



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

MORFOFISIOLOGÍA REPRODUCTORA DEL ROBALO BLANCO *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) EN EL AMBIENTE MARINO Y DULCEACUÍCOLA ASOCIADOS AL SISTEMA GRIJALVA-USUMACINTA EN EL ESTADO DE TABASCO

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:
M. EN C. ULISES HERNÁNDEZ VIDAL

TUTOR PRINCIPAL
DR. FRANCISCO XAVIER CHIAPPA-CARRARA
UNIDAD ACADÉMICA SISAL
COTUTOR
DR. WILFRIDO MIGUEL CONTRERAS SÁNCHEZ
PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

COMITÉ TUTOR
DRA. MARÍA DEL CARMEN URIBE ARANZÁBAL
FACULTAD DE CIENCIAS
DR. JUAN PABLO MADRID VERA
PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
DRA. MARÍA EUGENIA VEGA CENDEJAS
PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
DR. ROBERTO DOMÍNGUEZ CASALÁ
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD ZARAGOZA

MÉXICO, D. F. MAYO DEL 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Posgrado de Ciencias del Mar y Limnología



Universidad Nacional Autónoma de México

MORFOFISIOLOGÍA REPRODUCTORA DEL ROBALO BLANCO *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) EN EL AMBIENTE MARINO Y DULCEACUÍCOLA ASOCIADOS AL SISTEMA GRIJALVA-USUMACINTA EN EL ESTADO DE TABASCO

T E S I S

que para obtener el grado académico de

DOCTOR EN CIENCIAS

presenta

ULISES HERNÁNDEZ VIDAL

Tutor principal: Dr. Xavier Chiappa-Carrara (UNAM)

Asesor Externo: Dr. Wilfrido M. Contreras Sánchez (UJAT)

Comité Tutor:

Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal

Dr. Juan Madrid Vera

Dra. María Eugenia Vega Cendejas

Dr. Roberto Domínguez Casalá

Ciudad Universitaria, México, D.F. 2014

TABLA DE CONTENIDO	
AGRADECIMIENTOS	3
ESTRUCTURA DE LA TESIS	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN GENERAL	7
CAPITULO I	
Antecedentes	
Preguntas e Hipótesis	10
Objetivos	
Área de Estudio	
CAPÍTULO II	
Genetic variability of the Common Snook <i>Centropomus undecimalis</i> (Perciformes: Centropomidae) in connected marine and riverine environments	28
CAPÍTULO III	
Reproductive Variability of the Common Snook <i>Centropomus undecimalis</i> in Environments of Contrasting Salinities, interconnected by the Grijalva- Usumacinta Fluvial System	45
CAPÍTULO IV	
Fisiología reproductora del robalo común <i>Centropomus undecimalis</i> en ambientes contrastantes interconectados por el sistema fluvial Grijalva- Usumacinta	68
DISCUSIÓN GENERAL	106
CONCLUSIONES GENERALES	112
REFERENCIAS GENERALES	114

AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México por permitir formarme en su programa y apoyos otorgados durante el mismo, a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco y al Programa de Mejoramiento del Profesorado (SEP) por el apoyo económico otorgado como becario docente para incorporarme al PCMyL y apoyo durante las estancias académicas. Adicionalmente, por las facilidades en la UJAT para el uso de la infraestructura y equipamiento para realizar las actividades consideradas en este proyecto, particularmente de los Laboratorios de la DACBiol (Acuicultura Tropical, Histología Animal, Bioquímica y Genética Molecular) y de la DACS (Metabolismo de Lípidos).

Al Collaborative Research Support Program (PD/A CRSP-USAID); Programa de Fomento a la Investigación (UJAT) por el apoyo financiero otorgado para realizar esta investigación. Parte de este trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Ecología de la Unidad Académica Sisal de la UNAM gracias al financiamiento de los proyectos CONACyT (103229), PAPIIT (IN207609, IN213012), PAPIIME (PE204012) y PROMEP (103.5/12/2122)

A mis asesores Dr. Xavier Chiappa-Carrara y Dr. Wilfrido M. Contreras Sánchez por su valioso apoyo en la gestión y conclusión de esta investigación; así como al comité tutor y ampliado por sus sugerencias y comentarios durante el curso de mi formación.

A la M.C. Arlette A. Hernández Franyutti, Dra. Julia Leshner Gordillo, Dra. Isela E. Juárez Rojop, MCA. Alejandro Macdonal Vera, Est. Moisés González, MCA. María Jesús Contreras García, Biól. Alejandro Salvador, Est. David Cáliz y MCA. Alfonso Frías quienes colaboraron en actividades de asesoría, apoyo en campo y laboratorio. Al personal del Laboratorio de Biología de la Reproducción de la Facultad de Ciencias de la UNAM particularmente la Dra. Mari Carmen Uribe por su apoyo durante mi estancia. Al Laboratorio de Sistemas de Información Geográfica de la UJAT, al Dr. Stefan L. Arriaga Weiss por su apoyo en revisión de versión en inglés.

A las cooperativas pesqueras San Ramón (Jalapita, Tabasco) y Pescadores Ribereños de San Pedro (Balancán, Tabasco) quienes dieron facilidades para los muestreos en sus áreas de trabajo. A los integrantes que fungieron como guías de campo, apoyo en captura y preservando la integridad personal del grupo de trabajo; Ramón, Antonio, Gabriel, Manuel, Freddy, Nico, Nick, Aarón y Guli.

ESTRUCTURA DE LA TESIS

Este documento de tesis aborda aspectos genéticos, morfológicos y fisiológicos de *C. undecimalis* en ambientes de salinidad contrastante. La información se agrupó en secciones generales y en capítulos con temas específicos. La primera parte corresponde al marco teórico de esta tesis mientras que, el resto, a los manuscritos que fueron preparados para ser enviados a revistas para su publicación. Los manuscritos atienden las normas editoriales de cada revista.

El **capítulo I** incluye una investigación documental con las bases teóricas, sustento de esta investigación y la descripción del área de estudio. Debido a que los aspectos reproductores considerados en esta investigación se abordan de forma comparativa entre los organismos provenientes del ambiente marino y dulceacuícola, fue necesario analizar la relación genética entre los peces de las dos localidades para sustentar las inferencias en el resto del estudio. Por esta razón, el **capítulo II** es un estudio comparativo de la variabilidad genética de los organismos capturados en las diferentes localidades. En el **capítulo III** se analizan los aspectos reproductores a nivel macroscópico y el análisis general del desarrollo en los ambientes marino y dulceacuícola. Finalmente, en el **capítulo IV** se aborda la fisiología reproductora mediante el análisis de indicadores bioquímicos, índices reproductores y el análisis microscópico de las gónadas para describir las características del ciclo reproductor en estos ambientes.

RESUMEN. El robalo común *Centropomus undecimalis* es un pez eurihalino que habita en áreas ribereñas y marinas del sur del golfo de México donde es sujeto a explotación intensa debido al valor comercial del producto. La captura de los animales adultos se realiza en ambientes marinos mientras que los adultos jóvenes y juveniles se capturan en dulceacuícolas. En áreas alejadas del mar se localizan adultos de gran talla y edad. Este hecho explica el poco conocimiento que se tiene sobre el efecto del ambiente contrastante sobre su ciclo reproductor. Con la finalidad de estudiar el efecto del hábitat de salinidad contrastante en el robalo común, se analizaron las características genéticas y reproductoras durante un ciclo anual en un ambiente dulceacuícola y otro marino interconectados por la cuenca Grijalva-Usumacinta. Se obtuvieron evidencias que indican que aunque los peces están ubicados geográficamente a gran distancia entre sí y en salinidad contrastante, pertenecen al mismo grupo genético. Ambos sexos alcanzan etapas avanzadas de la gametogénesis en ambiente dulceacuícola aunque desovan en el ambiente marino. El ciclo reproductor del robalo común muestra un patrón de tipo estacional y presenta periodos definidos por alta y baja actividad gametogénica y hormonal que permiten definir una fase reproductora y una no reproductora. El ciclo reproductor completo se observó en ambos sexos en el ambiente marino. En este ambiente, en las hembras se presentan las etapas de previtelogénesis, vitelogénesis, maduración ovocitaria y desove, mientras que en los machos las etapas reconocidas fueron de madurez temprana, madurez media, madurez avanzada, regresión temprana y regresión avanzada. En el ambiente dulceacuícola las hembras presentan la mayor parte de las etapas reproductoras con excepción de la maduración y el desove, mientras que en los machos se observaron todas. En estas localidades *C. undecimalis* el ambiente dulceacuícola es un factor importante para su biología reproductora. Los resultados de nuestro estudio nos sugieren que en este ambiente alcanza la madurez sexual como macho y posteriormente se incorporan al grupo reproductor en ambiente marino. En ambos ambientes se presenta la condición de transición sexual de macho a hembra característica del hermafroditismo de esta especie. Debido a que este estudio presenta información a nivel genético y reproductor dentro del contexto de las diferencias ambientales, con información no conocida para esta especie en el ambiente dulceacuícola, los resultados pueden ser considerados en el desarrollo del plan de manejo pesquero en la región y la modificación de la regulación existente que favorezca la permanencia del recurso considerando todo el ámbito de distribución.

Palabras clave: Salinidad contrastante, variabilidad genética, ciclo reproductor, *Centropomus undecimalis*, Sistema Grijalva-Usumacinta.

ABSTRACT. The Common Snook *Centropomus undecimalis* is a euryhaline fish inhabiting riverine and marine habitats in the South Gulf of Mexico where it is object of intensive exploitation due to its commercial value and demand. Adult snooks are caught mainly in marine environments, whilst young adults and juveniles are abundant in freshwater. Old and large adults are found in freshwater far away from the sea. This fact explains the limited knowledge about the effects of a contrasting environment on snook reproductive cycle. In order to investigate the effects of contrasting salinity on the Common Snook, genetic and reproductive traits were analyzed during an annual cycle in marine and freshwater habitats interconnected by the Grijalva-Usumacinta basin. Fishes sampled in contrasting salinity and very distant localities come from the same fish stock. Both sexes reach late gametogenesis stages in freshwater but spawn in marine habitats. Common Snook show a seasonal reproductive pattern and periods defined by high and low gametogenic and hormonal activity defining reproductive and non-reproductive periods. All reproductive cycle classes were observed in both sexes in the marine environment. Reproductive classes previtelogenesis, vitelogenesis, oocyte maturation and spawn were found in marine females whereas marine male maturation classes were: early, mid, late, early regressed and late regressed. In the freshwater environment, females showed most maturation classes but oocyte maturation and spawn were absent. All maturation classes were observed in freshwater males. Freshwater habitat is an important cue for Common Snook reproductive biology. Our results suggest that males reach sexual maturation in freshwater and migrate to incorporate into the reproductive marine stock. Sexual transition from male to female was observed in both habitats. Because this research exhibits new genetic and reproductive data considering environmental differences, particularly for freshwater habitat, these results could be considered in fishery management programs for this region and to modify actual regulation to maintain fish stock in its entire distribution range.

Keywords: contrasting salinity, genetic variability, reproductive cycle, *Centropomus undecimalis*, Grijalva-Usumacinta basin.

INTRODUCCIÓN GENERAL

La biología reproductora de los animales considera las relaciones que se presentan a distintos niveles del sistema reproductor y que son el resultado de su interacción con las condiciones ambientales. Este proceso incluye mecanismos que involucran la transducción de las señales mediante estructuras sensoriales, la integración de la información a nivel del sistema nervioso central y la secreción de hormonas. Estas hormonas actúan sobre tejidos y estructuras bajo un esquema de acción inhibitoria o estimuladora que conduce a una acción particular. La actividad reproductora puede ser monitoreada mediante el análisis de diversas respuestas morfológicas y fisiológicas que pueden incluir; la evaluación histológica a nivel de la gónada, los índices de condición reproductora, la concentración plasmática de hormonas esteroides y de vitelogenina, entre otros. Esta información analizada a lo largo del tiempo y considerando las condiciones ambientales locales, contribuye a comprender el proceso en las poblaciones. Estos datos pueden ser complementados con información sobre otros aspectos fisiológicos que podrían modificar el comportamiento de las variables reproductoras como el tiempo de residencia, estatus migratorio y la condición nutricional.

En áreas del océano Atlántico, se distribuyen especies de peces de importancia económica donde destacan las del género *Centropomus* o robalos que pertenecen a la familia Centropomidae. En el océano Atlántico se describe la existencia de seis especies, cuya distribución como grupo se extiende desde las costas de la Florida en E. U. A. hasta Brasil. *Centropomus undecimalis*, *C. parallelus*, *C. pectinatus* y *C. ensiferus* tienen un área de distribución amplia que abarca toda esta área, mientras que *C. mexicanus* y *C. poeyi* se localizan específicamente en el Golfo de México (Tringali *et al.*, 1999; McMichael *et al.*, 1989; Taylor *et al.*, 2000; Tringali y Bert, 1996).

