediterráneo (alrededor de 16 cm LT).

La gran diferencia existente en estas especies entre el valor de TPM en el Atlántico y el Mediterráneo puede deberse a la diferente actividad pesquera

que soportan las especies en esta última región (Tuset, 2000), lo que puede traducirse en un descenso de las tallas (González y Lozano, 1992; Francis y Smith, 1996). No obstante, como señalaron Karlou-Riga y Economidis (1996), también puede estar originado por el uso exclusivo de escalas macroscópicas para identificar individuos maduros en especies reproductoras múltiples.

FECUNDIDAD

Diferentes criterios se han usado para identificar los ovocitos que forman una puesta parcial en peces con fecundidad indeterminada: método de distribución de frecuencias del diámetro del ovocito y método de ovocitos hidratados (Hunter, 1985). Ambos métodos proporcionan resultados similares, siendo este último preferible ya que requiere menos tiempo (Hunter y Goldberg, 1980; Laroche y Richardson, 1980; Hunter, 1985; Pertierra, 1992).

En el presente trabajo, las estimaciones de fecundidad parcial que se efectuaron por el método de distribución de frecuencias del diámetro del ovocito proporcionaron resultados satisfactorios. En *S. cabrilla* y *S. scriba*, Siau y Bouain (1994) consideraron la fecundidad total contando todos los ovocitos vitelogénicos. Sin embargo, este método ha sido ampliamente rechazado, ya que sólo es válido para peces con fecundidad determinada donde el número de ovocitos destinados a la puesta está preestablecido antes del comienzo de la época de freza (ver Hunter, 1985). Debido al método empleado Siau y Bouain (1994) encontraron valores de fecundidad máxima muy inferiores (441.502 ovocitos en *S. cabrilla* y 59.649 ovocitos en *S. scriba*) a los obtenidos en este estudio para *S. atricauda* (alrededor de 15,5 millones de ovocitos), observándose la infravaloración que este método produce en la estimación de fecundidad. Ello se pone de manifiesto cuando se analiza otros estudios sobre serránidos que han utilizado metodologías aceptadas, de este modo en *Micteroperca microlepis* se ha estimado una fecundidad anual máxima de 61,4 millones de ovocitos (Collins *et al.*, 1998). En otras especies, se han estimado los siguientes valores anuales; como máximo 67,0 millones de huevos en *Pogonias cromis* (Nieland y Wilson, 1993), 7,4 millones en *Cynoscion regalis* y 59,7 millones en *Lutjanus campechanus* (Collins *et al.*, 1996).

En cuanto a los métodos de muestreo del ovario de peces marinos, en general se emplean submuestras relacionadas con el peso ovárico (método gravimétrico) o con una suspensión acuosa de los ovocitos en un volumen

REPRODUCCIÓN

conocido (método volumétrico), dado que el cómputo de todos los ovocitos hidratados o de la moda más avanzada resulta impracticable debido al elevado grado de fecundidad. Sin embargo, el método volumétrico implica un enorme error sistemático, debido a la gran dificultad de conseguir que todos los huevos se distribuyan uniforme (Holden y Raitt, 1975), frente al método gravimétrico que parece ser el más utilizado en este tipo de estudios (DeMartini, 1991; Pérez Contreras *et al.*, 1992a; Wilson y Nieland, 1994; Koslow *et al.*, 1995; Lowerre-Barbieri *et al.*, 1996a, b; Karlou-Riga y Economidis, 1997; Murua *et al.*, 1998).

En relación con el cálculo del número de actos de puesta, el método de folículos post-ovulatorios requiere una serie de muestras tomadas en intervalos regulares de tiempo y el conocimiento de la hora exacta de su captura, así como una clasificación histológica de los procesos de deterioro y reabsorción del ovario. La ventaja del método de los ovocitos hidratados consiste en que las estimaciones pueden ser hechas a partir de observaciones externas de las gónadas, requiriéndose simplemente la verificación histológica de los criterios macroscópicos y la estimación del momento óptimo de muestreo. Sin embargo, en este estudio, se utilizó el método de los ovocitos hidratados, puesto que es mucho más rápido y sencillo, proporcionando una útil estimación de la frecuencia de puesta con un coste económico relativamente bajo.

En consecuencia, la metodología empleada para la estimación de fecundidad en *S. atricauda* ha puesto de manifiesto la posibilidad, de su aplicación en estudios futuros, a sus congéneres y otras especies demersales.

*“Si los hechos no se ajustan a la teoría
tendrá que deshacerse de ellos”*

Murphy

CONCLUSIONES

1. Las especies del género *Serranus* en Canarias contienen ovario y testículo en la misma gónada. Ambos tejidos maduran al mismo tiempo y están territorializados, presentando oviducto y espermiducto completamente independientes. Por tanto, las especies estudiadas presentan un único tipo sexual: hermafrodita funcional simultáneo.

2. Las especies del género *Serranus* en Canarias presentan ovario con desarrollo asincrónico y son reproductores parciales, heterocronos, múltiples o seriales.

3. El modelo de crecimiento asincrónico del ovocito en las especies objeto de estudio es similar al descrito en otros teleósteos, existiendo sólo algunas diferencias estructurales:

a) Secuencia de aparición de inclusiones citoplasmáticas. En *Serranus atricauda* y *Serranus cabrilla* se forman vesículas de vitelo, gránulos de vitelo e inclusiones lipídicas. En *Serranus scriba* se observa la aparición de inclusiones lipídicas antes que la de gránulos de vitelo.

b) Presencia de membrana limitante en las vesículas de vitelo de *Serranus cabrilla* y *Serranus scriba*, y ausencia en las de *Serranus atricauda*.

4. El diámetro del huevo está relacionado con el hábitat, la salinidad del medio y/o el tamaño de la especie en áreas diferentes. De tal manera que:

a) La especie más somera, *Serranus scriba*, presenta un tamaño mayor de huevo en comparación con la especie más profunda, *Serranus cabrilla*.

b) El diámetro del huevo en *Serranus cabrilla* de Canarias puede deberse a la menor salinidad de las aguas que circulan por este Archipiélago, o bien a la mayor talla que la especie presenta en dicha zona.

5. La atresia folicular tiene lugar en cualquier momento del ciclo anual y en cualquiera de los estados de desarrollo del ovocito, apareciendo en baja proporción durante el año y aumentando después de la puesta.

6. Las especies del género *Serranus* de Canarias presentan testículo de tipo lobular espermatogonial continuo o no restringido.

7. La espermatogénesis es similar en *Serranus atricauda* y *Serranus cabrilla*. En cambio, *Serranus scriba* presenta diferencias a nivel de la espermiogénesis.

8. Las especies estudiadas presentan un modelo de espermatozoide denominado

primitivo o “acuasperma”. Se diferencia en una cabeza esferoidal, pieza intermedia corta y cola. Esta morfología es típica de teleósteos con fertilización externa.

9. El estudio comparativo del espermatozoide revela importantes diferencias morfológicas entre las especies del género *Serranus*, observándose variaciones en el tamaño, dimensiones de los orgánulos y número y posición de mitocondrias. No obstante, los espermatozoides de *Serranus atricauda* y *Serranus cabrilla* comparten la simetría de la forma, frente al carácter asimétrico y presencia de vestigios de vesícula acrosómica en el espermatozoide de *Serranus scriba*.

10. Las características específicas del espermatozoide de *Serranus scriba* indican que presenta la morfología más primitiva de las tres especies del género estudiadas.

11. Las diferencias encontradas en el tamaño del espermatozoide podrían estar relacionadas con factores ambientales y/o filogenéticos. La especie más somera, *Serranus scriba*, presenta una talla mayor en comparación con la especie más profunda, *Serranus cabrilla*. No obstante, el carácter primitivo del espermatozoide de *Serranus scriba* sugiere mayor afinidad evolutiva entre *Serranus atricauda* y *Serranus cabrilla*.

12. Las especies objeto de estudio presentan fertilización externa. En el caso particular de *Serranus atricauda*, las observaciones llevadas a cabo sugieren que la reproducción también puede ocurrir eventualmente por asociación gamética interna.

13. La escala macroscópica habitualmente empleada para asignar estados de madurez sexual no es del todo válida para interpretar los distintos cambios estacionales que ocurren a lo largo del ciclo reproductor. No obstante, es práctica, simplificadora y de fácil aplicación en trabajos de campo donde se necesita una determinación rápida y no demasiado rigurosa. Por tanto, se propone que en dichos estudios se opte por una escala más simplificada: agrupando los EMS I y II en una sola categoría de inmaduros; los EMS III y IV como maduros; y los EMS V como individuos en post-puesta.

14. La clasificación histológica de las glándulas sexuales constituye el único método útil en la identificación e interpretación de eventos específicos ocurridos durante el ciclo reproductor, ya que resulta esencial para detectar individuos maduros, en reposo y recuperando, madurando, y en puesta parcial.

15. El índice gonadosomático (IGS) y el diámetro ovocitario (DO) se comportan de manera similar a lo largo del ciclo sexual, señalando los meses de máxima actividad reproductora de la población.

16. En las especies estudiadas el índice hepatosomático (IHS) y el factor de

condición (Kn) no son indicativos de los cambios metabólicos que tienen lugar en el cuerpo del individuo, fundamentalmente debido a que éstas no presentan grandes cambios alimenticios durante el ciclo anual y a que su crecimiento es más o menos constante durante todo el año.

17. La época de puesta en *S. atricauda* abarca prácticamente todo el ciclo anual con periodo de freza máxima en mayo y junio, produciéndose un rápido periodo de recuperación o reposo entre octubre y noviembre. En *S. cabrilla* comprende desde enero hasta agosto con freza máxima en mayo y junio, recuperándose entre septiembre y diciembre. En *S. scriba* ocurre desde enero hasta septiembre, con un pico de máxima actividad en junio, siendo el periodo de recuperación entre octubre y diciembre.

18. Las curvas de madurez sexual obtenidas a partir de datos macroscópicos e histológicos son significativamente diferentes en *S. atricauda* y similares en *S. cabrilla* y *S. scriba*. No obstante, los valores de talla de primera madurez obtenidos histológicamente son mayores que los macroscópicos, por lo que el empleo de la clasificación macroscópica en estudios para regular las tallas de primera captura podría producir un efecto beneficioso sobre las poblaciones.

19. La talla de primera madurez obtenida es de 19,3 cm Lt en *S. atricauda*, 16,6 cm Lt en *S. cabrilla* y 17,3 cm LT en *S. scriba*. La talla máxima de madurez toma valores de 33,1 cm LT en *S. atricauda*, 19,5 cm Lt en *S. cabrilla* y 22,7 cm LT en *S. scriba*.

20. *S. atricauda* presenta fecundidad indeterminada, habiéndose determinado 42 desoves con una frecuencia de puesta de 3,8 días. El número de huevos por acto de puesta (Fp) osciló entre 21.774 y 369.578 ovocitos, lo que supuso un valor anual (fecundidad total) entre 914.508 y 15.522.276 ovocitos.

21. Finalmente, análisis e interpretaciones correctas sobre la biología reproductora de teleósteos marinos (sexualidad, ciclo reproductor, estrategia y modelo de puesta, fecundidades, frecuencia de puesta, etc.) requieren, sin duda, el estudio histológico de las gónadas.

“Cuando una persona emprende una tarea, la intervención inconsciente de otra presencia (animada o inanimada) desbaratará sus planes. Sin embargo, algunas tareas se pueden terminar debido a que esa presencia que interviene también está realizando una tarea y, evidentemente, también está expuesta a que usted intervenga”

Murphy

AGRADECIMIENTOS

Durante los siete años que ha durado este trabajo puedo decir con honestidad que, aunque me han ocurrido muchas cosas —buenas y no tan buenas—, he disfrutado en todo momento de él y, afortunadamente, en el camino me he cruzado con alguna gente maravillosa.

Mi agradecimiento a todas aquellas personas e instituciones que han contribuido a la realización de la presente memoria. Al Cabildo de Gran Canaria, que subvencionó este trabajo a través de una beca pre-doctoral. A la Comisión de las Comunidades Europeas que también subvencionó parcialmente esta investigación (D.G. XIV/C/1992/7).

Al Dr. José A. González Pérez, Coordinador de Programas de Biología Pesquera del Instituto Canario de Ciencias Marinas, y a la Dra. M^a José Lorente Carchano, Profesora Titular del Departamento de Biología Animal de la Universidad de Valencia, les quiero agradecer la dirección de este trabajo. A José Antonio agradecerle la primera oportunidad de comenzar en este fascinante mundo de la investigación y mantenerme en él durante estos años. A M^a José que me acogiera tan afectuosa y cariñosamente, de forma que el trabajo se convirtiera, poco a poco, en una buena amistad.

Al Dr. Ignacio José Lozano Soldevilla, Profesor Titular del Departamento de Biología Animal de la Universidad de La Laguna, agradecerle la ayuda y orientación que me ha prestado como tutor de esta Tesis Doctoral.

Al Dr. R. Reinboth por sus útiles comentarios en el trabajo histológico.

A Aurora, con la cual después de tantos cafés “con mosca” desarrollé una gran amistad por lo que debo llamarla compañera y sobre todo amiga.

A Prudencio Guzmán y Octavio Llinás, directores del antes Centro de Tecnología Pesquera y actual Instituto Canario de Ciencias Marinas y a todos los miembros de dicho Instituto porque de una manera u otra han ayudado a que este trabajo se llevara a cabo. En especial, a Juan por todos los quebraderos de cabeza que le he ocasionado, por su ayuda y valiosos consejos en el campo de la microscopía óptica y en otros campos de la vida, así como por su paciencia conmigo cuando algún “aparatejo” no quería funcionar. A Pipo por admitir, de buen grado, que me convirtiera en una más del laboratorio de Cultivos Marinos. A Chano por ser un gran pescador y un gran tipo, gracias a su insistencia y tenacidad se ha podido llevar a

cabo una buena parte de esta Tesis. A Valencia porque siempre he podido contar con él, laboral y personalmente. A Pepe Ignacio por su ayuda en la recolección de muestras. A Quiqui por sus buenos consejos y su ayuda con aquellas pobres cabrillas que pasaron una temporada en los tanques de cultivo. A Sergio que, aunque se las da de duro, es una excelente persona y finalmente consintió en ceder sus capturas a la ciencia, así como al capitán y a toda

la tripulación del “Taliarte”. A Julio, a Nieves y a todo su equipo, por todos esos buenos detalles que siempre han tenido conmigo. A Miguel por estar ahí día a día, soportándolo todo y a todos. A Antonio por sus conocimientos en informática y su buen carácter. A Elena por todas esas averiguaciones de direcciones y de trabajos de años muy, pero que muy lejanos. A Tito porque siempre que necesité algo no tuve ni que pedirlo. A las niñas más encantadoras del centro (Eulogia, Pino, Tere y María), ... en fin, a todo el personal del ICCM porque efectivamente a todos les debo de una u otra forma el que este trabajo llegue a su fin.

Al Dr. Alberto Brito Hernández por facilitarnos el camino en la obtención de material biológico y por la transmisión de sus valiosos conocimientos. A Sasá por la recolección y almacenamiento de muestras en La Graciosa. Y muy especialmente a Jesús M. Falcón por el préstamo de las fotografías submarinas de las cabrillas y por comunicarnos “cotilleos varios” sobre el comportamiento sexual de las mismas.

A Chano y a Paco por su compañerismo y experiencia.

A Angelito, ya que gracias a su pericia e inestimable ayuda, pudimos completar la recolecta de ejemplares. A Manolo, Víctor y resto de voluntarios anónimos, quienes soportaron por “la causa”, frío, hambre y cansancio durante un corto, pero divertido fin de semana en Fuerteventura.

A todos los miembros de la Unidad de Morfología Microscópica del Departamento de Biología Animal de la Universidad de Valencia por lo bien que me han tratado en mis cortas estancias por aquellas tierras y sobre todo por su apoyo moral cuando “todo me salía fatal”. A Pepe y Asun por su tiempo, consejos, simpatía y amistad. A Fernando por sus valiosos consejos y ayuda incondicional. A Joan y Jorge por solucionar todas aquellas extrañas cosas que sólo me pasaban a mí.

A los componentes del Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Valencia por su asistencia técnica, en especial a Pilar y Tomás con quienes compartí algo más que “microscopios” en aquellas largas mañanas.

A Esther, Giuseppe, Mada, Manolo, Emi, Serge, y por supuesto a Susanilla y a “sus chicas”; buenos amigos que han sufrido muy de cerca este trabajo!

AGRADECIMIENTOS

A Mercedes y Luis (mis padres) y a Rocío y Blanca (mis hermanas), porque siempre me han apoyado en todo lo que he querido hacer. Por las llamadas, las visitas de placer y las obligadas (¡socorro, ayuda!), los paquetes sorpresa, los faxes, las consultas, las largas esperas en el aeropuerto, las “traídas y llevadas” a tope de trastos y sobre todo por el apoyo moral en los momentos “grises” y en las etapas dubitativas ... que fueron muchas. En definitiva, porque a pesar de la distancia siempre he sabido que estaban conmigo, y sin ellos, ... nada de esto hubiera sido posible.

A Purín y Jaime por aceptarme como una hija más ... ¡y por los bombones!

A mi abuelo David por las entrañables y enriquecedoras charlas que hemos compartido y un cariñoso recuerdo a Carmen, Teodoro y Amparo.

A Calcetines, Telescopus, Kim y Tres, sin duda, mis más fieles y queridos amigos.

Y a Víctor, quién sino, él me metió en esto y a él le debo haber llegado hasta aquí. Sólo puedo decirte que eres lo mejor me ha pasado en esta vida. Gracias.

BIBLIOGRAFÍA

VI

BIBLIOGRAFÍA

A

- Abd-el-Aziz, S.H. y A.A. Ramadan. 1990. Sexuality and hermaphroditism in fishes. I. Synchronous functional hermaphroditism in the serranid fish *Serranus scriba* L. *Folia Morphol.*, 38: 86-103.
- Afzelius, B.A. 1978. Fine structure of the garfish spermatozoon. *J. Ultrastruct. Res.*, 64: 309-314.
- Afzelius, B.A. y M. Ferraguti. 1978. The spermatozoon of *Priapulus caudatus* Lamarck. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 10 (1): 71-79.
- Afzelius, B.A. y S.D. Mims. 1995. Sperm structure of the bowfin, *Amia calva* L. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 27 (3): 291-294.
- Akkers, T.R., Y.C. Melo y W. Veith. 1996. Gonad development and spawning frequency of the South African pilchard *Sardinops sagax* during the 1993-1994 spawning season. *S. Afr. J. mar. Sci.*, 17: 183-193.
- Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts y J.D. Watson. 1986. *Biología molecular de la célula*. Edit. Omega. Barcelona: 1231 pp.
- Amin, E.M. 1985. Seasonal development changes in the ovaries of *Siganus rivulatus* from the Red Sea. *Bull. Inst. Oceanogr. Fish. Cayro*, 11: 131-147.
- Arcuelo, M., C. Frogliá y S. Riggio. 1993. Food partitioning between *Serranus scriba* and *Scorpaena porcus* (Perciformes) on the infralittoral grounds of the south Tyrrhenian Sea. *Cybium*, 17 (3): 251-258.
- Arístegui, J. 1990. La distribución de la clorofila *a* en aguas de Canarias. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 6 (2): 61-71.
- Astudillo, A. y F. Sánchez. 1989. Selectividad de las artes de arrastre para el Gallo (*Lepidorhombus sp. sp.*) en aguas del Cantábrico. *Inf. Téc. Inst. Esp. Oceanogr.*, 72: 27 pp.
- Atz, J.W. 1964. Intersexuality in fishes. En: *Intersexuality*: 145-232. Marshall, A.J., (ed.). Academic Press. London.
- Atz, J.W. 1965. Hermaphroditic Fish. *Science*, 150: 789-797.
- Atz, J.W. y C.L. Smith. 1976. Hermaphroditism and gonadal teratoma-like growths in sturgeon (*Acipenser*). *Bull. South. Califor. Acad. Sci.*, 75: 119-126.