Debido a su valor económico, en América Central el robalo blanco *C. undecimalis* representa una de las pesquerías artesanales más importantes de la zona costera y ribereña. Es un recurso valioso para la pesca deportiva, siendo el centro de atención de torneos en diferentes épocas del año. Su captura y posiblemente su vulnerabilidad durante el desove y migraciones, han generado que el recurso alcance en México el nivel máximo sustentable según la Carta Nacional Pesquera (Anónimo, 2006). En México, entre las zonas con mayor volumen de producción se encuentran

los estados de Veracruz, Tabasco y Campeche (Anónimo, 2006), donde se captura en el ambiente marino en las zonas costeras y en áreas alejadas del mar como en lagunas y ríos.

La presencia de *C. undecimalis* en diferentes ambientes se debe a su capacidad eurihalina y migratoria que le permiten incursionar en el ambiente marino, estuarino y fluvial. Se reproduce en la zona costera de donde las larvas y crías ingresan a estuarios y pasan a los ríos (Tringali y Bert, 1996; Tringali *et al.*, 1999). En estos sistemas ocurre parte de su desarrollo como juvenil y adulto. No existe información sobre el tiempo de residencia y la condición a nivel fisiológico que alcanza en estos ambientes.

En los ecosistemas marinos y dulceacuícolas de Tabasco, un aspecto relevante es la presencia de juveniles y adultos de distinta edad en ambientes disímiles a lo largo del año; particularmente de ejemplares de gran tamaño y edad en el ambiente dulceacuícola alejado de las zonas de reproducción ubicadas en el mar (Chávez *et al.*, 1982). En ambos sitios, se pueden localizar ejemplares machos y hembras de tallas mayores a las tallas de madurez sexual y reproductora (Perera, *et al.*, 2008). Las evidencias anteriores nos sugieren que los adultos podrían migrar de la zona ribereña al mar para el desove en la temporada reproductora y eventualmente regresar; o bien, permanecer en alguno de estos sitios por algún periodo. No se tiene información sobre estas situaciones. En consecuencia, la presencia de adultos en los ambientes contrastantes puede implicar diferencias en las características morfofisiológicas del ciclo reproductor, considerando el control diferencial del proceso impuesto por el ambiente local.

Se han realizado muchos esfuerzos con el fin de obtener información biológica y ecológica que permita conocer los aspectos de biología básica que contribuyan con el manejo del robalo blanco *C. undecimalis*, tanto del recurso silvestre desde la perspectiva pesquera y de conservación biológica, como de su manejo en cautiverio. En estas localidades son desconocidos los diversos aspectos que involucran las fluctuaciones a nivel morfofisiológico del ciclo reproductor en estado silvestre y que podrían ser de gran valor para establecer estrategias de manejo del recurso. Dentro de los aspectos que se conocen de forma general sobre el proceso reproductor están los evaluados en el ambiente marino. Existe información sobre la edad reproductora, las temporadas de desove, las características morfológicas del desarrollo ovárico y testicular, la conducta reproductora, entre

otros (Tringali y Bert, 1996; Grier, 2000; Taylor *et al.*, 2000). Según los datos disponibles, en esta región no hay información sobre la relación entre la condición reproductora a nivel histológico de ambos sexos y la fluctuación de los indicadores bioquímicos asociados de esta especie. Adicionalmente, no se conoce el posible papel que otras variables fisiológicas podrían ejercer sobre la reproducción, derivado de las necesidades ambientales.

El estudio realizado como tesis tuvo como uno de sus objetivos caracterizar el ciclo reproductor del robalo blanco *C. undecimalis* a nivel morfofisiológico en relación con el hábitat y las regiones de captura comercial en Tabasco. Se describieron y compararon las características de los estadios e indicadores bioquímicos del ciclo reproductor de machos y hembras durante un ciclo anual en una localidad típica marina y otra dulceacuícola. También se midieron algunos indicadores fisiológicos de la actividad migratoria y la relación genética de los individuos en ambas localidades.

El tema central de investigación representó una propuesta para conocer y comprender los mecanismos de regulación fisiológicos asociados al proceso reproductivo en este organismo migratorio. Dentro de las aportaciones de este estudio al campo de conocimiento se pueden señalar: la descripción morfofisiológica del ciclo reproductor anual de machos y hembras en dos ambientes contrastantes; la comparación de los indicadores bioquímicos asociados considerando la evaluación genética para identificar su origen poblacional; la evaluación indirecta del estatus migratorio de los individuos en las localidades y su posible relación con el proceso reproductor. El conocimiento de los procesos fisiológicos en los ambientes marinos y dulceacuícolas contribuirá a comprender el papel de las condiciones locales en el comportamiento del pez durante esta etapa del ciclo de vida para implementar medidas de regulación para la explotación comercial y la conservación del recurso. La relación entre los indicadores bioquímicos y la condición gonádica de hembras y machos podrá ser utilizada como un indicador indirecto para la evaluación de lotes de reproductores en condiciones de cautiverio.

CAPÍTULO I

Antecedentes

Rol de los factores ambientales en el control hormonal de la reproducción de peces

El proceso reproductor de los peces está controlado por ritmos biológicos endógenos coordinados por el eje hipotálamo-hipófisis-gónada y modulado por los factores ambientales. Cuando los factores ambientales tienen un esquema de acción a largo plazo se denominan *determinantes*, dentro de los cuales se incluyen la calidad del agua, el fotoperiodo, la temperatura, disponibilidad de alimento y depredación. Existen los factores denominados *condicionantes* con acciones específicas en el corto plazo, justo antes de que se presente el cortejo y desove. Algunos ejemplos son la disponibilidad de alimento para las crías, los sustratos para el desove, las tormentas y los niveles de marea (Redding y Patiño 1993). Según Reddy *et al.* (1998) los niveles extremos de ambos tipos de factores pueden actuar como agentes estresantes con acción que inhibe el proceso reproductor.

Los estímulos ambientales son detectados por receptores localizados en los órganos sensoriales. La información captada del ambiente sufre un proceso de transducción al transformarse en una señal interna, que es integrada por el sistema nervioso central en señales estimuladoras o inhibitoras a nivel neural. La respuesta cerebral ante el estímulo genera la secreción de neurohormonas por el hipotálamo como son los factores liberadores o la dopamina que tienen una acción estimulante o inhibitora del proceso reproductor respectivamente (Patiño 1997, Crim *et al.* 1983). La actividad fisiológica reproductora es conducida principalmente por el eje formado por el eje hipotálamo-hipófisis-gónada. Estas estructuras coordinan los diferentes eventos que conducen al evento central o desove mediante un sistema de control neuroendócrino y endócrino (Patiño 1997). Otros mensajeros químicos contribuyen en la regulación la fase de preparación, máxima actividad y recuperación durante el ciclo reproductor.

La glándula hipófisis regula el proceso reproductor por medio de la producción de las gonadotropinas o GtH (Patiño 1997). La producción de estas hormonas es regulada por una hormona secretada por neuronas localizadas en el hipotálamo y se conoce como *hormona o factor liberador de las gonadotropinas* (GnRH), un decapeptido con varias formas identificadas en peces (Peter 1983, Yaron 1995, Zohar 1998, Habibi y Andreu-Vieyra, 2007).

En los teleósteos se producen dos tipos de GtH, las cuales se conocen como GtH-I y GtH-II, denominadas así tanto por sus características estructurales, como por su modo de acción (Patiño 1997). La GtH-I es estructural y funcionalmente comparable a la hormona folículo estimulante (FSH) de los mamíferos. La síntesis y secreción de esta gonadotropina se incrementa durante las etapas tempranas del ciclo reproductor. En contraste, al igual que la hormona luteinizante (LH) de los mamíferos, la GtH-II incrementa su secreción durante las etapas avanzadas de maduración de las gónadas y en la ovulación. La actividad de ambas hormonas sobre los ovocitos está mediada por receptores ubicados en la membrana celular de las células gonádicas (Redding y Patiño 1993).

Adicionalmente el hipotálamo secreta la hormona estimuladora de la tirotropina (TRH por sus siglas en inglés), que estimula la secreción de la hormona tirotropina (TSH por sus siglas en inglés) en la hipófisis y que estimula la secreción de tiroxina (T_3) y tironina (T_4) por los folículos tiroideos. En los peces las hormonas tiroideas regulan algunos procesos como la osmorregulación ante cambios en la salinidad y pH promoviendo modificaciones del epitelio branquial que favorecen el intercambio iónico, la diferenciación celular y pigmentación de la piel durante la metamorfosis larval (Blanton y Specker 2007).

Estructura y función de las gónadas

En los teleósteos las funciones de las gónadas corresponden a la formación y liberación de gametos; así como la secreción de hormonas sexuales (Grier y Uribe 2009). Existen variaciones estructurales en las gónadas de la mayoría de las especies, las cuales reflejan patrones evolutivos y adaptaciones específicas para cada ambiente durante el ciclo reproductor (Nagahama 1983, Redding y Patiño 1993). Las gónadas están constituidas por células germinales y células somáticas. Las células germinales dan origen a los gametos y las células somáticas a las células de Sertoli en los machos y foliculares en las hembras. Las células somáticas además de tener una función estructural, son la vía por la que se aportan los elementos nutritivos y reguladores del desarrollo a las células germinales.

En los teleósteos, los testículos son órganos pareados, de forma alargada, que están unidos a la pared dorsal por una membrana denominada mesorquio (Grier y Uribe 2009). Los testículos se conectan al exterior mediante un sistema de conductos o sistema eferente que está conformado por los conductos testiculares eferentes (este conducto solo descrito en los Salmonidae y Esocidae), conducto testicular principal y conductos espermáticos. El conducto testicular principal recorre cada testículo en su longitud y al salir se denomina conducto espermático. Ambos conductos espermáticos se unen en la región caudal, convergiendo en un único conducto deferente que abre al exterior a través del poro urogenital. En las especies de teleósteos en las que se han descrito glándulas testiculares como es el caso de las familias Gobiidae, Bleniidae, Bagriidae e Ictaluriidae, estas se forman a partir de modificaciones del sistema eferente y tienen como función la formación de fluido seminal y maduración de espermatozoides (Lahnsteiner y Patzner, 2009). A nivel histológico, los testículos de los teleósteos presentan dos compartimentos: el germinal y el intersticial. El primero es un epitelio germinal que incluye a las células en todos los estadios de la espermatogénesis sostenidas por células somáticas de Sertoli. El compartimento intersticial está integrado por tejido conectivo que incluye las células de Leydig, fibras nerviosas, de colágeno y vasos sanguíneos. Los dos compartimentos están separados por una membrana basal que no permite el paso y, por lo tanto, la mezcla de las células entre sí, pero permite el paso de las sustancias nutritivas y de las hormonas reguladoras del proceso de maduración (Grier y Uribe 2009).

La estructura de los testículos de los teleósteos puede ser de tipo *tubular con anastomosis* o tipo *lobular*. El primer tipo suele encontrarse en los grupos de teleósteos más primitivos, mientras que la lobular en los más modernos. En términos generales, el testículo de los peces presenta diferencias en relación con la estructura que se presenta en el de los mamíferos. En éstos, los túbulos forman asas continuas que inician y terminan en el conducto eferente. En los peces, los túbulos forman asas que se anastomosan en la región distal y forman redes cerca de la periferia del testículo como en el caso del testículo tubular anastomosado, o terminan en una estructura cerrada en forma de lóbulo que también presenta anastomosis cerca de la periferia del testículo (Grier y Uribe 2009).

Con base en la estructura de los testículos de los teleósteos, se los clasifica en tres grupos: a) testículo tubular anastomosado, en el que el compartimento germinal forma asas hacia la periferia del testículo que se doblan hacia el conducto eferente con lo que se forma una red ampliamente ramificada y anastomosada. Este tipo de testículo se presenta en salmónidos, ciprínidos y lepisóstidos; b) testículo lobular de espermatogénesis restringida, en el que el compartimento germinal se extiende hacia la periferia del testículo y termina en los lóbulos. Las espermatogonias nunca se distribuyen a lo largo del mismo y se localizan únicamente en la región distal del lóbulo. Durante la espermatogénesis, los quistes con espermatozoides en desarrollo son desplazados hacia el conducto eferente; es característico de los Atheriniformes; y c) testículo lobular de espermatogénesis no restringida, en el que el compartimento germinal se extiende igualmente hacia la periferia del testículo terminando en lóbulos pero las espermatogonias están distribuidas a todo lo largo de la estructura. Los espermatozoides maduros se liberan hacia el lumen del lóbulo que se conecta al conducto deferente. La mayoría de los teleósteos modernos poseen testículo de espermatogénesis no restringida (Grier y Uribe 2009). A este grupo corresponde el tipo de testículo del robalo blanco *C. undecimalis* (Taylor *et al.* 1998).