B

- Baccetti, B., A.G. Burrini, G. Gallaini, G. Gibertini, M. Mazzini y S. Zerunian. 1984. Fish germinal cells. I. Comparative spermatology of seven cyprinid species. *Gamete Res.*, 10: 373-396.
- Bagenal, T.B. y E. Braum. 1971. Eggs and early life history. En: *Methods for assessment of fish production in fresh waters*: 166-198. Richer, W.E. (ed.). IBP Handbook nº 3. Blackwell Scientific Publications, 2nd edit., London.
- Balguerías, E. 1989. Informe de los resultados "ANTÁRTIDA 8611". Biología Pesquera. En: Resultados de la Campaña "ANTÁRTIDA 8611". *Publ. Espec. Inst. Esp. Oceanogr.*, 2: 267-483. MAPA. Madrid.
- Balguerías, E. 1993. *La pesca de los costeros canarios en el banco sahariano: antecedentes históricos y situación actual. La chopa (Spondyliosoma cantharus Linnaeus, 1758) como ejemplo de aplicación de métodos simples para la evaluación de stocks en la pesquería artesanal canaria*. Tesis Doctoral. Facultad de Biología, Universidad de La Laguna: 382 pp.
- Barbieri, L.R., M.E. Chittenden, Jr. y S.K. Lowerre-Barbieri. 1994. Maturity, spawning, and ovarian cycle of Atlantic croaker, *Micropogonias undulatus*, in the Chesapeake Bay and adjacent coastal waters. *Fish. Bull.*, 92 (4): 671-685.
- Barton, E.D. 1992a. *Seasonal variability of hidrography and sea level around the Canary Islands from historical data*. European Coastal Transition Zone Islas Canarias. Mast Project 0031. Second Project Workshop. Santa Cruz de Tenerife. Report 0031-07: 19 pp.
- Barton, E.D. 1992b (coord. princ.). *Seasonal variability of hidrography and sea level around the Canary Islands from historical data*. European Coastal Transition Zone Islas Canarias. Mast Project 0031.
- Barton *et al.*, 1998. The transition zone of the Canary current upwelling region. *Prog. Oceanog.*, 455-504.
- Barton, E.D. *et al.*, 1998. The transition zone of the Canary current upwelling region. *Prog. Oceanog.*, 455-504.
- Bas, C., J.J. Castro, V. Hernández-García, J.M. Lorenzo, T. Moreno, J.G. Pajuelo y A.G. Ramos. 1995. *La pesca en Canarias y áreas de influencia*. Ediciones del Cabildo Insular de Gran Canaria. Las Palmas de Gran Canaria: 331 pp.

- Bauchot, M.L. 1987. Serranidae. En: *Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. (Rév. 1). Méditerranée et Mer Noire; zone de pêche 37*, vol. II: 1301-1319. Fischer, W., M.L. Bauchot y M. Schneider (éds.). FAO-CEE. Rome.
- Bell, J.D. y M. Harmelin-Vivien. 1983. Fish fauna of French Mediterranean *Posidonia oceanica* seagrass meadows. 2. Feeding habits. *Tethys*, 11 (1): 1-14.
- Bengen, G., J. Kugler y J. Pequignot. 1991. Étude des ovocytes d'*Alosa alosa* L. (Clupeidae) au cours de sa migration anadrome en Garonne. *Cybiurn*, 15: 229-238.
- Bengtson, D.A., R.C. Barkman y W.J. Berry. 1987. Relationships between maternal size, egg diameter, time of spawning season, temperature, and length at hatch of Atlantic silverside, *Menidia menidia*. *J. Fish Biol.*, 31, 697-704.
- Benmouna, H., M.F. Jaspas-Versali, C. Toussaint y C. Jeuniaux. 1986. A comparative study of chitinase activity in digestive tract of *Serranus cabrilla* and *Serranus scriba*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 14 (4): 435-437.
- Billard, R. 1983. Spermiogenesis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Cell Tissue Res.*, 233: 265-284.
- Billard, R. 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reprod. Nutrit. Dev.*, 26 (4): 877-920.
- Billard, R., A. Fostier, C. Weil y B. Breton. 1982. Endocrine control of spermatogenesis in teleosts fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39: 65-79.
- Billard, R., C. Weil, K. Bieniarz, T. Mikolajczyk, B. Breton, P. Epler y M. Bougoussa. 1992. Testicular and some hormonal changes during the first four years of life in the mirror carp, *Cyprinus carpio* L. *J. Fish Biol.*, 41: 473-487.
- Bini, G. 1968. *Atlante dei pesci delle coste italiane. 4. Perciformi (Mugiloidei, Percoidei)*. Edit. Mondo Sommerso. Milano: 163 pp.
- Boissin, C., X. Mattei y C. Mattei. 1969. Mise en place et évolution du complexe centriolaire au cours de la spermiogénèse d'*Upeneus prayensis* C.V. (Poisson, Mullidae). *J. Microsc.*, 8: 103-112.
- Bonnet Fernández-Trujillo, J. y A. Rodríguez-Fernández (eds.). 1992. *Fauna marina amenazada en las Islas Canarias*. ICONA, MAPA. Madrid: 296 pp.
- Bordes, F., A. Barrera, R. Castillo, J.A. Gómez, I.J. Santana, S. Hernández-León, F. Pérez, R. Ramírez, J. Arístegui, O. Llinás, M.J. Rueda, A. Ojeda y L. Medina. 1987. *Prospección hidroacústica para la*

BIBLIOGRAFÍA

- evaluación del stock de peces pelágicos costeros de Canarias*. Informe. Gobierno Autónomo de Canarias y Cabildo Insular de Gran Canaria: 95 pp.
- Bordes, F., A. Barrera, J. Carrillo, R. Castillo, J. Gómez, A. Ojeda y F. Pérez. 1994. *Cartografía y evaluación de los recursos pesqueros de la plataforma y talud de Fuerteventura (Islas Canarias)*. Consejería de Pesca y Transporte, Gobierno de Canarias. Las Palmas de Gran Canaria: 57 pp.
- Bortone, S.A. 1977. Gonad morphology of the hermaphroditic fish *Diplectrum pacificum* (Serranidae). *Copeia*, 3: 448-453.
- Bouain, A. 1981. Les serrans (Téléostéens, Serranidés) des côtes sud de la Tunisie. Taille de première maturité, période de reproduction. *Cybiurn*, 5 (4), 3è sér.: 65-75.
- Bowden, D.G., R.P. Foucher y A.V. Tyler. 1990. A guide to the ovarian histology of Pacific cod. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.*, 1723: 44 p.
- Bowers, A.B. y F.G.T. Holliday. 1961. Histological changes in the gonad associated with the reproductive cycle of the herring (*Clupea harengus* L.). *Mar. Res.*, 5: 1-15.
- Braun, J.G. 1980. Estudios de producción en aguas de las Islas Canarias. I. Hidrografía, nutrientes y producción primaria. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 5 (4): 147-154.
- Braun, J.G. 1981. Estudios de producción en aguas de las Islas Canarias. II. Producción de zooplancton. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 6 (1): 91-96.
- Brito, A. 1991. *Catálogo de los peces de las Islas Canarias*. Edit. F. Lemus. La Laguna (Tenerife): 230 pp.
- Brito, A., et al. 1997. *Evaluación de las poblaciones de peces y macroinvertebrados de interés pesquero, análisis de la explotación de los recursos y obtención de parámetros para la gestión de la futura reserva marina de La Graciosa e islotes al norte de Lanzarote*. Consejería de Agricultura, Pesca y Alimentación, Gobierno de Canarias. La Laguna (Tenerife): 395 pp.
- Brown, J., A. Colling, D. Park, J. Phillips, D. Rothery y J. Wright. 1989. *Seawater: its composition, properties and behaviour*. Bearman, G. (ed.). Pergamon Press / The Open University. England: 165 pp.
- Brooks, S., C.R. Tyler y J.P. Sumpter. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg? *Rev. Fish Biol. Fish.*, 7: 387-416.
- Bruslé, J. y S. Bruslé. 1975. Comparaison des périodes de maturité sexuelle de trois espèces de serrans méditerranéens. *Bull. Soc. Zool. France*, 100 (1): 115-116.

- Bruslé, S. 1981. Ultrastructure of spermiogenesis in *Liza aurata* Risso, 1810 (Teleostei, Mugilidae). *Cell Tissue Res.*, 217: 415-424.
- Bruslé, S. 1983. Contribution to the sexuality of a hermaphroditic teleost, *Serranus hepatus* L. *J. Fish Biol.*, 22: 283-292.
- Bullock, L.H., M.F. Godcharles y R.E. Crabtree. 1996. Reproduction of yellowedge grouper, *Epinephelus flavolimbatus*, from the eastern Gulf of Mexico. *Bull. Mar. Sci.*, 59 (1): 216-224.
- Burns, J.R., S.T. Weitzman, H.J. Grier y N.A. Menezes. 1995. Internal fertilization, testis and sperm morphology in glandulocaudine fishes (Teleostei: Characidae: Glandulocaudinae). *J. Morphol.*, 224: 131-145.
- Burt, A., D.L. Kramer, K. Nakatsuru y C. Spry. 1988. The tempo of reproduction in *Hyphessobrycon pulchripinnis* (Characidae) with a discussion on the biology of "multiple spawning" in fishes. *Environ. Biol. Fish.*, 22 (1): 15-27.
- Busacker, G.P., I.R. Adelman y E.M. Goolish. 1990. Growth. En: *Methods for Fish Biology*: 363-387. Schreck, C.B. y P.B. Moyle (eds.). American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.
- Butskaya, N.A. y T.I. Faleeva. 1987. Seasonal changes in the gonads and fecundity of Antarctic fishes *Trematomus bernacchii*, *Trematomus hansonii* and *Pagothenia borchgrevinki* (Nototheniidae). *J. Ichthyol.*, 27 (3): 27-36.
- Buxton, C.D. y P.A. Garratt. 1990. Alternative reproductive styles in seabreams (Pisces: Sparidae). *Environ. Biol. Fish.*, 28: 113-124.

C

- Callard, G.V. 1991. Spermatogenesis. En: *Vertebrate endocrinology: fundamentals and biomedical implications*. Vol. IV (part A): 303-341. Pang, P. y M. Schreiber (eds.). Academic Press. New York.
- Carrillo, J., J.A. González, R. Castillo y J.A. Gómez. 1985. Recursos demersales de Lanzarote y Fuerteventura (Islas Canarias). En: *Simposio Internacional sobre las áreas de afloramiento más importantes del Oeste Africano (Cabo Blanco y Benguela)*, vol. II: 799-823. Bas C., R. Margalef y P. Rubiés (eds.). Instituto de Investigaciones Pesqueras de Barcelona. Barcelona.
- Casadevall, M., S. Bonet y J. Matallanas. 1993. Description of different stages of oogenesis in *Ophidion barbatum* (Pisces, Ophidiidae). *Environ. Biol. Fish.*, 36: 127-133.

BIBLIOGRAFÍA

- Cayré, P. 1981. Maduridade sexual, fecundidade e sex-ratio do listado *Katsuwonus pelamis* das costas d'África de l'Oeste (0°-20° N), estudadas a partir dos desembarques tonieiros (1977-1979) no porto de Dakar (Senegal). *ICCAT Col. Bol. Sci. Pap.*, 15 (1): 135-149.
- Cayré, P. y F. Lalöe. 1986. Review of the gonad index (GI) and an introduction to the concept of its "critical value": application to the skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* in the Atlantic Ocean. *Mar. Biol.*, 90: 345-351.
- Cerdá, J., K. Selman y R.A. Wallace. 1996. Observations on oocyte maturation and hydration *in vitro* in the black sea bass, *Centropristis striata* (Serranidae). *Aquat. Living Resour.*, 9: 325-335.
- Chang, S.T.H. y W.S.B. Yeung. 1983. Sex control and sex reversal in fish under natural conditions. En: *Fish physiology*. Vol. IX (part B): 171-222. Hoar, W.S., D.J. Randall y E.M. Donaldson (eds.). Academic Press. New York.
- Chellapa, S., F.A. Huntingford, R.H.C. Strang y R.Y. Thomson. 1995. Condition factor and hepatosomatic index as estimates of energy status in male three-spined stickleback. *J. Fish Biol.*, 47: 775-787.
- Clark 1959. Functional hermaphroditism and self-fertilization in a serranid fish. *Science*, 129: 215-216.
- Clarke, T.A. 1987. Fecundity and spawning frequency of the Hawaiian anchovy or nehu, *Engrasicholina purpurea*. *Fish. Bull.*, 85 (1): 1987.
- Collins, L.A., A.G. Johnson y C.P. Keim. 1996. Spawning and annual fecundity of red snapper (*Lutjanus campechanus*) from the northeastern Gulf of Mexico. En: *Biology, fisheries and culture of tropical groupers and snappers*: 174-188. F. Arreguin-Sánchez, J.L. Munro, M.C. Balgos y D. Pauly (eds.). ICLARM Conf. Proc.
- Collins, L.A., A.G. Johnson, C.C. Koenig y M.S. Baker. Jr. 1998. Reproductive patterns, sex ratio, and fecundity in gag, *Mycteroperca microlepis* (Serranidae), a protogynous grouper from the northeastern Gulf of Mexico. *Fish. Bull.*, 96 (3): 415-427.
- Costa, G.M., H.M. Krug y R.S. Santos. 1998. Idade e crescimento da garoupa, *Serranus atricauda* (Günther, 1874), dos Açores. En: *Resúmenes del III Simpósio Fauna e Flora das Ilhas Atlânticas*: 192. Tavares, J.C. (ed.). Universidade dos Açores.
- Crabtree, R.E., D. Snodgrass y C.W. Harnden. 1997. Maturation and reproductive seasonality in bonefish, *Albula vulpes*, from the waters of the Florida Keys. *Fish. Bull.*, 95 (3): 456-465.

- Crim, L.W. y B.D. Glebe. 1990. Reproduction. En: *Methods for fish biology*: 529-554. Schreck, C.B. y P.B. Moyle (eds.). American Fisheries Society. Bethesda, Maryland.
- Cruz, T., M. Carrillo, A. Brito, V. Martín, I.J. Lozano, B. Torres, J.I. Bacallado, E. Sánchez, J. Barquín y F. García-Talavera. 1990. *Avance del Libro Rojo de la fauna marina de Canarias*. Informe realizado por Macarotecnia para el ICONA: 279 pp.
- Cunha, M.M. 1992. Análise histológica dos estados de maturação das gónadas de verdinho (*Micromesistius poutassou* Risso, 1826) da Costa continental Portuguesa. *Relat. Téc. Cient. INIP*, 48: 42 pp.

D

- D'Ancona, U. 1949. Osservazioni sull'organizzazione della gonade ermafrodita di alcuni Serranidi (1). *Nova Thalassia*, 1: 1-15.
- D'Ancona, U. 1950. Détermination et différenciation du sexe chez les poissons. *Archs. Anat. Micros. Morph. Exp.*, 39: 274-294.
- D'Auteuil, I. y F. Gregoire. 1993. Histological description of oocyte development in the Gulf of St. Lawrence Atlantic mackerel (*Scomber scombrus* L.). *Rapp. Tech. Can. Sci. Halieut. Aquat.*, 1912: 27 pp.
- Davenport, J., S. Lønning y E. Kjørsvik. 1981. Osmotic and structural changes during early development of eggs and larvae of the cod, *Gadus morhua* L. *J. Fish Biol.*, 19: 317-331.
- Dee, A. y J.D. Parrish. 1994. Reproductive and trophic ecology of the soldierfish *Myripristis amaena* in tropical fisheries. *Fish. Bull.*, 92 (3): 516-530.
- DeMartini, E.E. 1991. Annual variations in fecundity, eggs size and the gonadal and somatic conditions of the queenfish *Seriphus politus*. *Fish. Bull.*, 89 (1): 9-18.
- DeMartini, E.E. y R.K. Fountain. 1981. Ovarian cycling frequency and batch fecundity in the greenfish, *Seriphus politus*: attributes representative of serial spawning fishes. *Fish. Bull.*, 79 (3): 547-60.
- De Vlaming, V. 1983. Oocyte development patterns and hormonal involvement among teleosts. En: *Control processes in fish physiology*: 176-199. Rankin, J.C., T.J. Pitcher y R. Duggan (eds.). Croom Helm. London.
- De Vlaming, V., G. Grossman y F. Chapman. 1982. On the use of the gonadosomatic index. *Comp. Biochem. Physiol.*, 73A (1): 31-39.

BIBLIOGRAFÍA

- De Sylva, D.P. y P. Rasquin Breder. 1997. Reproduction, gonad histology, and spawning cycles of north Atlantic billfishes (Istiophoridae). *Bull. Mar. Sci.*, 60 (3): 668-697.
- Dias, J.F., E. Peres-Rios, P. De T. Da C. Chaves y C.L.D.B. Rossi-Wongtschowski. 1998. Análise macroscópica dos ovários de teleósteos: problemas de classificação e recomendações de procedimentos. *Rev. Brasil. Biol.*, 58 (1): 55-69.
- Dickerson, T.L., B.J. Macewicz y J.R. Hunter. 1992. Spawning frequency and batch fecundity of chub mackerel, *Scomber japonicus*, during 1985. *Cal. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.*, 33: 130-140.
- Dodd, J.M. 1977. The structure of the ovary of non-mammalian vertebrates. En: *The ovary*. Vol. I: 219-263. Zuckerman, S. y B.J. Weir (eds.). Academic Press, 2nd edit. New York.
- Dufossé, A. 1956. De l'hermaphroditisme chez certains vertébrés. *Ann. Sci. Nat. Zool.*, 5 (4): 295-334.

E

- Eltink, A. 1991. Batch fecundity and fraction spawning of horse mackerel (*Trachurus trachurus* L.). EC Study Contract, N BO-1990-207, 71 p.
- Erickson, D.L., J.E. Hightower y G.D. Grossman. 1985. The relative gonadal index: an alternative index for quantification of reproductive condition. *Comp. Biochem. Physiol.*, 81A (1): 117-120.
- Espasa-Calpe (edit.). 2000. *Enciclopedia Universal Ilustrada Europeo-Americana*. Madrid. Tomo XLIV: 545p.
- Ezzat, A.A., S.H. Abdel-Azzit y S.S. Breaka. 1988. Synchronous functional hermaphroditism in *Serranus cabrilla* (L) (Pisces: Serranidae). En: *Proceedings of the first scientific conference on development of fish resources*: 107-118. Alexandria University. Alexandria.

F

- Fawcett, D.W. 1987. *Tratado de histología*. Edit. Emalsa, Div. Interamericana McGraw-Hill. Madrid: 1026 pp.
- Febvre, M., M. Michele y M. Lafaurie. 1975. Comparaison de la séquence ovogénétique chez des Téléostéens ovipares gonochoriques et hermaphrodites (*Mullus*, *Serranus*, *Boops*). *Pubbl. Staz. Zool. Napoli*, 39: 140-152.
- Fernández-Palacios, H., D. Montero, J. Socorro, M.S. Izquierdo y J.M. Vergara. 1994. First studies on spawning, embryonic and larval

- development of *Dentex gibbosus* (Rafinesque, 1810) (Osteichthyes, Sparidae) under controlled conditions. *Aquaculture*, 122: 63-73.
- Fischer, E.A. 1986. Mating systems of simultaneously hermaphroditic serranid fishes. En: *Proceedings of the second Indo-Pacific fish conference: 776-784*. Uyeno, T., R. Arai, T. Taniuchi y K. Matsuura (eds.). Ichthyological Society of Japan, Tokyo.
- Fischer, E.A. y C.W. Petersen. 1987. The evolution of sexual patterns in the Seabasses. Space use and behavior can predict whether a species has harem or is monogamous and hermaphroditic. *BioScience*, 37 (7): 482-489.
- Fishelson, L. 1970. Protogynous sex reversal in the fish *Anthias squamipinnis* regulated by the presence or absence of a male fish. *Nature*, 227: 90-91.
- Forberg, K.G. 1982. A histological study of development in capelin, *Mallotus villosus villosus* (Muller). *J. Fish Biol.*, 20: 143-54.
- Foucher, R.P. y R.J. Beamish. 1977. A review of oocyte development in fishes with special reference to the Pacific hake (*Merluccius productus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 37 (1): 41-48.
- Fouda, M.M., M.Y. Hanna y F.M. Fouda. 1993. Reproductive biology of a red sea goby, *Silhouettea aegyptia*, and a Mediterranean goby, *Pomatochistus marmoratus*, in Lake Timsah, Suez Canal. *J. Fish Biol.*, 43: 139-151.
- Fox, P.J. 1978. Preliminary observations on different reproduction strategies in the bullhead (*Cottus gobio* L.) in northern and southern England. *J. Fish Biol.*, 12: 5-11.
- Francis, R.I.C.C. y D.C. Smith. 1995. Mean length, age, and otolith weight as potential indicators of biomass depletion for orange roughy, *Hoplostethus atlanticus*. *N. Z. J. Mar. Freshwater Res.*, 29: 581-587.
- Francour, P. y J.G. Harmelin. 1988. Check-list of Port-Cros marine fishes (Western Mediterranean Sea). *Trav. Sci. Parc. Natl. Port. Cros.*, 14: 65-79.
- Franquet, F. y A. Brito. 1995. *Especies de interés pesquero en Canarias*. Consejería de Pesca y Transporte, Gobierno de Canarias. Santa Cruz de Tenerife: 143 pp.
- Freon, P., M. El Khattabi, J. Mendoza y R. Guzmán. 1997. Unexpected reproductive strategy of *Sardinella aurita* off the coast of Venezuela. *Mar. Biol.*, 128: 363-372.
- Fulton, T.W. 1898. On the growth and maturation of the ovarian eggs of teleostean fishes. *Rep. Fish. Bd. Scotl.*, 16 (3): 83-134.