En los teleósteos al inicio de la espermatogénesis, las espermatogonias forman grupos o clones que van siendo envueltos por las células de Sertoli y forman quistes o espermatoquistes. Las células germinales se transforman en espermatozoides maduros dentro de este quiste y posteriormente son liberados. Las células de Sertoli adyacentes se unen entre si mediante uniones celulares estrechas (Grier y Uribe 2009).

Los ovarios de los teleósteos generalmente son pareados, están suspendidos dorsalmente dentro del celoma por el mesovario. Son una estructura sacular que puede o no contener una cavidad interna denominada lumen u ovocele. Debido a que los teleósteos no desarrollan los conductos de Müller los ovarios se unen en la porción caudal formando un conducto que conectan al exterior en el poro genital y se le denomina *gonoducto*. La condición gimnovárica que se presenta en algunos teleósteos se refiere a que el ovario no posee dicha cavidad; mientras que en aquellos que la poseen la condición se define como cistovárica, que es la más frecuente (Nagahama 1983). Durante el desarrollo del ovario se forman proyecciones de tejido conjuntivo que forman estructuras conocidas como lamelas ováricas. Las lamelas contienen células somáticas, células

germinales, folículos en desarrollo y tejido epitelial. En el cistovario las lamelas se forman entre la periferia del ovocele y el estroma, posteriormente estas lamelas se proyectan hacia el interior del estroma, esto permite la ovulación hacia el ovocele. En el gimnovario, las lamelas se forman sobre la parte germinal del ovario en desarrollo y no se forma el ovocele. En este tipo de ovario durante la ovulación, los óvulos salen hacia la cavidad celómica (McMillan 2007, Grier *et al.* 2009). El tejido epitelial de las lamelas es colonizado por las células germinales constituyendo el epitelio germinal que contiene dos tipos celulares: las células epiteliales somáticas y las células germinales que están dispersas en dicho epitelio (ovogonias y ovocitos tempranos).

Las lamelas contienen epitelio germinal y un entramado de fibras reticulares, elásticas y de colágeno conocido como estroma. Dentro de éste hay células indiferenciadas, fibroblastos y granulocitos, fibras de colágeno y vasos sanguíneos. En el ovario de los peces adultos, las lamelas tienen forma irregular, el epitelio germinal y el estroma subyacente a dicho epitelio están separados por la membrana basal que soporta el epitelio germinal y separa los dos compartimentos ováricos. Esta membrana no permite la mezcla de células entre compartimentos. El epitelio germinal está formado por una monocapa de células que se convierte en múltiple y, a lo largo del desarrollo, forma los nidos celulares que están compuestos por grupos de células germinales que darán origen a los ovocitos y células epiteliales o prefoliculares que se les asociarán para formar parte del folículo ovárico durante el proceso denominado foliculogénesis (Grier *et al.* 2009).

En los teleósteos, el folículo ovárico consiste en un ovocito, las células foliculares asociadas y la membrana basal. El ovocito en desarrollo está localizado en el centro del folículo y se encuentra rodeado por células foliculares conocida como las células de la *granulosa* que derivan de las células somáticas del epitelio germinal. Al avanzar el desarrollo, a partir del tejido conjuntivo del estroma se diferencian dos capas denominadas *tecas*. La teca interna, que es una capa vascularizada y celular, y la teca externa fibrosa. Las tecas y la granulosa están separadas por la membrana basal. Entre la superficie del ovocito y las células de la granulosa hay una capa no celular llamada *zona pelucida* (Redding y Patiño 1993, Grier *et al.* 2009).

En los peces se describen tres patrones de desarrollo del ovario: sincrónico, grupos sincrónicos y asincrónico (Gorbman 1983). En el patrón sincrónico, todos los ovocitos se desarrollan al mismo tiempo, lo que se traduce en un evento ovulatorio único. En el de grupos sincrónicos coexisten ovocitos en dos o más estadios de desarrollo. Este patrón permite pulsos rítmicos de ovulación que suelen depender de ciclos estacionales, lunares o diurnos. En el patrón asincrónico se presentan ovocitos en todos los estadios de madurez lo que posibilita una ovulación continua (Redding y Patiño 1993).

Esteroides gonadales

Los testículos y los ovarios de los peces secretan hormonas esteroides que participan en la regulación de funciones que incluyen la gametogénesis, la actividad secretoria del hipotálamo y la hipófisis, la expresión de caracteres sexuales secundarios y el comportamiento (Fostier *et al.* 1983). La síntesis y secreción de los esteroides es regulada por la acción de las gonadotropinas. Los andrógenos son los esteroides gonadales predominantes en machos, mientras que en las hembras se son un sustrato en la síntesis de estrógenos en el ovario. En ambos sexos hay síntesis y secreción diferencial de ambos tipos de esteroides durante la gametogénesis (Fostier *et al.* 1983, Pankhrust 2008).

En el testículo de los teleósteos, las células de Leydig son el sitio de síntesis y secreción del principal andrógeno, la 11-cetotestosterona. En menores cantidades se producen otros andrógenos como la androstenediona y 11-hidroxitestosterona (Pankhrust 2008). La 11-cetotestosterona estimula las células de Sertoli, el desarrollo de las células germinales del testículo durante la espermatogénesis, la aparición de los caracteres sexuales secundarios y la conducta agresiva durante el establecimiento de territorios y de competencia por hembras por parte de los machos durante la temporada reproductora (Fostier *et al.* 1983, Cardwell y Liley 1991, Miura *et al.* 1991, Pankhrust 2008).

En el ovario, las células de la granulosa son los principales sitios de producción de los estrógenos (Fostier *et al.* 1983). En el hígado de los peces, los estrógenos estimulan la síntesis de una lipoproteína precursora del vitelo llamada vitelogenina. En la mayoría de las especies, el 17 beta-

estradiol es el estrógeno más abundante, pero en algunas se han detectado pequeñas cantidades de estrona (Pankhrust 2008). Otro efecto importante de los estrógenos sobre el hígado, es la estimulación de la síntesis de proteínas estructurales que forman la zona pelucida del ovocito. Es una capa no celular compuesta de proteínas que en el óvulo de los peces se le denomina corion y se le relaciona con la flotabilidad del huevo, protección antibacterial y de daños mecánicos durante el desarrollo embrionario (Modig *et al.* 2007).

Gametogénesis

La espermatogénesis es el proceso por el cual se desarrollan los gametos masculinos, en general es un proceso que presenta varias similitudes entre los distintos grupos de vertebrados. La espermatogénesis se divide en tres fases determinadas por el grado de maduración de las células germinales; la fase mitótica o de espermatogonias, en la que se presentan diferentes generaciones de espermatogonias que incluyen a las indiferenciadas, diferenciadas y en diferenciación; la meiótica que comprende tanto a los espermatocitos primarios como a los secundarios durante la etapa de reducción cromosómica y formación de las espermatidas, y la espermiogénesis en la que las espermatidas se transforman en espermatozoides con flagelo (Lombardi 1998, Miura y Miura 2001, Schulz *et al.* 2009). Las espermatogonias primarias son las células de mayor tamaño en la línea germinal, localizadas en el epitelio germinal con un citoplasma ligeramente granular y un núcleo central esférico que puede tener uno o dos nucléolos; proliferan mitóticamente y normalmente se encuentran formando grupos pequeños. Las espermatogonias secundarias son células esféricas más pequeñas que las primarias y se rodean de células de Sertoli y forman un espermatocito. Las espermatogonias se dividen mitóticamente varias veces antes de iniciar la meiosis que comienza con la duplicación de cromosomas lo que da origen al espermatocito primario que se caracteriza por ser una célula esférica de tamaño similar a la espermatogonia secundaria con la particularidad de que se observan en el núcleo los estadios de la profase I. Cada espermatocito primario se divide y da origen a dos espermatocitos secundarios que contienen el número haploide de cromosomas en condición duplicada. Los espermatocitos secundarios se observan con poca frecuencia debido a que se dividen rápidamente y originan dos espermatidas tempranas, que son células haploides con forma esférica. Las espermatidas no se dividen y se transforman en espermatozoides mediante el proceso llamado espermiogénesis. Durante la

espermiogénesis el núcleo de la espermatida se condensa y se reduce el citoplasma. Las espermatidas se vuelven móviles por el desarrollo de un flagelo y el citoplasma residual es fagocitado por las células de Sertoli.

La ovogénesis es el proceso por el cual una ovogonia forma un ovocito capaz de ser fertilizado. Se caracteriza por varios cambios celulares consecutivos que se pueden agrupar en varios estadios de desarrollo. Según Grier *et al.* (2009) y Lombardi (1998) los estadios son: Proliferación de ovogonias, cromatina-nucléolo, crecimiento primario, crecimiento secundario (vitelogénesis), maduración y ovulación. El estadio de *proliferación de ovogonias* se caracteriza por mitosis sucesivas de las ovogonias primarias lo que origina la formación de grupos celulares, también llamados nidos de ovogonias. Este estadio frecuentemente se presenta previo y durante la ovulación del ciclo reproductor precedente ya que se forman los grupos de ovogonias para el nuevo ciclo. En el estadio de *cromatina-nucléolo* se inicia la meiosis de las ovogonias secundarias lo que da origen a los ovocitos primarios que presentan cambios principalmente a nivel nuclear por la organización del material genético. Al inicio de este estadio, las ovogonias tienen un reducido espacio intercelular que se incrementa por la presencia de células prefoliculares conforme avanza la etapa. La primera capa de células prefoliculares planas que rodean el ovocito forma la capa granulosa que secreta la membrana basal permitiendo que se aislen del estroma ovárico. En el exterior de la membrana basal se asocia una monocapa de células somáticas del estroma que desarrolla vasos sanguíneos y se le denomina teca (Le Menn *et al.* 2007). El estadio de *crecimiento primario* inicia con la aparición de un ovoplasma basófilo producto de la acumulación de ARN que tiene un papel en la regulación de la ovogénesis y embriogénesis mediante la síntesis de proteínas (Grier *et al.* 2009). Durante este estadio, la meiosis entra en pausa, el ovocito incrementa de tamaño y aparece la zona pelúcida. En algunas especies, en el ovocito aparecen los alveolos corticales y las vesículas lipídicas. El estadio de *crecimiento secundario* tiene como característica fundamental la formación de glóbulos de vitelo en el ovoplasma del ovocito, el aumento en el tamaño de la zona pelúcida y la aparición del micrópilo. Los glóbulos o vesículas de vitelo son los principales responsables del gran tamaño que alcanza el ovocito en este estadio. Estos glóbulos constituyen un material de reserva para el desarrollo embrionario y se forman a partir de la captura y depósito de la vitelogenina (Vg) en el interior del ovocito. La vitelogenina se produce en el hígado y es liberada al torrente sanguíneo

como respuesta a la presencia de estradiol circulante durante la ovogénesis (Sundararaj *et al.* 1982, Nagahama 1983, 1990, Nagahama *et al.* 1993). El proceso de endocitosis, mediado por receptores específicos, permite la captura de Vg circulante que, posteriormente se transforma enzimáticamente en lipoproteínas de menor peso molecular como la lipovitelina, la fosvitina y los fosbetas o β -componentes (Tyler *et al.* 1988, Chan *et al.* 1991, Matsubara y Sawano 1995, Matsubara y Koya 1997).

La *maduración del ovocito* involucra una secuencia de cambios previos a la ovulación que incluyen la ubicación excéntrica de la vesícula germinal que migra a la periferia del ovoplasma y la desaparición de la membrana nuclear. En algunas especies se ha observado la coalescencia de los glóbulos lipídicos y de vitelo. Posteriormente, ocurre la hidratación del ovocito. En este estadio se completa la primera división meiótica. Esta etapa está controlada por la GtH-II, mediante la estimulación de la secreción de esteroides por el folículo ovárico. Estos se conocen como esteroides inductores de la maduración (MIS por sus siglas en inglés) y son la 17α , 20β -dihidroxyprogesterona y la 17α , 20β , 21 trihidroxiprogesteroona (Patiño y Thomas 1990, Mylonas *et al.* 1997).