BIBLIOGRAFÍA

G

- García-Cagide, A., R. Claro y B.V. Koshelev. 1983. Several aspects of the reproductive cycles of marine fish from different latitudes. *Rep. Invest. Inst. Oceanol. Acad. Cienc. Cuba*, 21: 1-14 p.
- García del Moral, R. 1993. *Laboratorio de anatomía patológica*. Edit. Interamericana de España, Div. McGraw-Hill. Madrid: 665 pp.
- Gartner, J.V. 1993. Patterns of reproduction in the dominant lanternfish species (Pisces: Myctophidae) of the eastern Gulf of Mexico, with a review of reproduction among tropical-subtropical Myctophidae. *Bull. Mar. Sci.*, 52 (2): 721-750.
- George, M.R. 1995. Aspects of the reproductive cycle of southern Pacific jack mackerel, *Trachurus picturatus murphyi* Nichols, 1920, off Northern coast of Chile. *ICES CM 1995/H*: 30: 12 pp.
- Ginzburg, A.S. 1968. Fertilization in fishes and the problem of polyspermy. Edit. Nauka. Moscow: 359 pp.
- González, J.A. 1991a. *Biología y pesquería de la Vieja, Sparisoma (Euscarus) cretense (Linnaeus, 1758) (Osteichthyes, Scaridae), en las Islas Canarias*. Tesis Doctoral. Facultad de Biología, Universidad de La Laguna: 456 pp.
- González, J.A. 1991b. Description générale des pêcheries artisanales aux Îles Canaries. En: *La Recherche Face à la Pêche Artisanale, Symposium International ORSTOM-IFREMER*, t. I: 365-370. Durand, J.R., J. Lemoalle y J. Weber (eds.). ORSTOM. Paris.
- González, J.A. e I.J. Lozano. 1992. Determinación de curvas de madurez sexual en la vieja, *Sparisoma (Euscarus) cretense* (L.) (Osteichthyes, Scaridae), de Canarias. *Bol. Inst. Esp. Ocenogr.*, 8 (2): 271-297.
- González, J.A., I.J. Lozano, J. Carrillo, M.A. Caldentey y J.I. Santana. 1990. Época de puesta de ocho espáridos en las islas Canarias. En: *VI Simposio Ibérico del Bentos Marino*: 313-320. Bilbilis. Palma de Mallorca.
- González, J.A., J.I. Santana y J. Carrillo. 1991. *La pesca en el puerto de Mogán (Islas Canarias): flota, artes y análisis de las capturas entre 1980 y 1990*. Informe Técnico del Centro de Tecnología Pesquera (Pesquerías). Cabildo Insular de Gran Canaria. Telde (Las Palmas): 32 pp.
- González, J.A., J. Carrillo y J.I. Santana. 1992. *La pesca en el puerto de Mogán (Islas Canarias): análisis de las capturas en 1991*. Informe Técnico del Centro de Tecnología Pesquera (Pesquerías). Cabildo Insular de Gran Canaria. Telde (Las Palmas): 35 pp.

- González, J.F., C.L. Hernández, P. Marrero y E.J. Rapp. 1993. *Peces de Canarias. Guía Submarina*. Edit. Francisco Lemus. La Laguna: 223 pp.
- González de Canales, M.L., M. Blanco y M.C. Sarasquete. 1992. Carbohydrate and protein histochemistry during oogenesis in *Halobatrachus didactylus* (Schneider, 1801) from de Bay of Cadix (Spain). *Histochem. J.*, 24: 337-344.
- Gordo, L.S. 1995. Gametogenesis in *Boops boops* (L., 1758). *Bol. Inst. Port. Invest. Marít.*, 1: 79-91.
- Grau, A., S. Crespo, F. Riera, S. Pou y M.C. Sarasquete. 1996. Oogenesis in the amberjack *Seriola dumerili* Risso, 1810. An histological, histochemical and structural study of oocyte development. *Sci. Mar.*, 60: 391-406.
- Grier, H.J. 1981. Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. *Amer. Zool.*, 21: 345-357.
- Grier, H.J. 1992. Chordate testis: the extracellular matrix hypothesis. *J. Exp. Zool.*, 261: 151-160.
- Grier, H.J. 1993. Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier. En: *The sertoli cell: 703-739*. Russell, L.D. y M.D. Griswold (eds.). Cache River Press. Florida.
- Grier, H.J. y L.R. Parenti. 1994. Reproductive biology and systematics of phallostethid fishes as revealed by gonad structure. *Environ. Biol. Fish.*, 41: 287-299.
- Grier, H.J., J.R. Linton, J.F. Leatherland y V.L. DeVlaming. 1980. Structural evidence for two different testicular types in teleost fishes. *Am. J. Anat.*, 159: 331-345.
- Grier, H.J., D.P. Moody y B.C. Cowell. 1990. Internal fertilization and sperm morphology in the brook silverside, *Labidesthes sicculus* (Cope). *Copeia 1990*: 221-226.
- Groman, D.B. 1982. Reproductive system. En: *Histology of the stripped bass*. Vol. III: 53-58. Groman, D.B. (ed.). American Fisheries Society. Bethesda, Maryland.
- Grunwaldt, 1986. Contribución al conocimiento de la fecundidad y el carácter del desove de la merluza (*Merluccius hubbsi*). *Publ. Com. Téc. Mix. Fr. Mar.*, 1 (1): 66-74.
- Guan, T.L. y B.A. Afzelius. 1991. The spermatozoon of the Chinese bitterling, *Rhodeus sericeus sinensis* (Cyprinidae, Teleostei). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 23 (3): 351-356.

BIBLIOGRAFÍA

- Gutiérrez, M. 1967. Coloración histológica para ovarios de peces, crustáceos y moluscos. *Inv. Pesq.*, 31 (2): 265-363.
- Gwo, J.C. 1995. Ultrastructural study of osmolarity effect on spermatozoa of three marine teleosts. *Tissue Cell*, 27 (5): 491-497.
- Gwo, J.C. y H.H. Gwo. 1993. Spermatogenesis in the black porgy, *Acanthopagrus schlegeli* (Teleostei: Perciformes: Sparidae). *Mol. Reprod. Develop.*, 36: 75-83.
- Gwo, J.C., H.H. Gwo, Y.S. Kao, B.H. Lin y H. Shih. 1994. Spermatozoa ultrastructure of two species of grouper *Epinephelus malabaricus* and *Plectropomus leopardus* (Teleostei, Perciformes, Serranidae) from Taiwan. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 26: 131-136.
- Gwo, J.C., Y.S. Kao, X.W. Lin, S.L. Chang y M.S. Su. 1995. The ultrastructure of milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal) spermatozoon (Teleostei, Gonorynchiformes, Chanidae). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 27: 99-104.

H

- Han, D., J. Hu y F. Hong. 1996. Comparative studies on the feeding habit and digestive organs of *Siniperca* fishes of Lushui Reservoir. *J. Fish. China Shuichan Xuebao*, 20 (2): 97-103.
- Hastings, P.A. 1981. Gonad morphology and sex succession in the protogynous hermaphrodite *Hemanthias vivanus* (Jordan and Swain). *J. Fish Biol.*, 18: 443-454.
- Hastings, P.A. y S.A. Bortone. 1980. Observations on the life history of the belted sandfish, *Serranus subligarius* (Serranidae). *Environ. Biol. Fish.*, 5 (4): 365-374.
- Hay, D.E., D.N. Outram, B.A. Mckeown y M. Hurlburt. 1987. Ovarian development and oocyte diameter as maturation criteria in Pacific herring (*Clupea harengus pallasii*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 45 (8): 1496-1502.
- Hoar, 1969. Reproduction. En: *Fish physiology*. Vol. III: 1-72. Hoar, W.S. y D.J. Randall (eds.). Academic Press, New York.
- Hoar, W.S., D.J. Randall y E.M. Donaldson (eds.). 1983. *Fish physiology*. Vol. IX (part B). Academic Press. New York: 477 pp.
- Holden, M.J. y D.F.S. Raitt. 1975. Manual de ciencia pesquera. Parte 2. Métodos para investigar los recursos y su aplicación. *Doc. Téc. FAO Pesca*, 115 (rev. 1): 1-214.

- Horwood, J.W. y M. Greer Walker. 1990. Determinacy of fecundity in sole (*Solea solea*) from the Bristol Channel. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 70: 803-813.
- Howell, W.H. 1983. Seasonal changes in the ovaries of adult yellowtail flounder, *Limanda ferruginea*. *Fish. Bull.*, 81 (2): 341-355.
- Hunter, J.R. 1985. Preservation of Northern anchovy in formaldehyde solution. En: *An egg production method for estimating spawning biomass of pelagic fishes: application to the Northern anchovy, Engraulis mordax*: 63-65. Lasker, R. (ed.). *NOAA Tech. Rep. NMFS*, 36. Washington.
- Hunter, J.R. y R. Goldberg. 1980. Spawning incidence and batch fecundity in Northern anchovy *Engraulis mordax*. *Fish. Bull.*, 77 (3): 641-652.
- Hunter, J.R. y N.C.H. Lo. 1997. The daily egg production method of biomass estimation: some problems and potential improvements. *Ozeanografika*, 2: 41-69.
- Hunter, J.R. y B.J. Macewicz. 1980. Sexual maturity, batch fecundity, spawning frequency and temporal pattern in the Northern anchovy, *Engraulis mordax*, during the 1979 spawning season. *Cal. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.*, 21: 139-149.
- Hunter, J.R. y B.J. Macewicz. 1985a. Measurement of spawning frequency in multiple spawning fishes. En: *An egg production method for estimating spawning biomass of pelagic fishes: application to the Northern anchovy, Engraulis mordax*: 79-94. Lasker, R. (ed.). *NOAA Tech. Rep. NMFS*, 36. Washington.
- Hunter, J.R. y B.J. Macewicz. 1985b. Rates of atresia in the ovary of captive and wild anchovy, *Engraulis mordax*. *Fish. Bull.*, 83 (2): 119-136.
- Hunter, J.R., N.C.R. Lo y R.J.H. Arnold. 1985. Batch fecundity in multiple spawning fishes. *NOAA Tech. Rep. NMFS*, 36: 66-77.
- Hunter, J.R., B.J. Macewicz y J.R. Sibert. 1986. The spawning frequency of skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*, from the south Pacific. *Fish. Bull.*, 84 (4): 895-903.
- Hunter, J.R., B.J. Macewicz y C.A. Kimbrell. 1989. Fecundity and other aspects of the reproduction of sablefish, *Anoplopoma fimbria*, in central California waters. *Rep. CCOFI*, 30: 61-72.
- Hunter, J.R., B.J. Macewicz, N.C.H. Lo y C.A. Kimbrell. 1992. Fecundity, spawning, and maturity of female Dover sole *Microstomus pacificus*, with an evaluation of assumptions and precision. *Fish. Bull.*, 90 (1): 101-128.

BIBLIOGRAFÍA

- Hsiau, H.M., M.S. Greerley y R.A. Wallace. 1994. Reproductive cycling in female *Fundulus heteroclitus*. *Biol. Bull.*, 186: 271-84.
- Hyllner, S.J. 1994. *Vitelline envelope proteins in teleost fish*. Doctoral Thesis, Department of Zoophysiology, University of Göteborg: 47 pp.

I

- Isaac-Nahum, V.J. 1981. *Biología reproductiva de Micropogonias furnieri (Demarest, 1823) (Teleostei: Sciaenidae)*. Tese de Maestrado. Inst. Ocean. da Universidade de São Paulo: 157 pp.
- Isaac-Nahum, V.J., R. de D. Cardoso, G. Servo y C.L. del B. Rossi-Wongschowski. 1985. Some aspects of the spawning biology of the Brazilian sardine, *Sardinella brasiliensis* (Clupeidae). *ICES C.M.* 1985/H: 63. Pelagic Fish Comm. 12 pp.
- Isidro, E.J. 1996. *Biology and population dynamics of selected demersal fish species of the Azores Archipelago*. Tesis Doctoral. Universidad de Liverpool: 249 pp.
- Iwamatsu, T., T. Ohta, E. Oshima y N. Sakai. 1988. Oogenesis in the medaka *Oryzias latipes* - stages oocyte development. *Zool. Sci.*, 5: 353-373.

J

- Jamieson, B.G.M. 1991. *Fish evolution and systematics: evidence from spermatozoa*. University Press. Cambridge: 319 pp.
- Jiménez, S. 1997. *Taxonomía, biología y pesca de las especies de la familia Muraenidae (Osteichthyes, Anguilliformes) en las islas Canarias*. Tesis Doctoral. Facultad de Biología, Universidad de La Laguna: 676 pp.
- June, F.C. 1953. Spawning of yellowfin tuna in Hawaiian waters. *Fish. Bull.*, 54: 47-64.

K

- Karlou-Riga, C. y P.S. Economidis. 1996. Ovarian atretic rates and sexual maturity of European horse mackerel, *Trachurus trachurus* (L.), in the Saronikos Gulf (Greece). *Fish. Bull.*, 94 (1): 66-76.
- Karlou-Riga, C. y P.S. Economidis. 1997. Spawning frequency and batch fecundity of horse mackerel, *Trachurus trachurus* (L.), in the Saronikos Gulf (Greece). *J. Appl. Ichthyol.*, 13: 97-104.

- Kartas, F. y J.P. Quignard. 1984. *La fécondité des poissons téléostéens*. Edit. Mason, Coll. Biol. Milieux Marins, vol. 5. Paris: 121 pp.
- Khoo, K.H. 1979. The histochemistry and endocrine control of vitellogenesis in goldfish ovaries. *Can. J. Zool.*, 57: 617-626.
- Kjesbu, O.S. y H. Kryvri. 1989. Oogenesis in cod, *Gadus morhua* L., studied by light and electron microscopy. *J. Fish. Biol.*, 34: 735-746.
- Koch, R.A. y C.C. Lambert. 1990. Ultrastructure of sperm, spermiogenesis, and sperm-egg interactions in selected invertebrates and lower vertebrates which use external fertilization. *J. Electron. Microsc. Tech.*, 16: 115-154.
- Koslow, J.A., J. Bell, P. Virtue§ y D.C. Smith. 1995. Fecundity and its variability in orange roughy: effects of population density, condition, egg size, and senescence. *J. Fish Biol.*, 47: 1063-1080.
- Koya, Y., K. Takano y H. Takahashi. 1995. Annual changes in fine structure of inner epithelial lining of the ovary sculpin, *Alcichthys alcicornis* (Teleostei: Scorpaeniformes), with internal gametic association. *J. Morphol.*, 223 (1): 85-97.
- Krug, E. 1990. The Azorean blackspot seabream, *Pagellus bogaraveo* (Brünnich, 1768) (Teleostei, Sparidae). Reproductive cycle, hermaphroditism, maturity and fecundity. *Cybium*, 14 (2): 151-159.
- Kwok, K.Y. e I.H. Ni. 1999. Reproduction of cutlassfishes *Trichiurus spp.* from the South China Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 176: 39-47.

L

- Labropoulou, M., G. Tserpes y N. Tsimenides. 1998. Age, growth and feeding habits of the brown comber *Serranus hepatus* (Linnaeus, 1758) on the Cretan shelf. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 46: 723-732.
- Lahnsteiner, F. y R.A. Patzner. 1990. Spermiogenesis and structure of mature spermatozoa in blennioid fishes (Pisces, Blenniidae). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 22: 565-576.
- Lahnsteiner, F. y R.A. Patzner. 1995. Fine structure of spermatozoa of two marine teleost fishes, the red mullet, *Mullus barbatus* (Mullidae) and the white sea bream, *Diplodus sargus* (Sparidae). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 27: 259-266.
- Lahnsteiner, F. y R.A. Patzner. 1996. Fine structure of spermatozoa of three teleost fishes of the Mediterranean sea: *Trachinus draco* (Trachinidae, Perciformes), *Uranoscopus scaber* (Uranoscopidae, Perciformes) and *Synodon saurus* (Synodontidae, Aulopiformes). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 28: 297-303.

BIBLIOGRAFÍA

- Lahnsteiner, F., B. Berger, T. Weismann y R.A. Patzner. 1997. Sperm structure and motility of the freshwater teleost *Cottus gobio*. *J. Fish Biol.*, 50: 564-574.
- Landry, J. e I.H. McQuinn. 1988. Guide to microscopic and macroscopic identification of the sexual maturity stages of the Atlantic herring (*Clupea harengus harengus* L.). *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.*, 1655: 1-71.
- Laroche, J.L. y S. Richardson, 1980. Reproduction of Northern anchovy, *Engraulis mordax*, off Oregon and Washington. *Fish. Bull.*, 78 (3): 603-618.
- Larrañeta, M.G. 1970. Sobre la alimentación, la madurez sexual y la talla de primera captura de *Merluccius merluccius* (L.). *Inv. Pesq.*, 34: 267-280.
- Leal, R. y R. Cano. 1995. *Contribución al conocimiento de la biología de la ictiofauna litoral asociada a fondos de fanerógamas marinas (familias Labridae, Scorpaenidae, Serranidae, Sparidae) del sureste Ibérico*. Informe del Instituto de Cultura Juan Gil-Albert: 107 pp.
- Lehodey, P., R. Grandperrin y P. Marchal. 1997. Reproductive biology and ecology of a deep-demersal fish, alfonsino *Beryx splendens*, over the seamounts off New Caledonia. *Mar. Biol.*, 128: 17-27.
- Lejeune, P, J.M. Boveroux y J. Voss. 1980. Observation du comportement reproducteur de *Serranus scriba* Linné (Pisces, Serranidae), poisson hermaphrodite synchrone. *Cybiurn*, 10 (3): 73-80.
- Llinás, O., M.J. Rueda y E. Pérez-Martel. 1993. Variabilidad de parámetros oceanográficos en aguas de Canarias. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 9 (1): 89-100.
- Llinás O., M.J. Rueda y E. Pérez-Martell. 1994. Características termohalinas y nutrientes en aguas de las plataformas insulares canarias a finales de primavera. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 10 (2): 177-189.
- Lønning, S. 1972. Comparative electron microscopic studies of teleostean eggs with special reference to the chorion. *Sarsia*, 49: 41-48.
- López de León, E., D. Pagano y N. Norbis. 1992. Análisis cuantitativo en ovarios de peces teleósteos y su aplicación en *Micropogonias furnieri* (Demarest, 1823) (Pisces: Sciaenidae). *Sci. Mar.*, 56 (4): 301-308.

- Lorenzo, J.M. 1992. *Crecimiento de la caballa Scomber japonicus (Houttuyn, 1782) en aguas del archipiélago canario*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria: 199 pp.
- Lorenzo, J.M. y J.G. Pajuelo. 1995. Population biology of the roudi escolar *Promethichthys prometheus* (Gempylidae) off the Canary Islands. *Sci. Mar.*, 59 (3-4): 235-240.
- Lorenzo, J.M. y J.G. Pajuelo. 1999. Biology of a deep benthopelagic fish, roudi escolar *Promethichthys prometheus* (Gempylidae) off the Canary Islands. *Fish Bull.*, 97 (1): 92-99.
- Lourinho, P.C. y R.S. Santos. 1998. Reprodução da garoupa dos Açores (*Serranus atricauda*) En: *Resúmenes del III Simpósio Fauna e Flora das Ilhas Altânticas*: 203. Tavares, J.C. (ed.). Universidade dos Açores.
- Lozano, I.J., M.A. Caldentey, J.A. González, J. Carrillo y J.I. Santana. 1990a. Talla de primera madurez sexual de seis espáridos de interés en Canarias. *Inf. Téc. Inst. Esp. Oceanogr.*, 84: 30 pp.
- Lozano, G., J.I. Santana, J.A. González, I.J. Lozano, J. Carrillo, M.A. Caldentey, S. Jiménez, M. Fanlo, C.M. Hernández, F. Lozano Soldevilla y A. Brito. 1990b. Metodología y resultados de campañas de pesca experimental con nasas en las Islas Canarias (Proyecto 17/30.04.86). En: Bentos VI, *Actas del VI Simposio Ibérico de Estudios del Bentos Marino*: 335-344. Edit. Bilbilis, Palma de Mallorca.
- Lozano y Rey, L. 1952. Peces fisoclistos, Subserie torácicos. *Mems. R. Acad. Cienc. Exact. Fis. Nat. Madr., ser.: Cienc. Nat.*, Segunda parte, 14: 379-705.
- Lowerre-Barbieri, S.K. y L.R. Barbieri. 1993. A new method of oocyte separation and preservation for fish reproduction studies. *Fish. Bull.*, 91 (1): 165-170.
- Lowerre-Barbieri, S.K., M.E. Chittenden, Jr. y L.R. Barbieri. 1996a. Variable spawning activity and fecundity of weakfish in Chesapeake Bay. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 125: 532-545.
- Lowerre-Barbieri, S.K., M.E. Chittenden, Jr. y L.R. Barbieri. 1996b. The multiple spawning pattern of weakfish in the Chesapeake Bay and Middle Atlantic Bight. *J. Fish Biol.*, 48: 1139-1163.