En el estadio de maduración del ovocito inicia la hidrólisis del vitelo en componentes de menor tamaño. La presencia de proteínas de menor peso molecular y aminoácidos libres favorece la absorción de agua puesto que se incrementa la fuerza osmótica dentro del ovocito como parte del proceso conocido como hidratación ovocitaria con la que se incrementa considerablemente el tamaño del ovocito, al mismo tiempo que ocurre la fusión de los glóbulos lipídicos y de vitelo. El aumento en el tamaño del ovocito hace que las células del folículo que lo rodean alcancen su elasticidad máxima. La actividad de enzimas proteolíticas y esteroides sobre las células foliculares y fibras que cubren el folículo las hacen laxas y facilitan su apertura que produce la liberación del ovocito para que ocurra el estadio de *ovulación* (Suwa y Yamashita, 2007).

Ciclo reproductor

La morfología del epitelio germinal ovárico y testicular cambia durante el ciclo reproductor, reflejando la estacionalidad reproductora que está relacionada con las variaciones ambientales

que permiten aprovechar los recursos disponibles para el éxito de la progenie (Vazzoler 1996, Lombardi 1998). El número de periodos de reproducción varía de acuerdo a la estrategia de cada especie; algunas se reproducen en un solo momento de su vida (semélparas) y otras en más de uno (iteróparas) (Berg y Finstad, 2008). El ciclo reproductor de una especie puede ser estacional cuando los periodos de actividad reproductora se alternan con periodos de inactividad y continuo cuando la actividad reproductora es constante a lo largo del año.

El tipo de ciclo reproductor de los peces se define por la transición de las características estructurales de la gónada a lo largo de un periodo en un grupo de individuos de la población. En las hembras se describen las etapas: *previtelogénesis* caracterizada por la presencia de los estadios tempranos de la ovogénesis como de proliferación de ovogonias, estadio de cromatina nucléolo y crecimiento primario; la etapa de *vitelogénesis* que presenta ovocitos en crecimiento debido al depósito de vitelo y corresponde al estadio de crecimiento secundario; la etapa de *maduración y desove* que involucra la maduración final y ovulación y la etapa de *regresión*, caracterizada por la presencia de folículos postovulatorios.

En los machos, las etapas se definen por los cambios en el epitelio germinal que comprenden: la etapa de *madurez temprana* con epitelio germinal continuo y predominio de estadios tempranos de espermatogénesis; la *madurez media* en la que el epitelio germinal aparece regionalizado, es continuo en la sección distal de los lóbulos y en la proximal discontinuo con desarrollo activo de los estadios de la espermatogénesis; la etapa de *madurez avanzada* con predominio de estadios muy avanzados de la espermatogénesis y epitelio germinal mayormente discontinuo en todo el lóbulo; la etapa de *regresión temprana* que se caracteriza por la presencia de espermatozoides residuales y espermatoquistes remanentes; y la etapa de *regresión avanzada* con estadios iniciales de la espermatogénesis como espermatogonias que colonizan el epitelio germinal del lóbulo y que generarán los nuevos grupos de espermatozoides para el siguiente ciclo reproductor.

Papel de las hormonas tiroideas en el proceso reproductor

Algunas especies pueden presentar variantes o particularidades en el esquema general de acción hormonal, asociado a esquemas de comportamiento específicos originados por la búsqueda de

condiciones ambientales requeridas para que el proceso reproductor se complete o porque las condiciones tienen un efecto positivo sobre la supervivencia de la progenie de forma directa o indirecta (Barannikova *et al.* 2003, Kitani *et al.* 2003, Shoji *et al.* 2003). En términos generales, la búsqueda de condiciones óptimas rige los procesos de migración que se ven afectados por la toma de decisiones asociadas a las condiciones que se presentan durante el recorrido (Dodson 1988). Estos movimientos de los individuos suelen estar asociados a cambios en el ambiente que actúan como detonadores de la conducta migratoria (Rakowitz *et al.* 2008). El tiempo que los individuos migrantes permanecen en cada ambiente puede ser una estrategia de la especie para optimizar el aprovechamiento de los recursos (Stewart *et al.* 2006, Thomsen *et al.* 2007).

En el caso de los salmónidos, se ha observado una estrecha relación entre la concentración de hormonas tiroideas durante la migración que realizan entre el ambiente marino y el dulceacuícola para realizar el desove. Por esta razón, la presencia de concentraciones elevadas de estas hormonas puede considerarse como un indicador del proceso de migración en este grupo de peces (Kitani *et al.* 2003, Blanton y Specker 2007). En especies de salmónidos y de otros teleósteos migratorios, hay una relación directa entre la concentración de GnRH y hormonas tiroideas. La concentración de ambas hormonas aumenta conforme las gónadas maduran y se acerca el periodo en el que los peces migran con fines reproductores. Esta condición se ha documentado durante la migración pre-reproductora en *Oncorhynchus nerka* y *O. keta* (Kitani *et al.* 2003), en el esturión ruso *Acipenser gueldenstadtii* (Barannikova *et al.* 2003) y en *Acipenser stellatus* (Ceapa *et al.* 2002).

La prolactina, hormona del crecimiento, el factor de crecimiento I, la arginina-vasotocina y el cortisol tienen un papel importante en la osmoregulación en teleósteos, ya que regulan el balance iónico a nivel de las branquias, el intestino y el riñón durante el proceso de adaptación a ambientes de distinta salinidad (Takey 1993, Mancera y McCormick 1999, McCormick 2001, Mancera y McCormick, 2007). Aunque la actividad de estas hormonas se ha considerado con una connotación de adaptación ambiental, no puede descartarse su relación con el proceso de migración con fines de reproducción entre ambientes con salinidad contrastante.

Biología y ecología de C. undecimalis

C. undecimalis es un pez que pasa periodos largos de su vida en la zona costera y realiza migraciones del mar a las lagunas costeras, estuarios y ríos donde aprovecha los recursos alimenticios para su alimentación carnívora (Tringali y Bert 1996, Tringali *et al.* 1999). Se considera que esta especie puede vivir más de 20 años y alcanzar hasta 1,105 mm de longitud furcal y un peso de hasta 22 kg (Taylor *et al.* 2000). Desde el punto de vista reproductor, es un pez protándrico hermafrodita, lo que implica que alcanza inicialmente la madurez sexual como macho y posteriormente cambia de sexo transformándose en hembra (Tringali y Bert 1996, Grier 2000, Taylor *et al.* 2000). Según Taylor *et al.* (2000) esta especie alcanza la madurez sexual a edad y tallas pequeñas (>200 mm). El ciclo testicular y las etapas de desarrollo gonadal de las hembras de la especie han sido descritos por Taylor *et al.* (1998) y Neidig (2000) quienes proponen las siguientes fases generales: regredida, maduración temprana, maduración intermedia, maduración tardía y en regresión.

En la región de la Florida, los desoves del robalo común ocurren en la zona submareal de las playas, en los estuarios y lagunas costeras entre los meses de abril a septiembre (Grier 1985, Tucker *et al.* 1987, Tringali y Bert 1996). Según Taylor *et al.* (1998) el desove de esta especie ocurre durante la tarde puesto que es cuando se han observado frecuencias altas de hembras con ovocitos en la etapa de maduración final e hidratación. Los desoves ocurren cuando la temperatura se encuentra entre 22 y 31°C y la salinidad entre 28 y 35 UPS (Tucker *et al.* 1987, Tringali y Bert 1996). No existen reportes de que el desove de esta especie ocurra en ambientes dulceacuícolas.

Según Grier (1985) y Taylor *et al.* (1998) los desoves en las costas de la región Atlántica y del golfo de México en la Florida presentan un patrón temporal que varía con la zona geográfica analizada. Estas diferencias regionales parecen responder tanto a las particularidades ambientales como a diferencias a nivel genético entre las poblaciones que resultan en variaciones espacio-temporales del ciclo reproductor (Tringali *et al.* 2008). Una condición similar ha sido observada en otras especies de *Centropomus* localizadas en el Pacífico. Según los estudios de Sandoval-Castellanos *et al.* (2005) y Díaz-Jaimes *et al.* (2007), las distancias genéticas de *C. viridis* y *C.*

medius mostraron diferenciación moderada entre poblaciones vecinas, misma que aumenta con la distancia geográfica debido a la presencia de barreras biológicas y oceanográficas. Lo opuesto se ha observado en *C. parallelus* en la costa de Brasil, puesto que los estudios de Prodocimo *et al.* (2008) indican que hay poca diferenciación genética aún entre localidades separadas por grandes distancias.

Las larvas de *C. undecimalis* raramente están presentes en el plancton marino ya que, una vez que eclosionan, migran a zonas de manglar que les sirven como área de refugio y crianza (Gilmore *et al.* 1983, Peters *et al.* 1998). Las larvas se encuentran preferentemente a una temperatura de entre 26 y 27 °C pero pueden tolerar intervalos más amplios, de 25 a 29 °C.

Los juveniles generalmente están presentes en diferentes ambientes, sin asociación con algún tipo de sustrato específico, en los que se alimentan de una amplia variedad de presas que incluyen peces y crustáceos, dependiendo de su edad y talla (McMichel *et al.* 1989). Esta especie puede migrar hacia tierra adentro hasta regiones distantes de la costa a través de los cauces de los ríos, hecho que se ha confirmado a encontrar ejemplares adultos de ambos sexos en ambientes dulceacuícolas alejados del mar (Chávez *et al.* 1989, Huber 2007).

Hipótesis

El robalo *C. undecimalis* tiene un amplio ámbito de distribución que abarca sitios con diferentes condiciones ambientales, definidas particularmente por un marcado cambio en la salinidad. A lo largo del sistema fluvial del Grijalva – Usumacinta, se capturan adultos de ambos sexos. Si los individuos presentes en sitios distantes y disimiles forman parte de una misma población biológica tendrán que desplegar respuestas fisiológicas distintas debidas al proceso de aclimatación a dichas condiciones por lo que se encontrarán diferencias (1) en los estadios de madurez gonádica entre machos y hembras tanto macro como microscópicamente; (2) en las concentraciones de hormonas que regulan el ciclo reproductor y (3) en las hormonas indicadoras del proceso de migración ante la diferencia de salinidad.

Objetivos

Objetivo General

Describir y comparar las características morfológicas y fisiológicas del ciclo reproductor anual del robalo blanco *Centropomus undecimalis* capturado en ambiente dulceacuícola y marino en el estado de Tabasco, México.

Objetivos Particulares

1. Caracterizar el ciclo ovárico e identificar los estadios de maduración folicular en hembras de *C. undecimalis* durante un ciclo anual.
2. Definir el ciclo del epitelio seminífero de los lóbulos testiculares durante el ciclo anual en machos de *C. undecimalis*.
3. Describir las concentraciones plasmáticas de estradiol y vitelogenina de hembras de *C. undecimalis* durante un ciclo anual y evaluar la relación con los estadios del ciclo ovárico.

4. Describir las concentraciones plasmáticas de 11-Cetotestosterona de machos de *C. undecimalis* durante un ciclo anual y relacionarlos con los estadios del ciclo testicular.
5. Determinar mediante técnicas de genética molecular la relación poblacional entre los ejemplares capturados en ambos ambientes.
6. Evaluar la relación entre las concentraciones de hormonas tiroideas y las escalas de madurez morfofisiológica como indicador de actividad migratoria pre-desove.
7. Comparar y relacionar las características reproductoras correspondientes al índice de condición de Fulton, el índice gonadosomático y la escala empírica de madurez de machos y hembras de *C. undecimalis* observadas entre los ambientes.

Área de Estudio

Los sitios de recolecta se localizan dentro del área de influencia del sistema fluvial Grijalva-Usumacinta y la zona costera asociada en la que se localizan áreas de pesca. Se determinaron dos localidades de muestreo (Fig. 1).

Ambiente marino (AM/MA). Corresponde a la costa del municipio de Centla en el estado de Tabasco. La captura se realizó en las áreas que comprenden el margen costero entre $18^{\circ}27.56'$ - $18^{\circ}38.67'$ N y $92^{\circ}42.57'$ - $92^{\circ}55.58'$ W cercana a la desembocadura del Río Grijalva.

Ambiente dulceacuícola (AD/FW). Zonas de captura ubicadas en el cauce principal del río San Pedro que es tributario del río Usumacinta, en la localidad de San Pedro, municipio de Balancán en el estado de Tabasco. La ubicación geográfica de las zonas de recolecta se ubica entre $17^{\circ}45.16'$ - $17^{\circ}46.24'$ N y $91^{\circ}12.75'$ - $91^{\circ}17.68'$ W.



Fig. 1. Localidades de muestreo de *C. undecimalis* en ambientes interconectados por el sistema fluvial Grijalva-Usumacinta. Los sitios de muestreo en ambiente marino (AM/MA) están indicadas por estrellas y en el ambiente dulceacuícola (AD/FW) por puntos.