BIBLIOGRAFÍA

M

- Macer, C.T. 1974. The reproductive biology of horsemackerel, *Trachurus trachurus* (L.), in the North Sea and English Channel. *J. Fish Biol.*, 6: 415-38.
- Macpherson, E. 1977. *Estudios sobre las relaciones tróficas en peces bentónicos de la costa catalana*. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona: 336 pp.
- Mann, B.Q. y C.D. Buxton. 1998. The reproductive biology of *Diplodus sargus capensis* and *D. cervinus hottentotus* (Sparidae) off the south-east cape coast, South Africa. *Cybium*, 22 (1): 31-47.
- Martoja, R. y M. Martoja-Pierson. 1967. *Initiation aux techniques de l'histologie animal*. Masson, Paris: 345 pp.
- Martoja, R. y M. Martoja-Pierson. 1970. *Técnicas de Histología Animal*. Edit. Toray-Masson. Barcelona: 350 pp.
- Marza, V.D. 1938. *Histophysiologie de l'ovogenèse*. Edit. Hermann. Paris: 81 pp.
- Matsuyama, M., S. Matsura, Y. Ouchi y T. Hidaka. 1987. Maturity classification and group maturity of the red sea bream *Pagrus major*. I. Female maturity. *Mar. Biol.*, 96: 163-168.
- Mattei, C. y X. Mattei. 1974. Spermatogenesis and spermatozoa of the Elopomorpha (teleost fish). En: *The functional anatomy of the spermatozoon*: 211-221. Afzelius, B.A. (ed.). Pergamon Press. Oxford.
- Mattei, X. y O.T. Thiaw. 1993. Acrosome-like structures in the spermatozoa of teleost fishes. *Can. J. Zool.*, 71 (5): 883-888.
- Mattei, X., Y. Siau, O.T. Thiaw y D. Thiam. 1993. Peculiarities in the organization of testis of *Ohipion* sp. (Pisces Teleostei). Evidence for two types of spermatogenesis in teleost fish. *J. Fish Biol.*, 43: 931-937.
- Mattei, X. 1970. Spermioygenèse comparée des poissons. En: *Comparative spermatology*: 57-69. Baccetti, B. (ed.). Academic Press. London.
- Mattei, X. 1991. Spermatozoon ultrastructure and its systematic implications in fishes. *Can. J. Zool.*, 69: 3038-3055.
- Mayer, I., S.E. Shackley y J.S. Ryland. 1988. Aspects of the reproductive biology of the bass, *Dicentrarchus labrax* L. I. An histological and histochemical study of oocyte development. *J. Fish Biol.*, 33: 609-622.

- Mayer, I., S.E. Shackley y P.R. Witthames. 1990. Aspects of the reproductive biology of the bass, *Dicentrarchus labrax* L. II. Fecundity and pattern of oocyte development. *J. Fish Biol.*, 36: 141-148.
- McQuinn, I.H. 1989. Identification of spring- and autumn-spawning herring (*Clupea harengus harengus*) using maturity stages assigned from a gonadosomatic index model. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 46: 969-980.
- Melo, Y.C. 1994a. Multiple spawning of the anchovy *Engraulis capensis*. *S. Afr. J. mar. Sci.*, 14: 313-319.
- Melo, Y.C. 1994b. Spawning frequency of the anchovy *Engraulis capensis*. *S. Afr. J. mar. Sci.*, 14: 321-331.
- Morato, T. 1995. *Ecologia alimentar de Serranus atricauda* (Günther, 1874) dos Açores. Relatório de Estágio do Curso de Licenciatura em Biologia Marinha e Pescas. Universidade do Algarve, Faro: 64 pp.
- Moreno-López, A., M.M. García-Díaz, J.A. González y V.M. Tuset (en revisión). Gonadal morphologic changes during the reproductive cycle of a marine teleost *Lepidopus caudatus* (Osteichthyes, Trichiuridae). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*
- Moreno-López, A., V.M. Tuset, J.A. González y M.M. García-Díaz (en revisión). Feeding ecology of *Serranus scriba* (Osteichthyes, Serranidae) in the marine reserve of Lanzarote (Canary Islands). *Bocagiana*.
- Morin, R.P. y K.W. Able. 1983. Patterns of geographic variation in the egg morphology of the fundulid fish, *Fundulus heteroclitus*. *Copeia*, 1983: 726-740.
- Moser, H.G. 1967. Seasonal histological changes in the gonads of *Sebastes paucispinis* Ayres, an ovoviviparous teleost (Familia Scorpaenidae). *J. Morphol.*, 123: 329-354.
- Munehara H., Y. Koya, Y. Hayakawa y K. Takano. 1997. Extracellular environments for the initiation of external fertilization and micropylar plug formation in a cottid species, *Hemitripterus villosus* (Pallas) (Scorpaeniformes) with internal insemination. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 211: 279-289.
- Murua, H., L. Motos y P. Lucio. 1998. Reproductive modality and batch fecundity of the European hake (*Merluccius merluccius* L.) in the Bay of Biscay. *CalCOFI Rep.*, 39: 196-203.

BIBLIOGRAFÍA

Munehara H., Koya Y., Hayakawa Y. y K. Takano. 1997. Extracellular environments for the initiation of external fertilization and micropylar plug formation in a cottid species, *Hemitripterus villosus* (Pallas) (Scorpaeniformes) with internal insemination. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 211:279-289.

N

Nagahama, Y. 1983. The functional morphology of teleosts gonads. En: *Fish physiology*. vol. IX (Part A): 223-275. Hoar, W.S., D.H. Randall y E.M. Donaldson (eds.). Academic Press. New York.

Nagahama, Y. 1986. Testis. En: *Vertebrate endocrinology: fundamentals and biomedical implications*. Vol. I: 399-437. Pang, P.K.T. y M.P. Schreibman (eds.). Academic Press. New York.

Nagahama, Y. 1994. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *Int. J. Dev. Biol.*, 38: 217-229.

Nagahama, Y., M. Yoshikuni, M. Yamashita, N. Sakai y M. Tanaka. 1993. Molecular endocrinology of oocyte growth and maturation in fish. *Fish Physiol. Biochem.*, 11(1-6): 3-14.

N'Da, K. y C. Déniel. 1993. Sexual cycle and seasonal changes in the ovary of the red mullet, *Mullus surmuletus*, from the southern coast of Brittany. *J. Fish Biol.*, 43: 229-244.

Nelson, J.J. 1994. *Fishes of the world*. J. Wiley & Sons. 3rd edit. New York: 600 pp.

Nieland, D.L. y Wilson, C.A. 1993. Reproductive biology and annual variation of reproductive variables of black drum in the Northern Gulf of Mexico. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 122: 318-327.

O

Obando, E. y J.R. León. 1989. Reproducción del bolo, *Diplectrum formosum* (Linnaeus, 1766) (Pisces: Serranidae) en Punta Mosquito, Isla Margarita, Venezuela. *Sci. Mar.*, 53 (4): 771-777.

Oliver, G., Y. Pichot y P. Pichot. 1980. Contribution à l'étude des serrans, *Serranus* Cuvier, 1817 (Pisces, Serranidae) de la réserve naturelle marine de Cerbère-Banyuls (Pyrénées-Orientales, France). *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, 44 (3): 213-219.

P

- Pajuelo, J.M. 1997. *La pesquería artesanal canaria de especies demersales: análisis y ensayo de dos modelos de evaluación*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria: 347 pp.
- Pajuelo, J.M. y J.M. Lorenzo. 1994. Parámetros biológicos del besugo *Pagellus acarne* (Pisces: Sparidae) en Gran Canaria (islas Canarias). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 10 (2): 155-164.
- Pajuelo, J.A y J.M. Lorenzo. 1995. Biological parameters reflecting the current state of the exploited pink dentex *Dentex gibbosus* (Pisces: Sparidae) population off the Canary Islands. *S. Afr. J. mar. Sci.*, 16: 311-319.
- Pajuelo, J.M. y J.M. Lorenzo. 1996. Life history of red porgy *Pagrus pagrus* (Teleostei: Sparidae) in the Canary Islands, central-east Atlantic. *Fish. Res.*, 28: 163-177.
- Paloheimo, J.E. y E. Cadima. 1964. Excerpts from "On statistics of mesh selection". *ICNAF Ann. Meet.* June 1964. Doc. 98.
- Paniagua, R. y M. Nistal. 1983. *Introducción a la histología animal comparada*. Edit. Labor, Barcelona: 438 pp.
- Patino, R., K.B. Davis, J.E. Schoore, C. Uguz, C.A. Struessmann, N.C. Parker, B.A. Simco y C.A. Goudie. 1996. Sex differentiation of channel catfish gonads: Normal development and effects of temperature. *J. Exp. Zool.*, 276 (3): 209-218.
- Pavlov, D.A., P. Knudsen, N.G. Emel'yanova y E. Moksness. 1997. Spermatozoon ultrastructure and sperm production in wolffish (*Anarchias lupus*), a species with internal fertilization. *Aquat. Living Resour.*, 10: 187-194.
- Pérez-Barroso, F.I., S. Jiménez, I.J. Lozano, J.A. González y J.I. Santana. 1993. Estudio preliminar de la pesquería artesanal de *Serranus atricauda* Günther, 1874 y de *Serranus cabrilla* (Linnaeus, 1758) (Osteichthyes, Serranidae) en el archipiélago canario. *Publ. Espec. Inst. Esp. Oceanogr.*, 11: 365-373.
- Pérez Contreras, N., I. Figueiredo y N.C.H. Lo. 1992a. Batch fecundity of *Sardina pilchardus* (Walb.) off the Atlantic Iberian coast. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 8 (1): 155-162.
- Pérez Contreras, N., I. Figueiredo y B.J. Macewicz. 1992b. The spawning frequency of sardine, *Sardina pilchardus* (Walb.) off the Atlantic Iberian coast. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.*, 8 (1): 175-189.

BIBLIOGRAFÍA

- Pérez Contreras, N. y C. Porteiro. 1990. Preliminary results of a histological study the gonad of the Southern horses mackerel (*Trachurus trachurus* L.) stock. En: *The mackerel/horse mackerel egg production workshop*. Centro Oceanográfico de Vigo. Vigo: 8 pp.
- Pertierra, J.P. 1992. *Biología pesquera de la anchoa, Engraulis encrasicolus, del litoral catalán*. Tesis Doctoral. Facultad de Biología, Universidad Politécnica de Cataluña: 281 pp.
- Petersen, C.W. 1990. Variation in reproductive success and gonadal allocation in the simultaneous hermaphrodite, *Serranus fasciatus*. *Oecologia*, 83: 62-67.
- Petersen, C.W. y E.A. Fischer. 1986. Mating system of the hermaphroditic coral-reef fish, *Serranus baldwini*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 19: 171-178.
- Pizarro, M. 1985. *Peces de Fuerteventura*. Consejería de Agricultura y Pesca. Gobierno de Canarias: 183 pp.
- Polder, J.J.W. 1961. Cyclical changes in testis and ovary related to maturity stages in the North sea herring (*Clupea harengus*). *Arch. Neerland. Zool.*, 14 (1): 45-60.
- Pope, J.A., A.R. Margetts, J.M. Hamley y E.F. Akyuz. 1983. Manual de métodos para la evaluación de las poblaciones de peces. Parte 3. Selectividad del arte de pesca. *FAO Doc. Téc. Pesca*, 41(rev. 1): 56 pp.
- Pusey, B.J. y T. Steward. 1989. Internal fertilization in *Lepidogalaxias salamandroides* Mees (Pisces: Lepidogalaxiidae). *Zool. J. Linn. Soc.*, 97: 69-79.

R

- Ramos, J. 1983. Contribución al estudio de la oogénesis en el lenguado, *Solea solea* (Linneo, 1758) (Pisces, Soleidae). *Inv. Pesq.*, 47 (2): 241-251.
- Reinboth, R. 1962. Morphologische und funktionelle Zweigeschlechtlichkeit bei marinen Teleostiern (Serranidae, Sparidae, Centracanthidae, Labridae). *Zool. Jahrb. Physiol.*, 69: 409-480.
- Reinboth, R. 1970. Intersexuality in fishes. *Mem. Soc. Endocrinol.*, 18: 515-543.

- Render, J.H. y C.A. Wilson. 1992. Reproductive biology of sheepshead in the Gulf of Mexico. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 121: 757-764.
- Reynolds, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 17: 208-212.
- Rideout, R.M., D.M. Maddock y P.M. Burton. 1999. Oogenesis and the spawning in Greenland halibut from the North-west Atlantic. *J. Fish Biol.*, 54 (1): 196-207.
- Rico, V., M.M. García-Díaz, V.M. Tuset, J.A. González y J.I. Santana. 1996. Régimen alimentario de los *Serranus* (Osteichthyes, Serranidae) en Canarias. Resultados preliminares. En: *IX Simposio Ibérico de Estudios del Bentos Marino*: 108-109. Viéitez, J.M. y J. Junoy (eds.). Universidad de Alcalá de Henares.
- Robb, A.P. 1982. Histological observations on the reproductive biology of the haddock, *Melanogrammus aeglefinus* (L.). *J. Fish Biol.*, 20: 397-408.
- Robins, C.R. y W.A. Starck. 1961. Materials for revision of *Serranus* and related fish genera. *Proc. Acad. Nat. Sci. Philad.*, 113 (11): 259-314.
- Rojo, A.L. 1988. Diccionario enciclopédico de anatomía de peces. *Monogr. Inst. Esp. Oceanogr.*, 3: 566 p.

S

- Sadovy, Y.J. 1996. Reproduction of reef fishery species. En: *Reef Fisheries*. Vol. II: 15-59. Polunin, N.V.C. y C.M. Roberts (eds.). Chapman & Hall. London.
- Sadovy, Y.J. y P.L. Colin. 1995. Sexual development and sexuality in the Nassau grouper. *J. Fish Biol.*, 46: 961-976.
- Sadovy, Y.J., A. Rosario y A. Román. 1994. Reproduction in an aggregating grouper, the red hind, *Epinephelus guttatus*. *Environ. Biol. Fish.*, 41: 269-286.
- Saidapur, S.K. 1978. Follicular atresia in the ovaries of non-mammalian vertebrates. *Int. Rev. Cytol.*, 54: 225-243.
- Sarasquete, M.C., A. Polo, E. Pascual y M. Yúfera. 1993. Histochemistry of proteins, lipids and carbohydrates in the yolk of oocytes, eggs and larvae of seabream, *Sparus aurata*. En: *Fish larval Physiology and Biochemistry*: 309-314. Walther, B.T. y H.J. Fyhn (eds.). European Aquaculture Society. Bergen.

BIBLIOGRAFÍA

- Selman, K. y R.A. Wallace. 1983. Oogenesis in *Fundulus heteroclitus*. III. Vitellogenesis. *J. Exp. Zool.*, 226: 441-457.
- Selman, K. y R.A. Wallace. 1986. Gametogenesis in *Fundulus heteroclitus*. *Am. Zool.*, 26: 173-192.
- Selman, K. y R.A. Wallace. 1989. Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. *Zool. Sci.*, 6: 211-231.
- Selman, K., R.A. Wallace y V. Barr. 1986. Oogenesis in *Fundulus heteroclitus* IV. Yolk-vesicle formation. *J. Exp. Zool.*, 239: 277-288.
- Selman, K., R.A. Wallace y V. Barr. 1988. Oogenesis in *Fundulus heteroclitus* V. The relationship of yolk-vesicle and cortical alveoli. *J. Exp. Zool.*, 246: 42-56.
- Selman, K., R.A. Wallace, A. Sarka y X. Qi. 1993. Stages of oocyte development in the zebrafish, *Brachydanio rerio*. *J. Morphol.*, 218: 203-224.
- Shackley, S.E. y P.E. King. 1977. Oögenesis in a marine teleost, *Blennius pholis* L. *Cell Tissue Res.*, 181: 105-128.
- Shapiro, D.Y., Sadovy, Y. y A. McGehee. 1993. Size, composition, and spatial structure of the annual spawning aggregation of the red hind, *Epinephelus guttatus* (Pisces: Serranidae). *Copeia*, 1993: 367-374.
- Shashey, S.B. y B.P. Akela. 1996. Determination of maturity and spawning period by gonadosomatic index and measurement of mean ova diameter in certain teleosts. *Environ. Ecol.*, 14 (2): 399-403.
- Siau, Y. y A. Bouain. 1994. Variations in spawning of two species of coastal hermaphrodite fishes, genus *Serranus*, related to their bathymetric distribution. *Oebalia*, 10: 1-20.
- Smith, C.L. 1965. The patterns of sexuality and classification of Serranid fishes. *Am. Mus. Novit.*, 2207: 1-20.
- Smith, C.L. 1981. Serranidae. En: *Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Atlantique centre-est; zones de pêche 34, 47 (en partie)*, vol. I: pág. var. Fischer, W., G. Bianchi y W.B. Scott (eds.). Minis. Pêch. Océans Canada. ONU-FAO. Ottawa.
- Smith, C.L. 1990. Serranidae. En: *Check-List of the Fishes of the Eastern Tropical Atlantic*. Vol. II: 695-706. Quéro, J.C., J.C. Hureau, C. Karrer, A. Post y L. Saldanha (eds.). UNESCO-SEI-JNICT. Portugal.
- Sparre, P. y S.C. Venema. 1995. Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales. Parte 1. Manual. *FAO Doc. Téc. Pesca.*, 306 (rev. 1): 440 pp.

- Sparre, P., E. Ursin y S.C. Venema. 1989. Introduction to tropical fish stock assessment. Part. 1. Manual. *FAO Fish. Tech. Paper*, 306 (1): 337.
- Solemdal, P. 1967. The effect of salinity on buoyancy, size and development of flounder eggs. *Sarsia*, 29: 431-442.
- Stequert, B. y B. Ramcharrum. 1995. La fécondité du listao (*Katsuwomus pelamis*) de l'ouest de l'océan Indien. *Aquat. Living Resour.*, 8: 79-89.

T

- Taborsky, M. 1998. Sperm competition in fish: 'bourgeois' males and parasitic spawning. *Tree*, 13 (6): 222-227.
- Tata, J.R. 1986. Coordinated assembly of the developing egg. *Bioessays*, 4: 197-201.
- Tortonese, E. 1975. Osteichthyes (Pesci Ossei). En: *Fauna d'Italia*. Vol. II: pág var. Edit. Calderini. Bologna: 636 pp.
- Tortonese, E. 1986. Serranidae. En: *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*, vol. II: 780-792. Whitehead, P.J.P., M.L. Bauchot, J.C. Hureau, J. Nielsen y E. Tortonese (eds.). UNESCO. United Kingdom.
- Treasurer, J.W. y F.G.T. Holliday. 1981. Some aspects of the reproductive perch (*Perca fluviates*). A histological description of the reproductive cycle. *J. Fish Biol.*, 18: 359-376.
- Tricas, T.C. y J.T. Hiramoto. 1989. Sexual differentiation, gonad development, and spawning seasonality of the Hawaiian butterflyfish, *Chaetodon multicinctus*. *Env. Biol. Fish.*, 25: 111-124.
- Tucker, J.W. 1994. Spawning by captive serranid fishes: a review. *J. world Aquacult. Soc.*, 25 (3): 345-359.
- Tuset, V.M. 2000. Morfología del otolito *sagitta* y determinación del crecimiento en especies del género *Serranus* (Osteichthyes, Serranidae). Tesis Doctoral. Facultad de Biología, Universidad de La Laguna: 221 pp.
- Tuset, V.M., J.A. González, M.M. García-Díaz y J.I. Santana. 1996. Feeding habits of *Serranus cabrilla* (Serranidae) in the Canary Islands. *Cybium*, 20 (2): 161-167.
- Tuset, V.M., J.A. González, M.M. García-Díaz y J.I. Santana. 1997. Régimen alimentario de *Serranus cabrilla* (Linnaeus, 1758) (Osteichthyes, Serranidae) en el Atlántico oriental y Mediterráneo occidental. *Publ. Espec. Inst. Esp. Oceanogr.*, 23: 181-185.