CAPÍTULO II

Genetic variability of the Common Snook *Centropomus undecimalis* (Perciformes: Centropomidae) in connected marine and riverine environments

Ulises Hernández-Vidal, Julia Lesher-Gordillo, Wilfrido M. Contreras-Sánchez & Xavier Chiappa-Carrara

Aceptado para ser publicado en Biología Tropical 62 (2):627-636, junio 2014. Disponible electrónicamente en la página de la revista desde marzo de 2014.

Abstract: The Common Snook, *Centropomus undecimalis*, inhabits riverine and marine areas of the Southern Gulf of Mexico, where it is subject to intense use and exploitation. It has been reported that the genetic identification of fish stocks constitutes a valuable tool for wild populations management, nevertheless, there is no available information on the genetic identification on fish stocks of this species in the region. The aim of this study was to determine the genetic relationship between *C. undecimalis* captured in marine and freshwater environments of the Gulf of Mexico and the San Pedro River. For this, muscle tissue samples of 79 specimens were obtained from areas located more than 300km apart. The genotype of each individual was determined using seven microsatellite primer pairs. Five primers amplified efficiently presenting between six and 28 alleles per locus. High levels of heterozygosity were observed in samples from both environments. Deviation from HWE due to an excess of heterozygotes was observed. The values of genetic difference indicate an absence of population structure ($F_{ST}=0.0075$ and $R_{ST}=0.016$, $p=0.051$) and similarity in the allele frequencies, defined by Nei's index (0.805). Data showed the existence of a high gene flow due to the number of migrants ($N_m=18.7$). Our results suggest that individuals living in these environments belong to the same genetic population. Therefore, we suggest the development of management and protection plans for this fish species population in the wild.

Key words: genetic diversity, microsatellite, Common Snook, *Centropomus undecimalis*, Grijalva-Usumacinta fluvial system, Gulf of Mexico.

INTRODUCTION

The Common Snook, *Centropomus undecimalis*, is a euryhaline species with migratory activity between marine, estuarine and fluvial environments throughout its life cycle. Its geographic range is limited to the Atlantic coast of the American continent, extending from Florida, USA, to Brazil (McMichael, Peters & Parsons, 1989; Tringali & Bert, 1996; Tringali, Bert & Seyoum, 1999; Taylor, Whittington, Grier & Crabtree, 2000). Reproduction of *C. undecimalis* in the Gulf of Mexico has been reported to occur in subtidal areas along the coast or within estuaries and

coastal lagoons. Spawning takes place between April and September at salinities ranging from 28 to 35psu (Tucker, 1987; Tringali & Bert, 1996; Grier & Taylor, 1998).

C. undecimalis is the most economically valuable species captured in the Southern Gulf of Mexico; it represents one important target for artisanal and sport fisheries, along with other species of the genus *Centropomus*. It is mainly captured in the coastal areas and epicontinental tributaries of this region, where fisheries are related to its life cycle (Anonymous, 2006; Perera, Mendoza, Contreras, Huerta & Pérez, 2011; Perera-García et al., 2013). Capture is strongly associated to migratory movements in freshwater ecosystems; while in the coastal zone, capture is linked to spawning events. These situations can promote stock depletion with potential detrimental effects on population conservation (Perera et al., 2011).

The Grijalva-Usumacinta fluvial system is the largest in Central America; it discharges into the Gulf of Mexico at the Campeche Bank area. One of the most important tributaries of this system is the San Pedro River -a freshwater tributary- located near the border with Guatemala. This river connects with a wide wetland network (Castillo-Domínguez, Barba, Navarrete, Rodiles-Hernández & Jiménez, 2011). Freshwater discharges to the coastal area of Tabasco vary according to the dry (Feb-Jun) and rainy (Jul-Jan) seasons. The coast has sandy beaches derived from sediment loads carried by rivers and shows an average salinity around 35psu but it reduces during the rainy season (Rosales-Hoz, Carranza-Edwards, Arias-Reynada & Santiago-Pérez, 1992).

Juvenile and large adult snooks of both sexes can be found in riverine sites as far as 300km from the coast (where the known breeding areas are located) (Chávez, Mattheeuws & Pérez, 1989; Perera, Mendoza & Páramo, 2008; Perera et al., 2011). Prodocimo et al. (2008) have shown that neighboring populations of Centropomid species do not differ over a wide geographical range, but several authors have demonstrated that genetic differences exist and, in some cases, these differences increase as geographic distance increases (Sandoval-Castellanos, Uribe & Díaz, 2005; Diaz-Jaimes, Sandoval & Uribe, 2007; Tringali et al., 2008). Whether *C. undecimalis* inhabiting environments hundreds of kilometers away, and as dissimilar as marine and freshwater are genetically related, has remained as an unsolved question.

Knowledge of a species genetic diversity has been used as a tool for developing management plans for fish stocks worldwide due to the fact that identification of a fishery unit is fundamental in the decision-making process for management strategies. The priority is to guarantee the sustainability of populations within their geographic range despite habitat alterations (Ward, 2000; Pritchard, Jones & Cowley, 2007; Mehner, Pohlmann, Elkin, Monaghan & Freyhof, 2009). Environmental differences found along the coastline play both an ecological and evolutionary role by favoring genetic differentiation (D'Anatro, Pereira & Lessa, 2011) since the adaptive capacity of fish to withstand environmental changes determines the possibility of widening their distribution range and form new population units.

In this study we analyzed if *C. undecimalis* individuals form a single genetic unit even though they are present in two connected, but dissimilar and distant environments. This is important since Snooks are exploited with different strategies and intensities in each geographical location. Understanding this species genetic diversity and population structure can eventually translate into management and conservation strategies for one of the most important fishery resources in the Southern Gulf of Mexico (Anonymous, 2006).

MATERIALS AND METHODS

Study area: Two sites were selected considering a marine (MA) and a freshwater-riverine (FW) environment. The MA site was located off the coast of Tabasco (18°27.56'-18°38.67'N; 92°42.57'-92°55.58'W). Monthly average salinities fluctuated between 24 and 35psu; yearly water temperature ranged between 24.0 and 29.4°C. The FW site was located on the San Pedro River's main channel, one of the many tributaries of the Grijalva-Usumacinta fluvial system. This sampling site is located near the Guatemala border, at 17°45.16'-17°46.24'N; 91°12.75'-91°17.68'W. Water salinity values were between 0.10 and 0.90psu while water temperature oscillated between 22.6 and 32.3°C. The approximate distance between sampling sites was 320km (Fig. 1).

Sampling: A total of 79 specimens of both sexes were obtained from January to December 2010: 40 individuals from MA site weighing between 3.42 and 7.47kg, and 39 fish weighing between 0.5 and 10.75kg from the FW site were sampled. All fish were obtained directly from gillnets used by local fishers in each sampling site, and geographical position was recorded (Fig. 1). Specimens were placed in iced water immediately after capture and sacrificed by a sharp blow on the head (DeTolla et al., 1995). Tissue from a minimum of three and a maximum of four fishes was processed each month. To obtain tissue samples, scales from the ventral area were removed and the excising area was treated with 70% ethylic alcohol. Skin was then removed, and a piece of muscle tissue (1-2g) was excised from the base of the pectoral fin. The muscle sample was placed in a sterilized plastic vial and preserved with ice during field activities and were subsequently frozen in the laboratory at -80°C until further analysis.

DNA extraction and PCR: DNA extraction from the samples was performed with a slight modification of the guanidine isothiocyanate technique (Tri reagent, Sigma Chemicals technical bulletin MB-205). This modification consists of additional steps at the end of the suggested protocol. After centrifugation to eliminate insoluble material, a volume of 1M-sodium acetate solution (10% of the sample volume) and 96% ethanol (200% of the sample volume) were added. The solutions were slowly mixed and allowed to stand for 5min. The DNA pellet was recovered by centrifugation at 14 000rpm during 10min at 4°C. At the end, the DNA was dried and dissolved in ultrapure water. The DNA quality and quantity from each sample was determined with a Smartspec[®] (Bio-Rad) spectrophotometer. For further verification of DNA quality, electrophoresis was performed in Agarose gel at 0.5% with ethidium bromide, using TAE 1X as electrophoresis buffer. Electrophoresis was carried out for 90min at 90V and the extracted DNA was visualized in a UV transilluminator adapted with a system for the capture of digital images UVITEC. All DNA samples were treated with 6µL proteinase K (20mg/mL of distilled water) to optimize quality (Gamboa-Coronado, Mau-Inchaustegui & Rodríguez-Cavallini, 2011).

Seven microsatellites designed for *C. undecimalis* (*Cun01*, *Cun08*, *Cun09*, *Cun10A*, *Cun11*, *Cun18* and *Cun22*) were amplified using a slight modification of the PCR technique described by Seyoum, Tringali & Sullivan, (2005). Total volume of each PCR reaction was 20µL, consisting of 2µL of DNA (4ng/µL) and 18µL of master mix comprising 15µL of supermix (iQ Supermix,

Bio Rad), 1 μ L of ultrapure sterile water and 1 μ L of each primer (forward and reverse). PCR reactions were performed using a thermocycler (MyCycler, Bio Rad) with the following amplification conditions: initial denaturation at 95°C for 5min, followed by seven cycles of 94°C for 30s, annealing temperature of 60°C for 1min with an increase gradient of 1°C per cycle, and an extension at 72°C for 1min, followed by 30 cycles at 94°C for 30s of denaturation, 55°C for 1min of annealing temperature, and an extension of 72°C for 1min, and lastly a final extension at 72°C for 10min, after the samples were maintained at 4°C. All PCR reactions were run in duplicates. To verify which microsatellites amplified successfully, PCR products were visualized in a 2% agarose gel in 1X TAE buffer at 90V for 150min and stained with ethidium bromide. For allele size determination, automatic electrophoresis was performed using the Experion System (DNA 1K chip kit, Bio Rad).

The allele data from each specimen were captured in a matrix to analyze the allelic frequency. The Genepop software version 4.1.3 (Raymond & Rousset, 1995) was used to perform the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) global test using the Markov method combined with the exact test of Fisher (10 000 *dememorizations*, 50 *batches* and 5 000 iterations per *batch*) and the evaluation of the null hypothesis of heterozygote excess based on Markov's method (Guo & Thompson, 1992). Genetic variability among environments was evaluated by means of Wright's F statistics (1978); the statistics F_{IT} , F_{ST} and F_{IS} were calculated according to Weir and Cockerham (1984). Fisher's method was used to evaluate genotypic linkage disequilibrium (10 000 *dememorizations*, 50 *batches* and 5 000 iterations per *batch*). The null allele frequency based on the EM algorithm developed by Dempster, Laird, and Rubin (1977) was obtained. The software Micro-Checker 2.2.3 (Van Oosterhout, Hutchinson, Wills and Shipley, 2004) was used to estimate the most likely reason (presence of null alleles, evidence of allele dropout, or stuttering during PCR amplification), because genotype frequencies deviated significantly from HWE expectations. The program GenAIX 6 (Peakall & Smouse, 2006) was used to obtain several parameters: observed heterozygosity (H_o) and expected heterozygosity (H_e), number of alleles per locus (N_a), effective number of alleles per locus (N_e), polymorphism percentage per location, private alleles (P_a), null alleles frequency (N_f), gene flow by the number of migrants per generation (N_m), similarity degree by means of the genetic distance with Nei's index (1978) per environment, R statistics of genetic differentiation (R_{IT} , R_{ST} and R_{IS}) according to Slatkin (1995)

and the analysis of molecular variance (AMOVA), according to Excoffier, Smouse and Quattro (1992). In all cases, statistical differences were declared when $p < 0.05$.

RESULTS

Genetic variability: Genetic diversity obtained for five loci is shown in Table 1. The total number of alleles per locus (N_a) of organisms obtained in both environments ranged between six for the locus *Cun09* and 28 for the locus *Cun18* with an allele average of 21.1 (Table 1). Analysis per environment showed a lower allele average in FW (18.6) with a minimum of six alleles for locus *Cun09* and a maximum of 28 for *Cun18*. In MA, allele average was 23.6 with a minimum of 20 for locus *Cun22* and a maximum of 27 for *Cun09*.