BIBLIOGRAFÍA

- Tyler, C.R. y J.P. Sumpter. 1996. Oocyte growth and development in teleosts. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 6: 287-318.
- Tyler, C.R., J.P. Sumpter y P.R. Witthames. 1990. The dynamics of oocyte growth during vitellogenesis in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biol. Reprod.*, 43: 202-209.

U

- Uiblein, F., F. Bordes, R. Castillo y A.G. Ramos. 1998. Spatial distribution of shelf- and slope-dwelling fishes collected by bottom longlines off Lanzarote and Fuerteventura, Canary Islands. *Mar. Ecol.*, 19 (1): 53-66.
- Urban, H.J. 1991. Reproductive strategies of North Sea plaice, *Pleuronectes platessa*, and North Sea sole, *Solea solea*: batch spawning cycle and batch fecundity. *Meeresforsch.*, 33: 330-339.

W

- Wallace, R.A. y K. Selman. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Am. Zool.*, 21: 325-343.
- Wallace, R.A., S.M. Boyle, H.J. Grier, K. Selman y T.R. Petrino. 1993. Preliminary observations on oocyte maturation and other aspects of reproductive biology in captive female snook, *Centropomus undecimalis*. *Aquaculture*, 116: 257-273.
- Warner, R.R. 1988. Sex change in fishes: Hypotheses, evidence, and objections. *Env. Biol. Fish.*, 22 (2): 81-90.
- Wilson, C.A. y D.L. Nieland. 1994. Reproductive biology of the red drum, *Sciaenops ocellatus*, from the neritic waters of the Gulf of Mexico. *Fish. Bull.*, 92 (4): 841-850.
- West, G. 1990. Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.*, 41: 199-222.
- Wheeler, A. 1968. *The fishes of the British Isles and North-West Europe*. MacMillan: 613 pp.
- Witthames, P.R. y M. Greer Walker. 1991. Follicular atresia in the ovary of the western mackerel (*Scomber scomber* L.). En: *Proc. Fourth Int. Symp. Reprod. Physiol. Fish*: 328-339. Scott, A.P., J.P. Sumpter, D.E. Kime y M.S. Rolfe (eds.). Sheffield University Press. Sheffield, United Kingdom.

- Witthames, P.R. y M. Greer Walker. 1995. Determinacy of fecundity and oocyte atresia in sole (*Solea solea*) from the Channel, the North Sea and the Irish Sea. *Aquat. Living Resour.*, 8: 91-109.
- Wootton, R.J. 1990. *Ecology of teleost fishes*. Chapman and Hall. London: 404 pp.

Y

- Yamamoto, K. 1956. Studies on the formation of fish eggs. Annual cycle in the development of the ovarian eggs in the flounder, *Liopsetta obscura*. *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ., ser. VI, Zool.*, 12: 362-373.
- Yamamoto, K. y F. Yamazaki. 1961. Rhythm of development in the oocyte of the gold-fish, *Carassius auratus*. *Bull. Fac. Fish.*, 12 (2): 93-110.
- Yao, Z., C.J. Emerson y L.W. Crim. 1995. Ultrastructure of the spermatozoa and eggs of the ocean pout (*Macrozoarces americanus* L.), an internally fertilizing marine fish. *Mol. Reprod. Develop.*, 42: 58-64.
- Yoneda, M., M. Tokimura, H. Fujita, N. Takeshita, K. Takeshita, M. Matsuyama y S. Matsuura. 1998. Ovarian structure and batch fecundity in *Lophiomus setigerus*. *J. Fish Biol.*, 52: 94-106.

Z

- Zamarro, J. 1992. Determination of fecundity in American plaice (*Hippoglossoides platessoides*) and its variation from 1987 to 1989 on tail of the Grand Bank. *Neth. J. Sea Res.*, 29 (1-3): 205-209.
- Zanuy, S. 1977. Inducción a la puesta y estudio de la ovogénesis en un teleosteo marino: *Paracentropristis cabrilla* L. *Inv. Pesq.*, 41: 337-384.
- Zanuy, S. y M. Carrillo. 1973. Estudio histológico del ovario de cabrilla (*Paracentropristis cabrilla*) (L.) en relación con la ovogénesis. *Inv. Pesq.*, 37(1): 147-165.
- Zar, J.H. 1996. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall International, 3rd edit. New Jersey: 662 pp.

Descripción de técnicas histológicas

A

DESCRIPCIÓN DE TÉCNICAS HISTOLÓGICAS

MICROSCOPIA ÓPTICA

Tabla VII-1. Protocolo utilizado en el procesado de muestras.

Procesamiento automático	
Baños	Tiempo
- Etanol 70E a temperatura ambiente	3 horas
- Etanol 90-96E a temperatura ambiente	2 horas
- Etanol 90-96E a temperatura ambiente	2 horas
- Etanol 90-96E a temperatura ambiente	1 hora
- Etanol 100E a temperatura ambiente	1 hora
- Etanol 100E a temperatura ambiente	2 horas
- Etanol 100E a temperatura ambiente	2 horas
- Xileno a temperatura ambiente	½ hora
- Xileno a temperatura ambiente	½ hora
- Xileno a temperatura ambiente	1 hora
- Parafina líquida a 60E C	3 horas
- Parafina líquida a 60E C	4 horas
- Parafina líquida en bomba de vacío a 60E C	2 horas
Tiempo total	24 horas

Tabla VII-2. Protocolo utilizado en la tinción de muestras.

Desparafinado de cortes	
Baños	Tiempo
- Xileno	15 minutos
- Etanol absoluto	5 minutos
- Etanol absoluto	5 minutos
- Etanol 90E	5 minutos
- Etanol 70E	5 minutos
- Agua destilada	5 minutos

APÉNDICE A

Tinción: Hematoxilina-eosina		Tinción: Hematoxilina- PAS	
Baños	Tiempo	Baños	Tiempo
- Hematoxilina de Harris	20 minutos	- Ácido peryódico	5 minutos
- Agua corriente	15 minutos	- Agua destilada	5 minutos
- Eosina de Puttis	7 minutos	- Reactivo de Schiff	15 minutos
- Agua destilada	5 segundos	- Agua corriente	5-10 minutos
		- Hematoxilina de Gill	2 minutos
		- Agua corriente	20 minutos

Tinción: Tricrómico V.O.F.		Tinción: Tricrómico de Mallory	
Baños	Tiempo	Baños	Tiempo
- Hematoxilina acética	3-5 minutos	- Fucsina ácida	5-10 minutos
- Agua destilada	5 minutos	- Agua destilada	5 segundos
- V.O.F.	3-5 minutos	- Solución de Mallory	5 minutos
- Agua destilada	5-10 segundos	- Agua destilada	5 segundos

Tinción: Tricrómico de Masson	
Baños	Tiempo
- Hematoxilina férrica	10 minutos
- Agua corriente	10 minutos
- Agua destilada	5 segundos
- Escarlata-fucsina	2-5 minutos
- Agua destilada	5 segundos
- Ácido fosfomolibdico-fosfotúngstico	10-15 minutos
- Azul de anilina	10 minutos
- Agua destilada	5 segundos

Deshidratación	
Baños	Tiempo
- Etanol absoluto	5 minutos
- Etanol absoluto	5 minutos
- Xileno	5 minutos
- Xileno	5 minutos

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMISIÓN

Fijación

Fijador modificado Karnovsky. Composición para 1 litro:

- Formol 40 %	50 ml
- Glutaraldehído 25 %	100 ml
- Tampón PB Sörensen 0,4 M	300 ml
Di-sodio hidrógeno fosfato (Na_2HPO_4)	42,58 g
Sodio dihidrogenofosfato 1-hidrato ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$).....	13,79 g
- Cloruro cálcico 1 % ($\text{Cl}_2 \text{ Ca}$)	2 ml

Se fragmenta el tejido en 1-2 mm³. Tiempo: 2-4 horas a 4°C.

Lavado

Solución de lavado: tampón PB Sörensen 0,1M a pH 7,3-7,4

Tiempo: 68-70 horas a 4°C.

Postfijación

OsO_4 al 1 % en solución tampón 0,1M a pH 7,3-7,4

Tiempo: 2 horas a 4°C.

Lavado en H_2O destilada

Tiempo: Desde 3-4 lavados de 15 minutos, hasta toda la noche a 4°C.

Deshidratación

Soluciones de acetona a concentración creciente: 30°-50°-70°-90°-100°.

Tiempo: 10-30 minutos en cada baño, a temperatura ambiente.

Inclusión

Aclarado con óxido de propileno. Tiempo: 2 baños de 60 minutos.

Baño en óxido de propileno-araldita I (3/1). Tiempo: 2 horas

APÉNDICE A

Baño en óxido de propileno-araldita I (1/1). Tiempo: 2 horas

Baño en óxido de propileno-araldita I (1/3). Tiempo: 12 horas

Baño en araldita I (en estufa a 60°C). Tiempo: 1º baño 2 horas, 2º baño 24 horas

Araldita I (Durcupan, Fluka). Composición:

- Componente AM: resina epoxi monomérica (rojo-naranja)
- Componente B: polimerizante-catalizador (azul)
- Componente C: acelerador (amarillo)
- Componente D: plastificante (verde)

Preparación (20 ml):

- Componente AM 10 ml
- Componente B 10 ml
- Componente D 0,15 ml

Baño en araldita II (en estufa a 60°C). Tiempo: 1 hora

Araldita II (Durcupan, Fluka). Composición:

- Araldita I 20 ml
- Componente C 0,4 ml

Confección de bloques

Las piezas se colocan en moldes previamente etiquetados o marcados. Una vez orientadas las piezas en el interior de los moldes, se llenan de araldita II y se mantienen en estufa hasta su completa polimerización.

Tiempo: 72 horas a 60-70°C.

Tinción de cortes

Las secciones ultrafinas se contrastan con acetato de uranilo al 2 % en acetona de 70° durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Solución de acetato de uranilo al 2 % en acetona de 70°. Composición:

Acetato de uranilo al 6 % en agua destilada	6,6 ml
Acetona 100°	13,4 ml

Posteriormente se contrastan con citrato de plomo (Reynolds, 1963) durante 20 minutos a temperatura ambiente y en presencia de lentejas de hidróxido sódico (Na OH) para evitar la precipitación del plomo.

Solución Reynolds. Composición:

Pb(NO ₃) ₂	1,33 g
Na ₃ (C ₆ H ₅ O ₇).2H ₂ O	1,76 g
Agua bidestilada	30 ml

Se incuba durante 30 minutos agitando periódicamente. Se añaden 8 ml de NaOH 1N. Se enrasa a 50 ml con el agua (pH final = 12). Finalmente se introducen en 4-5 baños rápidos de agua destilada y se dejan secar.

Publicaciones de la Tesis Doctoral

B

M. M. García-Díaz · V. M. Tuset · J. A. González · J. Socorro

Sex and reproductive aspects in *Serranus cabrilla* (Osteichthyes: Serranidae): macroscopic and histological approaches

Received: 21 May 1996 / Accepted: 9 August 1996

Abstract The gonads of *Serranus cabrilla* (Linnaeus, 1758) from the Canary Islands were studied between September 1992 and July 1993. Macroscopic classification of the maturity stages was compared with histological classification of gonad characteristics, and the effect of the classification method on the determination of the spawning season and size at maturity was investigated. Analysis of gonad organization and development confirmed that this species is synchronously hermaphroditic. Ovarian-tissue development is asynchronous, and testicular tissue consists of continuous spermatogonia. Six stages of oogenesis and five of spermatogenesis are described, based on differences in staining and in size and on differences in the nucleus and cytoplasm structure as viewed through a light microscope. Two types of atretic degeneration of eggs are also described. Agreement between macroscopic and histological staging was low, although both methods provided similar results in spawning-season determination and size at maturity. The spawning season of *S. cabrilla* is from February to July, with a peak in May. Fish size at first maturity (size at which 50% of all fish sampled are in relevant maturity stage) is 152 mm standard length (SL), and size at mass maturity (size at which 95% of all fish sampled are in relevant maturity stage) is 167 mm SL.

Introduction

Studies of reproduction in fishes, such as duration of spawning season, size at maturity and fecundity, require knowledge of the stage of gonad development in individual fish. The methods used in such studies are generally based on the visual external appearance of the

gonad. This is probably the most rapid but least certain technique, and a more detailed analysis requires the use of histological methods (West 1990).

There is a wide range of literature on oogenesis and spermatogenesis in teleosts (e.g. Grier 1981; Wallace and Selman 1981; Bruslé 1983; Coetzee 1983; Howell 1983; Billard 1986; Bentivegna and Benedetto 1989; Billard et al. 1992). Despite this, there have been very few attempts to assess the accuracy of macroscopic staging (West 1990). June (1953), Macer (1974), Hilge (1977), and DeMartini and Fountain (1981) performed some research in this field, and described differences between macroscopic and histological classifications.

The present study compares the macroscopic classification of maturity stages with the histological characteristics of the gonads of *Serranus cabrilla* (Serranidae) from the Canary Islands, and examines the effects of classification method on the determination of spawning season and size at maturity. Despite the relative abundance of this species and its importance to commercial fisheries in the Canary Islands (Pérez-Barroso et al. 1993), biological information is scarce (Tuset et al. 1996).

Materials and methods

Between September 1992 and July 1993, 259 specimens of *Serranus cabrilla* (Linnaeus, 1758) ranging in size between 125 and 213 mm standard length, were studied from Canary Island commercial samples.

Standard length (SL) was measured to the nearest millimeter, for each specimen, together with gutted weight (GW) and gonad weight (GNW) to an accuracy of 0.1 g. Sex and maturity stage (MS) were determined; firstly macroscopically, according to the five-point scale of Holden and Raitt (1975), and subsequently by histological analysis. Gonads of 241 specimens were fixed in buffered formaldehyde (24 h) or in Bouin's solution (12 to 24 h). After fixation, the gonads were dehydrated and embedded in paraffin wax. Longitudinal or cross-sections, 4 to 5 µm thick, were stained with Harris' haematoxylin–Puttis's eosin and with periodic acid–Schiff–haematoxylin.

Oocytes were classified according to their morphology, their affinity for the dyes used, and the presence of specific inclusions (lipid droplets, yolk granules, yolk vesicles). In five fish randomly

Communicated by A. Rodríguez, Puerto Real

M. M. García-Díaz (✉) · V. M. Tuset · J. A. González · J. Socorro
 Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM),
 D.G. Universidades e Investigación, Gobierno de Canarias,
 P.O. Box 56, E-35200 Telde (Las Palmas), Spain

chosen from the monthly samples, the diameters of the first 50 oocytes encountered were measured to the nearest millimeter using an ocular micrometer; the mean diameter of each type of oocyte was then calculated. Measurements were taken only on oocytes sectioned through the nucleus.

Histological identification of the various maturity stages was determined according to the development of the ovary and testis and also by the presence/absence of different types of oocytes (i.e. whether organised by ovarian lamellae or not) and spermatoocytes.

For each individual, the gonadosomatic index (GSI) was calculated as:

$$GSI = (GNW \times 100) \div GW \quad (1)$$

The mean GSI was calculated for each month of the study period.

The monthly variation in the percentage of mature individuals, the mean diameter of oocytes, and the GSI were studied to determine the spawning season.

A maturity curve was determined using the balanced logistic function (Astudillo and Sánchez 1989):

$$p = 100 / (1 + \exp(a + b \times SL)) \quad (2)$$

where p = percentage of mature individuals as a function of size class (SL), and a and b = specific parameters which can change during the lifecycle. A logarithmic transformation was applied to Eq. (2) in order to calculate the parameters a and b by means of linear regression (Sokal and Rohlf 1981).

Size at first maturity (SFM) and size at mass maturity (SMM) were also calculated. They are defined as the sizes (SL) at which 50 (SFM) and 95% (SMM) of all fish sampled are in relevant maturity stage (i.e. developing, ripe or spent) (e.g. González and Lozano 1992). Both spawning season and size at maturity were determined separately from macroscopic and histological data.

Results

Sex

Macroscopic examination confirmed that the gonads from *Serranus cabrilla* consist of ovotestes dominated by the ovary, while the testis, in a ventrolateral position, is restricted to the anterior region. Each ovotestis is fairly cylindrical, and is covered by the tunica albuginea. Both gonad lobes are of similar size, and lead to a common orifice at the level of the anus. Ovarian and testicular tissue are separated by connective tissue only.

Histology of ovarian tissue

The ovary consists of a series of ovarian lamellae, radially oriented towards the lumen and containing oocytes at different stages of development (Fig. 1a). This type of ovary is classified as asynchronous, in accordance with Marza (1938).

A description of the different stages of development of the oocyte follows. The terminology proposed by Yamamoto (1956) is used, but the terminology used by Zanuy and Carrillo (1973) for *Serranus cabrilla* is given in parentheses (Oocyte Type A, B, etc.) as a reference:

Oogonia (Fig. 1b). Spherical to slightly oval in shape. Cytoplasm lightly dyed. Very large nucleus, with single very prominent nucleolus. Sited on periphery of the ovarian lamellae, isolated or forming cysts.

Chromatin nucleolar stage (Oocyte Type A: Fig. 1b). Similar to oogonia, although somewhat larger (mean diam = $8 \pm 4 \mu\text{m}$). Large nucleus, with single nucleolus. Reduced cytoplasm, with little or no affinity with dyes used.

Perinucleolar stage (Fig. 1c). In the early stage (Oocyte Type B), size increases (mean diam = $26 \pm 8 \mu\text{m}$). Cytoplasm with strong affinity for haematoxylin. Nucleus more evident, with multiple nucleoli, generally peripheral, next to nuclear membrane. Yolk nucleus or Balbiani body (Wallace and Selman 1981) present in cytoplasm. Follicular layer present but difficult to observe. Late stage (Oocyte Type C) exhibits rapid growth (mean diam = $67 \pm 13 \mu\text{m}$). There is progressive loss of affinity for haematoxylin. Disintegration of Balbiani body. Follicle or follicular layer is easier to observe, and consists of internal layer (granular layer) and a further external layer (theca) (Hunter and Macewicz 1985).

Oogonia, chromatin nucleolar and perinucleolar stages are present in the ovary throughout the entire annual cycle, and are referred to as "primary growth phase" (Wallace and Selman 1981), "first growth phase" (Zanuy and Carrillo 1973; Forberg 1982), and as "slow growth phase" or "previtellogenesis phase" (Febvre et al. 1975), respectively.

Yolk-vesicle formation (Oocyte Type D: Fig. 1d). Yolk vesicles (see Selman et al. 1988) containing "intravesicular yolk" (Marza et al. 1937) present in cytoplasm. Vesicles increase progressively in both number and size. Mean diameter of oocyte is $129 \pm 28 \mu\text{m}$. Progressive loss of affinity by cytoplasm for haematoxylin. Follicular layer and zona radiata are visible, although zona radiata is not yet stained by eosin. Accumulation of lipid inclusions in cytoplasm has begun.

Vitellogenesis (Fig. 1d). In early stage (Oocyte Type E), yolk granules, also called yolk spheres or yolk globules containing "interventricular yolk" (Marza et al. 1937) are present. Mean diameter of oocyte is $217 \pm 40 \mu\text{m}$. Yolk vesicles increase in size and gravitate towards periphery while the yolk granules grow. Zona radiata is dyed with eosin and consists of two layers: internal light-pink layer and external darker layer. In late stage (Oocyte Type F) perpendicular striations are apparent in zona radiata. Mean diameter of oocyte is $372 \pm 58 \mu\text{m}$.

Ripe (Oocyte Type G: Fig. 1d). Nucleus migrates towards animal pole together with a large oil droplet formed by fusion of lipid inclusions. Mean diameter of oocyte is $491 \pm 53 \mu\text{m}$. Yolk granules are fused homogeneous mass, creating "hyaline oocyte" (How 1983) or "hydrated oocyte" (Hunter and Macewicz 1985; Tricas and Hiramoto 1989) with mean diameter $595 \pm 69 \mu\text{m}$; nucleus is often not visible due to disintegration of nuclear membrane and dispersion of its contents in the cytoplasm (Hunter and Macewicz 1985).

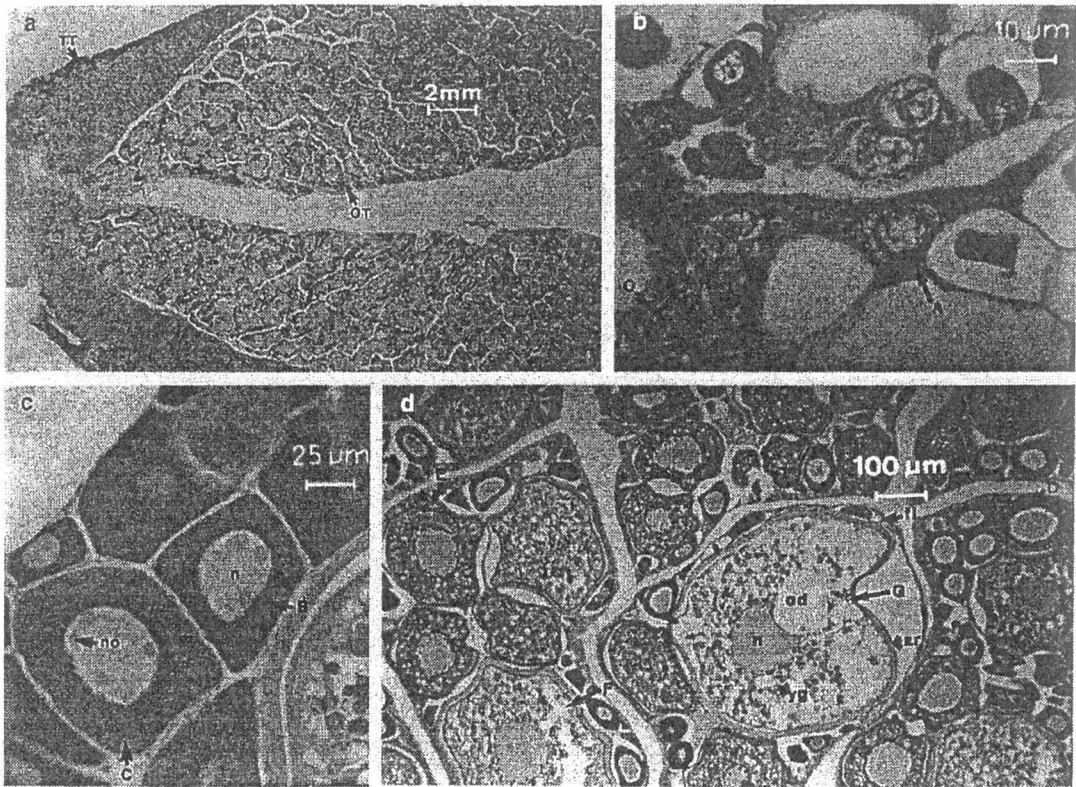


Fig. 1 *Serranus cabrilla*. a Longitudinal section of ovotestis (OT ovarian tissue; TT testicular tissue); b primary-growth oocytes at various stages of development (O oogonia; A chromatin nucleolar stage); c larger primary-growth oocytes (B early perinucleolar stage; C late perinucleolar stage; n nucleus; no nucleoli); d secondary-

growth oocytes in various stages of development (D yolk-vesicle formation; E early-vitellogenesis; F late-vitellogenesis; G ripe; H follicular layer; n nucleus; od oil droplet; yg yolk granules; zr zona radiata) (Haematoxylin and eosin stain)

1985). When oocyte reaches hydrated stage, spawning is imminent (Hunter et al. 1986; Pérez-Contreras and Cal-Rodríguez 1988).

Yolk-vesicle formation and the vitellogenic stages have been included in the so-called "second growth phase" (Zanuy and Carrillo 1973) or "vitellogenesis phase" (Febvre et al. 1975). The ripe stage constitutes the "ovulation phase" (Zanuy and Carrillo 1973), although it has also been included in the "vitellogenesis phase" (Febvre et al. 1975).

The mature oocytes are forced into the lumen of the ovary, and are then extruded from the follicular layer, leaving an empty space; this becomes filled with granular matter which is ultimately reabsorbed. Those oocytes that (although at an advanced stage of vitellogenesis) have not been expelled are in different stages of disintegration. *Serranus cabrilla* displays different types of atresia identical to those described for other teleosts species (e.g. Hunter and Macewicz 1985; Tricas and Hiramoto 1989): (a) alpha (α)-stage atresia: the zona

radiata begins to lose its perpendicular striations and becomes irregular in diameter; in a more advanced stage the nucleus disappears, the zona radiata breaks up, and the cells of the granular layer undergo hypertrophy and invade the oocyte; (b) beta (β)-stage atresia: the cells of the granular layer migrate to the interior of the ooplasm, absorbing the yolk; at the end of this stage the zona radiata disappears.

Histology of testicular tissue

In accordance with the description of Grier (1981) for teleosts, the testis of *Serranus cabrilla* consists of continuous or unrestricted spermatogonia, forming a network of tubules. Spermatogenic cells appear in the interior of the seminiferous tubules at different stages during spermatogenesis (spermatogonia, primary and secondary spermatocytes, spermatids and spermatozoa, forming cysts (Fig. 2). Each cyst is bounded by a layer of

connective tissue and contains cells at the same stage of development. In mature testes, the seminiferous tubules are filled with spermatozoa.

The annual reproductive cycle of *Serranus cabrilla* has five stages of testicular development that agree with those described by Grier (1981) for teleosts. Grier's terminology has been adopted for the present study. The five stages are:

Spermatogonial proliferation. Appearance of spermatogonia, generally associated with tunica albuginea, with voluminous nucleus containing scattered chromatin and several peripheral nucleoli.

Mid-recrudescence. All stages of development present. Spermatoocytes smaller than spermatogonia. Primary spermatoocytes: nucleus is strongly stained with haematoxylin and cytoplasm has little affinity for dyes. Secondary spermatoocytes somewhat smaller, with nucleus that stains weakly. Nucleus of spermatids has denser and more uniform chromatin.

Late-recrudescence. Tubules full of sperm. Fewer cysts with developing sperm. Small spermatozoa with very basophilic nucleus and large eosinophilic tail.

Functional maturity. Tubules full of sperm beginning to accumulate in deferent duct. All cellular types present.

Spent. No cellular types discernable, since non-ejected spermatogenic cells have been reabsorbed.

Accuracy of macroscopic staging

Table 1 describes the different stages of maturity in the ovotestis determined by macroscopic observations and histological analysis.

Comparison of the determination of maturity stages (MS) by macroscopic and by histological criteria revealed an overall conformity of 64.7%; in the case of ripe gonads this increased to 79.2%. The most frequent discrepancies or errors between the two classification methods fell into the following categories.

Error Type a. Using macroscopical criteria, an ovary partially filled with oocytes visible to the naked eye is assigned MS III (developing); using histological criteria, an ovary containing atretic oocytes is assigned MS V (early-spent): a total of 29.4% of ovaries macroscopically classified as MS III are classified as MS V by histological criteria.

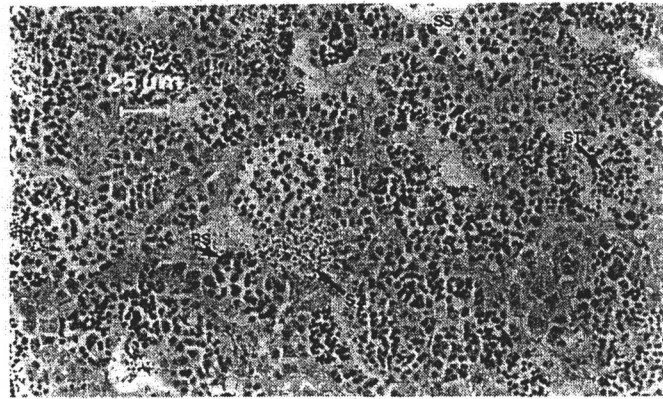
Error Type b. Macroscopy classifies extended, narrow and firm gonads as MS II (developing virgin, or recovering-spent); histology classifies oocytes in a stage of reabsorption and with empty testicular tissue or cellular remains as V (late-spent): a total of 29% of the gonads macroscopically classified as MS II are classified as MS V by histological criteria.

Error Type c. Macroscopy assigns flaccid and empty gonads to MS V (spent); histology assigns recovering oocytes to MS II (recovering-spent): a total of 21.4% of

Table 1 *Serranus cabrilla*. Comparison of macroscopic and histological appearance of ovotestis

Maturity stage	Macroscopic appearance	Histological appearance
I Immature	Gonad occupies less than one-third of abdominal cavity. Ovary whitish and translucent. Testis unrecognizable. Eggs invisible to naked eye	Ovary contains oogonia. Testis formed by spermatogonia, not organized in tubules. Ovary and testis joined by connective tissue
II Developing virgin, or recovering-spent	Gonad takes up half of abdominal cavity. Ovary whitish-yellow. Testis not recognizable. Eggs invisible to naked eye	Ovary begins to acquire ovarian lamellae. Oocytes in nucleolar chromatin and perinucleolar stages. Testis arranged in tubules with spermatogonia, spermatoocytes and spermatids
III Developing, maturing	Gonad fills two-thirds of abdominal cavity. Ovary reddish-yellow, granular appearance. Testis, white and developed, occupies less than half of gonadal length	Ovary formed in ovarian lamellae with oocytes from nucleolar chromatin to vitellogenic stage. Seminiferous tubules contain all spermatogenic cells
IV Ripe	Gonad takes up two-thirds of abdominal cavity. Ovary from white to pink, with superficial blood vessels. Large, white and transparent eggs. Highly developed, cream-colored testis; occupies more than one-third of gonadal length	Ovary with oocytes at all stages. Testis completely mature, tubules filled with spermatozoa which accumulate in deferent duct next to gonadal wall, from which they will be expelled
V Spent	Flaccid gonad occupies nearly half of abdominal cavity; sometimes with remains of opaque, mature eggs in a state of disintegration, dark or translucent. Testis difficult to recognize with naked eye	Oocytes in regression and reabsorption. Atretic oocytes appear. Testis in regression, cells appear fused; form semi-continuous mass

Fig. 2 *Serranus cabrilla*. Section of testis. Tubules containing all stages of spermatogenesis (S spermatogonia; PS primary spermatocytes; SS secondary spermatocytes; ST spermatids; SZ spermatozoa) (Haematoxylin and eosin stain)



the gonads macroscopically classified as MS V are classified as MS II by histological criteria.

Spawning season

Table 2 shows the monthly distribution of specimens as a function of maturity, and Fig. 3 the monthly variation in percentage of specimens in MS III (developing) or MS IV (ripe), determined from macroscopic and histological data. Overall, the histological data did not differ greatly from the macroscopic data. However, there were differences in February when macroscopic criteria indicated that 72% of the fish were mature, while histological criteria classified only 50.1% as mature. Mature fish were found from February to July, with the highest percentage recorded in May (94.4 and 94.1% by macroscopic and histological criteria, respectively).

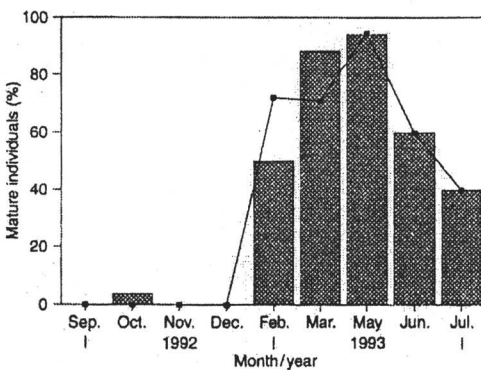


Fig. 3 *Serranus cabrilla*. Monthly variation in percentage of mature individuals (Stages III and IV) (data points macroscopic data; shaded histograms histological data)

Fig. 4 shows seasonal changes in mean diameter of oocyte and in gonadosomatic index (GSI). Both parameters exhibited similar trends, with lowest values

Table 2 *Serranus cabrilla*. Monthly distribution of individuals as a function of maturity stage (I immature virgin; II developing virgin or recovering-spent; III developing, maturing; IV ripe; V spent)

Year / month	Maturity stage	Macroscopic examination		Histological analysis	
		N	(%)	N	(%)
1992	Sep II	7	(24.1)	10	(34.5)
	V	22	(75.9)	19	(65.5)
	Oct I	1	(3.7)	0	(0)
	II	5	(18.5)	5	(19.2)
	III	0	(0)	1	(3.8)
	V	21	(77.8)	20	(77.0)
	Nov I	3	(3.5)	0	(0)
	II	62	(72.1)	42	(55.3)
	V	21	(24.4)	34	(44.7)
	Dec V	2	(100)	2	(100)
1993	Feb I	2	(8.0)	0	(0)
	II	4	(16.0)	4	(16.6)
	III	6	(24.0)	1	(4.2)
	IV	12	(48.0)	11	(45.9)
	V	1	(4.0)	8	(33.3)
	Mar II	18	(29.0)	1	(2.0)
	III	24	(38.7)	28	(54.9)
	IV	20	(32.3)	17	(33.3)
	V	0	(0)	5	(9.8)
	May II	1	(5.6)	0	(0)
	III	1	(5.6)	5	(29.4)
	IV	16	(88.8)	11	(64.7)
	V	0	(0)	1	(5.9)
	June II	2	(40.0)	2	(40.0)
	III	2	(20.0)	0	(0)
	IV	1	(40.0)	3	(60.0)
	July II	0	(0)	2	(40.0)
	III	1	(20.0)	1	(20.0)
	IV	1	(20.0)	1	(20.0)
	V	3	(60.0)	1	(20.0)

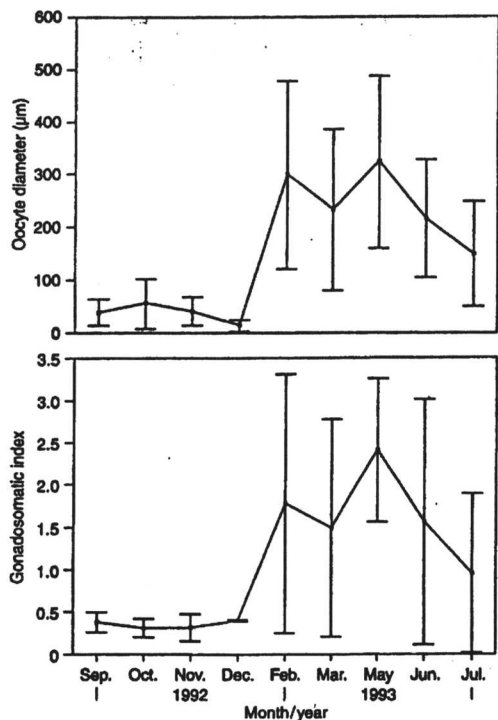


Fig. 4 *Serranus cabrilla*. Seasonal changes in mean diameter of oocyte and in gonadosomatic index

between September and December and highest values between February and July, and a peak in May.

Size at maturity

Table 3 presents the number and percentage of mature individuals as a function of size class as determined by macroscopic and histological data. These data were used to generate the maturity curve in Fig. 5. Both methods produced similar values for size at first maturity (154 and 152 mm SL for macroscopic and histological methods, respectively), and for size at mass maturity (171 and 167 mm SL, respectively), achieving very high correlations in both cases ($r = 0.9519$ and $r = 0.9915$, respectively; Table 4).

Discussion

Macroscopic examination and histological analysis of the ovotestes of *Serranus cabrilla* revealed a single sexual

Table 3 *Serranus cabrilla*. Distribution of mature individuals (Maturity Stages III-V) as a function of size class, determined by macroscopic and histological data (N total individuals; m mature specimens; % m percentage of mature specimens)

Size class (mm)	Macroscopic examination			Histological analysis		
	N	m	(% m)	N	m	(% m)
124-128	3	2	(66.7)	3	2	(66.7)
129-133	4	4	(100)	4	4	(100)
134-138	5	1	(20.0)	5	2	(40.0)
139-143	5	2	(40.0)	5	3	(60.0)
144-148	8	6	(75.0)	7	4	(57.1)
149-153	16	9	(56.3)	13	10	(76.9)
154-158	17	12	(70.6)	17	12	(70.6)
159-163	25	15	(60.0)	25	19	(76.0)
164-168	27	16	(59.3)	26	18	(69.2)
169-173	31	15	(48.4)	29	22	(75.9)
174-178	31	15	(48.4)	30	19	(63.3)
179-183	30	17	(56.7)	26	21	(80.8)
184-188	20	15	(75.0)	19	12	(63.2)
189-193	12	7	(58.3)	11	7	(63.6)
194-198	11	9	(81.0)	9	8	(88.9)
199-203	4	4	(100)	4	3	(75.0)
204-208	6	4	(66.7)	2	2	(100)
209-213	3	0	(0)	3	0	(0)

type: hermaphroditic. This has already been reported by numerous authors (e.g. D'Ancona 1949, 1950; Dufossé 1956; Reinboth 1962; Smith 1965; Zanuy and Carrillo 1973; Febvre et al. 1975; Zanuy 1977; Bauchot 1987). The observation of Ezzat et al. (1988) that this species includes both hermaphroditic and female specimens in varying proportions depending on size and time of year, thus appears to be incorrect.

The asynchronous development of oocytes and spermatocytes reflects the partially reproductive character (heterochronous species) of *Serranus cabrilla* in the Canary Islands. This has also been reported for this species by Zanuy and Carrillo (1973) and Zanuy (1977) in the western Mediterranean.

The developmental events observed in the oocytes and spermatocytes of *Serranus cabrilla* are very similar

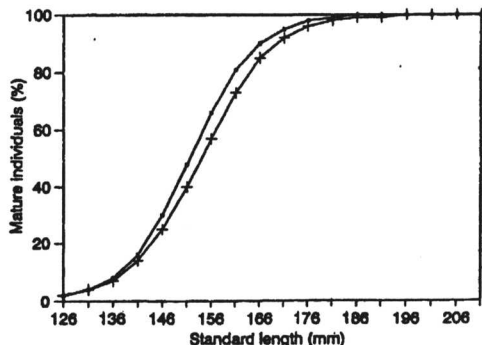


Fig. 5 *Serranus cabrilla*. Maturity curves as a function of size (+ macroscopic data; ■ histological data)

Table 4 *Serranus cabrilla*. Parameters of maturity curves, size at first maturity (SFM), and size at mass maturity (SMM), determined by macroscopic examination (top row) and histological analysis (bottom row) (SL standard length; r correlation coefficient)

SL (mm)	No. mature	r	a	b	SFM	SMM
136-176	91	0.9519	21.7544	-0.1413	154	171
136-171	90	0.9915	23.4574	-0.1547	152	167

to those described for most other teleosts (Grier 1981; Wallace and Selman 1981; Howell 1983). The classification system applied in the present study is based on the previtellogenic and vitellogenic changes described by Yamamoto (1956). In the literature, the various stages of oocyte development have been classified using different systems, frequently causing great confusion. Although most authors agree on the basic characteristics incorporated into such a system, schemes used are often too brief, or incomplete, or too complicated (Coetzee 1983).

Development of ovarian tissue in *Serranus cabrilla* can be divided into two phases, as for other teleosts (Febvre et al. 1975; Zanuy and Carrillo 1973; Wallace and Selman 1981; Forberg 1982; Howell 1983). During the first phase, the previtellogenic phase, growth is comparatively slow, with few cytoplasmic changes. The second phase, the vitellogenic phase, is characterized by faster growth and the deposition of large amounts of yolk in the ooplasm.

The ovarian and testicular tissue mature simultaneously, indicating that *Serranus cabrilla* is a synchronous hermaphrodite species. This has also been reported by other authors (D'Ancona 1950; Dufossé 1956; Reinboth 1962; Smith 1965; Zanuy 1977), who also mentioned the possibility of self-fertilization in this species.

The low percentage (64.7%) of agreement between the two sets of criteria in staging maturity of the sampled gonads revealed a low precision or/and accuracy of macroscopic criteria based on external characteristics of the gonads. Histological examination revealed a great complexity in the degree of development of the various stages of maturation that are not discernable on a macroscopic scale. West (1990) pointed out that in studies of the reproductive biology of fishes histological techniques are the most accurate, even though they are expensive and time-consuming. West recommended the use of a stereomicroscope to classify the appearance of the oocytes, with later validation by means of histological analysis.