High levels of heterozygosity were obtained in four loci from both environments. Average levels of H_o were generally above 0.50 for the loci *Cun18* (0.830), *Cun01* (0.884), *Cun10A* (0.834) and *Cun09* (0.700) with the exception of the locus *Cun22* with 0.442. Expected heterozygosity (H_e) average obtained for both environments were generally high for all the loci analyzed; the lowest being *Cun09* with 0.854 and the highest *Cun18* with 0.947 (Table 1). In every case, observed heterozygosity was lower than expected. The Markov-Fisher's exact test for HWE on our data set showed deviations from the expected equilibrium ($p < 0.05$). Micro-Checker software indicates high null allele frequency for some loci and no evidence of allele dropout or stuttering during PCR amplifications. The HWE deviation is consistent with the null hypothesis of excess of heterozygotes for the entire data set ($p = 0.31$). Fish living in both environments were 100% polymorphic.

Locus *Cun22* showed the highest null allele frequency. FW fish had a null allele frequency between 0.085 for the locus *Cun09* and 0.301 for the *Cun22*. Data from MA fish were generally lower, and values ranged between 0 for *Cun01* and 0.254 for *Cun22* (Table 1). The Fisher test for the evaluation of genotype linkage disequilibrium suggests that the loci segregate individually with the exception of the pair *Cun10A* and *Cun01* ($p = 0.03$).

Genetic differentiation between both locations: Average values for Wright statistics were $F_{ST}=0.0075$ and $F_{IS}=0.2393$ (Table 2). R-values were $R_{ST}=0.016$ ($p>0.051$) and $R_{IS}=0.173$ ($p<0.001$). Average number of migrants per generation was $Nm=18.7$. Nei's genetic distance showed a level of 0.805.

The AMOVA test showed decreasing values from within individuals (81%), among individuals (17%), and between environments (2%), results that provide further confirmation of the common origin of this population of high genetic diversity (Table 3).

DISCUSSION

Genetic variation and similarity indices among sites showed that *C. undecimalis* tested from different environments belong to the same population. Results of F_{ST} and R_{ST} suggest a single population with high genetic flow and no subpopulations. This could mean a low differentiation condition in subpopulations (Balloux & Lugon-Moulin, 2002; Freeland, 2005). This is also evident in allelic frequency similarity as shown by Nei's index and migrants per generation values. The estimated rate of migrants per generation ($N_m=18.7$) prevents divergence by genetic drift (Slatkin, 1994; Freeland, 2005). D'Anatro et al. (2011) came to the same conclusion with *Micropogonias furnieri* populations in Uruguay estuaries, where $N_m=2.9$. Low population differentiation levels are common in fish species that breed in the ocean due to mechanisms that ensure constant gene flow among distant areas (Ward, 2000).

Absence of genetic differentiation in the Common Snook suggests that the Grijalva-Usumacinta fluvial system's environmental gradient is not a geographic barrier, likely allowing gene flow between marine and freshwater environments, over distances above 300km. Quite different is the case of *Lutjanus synagris* in coastal areas (Landinez-García, Ospina, Rodríguez, Arango & Márquez, 2009), where habitat discontinuity due to environmental and geomorphological variation has been considered to drive population divergence. Divergence in marine populations of *Centropomus viridis* and *C. medius* in the Pacific Ocean coast increases with geographical distance. In this region, the absence or presence of water discharges into the coastal zone seems to play an important role in gene flow, because the specific conditions they generate are essential to maintain connectivity (Diaz-Jaimes et al., 2007).

In this study, the absence of genetic differentiation among environments, indicating no subpopulation in the Common Snook, is consistent with data suggesting absence of reproduction in the freshwater site reported by Perera et al. (2011). Additionally, Tucker (1987) and Taylor, Grier, & Whittington (1998) have suggested that spawning and larvae development occur in marine environments. This strengthens the hypotheses that different age and sex *C. undecimalis* in the San Pedro River are specimens from the marine population that moved to freshwater for food and shelter (Perera et al., 2008, 2011). The species' great physiological capacity allows seasonal use of food and shelter resources. The same strategy has been reported in other Gulf of Mexico locations (Peterson & Gilmore, 1991; Brennan, Walters, & Leber, 2008).

In contrast, physiologic tolerance mechanisms have been suggested as population divergence promoters in other euryhaline species. Although *Micropogonias furnieri* populations occur in different salinity habitats, they spawn in common coastal areas and juveniles apparently settle in their parents' original environment, therefore favoring genetic differentiation (D'Anatro et al., 2011). Estuarine habitat colonization by *Odontesthes argentinensis* has contributed to its adaptive divergence expressed by specific breeding requirements that favor ecotype formation and population differentiation (Beheregaray & Sunnucks, 2001).

Genetic variation in individuals from marine and freshwater environments was high. Allele number and size were slightly different than the same loci ones described by Seyoum et al. (2005) for *C. undecimalis* in Florida. Heterozygosity and polymorphism values were also high. Our results for *He* and *Ho* in most loci were consistent with Seyoum et al. (2005), except locus *Cun22*; *He* was 0.80–0.91 and *Ho* 0.74–0.91 whilst in this study values ranged from 0.76–0.94 and 0.60–0.96, respectively. In both cases, population genetic variation can be considered as high. High levels of genetic variation are common in marine fish due to the effect of environmental conditions on larvae dispersion as well as random mutation fixation processes (Tringali et al., 1999; Ward, 2000; Diaz-Jaimes et al., 2007; Landinez-García et al., 2009; Was, Gosling & Hoarau, 2010). However, larval active movement ability in some species can hinder dispersion and favor population differentiation. Such is the case of *Sebastes rastrelliger*, a marine

fish, whose larvae remain near their spawning area, thus reducing genetic exchange with other populations (Buonaccorsi et al., 2006).

Findings of this study allow us to assert that the observed variation is mainly generated by allelic frequencies in *C. undecimalis* within sites as opposed to between sites. Snook biological traits combined with oceanographic processes, could be involved with the high genetic variation registered in our study sites as well as in other localities. In coastal areas, common snook aggregations are a regular breeding behavior during the spawning season (Taylor et al., 1998; Perera et al., 2011), but the source of breeders in these aggregations is unknown. It is quite likely that specimens from both sites in this study exchange genetic material with other populations in Southern Gulf of Mexico. Furthermore, eggs and larvae can disperse over great distances with the strong currents caused by summer storms in the Gulf of Mexico (Salas, Monreal, & Aldeco, 1992; Expósito, Salas, Monreal, Salas, & Vázquez, 2009), that occur during this species' spawning season (Roberts et al., 1999; Perera et al., 2008; 2011). Combination of spawning and early development with coastal currents circulation could play an important role in larval snook dispersion at a regional scale, such as could occur with Atlantic and Gulf of Mexico populations in Florida (Tringali et al., 2008). Dispersal associated with ocean circulation patterns has also been suggested for other Centropomids (Prodocimo et al., 2008); *C. parallelus* in coastal Brazil and *C. viridis* and *C. medius* of the Pacific coast in Mexico (Diaz-Jaimes et al., 2007). At a larger scale, however, ocean circulation patterns can act as geographical barriers for *C. undecimalis*, as suggested by Tringali and Highman (2007) based on differentiation between Atlantic and Caribbean populations. The same pattern was observed in *Anguilla marmorata* populations in the Indian and Pacific Oceans (Ishikawa, Tsukamoto & Nishida, 2004).

Seemingly, deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium model due to heterozygous excess is neither seemingly related to a large allele dropout nor stuttering during PCR amplification. The individual results for loci *Cun22* and *Cun09*, that showed that they largely contribute to the genetic differentiation index (F_{ST}), inbreeding (F_{IS}), high level of private alleles and null alleles frequency, should be taken with caution. The existence of selective processes for these loci is possible (Freeland, 2005), as well as faulty primer amplification due to base substitution or deletions in bonding sites for PCR (Was et al., 2010). Faulty amplification is an error that can

favor null alleles and even amplification absence as with *Cun08* and *Cun11* (Was et al., 2010). Although there are no previous studies in the study sites that indicate a tendency to these results, their assessment is necessary, since amplification flaws can be an error source when interpreting genetic analysis (Trigali & Higham, 2007; Johnson & Banks, 2008; Landinez-García et al., 2009).

Snooks in freshwater and marine areas connected by the Grijalva-Usumacinta fluvial system can be considered a single fishery stock. This information is important to establish stock conservation programs that contribute maintaining migration routes between these systems. According to Perera et al. (2011) *C. undecimalis* population considered in this study seems to be under intensive extraction. This is important, since long term overexploitation could affect allelic frequency (Ward, 2000; Landinez-García et al., 2009) by gene flow reduction due to loss of connectivity between populations. This has been previously suggested for other *Centropomus* species of the Pacific coast in Mexico (Diaz-Jaimes et al., 2007).

Our results suggest that gene flow exists along different and distant environments where *C. undecimalis* inhabits, thus the null hypotheses that they form a single population is not rejected. Environmental differences, such as salinity ranging from 0.1-35ups, are not a barrier to gene flow; thus, for management purposes, individuals from both sites should be considered members of the same fishery stock. Therefore, to allow gene flow between these environments, we suggest implementing regulatory policies during the breeding season as well as freshwater habitat protection to maintain migratory routes and riparian feeding areas. New studies – focused on a wider geographical area and in the role of sea current on spatial-temporal variations – are required to identify possible genetic links in populations along the Gulf of Mexico coast. These studies will allow a better understanding of the Common Snook population dynamics and provide elements for sustainable management of this region's important fishery resource.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research is a component of the AquaFish Collaborative Research Support Program (CRSP), supported by the US Agency for International Development (USAID) award number CA/LWA No. EPP-A-00-06-0012-00 and by contributions from participating institutions. The AquaFish CRSP accession number is 1404. This study was partially supported by PFICA research program at UJAT.

RESUMEN

Variabilidad genética del robalo común *Centropomus undecimalis* (Perciformes: Centropomidae) en ambiente marino y ribereño interconectados

Resumen: El robalo común *Centropomus undecimalis* habita en áreas ribereñas y marinas del sur del Golfo de México donde es sujeto a explotación intensiva. Aunque la identificación de las poblaciones de peces representa una valiosa herramienta para el manejo de las poblaciones silvestres, no hay información disponible para identificar genéticamente las poblaciones de peces de esta especie en la región. El objetivo de este estudio fue determinar la relación genética entre *C. undecimalis* capturado en ambiente marino y dulceacuícola del Golfo de México y río San Pedro. Muestras de tejido muscular de 79 individuos fueron obtenidas en áreas separadas a más de 300km. El genotipo de cada individuo fue determinado usando siete pares de cebadores microsátélites. Cinco cebadores amplificaron eficientemente presentando entre seis y 28 alelos por locus. Altos niveles de heterocigosidad se observaron en las muestras de ambos ambientes. Se observó desviación del equilibrio HW debido a exceso de heterocigotos. Los valores de diferenciación genética indican ausencia de estructuración poblacional F_{ST} (0.0075) y R_{ST} (0.016, $p=0.051$) y similitud en las frecuencias alélicas definidas por el índice de Nei (0.805). Los datos mostraron elevado flujo genético debido al número de migrantes ($Nm=18.7$) Estos resultados sugieren que los individuos en estos ambientes provienen de la misma población genética. La información obtenida en este estudio, por lo tanto contribuirá con elementos que pueden ser considerados en el desarrollo de programas de manejo y protección de las poblaciones de peces silvestres.

Palabras clave: variabilidad genética, microsátélites, robalo común, *Centropomus undecimalis*, Sistema fluvial Grijalva-Usumacinta, Golfo de México

REFERENCES

- Anonymus, (2006). Carta Nacional Pesquera. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación, México. Retrieved from <http://www.inapesca.gob.mx>
- Balloux, F. & Lugon-Moulin, N. (2002). The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*, *11*, 155-165. doi:10.1046/j.0962-1083.2001.01436.x
- Beheregaray, L. B. & Sunnucks, P. (2001). Fine-scale genetic structure, estuarine colonization and incipient speciation in the marine silverside fish *Odontesthes argentinensis*. *Molecular Ecology*, *10*, 2849-2866. doi:10.1046/j.1365-294X.2001.t01-1-01406.x
- Buonaccorsi, V. P., Westerman, M., Stannard, J., Kimbrell, C., Lynn, E. & Vetter, R. D. (2004). Molecular genetic structure suggests limited larval dispersal in grass rockfish, *Sebastes rastrelliger*. *Marine Biology*, *145*, 779-88. doi 10.1007/s00227-004-1362-2
- Brennan, N. P., Walters, C. J. & Leber, K. M. (2008). Manipulations of stocking magnitude: Addressing density dependence in a juvenile cohort of common snook (*Centropomus undecimalis*). *Reviews in Fisheries Science*, *16*, 215-227. doi: 10.1080/10641260701689022
- Chávez, L. M., Mattheeuws, O. & Pérez, M. H. (1989). *Biología de los peces del río San Pedro en vista de determinar su potencial para la piscicultura*. INREB-FUCID. Veracruz, México.
- D'Anatro, A., Pereira, A. N. & Lessa, E. P. (2011). Genetic structure of the white croaker, *Micropogonias furnieri* Desmarest 1823 (Perciformes: Sciaenidae) along Uruguayan coasts: contrasting marine, estuarine, and lacustrine populations. *Environmental Biology of Fishes*, *91*, 407-420. doi:10.1007/s10641-011-9799-x
- Dempster, A. P., Laird, N. M. & Rubin, D. B. (1977). Maximum Likelihood from incomplete data via the EM algorithm (with discussion). *Journal of the Royal Statistic Society, B(39)* 1-38.
- DeTolla, L. J., Srinivas, S., Whitaker, B. R., Andrews, C., Hecker, B., Kane, A. S. & Reimschuessel, R. (1995). Guidelines for the care and use of fish in research. *ILAR Journal*, *37(4)*, 159-173.
- Díaz-Jaimes, P., Sandoval, E. & Uribe, M. (2007). Comparative population structure of three snook species (Teleostei: Centropomidae) from the eastern central Pacific. *Ichthyological Research*, *54*, 380-387. doi:10.1007/s10228-007-0413-3.
- Castillo-Domínguez, A., Barba, M. E., Navarrete, A., Rodiles-Hernández, R. & Jiménez, B. (2011). Ictiofauna de los humedales del río San Pedro, Balancán, Tabasco, México. *Revista de Biología Tropical*, *59*, 693-708.
- Excoffier, L., Smouse, P. E. & Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, *131*, 479-491.
- Expósito, G., Salas, D. A., Monreal, M. A., Salas, D., & Vázquez, F. (2009). Inertial currents in the southern Gulf of Mexico. *Ciencias Marinas*, *35*, 287-296.
- Freeland, J. (2005). *Molecular Ecology*. Wiley & Sons. England.
- Gamboa-Coronado, M., Mau-Inchaustegui, S. & Rodríguez-Cavallini, E. (2011). Caracterización molecular y resistencia antimicrobiana de aislamientos de *Clostridium perfringens* de diferentes orígenes en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, *59*, 1479-1485.
- Grier, H. J. & Taylor, R. G. (1998). Testicular maturation and regression in the common snook. *Journal of Fish Biology*, *53*, 521-542. doi: 10.1111/j.1095-8649.1998.tb00999.x

- Guo, S. W. & Thompson, E. A. (1992). Performing the exact test for Hardy–Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*, *48*, 361-372.
- Ishikawa, S., Tsukamoto, K., & Nishida, M. (2004). Genetic evidence for multiple geographic populations of the giant mottled eel *Anguilla marmorata* in the Pacific and Indian oceans. *Ichthyological Research*, *51*, 343-353. doi 10.1007/s10228-004-0241-7
- Johnson, M. A. & Banks, M. A. (2008). Genetic structure, migration, and patterns of allelic richness among coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) populations of the Oregon coast. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *65*, 1274-1285. doi: 10.1139/F08-044
- Landínez-García, R. M., Ospina, S. P., Rodríguez, Arango, D. J. & Márquez, E. (2009). Genetic analysis of *Lutjanus synagris* populations in the Colombian Caribbean. *Ciencias Marinas*, *35*, 321-331.
- McMichael, R. H., Peters, Jr. & Parsons, G. R. (1989). Early life history of the snook, *Centropomus undecimalis*, in Tampa Bay, Florida. *North East Gulf Sciences*, *10*, 113-126.
- Mehner, T., Pohlmann, K., Elkin, C., Monaghan, M. T. & Freyhof, J. (2009). Genetic mixing from enhancement stocking in commercially exploited vendace populations. *Journal of Applied Ecology*, *46*, 1340-1349. doi: 10.1111/j.1365-2664.2009.01733.x
- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, *89*, 583-590.
- Peakall, R. & Smouse, P. E. (2006). GenAEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, *6*, 288-295. doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x
- Perera, M. A., Mendoza, M., Contreras, W. M., Huerta, M. & Pérez, E. (2011). Reproductive biology of common snook *Centropomus undecimalis* (Perciformes: Centropomidae) in two tropical habitats. *Revista de Biología Tropical*, *59*, 669-681.
- Perera-García, M., Mendoza-Carranza, M., Contreras-Sánchez, W., Ferrara, A., Huerta-Ortiz, M. & Hernández-Gómez, R. (2013). Comparative age and growth of common snook *Centropomus undecimalis* (Pisces: Centropomidae) from coastal and riverine areas in Southern Mexico. *Revista de Biología Tropical*, *61*, 807-819.
- Perera, M.A., Mendoza, M. & Páramo, S. (2008). Dinámica reproductiva y poblacional del robalo, *Centropomus undecimalis* (Perciformes: Centropomidae), en barra San Pedro, Centla, México. *Universidad y Ciencia*, *24*(1), 49-59.
- Peterson, M. S. & Gilmore, R. G. (1991). Eco-physiology of juvenile snook *Centropomus undecimalis* (Bloch): life-history implications. *Bulletin of Marine Science*, *48*(1), 46-57.
- Pritchard, V. L., Jones, K. & Cowley, D. E. (2007). Estimation of introgression in cutthroat trout populations using microsatellites. *Conservation Genetics*, *8*, 1311-1329. doi: 10.1007/s10592-006-9280-0
- Prodocimo, V., Tschä, M. K., Pie, M. R., Oliveira, J., Ostrensky, A. & Boerger, W. A. (2008). Lack of genetic differentiation in the fat snook *Centropomus parallelus* (Teleostei: Centropomidae) along the Brazilian coast. *Journal of Fish Biology*, *73*, 2075-2082. doi:10.1111/j.1095-8649.2008.02066.x
- Raymond, M. & Rousset, F. (1995). GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, *86*, 248-249.
- Roberts, S. B., Jackson, L. F., King, W., Taylor, R. G., Grier, H. J. & Sullivan, C.V. (1999). Annual Reproductive Cycle of the Common Snook: Endocrine Correlates of Maturation. *Transactions of the American Fisheries Society*, *128*, 436-445. doi: 10.1577/1548-8659(1999)128<0436: ARCOTC>2.0.CO;2

- Rosales-Hoz, L., Carranza-Edwards, A., Arias-Reynada, S., & Santiago-Pérez, S. 1992. Distribución de metales en sedimentos recientes del sureste del golfo de México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*. <http://biblioweb.tic.unam.mx/cienciasdelmar/instituto/1992-2/articulo408.html>
- Salas, L. A., Monreal, M. A. & Aldeco, J. (1992). Periodos característicos en las oscilaciones de parámetros meteorológicos en Cayo Arcas, México. *Atmósfera*, 5, 193-205.
- Sandoval-Castellanos, E., Uribe, M. & Díaz, P. (2005). Diferenciación genética poblacional en robalos (Pisces:Centropomidae) del pacífico mexicano. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 21(1), 35-41.
- Seyoum, S., Tringali, M. D. & Sullivan, J. (2005). Isolation and characterization of 27 polymorphic microsatellite loci for the common snook *Centropomus undecimalis*. *Molecular Ecology Notes*, 5, 192-194. doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01118.x
- Slatkin, M. (1994). Gene flow and population structure. In Real, L. A. (ed.). *Ecological Genetics* (p. 3-17). Princeton University. Nueva Jersey, USA.
- Slatkin, M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139, 457- 462.
- Taylor, R. G., Grier, H. J. & Whittington, J. A. (1998). Spawning rhythms of common snook in Florida. *Journal of Fish Biology*, 53, 502-520. doi: 10.1111/j.1095-8649.1998.tb00998.x
- Taylor, R. G., Whittington, J. A., Grier, H. J. & Crabtree, R. E. (2000). Age, growth and protandric sex reversal in common snook *Centropomus undecimalis*, from the east and west coasts of Florida. *Fishery Bulletin*, 98, 612-624.
- Tringali, M. D. & Higham, M. (2007). Isolation by distance gene flow among Vermilion snapper (*Rhomboplites aurorubens* Cuvier, 1829) from the Gulf of Mexico and Southeastern United States. *Gulf of Mexico Science*, 25(1), 2-14.
- Tringali, M. D., Bert, T. M. & Seyoum, S. (1999). Genetic identification of centropomine fishes. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1(8), 446-458. doi:10.1577/1548-8659(1999)128<0446:GIOCF>2.0.CO;2
- Tringali, M. D., Seyoum, S., Wallace, E. M., Higham, M., Taylor, R. G., Trotter, A. A. & Whittington, J. A. (2008). Limits to the use of contemporary genetic analyses in delineating biological populations for restocking and stock enhancement. *Reviews on Fisheries Sciences*, 16(1), 111-116. doi: 10.1080/10641260701686887
- Tringali, M. D. & Bert, T. M. (1996). The genetic stock structure in common snook (*Centropomus undecimalis*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53, 974-984. doi: 10.1139/f96-027:947
- Tucker, J. W. (1987). Snook and tarpon snook culture and preliminary evaluation for commercial farming. *The Progressive Fish. Culturist*, 49, 49-57. doi:10.1577/1548-8640(1987)49<49:SATSCA>2.0.CO;2
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. & Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology*, 4, 535-538. doi:10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x
- Ward, R. D. (2000). *Genetics in fisheries management*. *Hydrobiologia*, 420, 191–201. doi:10.1023/A:1003928327503
- Was, A., Gosling, E. & Hoarau, G. (2010). Microsatellite analysis of plaice (*Pleuronectes platessa* L.) in the NE Atlantic: weak genetic structuring in a milieu of high gene flow. *Marine Biology*, 157, 447-462. doi: 10.1007/s00227-009-1331-x
- Weir, B. S. & Cockerham, C. C. (1984). Estimating F statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38, 43-44. doi: 10.2307/2408641

TABLE 1.
Genetic variability for five microsatellite loci of *C. undecimalis* in marine and freshwater connected systems

Locus	Origin	N	Na	Ne	Ho	He	Pa	Nf	As	Asr
<i>Cun01</i>	MA	32	23	12.80	0.969	0.922	9	0.1052	105-183	170-204
	FW	30	22	15.25	0.800	0.934	8	0.0000		
<i>Cun09</i>	MA	30	27	19.14	0.600	0.948	23	0.0859	232-293	237-273
	FW	5	6	4.16	0.800	0.760	2	0.1824		
<i>Cun10A</i>	MA	22	22	14.66	0.773	0.932	9	0.1050	142-226	159-219
	FW	19	15	10.31	0.895	0.903	2	0.1661		
<i>Cun18</i>	MA	33	26	19.10	0.879	0.948	7	0.1097	112-184	109-127
	FW	32	28	18.96	0.781	0.947	9	0.0318		
<i>Cun22</i>	MA	18	20	15.07	0.444	0.934	15	0.3012	141-245	170-204
	FW	25	22	16.89	0.440	0.941	17	0.2542		

MA=marine environment, FW=freshwater environment, N=number of individuals with amplification, Na=number of alleles per locus, Ne=effective number of alleles per locus, Ho=observed heterozygosity, He=expected heterozygosity, Pa=private alleles, Nf=null alleles frequency, As=allele size in the study, Asr= reference allele size according to Seyoum et al. (2005).

TABLE 2.
Estimators of population subdivision for *C. undecimalis* in connected systems

Locus	F _{IS}	F _{IT}	F _{ST}
<i>Cun01</i>	0.0565	0.0547	-0.0018
<i>Cun09</i>	0.3437	0.3748	0.0475
<i>Cun10A</i>	0.2770	0.2809	0.0053
<i>Cun18</i>	0.1427	0.1439	0.0014
<i>Cun22</i>	0.5697	0.5763	0.0152
Average	0.2393	0.2450	0.0075

F_{IS}=inbreeding coefficient between populations, F_{IT}=total inbreeding coefficient, F_{ST}=population subdivision coefficient

TABLE 3.
AMOVA for *C. undecimalis* in connected systems

Source	df	SS	MS	EV	%
Between environments	1	3 928.4	3 928.4	28.6	2
Among individuals	63	130 205.1	2 066.7	304.7	17
Within individuals	65	94 721.4	1 457.2	1 457.2	81
Total	129	228 855.0		1 790.6	100

df=degrees of freedom, SS=sum of squares, MS=mean squares, EV=estimated variance, %=percentage of total variance

Data obtained by means of microsatellites loci analysis.

CAPÍTULO III

Reproductive Variability of the Common Snook *Centropomus undecimalis* in Environments of Contrasting Salinities, interconnected by the Grijalva- Usumacinta Fluvial System

Ulises Hernández-Vidal, Xavier Chiappa-Carrara and Wilfrido Contreras-Sánchez

Enviado para su publicación en la revista Ciencias Marinas.