The percentage of agreement between the two methods in the classification of ripe gonads was high (79.2%). In this connection, using both macroscopic and histological procedures, June (1953) obtained 90% concordance for yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and unpublished CSIRO studies (in West 1990) reported 61% agreement for snapper *Lutjanus vittus*.

Analysis of seasonal variations in the percentage of mature specimens (from macroscopic and histological data), the mean diameter of oocytes, and the gonadosomatic index indicates a spawning season for *Serranus cabrilla* in the Canary Islands from February to July. The spawning season may also extend to January and August, but due to the characteristics of the small-scale local fisheries (with seasonal substitution of target species and a very complicated commercialization of captures), it is difficult to obtain samples in these months. Nevertheless, as a result of Type a errors of classification, there is a marked difference in the percentage of mature specimens in February, which is a month of high reproductive intensity according to macroscopic criteria but of only moderate activity according to histological data. The macroscopic and histological data on the percentage of mature specimens, together with mean oocyte diameter and GSI, revealed that mass spawning is in May. Seasonal changes in mean oocyte diameter and in gonadosomatic index displayed a similar trend.

A review of the literature on the spawning season of *Serranus cabrilla* in different regions suggests that, as latitude decreases the length of the spawning season increases, clearly reflecting environmental conditions: 2 mo (July and August) in the English Channel (Wheeler 1968), 5 mo (April to August) in the Mediterranean (Bertolini 1932; Dieuzeide et al. 1954; Bini 1968; Bruslé and Bruslé 1975; Tortonese 1975; Bouain 1981; Bauchot 1987), 6 mo (March to August) in the south-east Mediterranean (Egypt) (Ezzat et al. 1988), and from 6 to 7 mo in the Canary Islands (present study). Nevertheless, the mass spawning periods are very close: April in the Mediterranean (Bruslé and Bruslé 1975; Ezzat et al. 1988) and May in the Canary Islands (present study).

Maturity curves calculated from both sets of criteria exhibited a similar tendency, insofar as the values obtained for SFM and SMM were similar for both methods; the slight differences found were due to Type b and Type c errors.

The size at first maturity (152 mm SL) as determined by histological criteria is significantly greater than that reported by Bouain (1981: 100 mm SL, Tunis), but almost identical to that recorded by Bauchot (1987: 150 mm SL, Mediterranean).

The agreement between macroscopic and histological classifications of maturity in this species is low, although for ripe gonads the classification discrepancies are notably less. Despite the subjectivity and inaccuracy of the macroscopic method compared to histological examination, in the present study macroscopic classification proved more practical because of its ease of application.

Acknowledgements We wish to thank Professor Dr R. Reinboth (Institut für Zoologie, Universität Mainz) for his useful comments on our histological work, and Mr J. I. Santana (ICCM) for being so helpful in several ways. This research was partially funded by the Commission of the European Communities (D.G. XIV/C/1 1992/7).

References

- Astudillo A, Sánchez F (1989) Selectividad de las artes de arrastre para el Gallo (*Lepidorhombus sp. sp.*) en aguas del Cantábrico. *Infmes téc Inst esp Oceanogr* 72: 1-27
- Bauchot ML (1987) Serranidae. In: Fischer W, Bauchot ML, Schneider M (eds) Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. (Révision 1). Méditerranée et mer Noire. Zones de pêche 37. Vol.2. FAO/EEC, Rome, pp 1301-1319
- Bentivegna F, Benedetto F (1989) Gonochorism and seasonal variations in the gonads of the labrid *Symphodus (Crenilabrus) ocellatus* (Forsskål). *J Fish Biol* 34: 343-348
- Bertolini F (1932) Apogonidae, Serranidae. *Fauna Flora Golfo Napoli* 38: 306-331
- Billard R (1986) Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reprod Nutr Dev* 26: 877-920
- Billard R, Weil C, Bieniarz K, Mikolajczyk T, Breton B, Epler P, Bougoussa M (1992) Testicular and some hormonal changes during the first four years of life in the mirror carp, *Cyprinus carpio* L. *J Fish Biol* 41: 473-487
- Bini G (1968) Atlante dei pesci delle coste italiane. Vol 4. Perciformi (Mugiloidi, Percoidi). Mondo Sommerso Editrice, Milano
- Bouain A (1981) Les serrans (téléostéens, serranidés) des côtes sud de la Tunisie. Taille de première maturité, période de reproduction. *Cybum* (3è sér) 5(4): 65-75
- Bruslé S (1983) Contribution to the sexuality of a hermaphroditic teleost, *Serranus hepatus* L. *J Fish Biol* 22: 283-292
- Bruslé J, Bruslé S (1975) Comparaison des périodes de maturité sexuelle de trois espèces de serrans méditerranéens. *Bull Soc zool Fr* 100: 115-116
- Coetzee PS (1983) Seasonal histological and macroscopic changes in the gonads of *Cheimerius nufar* (Ehrenberg, 1820) (Sparidae: Pisces). *S Afr J Zool* 18(2): 76-87
- D'Ancona U (1949) Osservazioni sull'organizzazione della gonade ermafrodita di alcuni Serranidi. *Nova Thalassia* 1: 1-15
- D'Ancona U (1950) Détermination et différenciation du sexe chez les poissons. *Archs Anat microsc Morph exp* 39: 274-294
- DeMartini EE, Fountain RK (1981) Ovarian cycling frequency and batch fecundity in the greenfish, *Siriphus pollitur*: attributes representative of serial spawning fishes. *Fishery Bull US natn mar Fish Serv* 79: 547-560
- Dieuzeide R, Novella M (collab Roland J) (1954) Catalogue des poissons des côtes algériennes. *Bull Stn Agric Pêche Castiglione II* (NS) 5: 1-258
- Dufossé A (1956) De l'hermaphroditisme chez certains vertébrés. *Annls Sci nat (sér 4: Zool, Biol anim)* 5: 295-334
- Ezzat AA, Abdel-Azzit SH, Breake SS (1988) Synchronous functional hermaphroditism in *Serranus cabrilla* (L.) (Pisces: Serranidae). In: Proceedings of the First Scientific Conference on the role of Scientific Research in the Development of Fish Resources. Faculty of Agriculture, Alexandria University, Alexandria, pp 107-118
- Febvre M, Michele M, Lafaurie M (1975) Comparaison de la séquence ovogénétique chez des Téléostéens ovipares gonochoriques et hermaphrodites (*Mullus*, *Serranus*, *Boops*). VIII. European Marine Biology Symposium, Sorrento (Naples) 1973. *Pubbl Staz zool Napoli* 39: 140-152
- Forberg KG (1982) A histological study of development in capelin, *Mallotus villosus villosus* (Müller). *J Fish Biol* 20: 143-54
- González JA, Lozano IJ (1992) Determinación de curvas de madurez sexual en la vieja, *Sparisoma (Euscarus) cretense* (L.) (Osteichthyes, Scaridae), de Canarias. *Boln Inst esp Oceanogr* 8: 271-297
- Grier HJ (1981) Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. *Am Zool* 21: 345-357
- Hilge V (1977) On the determination of the stage of gonad ripeness in female bony fishes. *Meeresforsch Rep mar Res* 25: 149-55 (Ber dt wiss Kommm Meeresforsch)
- Holden MJ, Raitt DFS (1975) Manual de ciencia pesquera. Parte 2. Métodos para investigar los recursos y su aplicación. Documentos téc FAO Pesca 115(1): 1-211
- Howell WH (1983) Seasonal changes in the ovaries of adult yellowtail flounder, *Limanda ferruginea*. *Fish Bull US* 81: 341-355
- Hunter JR, Macewicz BJ (1985) Rates of atresia in the ovary of captive and wild northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fish Bull US* 83: 119-136
- Hunter JR, Macewicz BJ, Sibert JR (1986) The spawning frequency of skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*, from the south Pacific. *Fish Bull US* 84: 895-903
- June FC (1953) Spawning of yellowfin tuna in Hawaiian waters. *Fishery Bull US natn mar Fish Serv* 54: 47-64
- Macer CT (1974) The reproductive biology of horse mackerel, *Trachurus trachurus* (L.), in the North Sea and English Channel. *J Fish Biol* 6: 415-38
- Marza VD (1938) Histophysiologie de l'ovogenèse. *Germann, Paris*
- Marza VD, Marza EV, Guthrie JM (1937) Histochemistry of the ovary of *Fundulus heteroclitus* with special reference to the differentiating oocytes. *Biol Bull mar Biol Lab, Woods Hole* 73: 67-2
- Pérez-Barroso FI, Jiménez S, Lozano IJ, González JA, Santana JI (1993) Estudio preliminar de la pesquería artesanal de *Serranus atricauda* Günther, 1874 y de *Serranus cabrilla* (Linnaeus, 1758) (Osteichthyes, Serranidae) en el archipiélago canario. *Publins esp Inst esp Oceanogr, Madrid* 11: 365-373
- Pérez Contreras N, Cal Rodríguez RM (1988) Histología de los folículos post-ovulatorios en ovarios de *Sardina pilchardus* (Walb.) de la plataforma Nor-Atlántica de la Península Ibérica. *Primeros resultados*. *Infmes téc Inst esp Oceanogr* 68: 1-12
- Reinboth R (1962) Morphologische und funktionelle Zweigeschlechtlichkeit bei marinen Teleostiern (Serranidae, Sparidae, Centracanthidae, Labridae). *Zool Jb (Abt allg Zool Physiol Tiere)* 69: 409-480
- Selman K, Wallace R.A., Barr V (1988) Oogenesis in *Fundulus heteroclitus*. V. The relationship of yolk vesicles and cortical alveoli. *J exp Zool* 246: 42-56
- Smith CL (1965) The patterns of sexuality and classification of serranid fishes. *Am Mus Novit* 2207: 1-20
- Sokal RR, Rohlf FJ (1981) *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research*. 2nd edn. Freeman & Co., San Francisco
- Tortonesi E (1975) Osteichthyes (Pesci ossei). Parte seconda. *Fauna Ital* 11: 1-636
- Tricas TC, Hiramoto JT (1989) Sexual differentiation, gonad development, and spawning seasonality of the Hawaiian butterflyfish, *Chaetodon multicinctus*. *Envir Biol Fish* 25: 111-124
- Tuset VM, González JA, García-Díaz MM, Santana JI (1996) Feeding habits of *Serranus cabrilla* (Serranidae) in the Canary Islands. *Cybum* 20: 161-167
- Wallace RA, Selman K (1981) Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Am Zool* 21: 325-343
- Wheeler A (1968) The fishes of the British Isles and North-West Europe. Macmillan, London, Melbourne and Toronto
- West G (1990) Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. *Aust J mar Freshwat Res* 41: 199-222
- Yamamoto K (1956) Studies on the formation of fish eggs. Annual cycle in the development of the ovarian eggs in the flounder, *Liopsetta obscura*. *J Fac Sci, Hokkaido Univ (Ser. 6: Zool)* 12: 362-373
- Zanuy S (1977) Inducción a la puesta y estudio de la ovogénesis en un teleosteo marino: *Paracentropistis cabrilla* L. *Investigación pesq* 41: 337-384
- Zanuy S, Carrillo M (1973) Estudio histológico del ovario de cabrilla (*Paracentropistis cabrilla*) (L.) en relación con la ovogénesis. *Investigación pesq* 37: 147-165

Comparative ultrastructure of spermatozoa of three marine teleosts of the genus *Serranus*: *Serranus atricauda*, *Serranus cabrilla* and *Serranus scriba*

M.M. GARCÍA-DÍAZ, M.J. LORENTE*, J.A. GONZÁLEZ and V.M. TUSET

Canarian Institute of Marine Sciences, G.D. University and Research, Canary Islands; *Department of Animal Biology, Unit of Microscopic Morphology, University of Valencia, Spain

SUMMARY - Spermatozoa of the three species *Serranus atricauda*, *Serranus cabrilla* and *Serranus scriba* were investigated by transmission and scanning electron microscopy. In all three species the spermatozoon is of the primitive type with ovoid head, short midpiece and a long flagellum. The spermatozoa of *Serranus atricauda* and *Serranus cabrilla* are similar; they have no acrosome, their morphology is symmetric with central insertion of flagellum and contain five and four spherical mitochondria around the flagellum, respectively. The sperm of *Serranus scriba* presents stack of membranes apposed to the nuclear envelope, its structure is asymmetrical due to the lateral insertion of the flagellum and it has four spherical mitochondria: three appear to form a rectangular triangle, and one is closer to the centriolar complex. The spermatozoa size suggests a relation of these with the habit of the species, because smaller size and more rounded morphology are observed in deeper species. Morphology shows a close affinity between *Serranus atricauda* and *Serranus cabrilla*, *Serranus scriba* presenting less developed features. This study contributes to existing knowledge of comparative spermatology and may provide a useful systematic and phylogenetic character.

KEY WORDS spermatozoa - ultrastructure - environmental - taxonomy - phylogeny - *Serranus*

INTRODUCTION

Organization of spermatozoa of many teleosts, especially of marine species, is known only from brief characterisations or completely unknown. Both light and electron microscopy of a spectrum of teleost spermatozoa have demonstrated that important morphological differences can be found between different species and can be used for taxonomic purposes (Jamieson, 1991; Gwo and Gwo, 1993; Afzelius and Mims, 1995; Yao *et al.*, 1995; Lahnsteiner and Patzner, 1995, 1996). However, comparative studies have generally been carried out in species of very unlike genera (*e.g.*, Mattei, 1969, 1970; Lahnsteiner and Patzner, 1990; Gwo *et al.*, 1994).

The species of the genus *Serranus* show synchronous hermaphroditism, so that male and female tissues are functional at the same time, and this has been considered as the most primitive pattern of reproduction within Serranidae (Smith, 1965). The most common mating is serial monogamy, in which individuals are solitary during the day, and pair up and spawn in the late afternoon (see Fischer, 1986). In these cases, one fish functions as male and the other as female so that a cross-fertilization takes place. This special characteristic and the possibility of self-fertilization have led to describe in detail the gonad morphology of genus *Serranus* (Reinboth, 1962, 1970; Atz, 1965; Fishelson, 1970; Febvre *et al.*, 1975; Zanuy, 1977; Bruslé, 1983; Abd-el-Aziz and Ramadan, 1990; García-Díaz *et al.*, 1997), but in any species of *Serranus* the spermatozoon ultrastructure has been examined.

Three species of genus *Serranus* (Serranidae) inhabit in the Eastern Atlantic and Mediterranean. Blacktail comber *Serranus atricauda* Günther, 1874 is a demersal species found on rocky, rocky-sandy or coralline bottoms, to depth up 150 m. Comber *Serranus cabrilla* (Linnaeus, 1758) and painted comber *Serranus scriba* (Linnaeus, 1758) are demer-

Mailing address: Dr. M. Mercedes García-Díaz, Instituto Canario de Ciencias Marinas, P.O. Box 56, E-35200 Telde (Las Palmas), Spain; e-mail: mercedes@iccm.rcanaria.es

sal species found mainly on rocky, mud and algal or seagrass substrates, between 5 and 500 m and 5 to 150 m, respectively (Smith, 1981, 1990; Tortonese, 1986; Bauchot, 1987; Brito, 1991; Franquet and Brito, 1995).

The objective of the present study was *a*) to examine the spermatozoon ultrastructure of the species of genus *Serranus* present in the Canary Islands (Central-Eastern Atlantic), using transmission and scanning electron microscopy, and *b*) to determine if it shares important differences among species of the same genus.

MATERIALS AND METHODS

Mature individuals of *Serranus atricauda*, *Serranus cabrilla* and *Serranus scriba* were caught in two surveys conducted around the island of Gran Canaria (Canary Islands) in June 1998 for ultrastructural analysis. Fishes were anaesthetised with 1,1,1, trichloro-2methyl-2-propanol prior to handstripping. Small pieces of the gonads were fixed in Karnovsky's fixative for 2-4 h and then washed several times in 0.1 M phosphate buffer (for approximately 68-70 h) to 4°C, for scanning (SEM) and transmission electron microscopy (TEM).

Samples were dehydrated in alcohol, dried from liquid carbon dioxide in a critical-point drier (Tousimis Autosamdi 814), coated with gold-palladium by a sputter coater (Biorad SC 500) and examined with a scanning electron microscope (Hitachi S-4100).

Other samples were postfixed in 1% osmium tetroxide in 0.1 M phosphate buffer for 3 h and dehydrated in acetone for transmission electron microscopy. The tissue was embedded in araldite (Durcupan, Fluka), ultrathin sections were obtained with an ultramicrotome (Ultracut-E, Reichert-Jung) and examined by transmission electron microscopy (Phillips CM 10). Measurements were performed on electron micrographs and are expressed as mean ± standard deviation (n = 10).

RESULTS

Spermatozoa of *Serranus atricauda* as well as of *Serranus cabrilla* and *Serranus scriba* are of the primitive type. In all three species the spermatozoon has an ovoid shaped head, a short midpiece consisting of several mitochondria, a long flagellum and has no acrosome.

The head and midpiece are not clearly separated and contain only very small amounts of cytoplasm, which have a granular appearance. The nucleus contains highly electron dense granular chromatin. The nuclear envelope lacks pores. The nuclear invagination is not deep and its dimensions are similar to the centriolar complex.

In the midpiece is found the centriolar complex, consisting of a proximal and distal centriole, and is separated from the flagellum by a cytoplasmic canal. The two centrioles are orientated perpendicularly to each other and arranged at a right angle to the base of the head. The proximal centriole is formed by nine peripheral pairs of microtubules, has no central microtubules, and it houses in the nuclear fossa. The distal centriole consists of nine pairs of peripheral microtubules and of two central microtubules, which form the basal body

of the axoneme. Although the size and the number of the mitochondria vary among the three spermatozoa, mitochondria exhibit certain common features and a generalized organelle can be described. The mitochondrion is enclosed by two distinct membranes. The inner membrane separates the organelle volume into two phases: the electron lucent matrix and the intermembrane space. The inner membrane displays numerous infoldings called cristae which are irregular or laminar shaped, and extend into the matrix.

The flagellum shows a typical structure of nine pairs of peripheral microtubules and two central microtubules.

Serranus atricauda and *Serranus cabrilla*

The general organization of spermatozoa of both species is similar, presenting symmetrical morphology with central insertion of flagellum (Fig. 1).

The head and midpiece together measure 2.33 ± 0.25 and $1.58 \pm 0.10 \mu\text{m}$ in length, with a maximal diameter of 1.92 ± 0.15 and $1.52 \pm 0.15 \mu\text{m}$ in *Serranus atricauda* and *Serranus cabrilla* (Fig. 2), respectively. The ovoid nucleus is $1.19 \pm 0.12 \mu\text{m}$ in longitudinal axis and $1.39 \pm 0.13 \mu\text{m}$ in lateral axis for *Serranus atricauda*; it is $0.98 \pm 0.09 \mu\text{m}$ in length and $1.34 \pm 0.11 \mu\text{m}$ in width for *Serranus cabrilla*. The nuclear fossa is $0.28 \pm 0.04 \mu\text{m}$ long and has a diameter of $0.39 \pm 0.05 \mu\text{m}$ in *Serranus atricauda*; it reaches values of $0.27 \pm 0.06 \mu\text{m}$ in length and $0.37 \pm 0.04 \mu\text{m}$ in width for *Serranus cabrilla* (Figs. 1 and 2).

The midpiece contains five equal-size spherical mitochondria with a diameter of $0.54 \pm 0.08 \mu\text{m}$ in *Serranus atricauda*, and four mitochondria with a diameter of $0.57 \pm 0.06 \mu\text{m}$ in *Serranus cabrilla* (Fig. 3). The cytoplasmic canal is $0.32 \pm 0.02 \mu\text{m}$ in width and $0.41 \pm 0.04 \mu\text{m}$ in length in *Serranus atricauda*; it is $0.37 \pm 0.05 \mu\text{m}$ long and $0.21 \pm 0.03 \mu\text{m}$ wide in *Serranus cabrilla*. The proximal centriole presents a diameter of $0.21 \pm 0.02 \mu\text{m}$ and a length of $0.18 \pm 0.03 \mu\text{m}$ in *Serranus atricauda*, while it is $0.21 \pm 0.03 \mu\text{m}$ in length and $0.19 \pm 0.03 \mu\text{m}$ in width for *Serranus cabrilla* (Fig. 4). The distal centriole measures $0.20 \pm 0.02 \mu\text{m}$ and $0.17 \pm 0.02 \mu\text{m}$ in diameter for *Serranus atricauda* and *Serranus cabrilla*, respectively.

The flagellum has a length of about $43 \mu\text{m}$ and a diameter of $0.19 \pm 0.03 \mu\text{m}$ in *Serranus atricauda*; it has values of about $40 \mu\text{m}$ in length and $0.18 \pm 0.05 \mu\text{m}$ in width in *Serranus cabrilla* (Figs. 5 and 6).

Serranus scriba

The spermatozoa morphology is asymmetrical due to the lateral insertion of the flagellum (Figs. 7 to 9).

The head and midpiece together have a length of $2.83 \pm 0.20 \mu\text{m}$ and a width of $1.71 \pm 0.15 \mu\text{m}$. The ovoid nucleus is asymmetrical and measures $1.39 \pm 0.15 \mu\text{m}$ maxi-

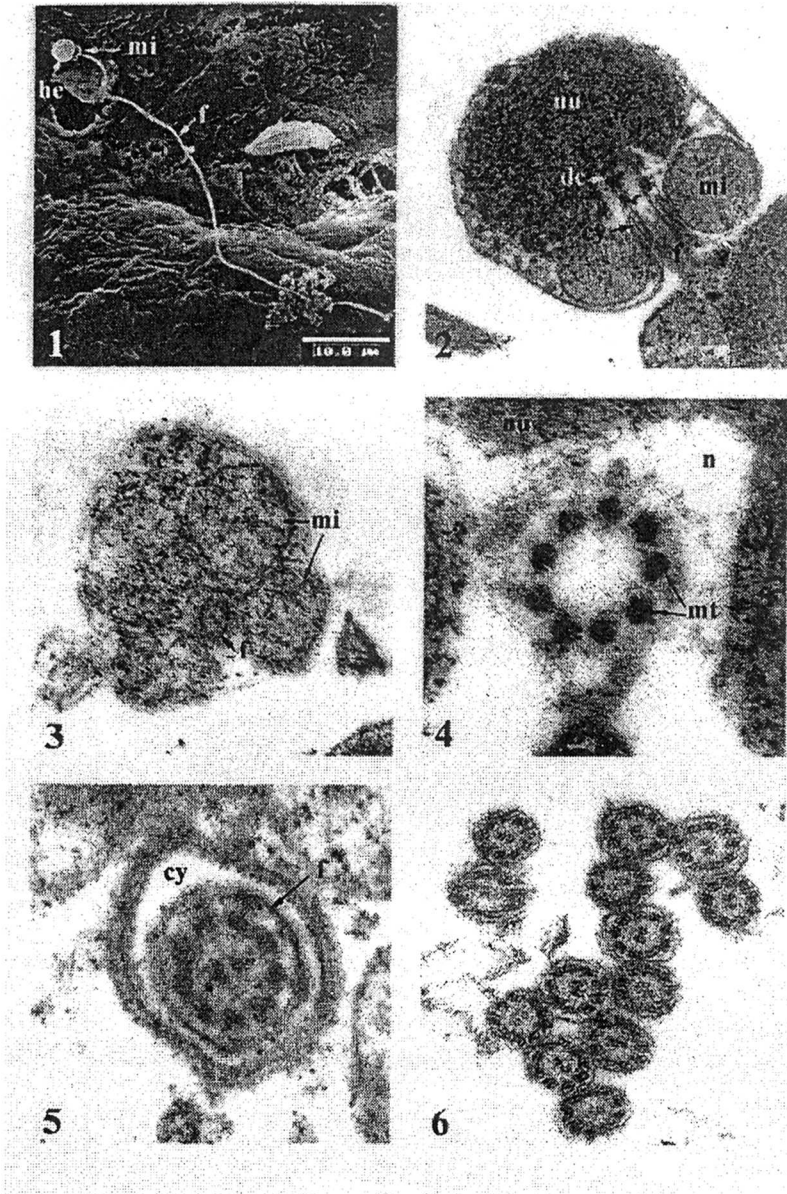


FIGURE 1 Spermatozoon of *S. atricauda*. SEM. he: head; f: flagellum; mi: mitochondrion.

FIGURE 2 Spermatozoon of *S. cabrilla*. TEM. Longitudinal section. cy: cytoplasmic channel; dc: distal centriole; f: flagellum; mi: mitochondrion; nu: nucleus. $\times 27,500$.

FIGURE 3 Midpiece of the spermatozoon of *S. cabrilla*. TEM. Longitudinal section. c: cytoplasm; f: flagellum; mi: mitochondrion. $\times 15,500$.

FIGURE 4 Proximal centriole of the spermatozoon of *S. cabrilla*. TEM. n: nuclear fossa; nu: nucleus; mt: microtubules. $\times 27,500$.

FIGURE 5 Flagellum of the spermatozoon of *S. cabrilla*. TEM. Cross section. cy: cytoplasmic channel; f: flagellum. $\times 46,000$.

FIGURE 6 Flagella of the spermatozoa of *S. atricauda*. TEM. Cross section. $\times 39,000$.

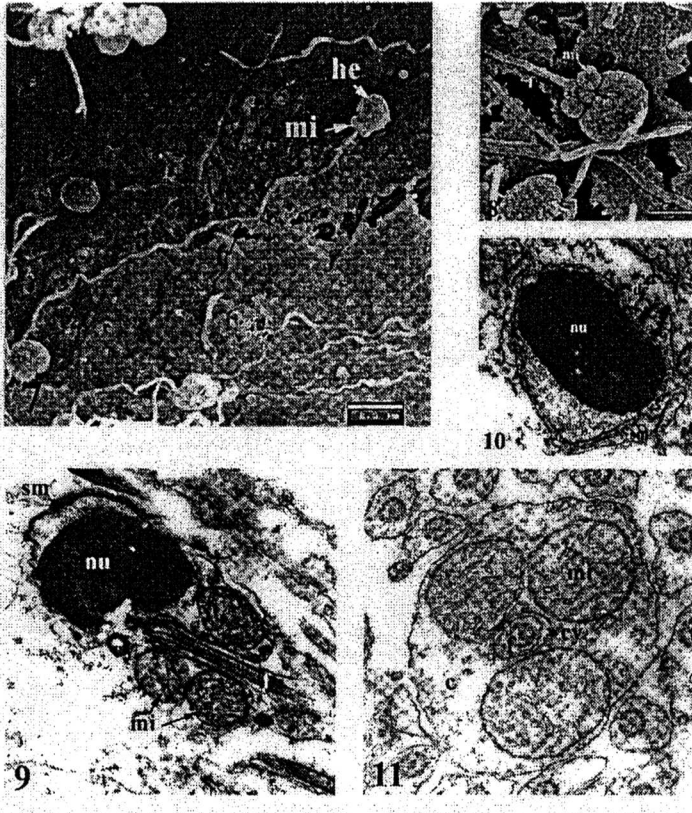


FIGURE 7 Spermatozoon of *S. scriba*. SEM. he: head; f: flagellum; mi: mitochondrion.

FIGURE 8 Insertion of the flagellum of the spermatozoon of *S. scriba*. SEM. he: head; f: flagellum; mi: mitochondrion.

FIGURE 9 Spermatozoon of *S. scriba*. TEM. Longitudinal section. cy: cytoplasmic channel; mi: mitochondrion; nu: nucleus; sm: stacked membranes. $\times 18,000$.

FIGURE 10 Anterior nuclear surface of the spermatozoon of *S. scriba*. TEM. dc: distal centriole; m: nuclear membrane; nu: nucleus. $\times 27,500$.

FIGURE 11 Midpiece of the spermatozoon of *S. scriba*. TEM. Longitudinal section. c: cytoplasm; cy: cytoplasmic channel; f: flagellum; mi: mitochondrion. $\times 18,000$.

mum in length and $1.22 \pm 0.13 \mu\text{m}$ in width; it consists of densely packed granular chromatin material (Fig. 10). Although the acrosome is missing, the spermatozoon exhibits stack of membranes (one or two) apposed to the nuclear envelope in its anterior region. It consists of two membranes separated by a distinct perinuclear cisterna, which contains electron lucent material. The nuclear fossa is located in the longitudinal axis of the spermatozoon and has a length of $0.34 \pm 0.07 \mu\text{m}$ and a diameter of $0.21 \pm 0.05 \mu\text{m}$ (Figs. 9 and 10).

The midpiece contains four spherical mitochondria with a diameter of $0.71 \pm 0.18 \mu\text{m}$: three appear to form a rectangular triangle (Fig. 11), and one is closer to the centriolar complex (Fig. 9). The cytoplasm shows several lipid droplets. The cytoplasmic canal has a diameter of $0.33 \pm 0.03 \mu\text{m}$ and its length is $1.13 \pm 0.08 \mu\text{m}$. The proximal centriole is $0.25 \pm 0.02 \mu\text{m}$ long and $0.30 \pm 0.02 \mu\text{m}$ wide. The distal centriole has a diameter of $0.30 \pm 0.02 \mu\text{m}$. The flagellum presents a length of about $47 \mu\text{m}$ and a diameter of $0.30 \pm 0.04 \mu\text{m}$.

DISCUSSION

Sperm morphology reflects the mode of individual fertilization. The so-called primitive type of sperm belongs to aquatic species with external fertilization; these sperms typically have a spheroidal nucleus with a short midpiece (Grier, 1981). Spermatozoa of the three species examined in this study exhibit a primitive morphology as that of other external fertilizing teleosts (Koch and Lambert, 1990; Jamieson, 1991; Gwo, 1995; Lahnsteiner and Patzner, 1996), differentiating in an ovoid head, smaller midpiece and a tail region. However, the comparison of spermatozoa in the genus *Serranus* reveals important morphological differences among species in relation with its morphology, sperm size, dimensions of the organelles and mitochondria number and position. The spermatozoon of *Serranus scriba* is the most different being its specific characteristics the stack of membranes apposed to the nuclear envelope, asymmetrical figure and localization of mitochondria in two planes. These characteristics indicate that its morphology is more primitive than its congeners. This observation is based on the fact that spermatozoa of teleost fish do not present an acrosome because it is missing during the evolution, this structure being considered as an ancestral feature (Afzelius, 1978; Koch and Lambert, 1990). Moreover, the lateral insertion of the flagellum, involving an asymmetrical lateral ribbon and a loss of the efficiency of flagellar undulations and stabilization structures, is not common in teleosts species (Lahnsteiner and Patzner, 1995). This type of insertion may explain the mitochondria distribution in different planes. Consequently, during the spermatozoon evolution in this genus two events occur: 1) the change in position of the flagellum insertion causes the moving of the mitochondrion closer to the centriolar complex towards the plane occupied by another mitochondrion; 2) the loss of stack of membranes apposed to the nuclear envelope.

The differences found in the spermatozoa size could be related with environmental aspects. *Serranus scriba* is the shallowest species and it presents the biggest head, mitochondria and flagellum, *Serranus cabrilla* inhabits in depth waters and has a smaller spermatozoon, while *Serranus atricauda* occurs in medium waters and shows an intermediate size. Moreover, the relation length/width of the head and midpiece together is greater in *Serranus scriba* (more elongated) and minor in *Serranus cabrilla* (more rounded). These results suggest that the decrease in spermatozoa size is directly related with the depth at which species inhabit. In deeper waters the pressure is greater than in shallower waters (Brown *et al.*, 1989), and so a smaller structure and a more rounded morphology may swim easier. Jamieson (1991) and Lahnsteiner and Patzner (1995) argued that the differences in the shape of spermatozoa, the number of mitochondria, the arrangement of centrioles as well as the occurrence of lateral flagellar

ribbons among different teleost species may have consequences in the swimming behaviour as sperm velocity, swimming types and head detachment.

In the last years, the divergencies in sperm structure are considered to be mainly phylogenetic, although the morphology of spermatozoa is influenced by the reproductive mode (Gwo and Gwo, 1993). Spermatozoa of teleosts are very variable and there are conspicuous differences between those of different families, while they are very similar within families (Mattei, 1969, 1970; Bruslé, 1981; Jamieson, 1991; Gwo *et al.*, 1994). The studies within genus have not shown high variations; *e.g.*, Bruslé (1981) observed a very similar spermatozoa morphology in *Liza* spp., with the exception of a few details. However, in this study we have demonstrated that important differences exist among species of the genus *Serranus*, being sperm morphology of *Serranus atricauda* and *Serranus cabrilla* similar. Although environmental factors as pressure may influence the shape of spermatozoa, this morphological affinity may have phylogenetic implications, as a close relationship between these species is observed, considering that *Serranus scriba* is the less developed species. In this respect, Tuset (unpublished results), in otolith morphological studies on this species, found identical phylogenetic relationships. Consequently, morphological differences in *Serranus* spermatozoon indicate that the ultrastructure of these cells can be useful as additional characters in taxonomic classification, determining phylogenetic relations and interpreting evolutionary changes.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Mr. Sebastian Álvarez, Mr. Antonio Valencia, Mr. Enrique Fernández, Mr. Manuel Amor for their cleverness and patience during collection of fishes and to members of S.C.S.I.E., University of Valencia, for technical assistance.

REFERENCES

- ABD-EL-AZIZ S.H. and RAMADAN A.A., 1990. Sexuality and hermaphroditism in fishes. I. Synchronous functional hermaphroditism in the serranid fish *Serranus scriba* L. *Folia Morphol.*, 38, 86-103.
- AFZELIUS B.A., 1978. Fine structure of the garfish spermatozoon. *J. Ultrastruct. Res.*, 64, 309-314.
- AFZELIUS B.A. and MIMS S.D., 1995. Sperm structure of the bowfin, *Amia calva* L. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 27 (3), 291-294.
- ATZ J.W., 1965. Hermaphroditic fish. *Science*, 150, 789-797.
- BAUCHOT M.L., 1987. Serranidae. In: 'Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche'. (Révision 1). Méditerranée et Mer Noire. Zone de pêche 37'. Vol. II. Fischer W., Bauchot M.L. and Schneider M. eds., FAO-CEE, Rome, pp. 1301-1319.
- BILLARD R., 1983. Spermiogenesis in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Cell Tissue Res.*, 233, 265-284.
- BRITO A., 1991. 'Catálogo de los peces de las Islas Canarias'. Lemus F. ed., La Laguna, Tenerife, pp. 230.
- BROWN J., COLLING A., PARK D., PHILLIPS J., ROTHERY D. and WRIGHT J., 1989. 'Seawater: its composition, properties and behaviour'. Bearman G. ed., Pergamon Press and The Open University, England, pp. 165.

- BRUSLÉ S., 1981. Ultrastructure of spermiogenesis in *Liza aurata* Risso, 1810 (Teleostei, Mugilidae). *Cell Tissue Res.*, 217, 415-424.
- BRUSLÉ S., 1983. Contribution to the sexuality of a hermaphroditic teleost, *Serranus hepatus* L. *J. Fish Biol.*, 22, 283-292.
- FEUVRE M., MICHELE M. and LAFAURIE M., 1975. Comparaison de la séquence ovogénétique chez des Téléostéens ovipares gonochoriques et hermaphrodites (*Mullus*, *Serranus*, *Boops*). VIII. European Marine Biology Symposium, Sorrento, Naples, 1973. *Pubbl. Staz. Zool. Napoli*, 39, 140-152.
- FISCHER E.A., 1986. Mating systems of simultaneously hermaphroditic serranid fishes. In: 'Proceedings of the Second Indo-Pacific Fish Conference'. Uyeno T., Arai R., Taniuchi T. and Matsuura K. eds., Ichthyological Society of Japan, Tokyo, pp. 776-784.
- FISHelson L., 1970. Protogynous sex reversal in the fish *Anthias squamipinnis* regulated by the presence or absence of a male fish. *Nature*, 227, 90-91.
- FRANQUET F. and BRITO A., 1995. 'Especies de interés pesquero en Canarias'. Gobierno de Canarias, Consejería de Pesca y Transportes, pp. 143.
- GARCÍA-DÍAZ M.M., TUSET V.M., GONZÁLEZ J.A. and SOCORRO J., 1997. Sex and reproductive aspects in *Serranus cabrilla* (Osteichthyes: Serranidae): macroscopic and histological approaches. *Mar. Biol.*, 127, 379-386.
- GRIER H.J., 1981. Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. *Am. Zool.*, 21, 345-357.
- GWO J.-C., 1995. Ultrastructural study of osmolality effect on spermatozoa of three marine teleosts. *Tissue Cell*, 27 (5), 491-497.
- GWO J.-C. and GWO H.-H., 1993. Spermatogenesis in the Black Porgy, *Acanthopagrus schlegelii* (Teleostei: Perciformes: Sparidae). *Mol. Reprod. Dev.*, 36, 75-83.
- GWO J.-C., GWO H.-H., KAO J.-S., LIN B.-H. and SHIH H., 1994. Spermatozoa ultrastructure of two species of grouper *Epinephelus malabaricus* and *Plectropomus leopardus* (Teleostei, Perciformes, Serranidae) from Taiwan. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 26, 131-136.
- JAMIESON B.G.M., 1991. 'Fish Evolution and Systematics: Evidence from Spermatozoa'. University Press, Cambridge, pp. 319.
- KOCH R.A. and LAMBERT C.C., 1990. Ultrastructure of sperm, spermiogenesis, and sperm-egg interactions in selected invertebrates and lower vertebrates which use external fertilization. *J. Electron Microsc. Tech.*, 16, 115-154.
- LAHNSTEINER F. and PATZNER R.A., 1990. Spermiogenesis and structure of mature spermatozoa in blennioid fishes (Pisces, Blenniidae). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 22, 565-576.
- LAHNSTEINER F. and PATZNER R.A., 1995. Fine structure of spermatozoa of two marine teleost fishes, the red mullet, *Mullus barbatus* (Mullidae) and the white sea bream, *Diplodus sargus* (Sparidae). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 27, 259-266.
- LAHNSTEINER F. and PATZNER R.A., 1996. Fine structure of spermatozoa of three teleost fishes of the Mediterranean sea: *Trachinus draco* (Trachinidae, Perciformes), *Uranoscopus scaber* (Uranoscopidae, Perciformes) and *Synodon saurus* (Synodontidae, Aulopiformes). *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 28, 297-303.
- MATTEI X., 1969. Contribution à l'étude de la spermiogénèse et des spermatozoïdes de poissons par la méthode de la microscopie électronique. Thèse Doctorat d'Etat, Sciences, Montpellier, AO 3263, pp. 148.
- MATTEI X., 1970. Spermiogénèse comparée des poissons. In: 'Comparative Spermatology'. Baccetti B. ed., Academic Press, London, New York, pp. 57-69.
- MATTEI X. and THIAW O.T., 1993. Acrosome-like structures in the spermatozoa of teleost fishes. *Can. J. Zool.*, 71 (5), 883-888.
- REINBOTH R., 1962. Morphologische und funktionelle Zweigeschlechtlichkeit bei marinen Teleostiern (Serranidae, Sparidae, Centranchthidae, Labridae). *Zool. Jahrbüch. Physiol.*, 69, 405-480.
- REINBOTH R., 1970. Intersexuality in fishes. *Mem. Soc. Endocrinol.*, 18, 515-543.
- REYNOLDS E.S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 17, 208-212.
- SMITH C.L., 1965. The patterns of sexuality and classification of Serranid fishes. *Am. Mus. Novit.*, 2207, 1-20.
- SMITH C.L., 1981. Serranidae. In: 'Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Atlantique Centre-Est. Zones de pêche 34, 47. (en partie)'. Vol. IV. Fischer W., Bianchi G. and Scott W.B. eds., Minis. Pêch. Océans Canada, ONU-FAO, Ottawa, pp. var.
- SMITH C.L., 1990. Serranidae. In: 'Check-List of the Fishes of the eastern Tropical Atlantic'. Vol. II. Quéro J.C., Hureau J.C., Karrer C., Post A. and Saldanha L. eds., UNESCO-SEI-JNICT, Portugal, pp. 695-706.
- TORTONESE E., 1986. Serranidae. In: 'Fishes of the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean'. Vol. II. Whitehead P.J.P., Bauchot M.L., Hureau J.C., Nielsen J. and Tortonese E. eds., UNESCO, United Kingdom, pp. 780-792.
- YAO Z., EMERSON C.J. and CRIM L.W., 1995. Ultrastructure of the spermatozoa and eggs of the ocean pout (*Macrozoarces americanus* L.), an internally fertilizing marine fish. *Mol. Reprod. Dev.*, 42, 58-64.
- ZANUY S., 1977. Inducción a la puesta y estudio de la ovogénesis en un teleosteo marino: *Paracentropistis cabrilla* L. *Inu. Pesq.*, 41, 337-384.