Abstract. The common snook *Centropomus undecimalis* is a migratory euryhaline fish, distributed throughout the tropical Atlantic. In the southern Gulf of Mexico, fishing of large snooks occurs mainly in the marine environment (MA), while medium-size adults and juveniles are caught in the freshwater environment (FW). However, large size adults are also found in freshwater habitats, far away from the sea, and the effect of different environments on their reproductive cycle is unknown. In order to describe the reproductive cycle of this species in different salinity habitats, we analyzed macroscopic reproductive characteristics during an annual cycle in FWs and MAs interconnected by the Grijalva-Usumacinta basin. Specimens with full-grown gonads and spawning capable were found in the FW, an unusual condition, not reported for this habitat; but active spawning was observed only in the MA. *Centropomus undecimalis* has a biological strategy that allows the use of FW as a juvenile --up to when it reaches sexual maturity as a male-- and joins the reproductive stock in the MA. Adults of both sexes can stay in both FW and MA, continuing on their reproductive cycle, suggesting that those that mature in the FW migrate to the sea during the spawning season.

Key words: reproductive biology, contrasting environments, Centropomidae, common snook, *Centropomus undecimalis*

Resumen. El robalo común *Centropomus undecimalis* es un pez eurihalino migratorio distribuido en la región Atlántica tropical. En el sur del Golfo de México, los adultos dominan la captura en ambientes marinos (AM) mientras que adultos jóvenes y juveniles se capturan en dulceacuícolas (AD). Sin embargo, en áreas alejadas del mar se localizan adultos de gran talla y edad por lo que desconoce el efecto del ambiente contrastante sobre su ciclo reproductor. Con la finalidad de conocer el efecto del hábitat de salinidad contrastante en el robalo común, se analizaron características reproductoras macroscópicas durante un ciclo anual en AD y AM interconectados

por la cuenca Grijalva-Usumacinta. Se localizaron ejemplares capaces de desovar en AD, condición no convencional en este hábitat. Sin embargo, el desove activo solo se observó en AM. *C. undecimalis* muestra una estrategia biológica que aprovecha el AD como juvenil hasta alcanzar la madurez sexual como macho para su incorporación posterior al stock reproductor en AM. Los adultos de ambos sexos permanecen indistintamente en AD o AM sin efectos sobre su ciclo reproductor, sugiriendo que aquellos que maduran en AD podrían migrar durante la temporada de desove al mar.

Palabras Clave: Biología reproductora, ambientes contrastantes, Centropomidae, robalo común, *Centropomus undecimalis*

INTRODUCTION

The common snook *C. undecimalis* is a migratory euryhaline fish distributed along the coasts of the Atlantic Ocean, Gulf of Mexico and the Caribbean Sea (Tringali and Bert 1996, Tringali *et al.* 1999, Taylor *et al.* 2000, Perera-García *et al.* 2011). Snooks are protandric hermaphrodites that spawn from April to September in the coastal marine environment, estuaries and lagoons with salinities of 28 to 35 UPS (Grier *et al.* 1985, Tucker *et al.* 1987, Taylor *et al.* 1998, Perera-García *et al.* 2008, Perera-García *et al.* 2011). Larvae and fry migrate into estuaries and rivers, where part of their development as juveniles and adults takes place. It is considered that after gonadal maturity, they return to the sea and join the reproductive stock (McMichel *et al.* 1989, Tringali and Bert 1996).

C. undecimalis is a fishery resource exploited in various habitats. Due to its commercial value, its capture in Mexico is intense in its main fishing area in the southern Gulf of Mexico, occurring mainly at the coasts of Campeche, Tabasco and Veracruz. Recent reports have indicated a decrease in its fishery production and the need to implement management programs before a possible reduction of the local stocks occurs (Perera-García *et al.* 2008, 2011). Behavioral patterns that include reproductive aggregations along the coast and seasonal migrations in the fluvial systems seem to increase the vulnerability of *C. undecimalis* by facilitating its capture (Perera-García *et al.* 2011).

The Grijalva-Usumacinta fluvial system interconnects ample areas of southeastern Mexico and Guatemala. Specimens of *C. undecimalis* --of reproductive sizes and ages-- are collected in the system, both in the marine environment adjacent to the inlet and in the freshwater environment, in areas more than 300 km away from the sea (Perera-García *et al.* 2008, 2011, Hernández-Vidal *et al.* in press). The presence of adult fishes of advanced ages and sizes, in systems with such contrasting conditions generates questions on the possible influence of these conditions on reproduction, and on how this effect is reflected in the organisms' characteristics during the year. Thus, the purpose of this study was to describe and compare the morphometric and reproductive characteristics of specimens collected in geographically distant environments with contrasting salinities. A recent study (Hernandez-Vidal *et al.* in press) identified that snooks from these contrasting environments belong to the same genetic stock. The information gathered will contribute to the knowledge on the biology of the species, in the framework of these environmental conditions, providing elements for an integral management program, to be used by the fishing communities.

MATERIALS AND METHODS

Between April 2010 and March 2011, 507 *C. undecimalis* specimens were collected in two fishery areas of Tabasco, Mexico (Fig. 1). One was located in the coastal area, called *marine environment* (MA) for this study and the other in the main channel of the San Pedro River, a tributary of the Grijalva-Usumacinta system, called *freshwater environment* (FW). An approximate distance of 300 km separates the sampling localities. The geographical location was recorded with a GPS (Garmin™) and the depth with an echosounder (NorCross Marine Products, Inc., USA) at each sampling locality. Surface, half-depth and bottom water samples were collected with a Van Dorn sampler (Wild Co., USA) in order to record physicochemical parameters. The data recorded included dissolved oxygen (DO) and temperature (T), measured with a field oxymeter (YSI model 95); while salinity (S), electric conductivity (EC) and total dissolved solids (TDS) were measured with a conductimeter (HI9835 Hanna Instruments). Fish were collected with gill nets, with a mesh size of 3 to 6". Total length (TL, cm \pm 1.0), standard length (SL, cm \pm 1.0) and total weight (TW, kg \pm 0.001) were recorded for each specimen. The gonads were extracted and weighed, and the sex was determined by macroscopic observation.

The macroscopic stages of gonadal maturity were defined following the criteria of Brown-Peterson *et al.* (2011) considering the phases: (I) *immature*, fish that never spawned, (II) *developing*, those with growing gonads but not ready to spawn, (III) *spawning capable*, fish with a completely developed gonad that could spawn during the cycle, including the subphase *actively spawning* for those found spawning, (IV) *regressing*, cessation of spawning and (V) *regenerating*, sexually mature fish that are reproductively inactive. The total length at which 50% (L_{50}) of the specimens actively play a role in reproduction was calculated following Vazzoler

(1996), using the accumulated frequency of reproductive stages for each size interval and adjusting it to a logistic function, according to the suggestions of Gayanilo and Pauly (1997). The gonadosomatic index (I_G) was estimated following Bagenal and Tesch (1978) and Vazzoler (1996).

The weight and size of the specimens were analyzed with the Kolmogorov-Smirnov test (KS), while the sex ratios (M:F) per environment, month and size intervals were compared with the χ^2 test (Zar 1999). Fulton's general condition factor (K_F), the total condition factor (K_T) and the somatic condition factor (K_S) were calculated monthly for each environment and sex following Bagenal and Tesch (1978) and Vazzoler (1996). These indices were compared throughout the year using the Kruskal Wallis test (KW). The weight-length relationship was calculated with a potential regression based on the equation: $TW = aTL^b$, where TW is the total weight of the fish in grams, a is the regression constant, TL is the total length in centimeters and b is the regression coefficient (Gayanilo and Pauly 1997). Considering that the b coefficient provides information on the type of growth of the species, $b=3$ is isometric and $b \neq 3$ is allometric (Bagenal and Tesch 1978). The value was analyzed with the t Student test (Zar 1999) and the hypotheses $H_0: b=3$ and $H_a: b \neq 3$ were established. In all cases, statistical analyses were carried out at a significance level of 0.05 (Zar, 1999).

RESULTS

The 507 specimens collected included 240 from the MA and 267 from the FW. The males were significantly smaller than the females in size and weight, both in the FW (KS=2.8, 3.1; $p < 0.001$) and the MA (KS=2.8, 2.6; $p < 0.001$). The fish of both sexes were bigger in weight and size in the

MA than those in the FW (KS, $p < 0.05$). In the FW, the males varied from 39 to 89 cm TL (0.50-4.5 kg TW) and the females from 55 to 110 cm TL (0.90-10.75 kg TW). In the MA, the males varied from 74 to 101 cm TL (3.09-7.73 kg TW) and the females from 70 to 114 cm TL (3.11-11.30 kg TW).

The TW-TL relationship of all the specimens (Fig. 2) produced the general equation: $TW = 5.114(TL)^{3.04}$, with 94% percent of the weight variability being explained by the model. The growth of the species was isometric ($t = 0.90$, $p = 0.361$).

The males were significantly predominant in both environments, we collected 383 males (75.5%) and 124 females (24.5%), and a total sex ratio (M:F) of 3:1; being significantly different from the expected ratio of 1:1 ($\chi^2 = 26.1$, $p < 0.05$). In the FW, 236 males and 31 females were collected, with a significantly skewed sex ratio of 7.6:1 (M:F) ($\chi^2 = 58.9$, $p < 0.05$). Males made up more than 80% of the monthly captures in the FW, except for October (68%). The sex ratios recorded in the MA were significantly less biased with 147 males and 93 females, a total sex ratio of 1.5:1 (M:F) ($\chi^2 = 26.1$, $p < 0.05$). The MA presented a marked monthly variation, with more males (62 to 87%) in January, February, April, June and July ($\chi^2 = 5.6-9.0$, $p < 0.05$), only females in September, and a similar sex ratio in March, August, November and December ($\chi^2 = 0.83$, $p > 0.05$).

The sex ratio with respect to the size indicated that there were more males of small sizes and more females of large sizes in both environments (Fig. 3A-C). In the MA, the sex ratio was greater for females between 70 to 74 cm and for males of 75 to 89 cm ($\chi^2 = 7.5$, $p < 0.05$). There were no statistically significant differences for the 90 to 104 cm size range ($\chi^2 = 0.05$, $p > 0.05$), while only females were observed for lengths of 105 cm and greater (Fig. 3A). In the FW, the sex

ratio was greater for males of 35 to 84 cm ($\chi^2=18.3$, $p<0.05$), similar for sizes of 85 to 89 cm ($\chi^2=0.0$, $p>0.05$) and only females were collected with lengths of 90 cm and larger, with the females starting at 55 cm (Fig. 3B). A total analysis provided a greater proportion of males of 35 to 89 cm ($\chi^2=6.5$, $p<0.05$), the same sex ratio (1:1) for sizes of 90 to 104 cm ($\chi^2=0.1-0.7$, $p>0.05$) and only females for sizes 105 cm and larger (Fig. 3C).

The gonadal development evaluated by macroscopic examination indicated that in the FW, there were fish of both sexes in stages ranging from *immature* to *spawning capable*, and in the MA found fishes from *developing* to *regressing* (Fig. 4A-D). We found fishes from both sexes in the *spawning capable* stage and the *actively spawning* subphase only in the MA. We observed no organisms in the *regenerating* stage, in either environment. In the MA, the greatest frequency of individuals of both sexes in the *developing* stage was recorded from November to February, while that in the *spawning capable* stage occurred between February and August, with an apparent stop in spawning starting in September (Fig. 4A and 4B). The *actively spawning* subphase was observed in females in April (40%), July (56%) and August (100%), and only in August in the case of males (100%). In the FW, the females presented the *developing* stage mostly throughout the year and the *spawning capable* stage in April and September (Fig. 4C). The males in the FW presented the *developing* stage during most of the year; however, males in the *spawning capable* stage were observed during the last months of the year (coinciding with the down-river migrations reported by the fishermen), with the majority observed in October (87.5%; Fig. 4D).

The condition indices evaluated during the year provided greater values for the MA. The males presented greater values than the females in both environments. The indices for Fulton's general

condition (K_F), total condition (K_T) and somatic condition (K_S) showed a significant monthly variation only for the males of the FW. In general, these indices presented a continuous increase from November to March and a slow decrease starting in April and May. The monthly K_F index values for the males fished in the FW presented significant differences, with a maximum in February (10.1) and a minimum in March (0.30) ($KW=95.3$, $p<0.01$). No significant differences were observed for the females of the FW, and the K_F values vary from 0.47 to 12.1 ($KW=14.7$, $p=0.98$). The same situation was observed for males and females from MA with values oscillating from 0.48 to 13.0 ($KW=13.2$, $p=0.15$) and 0.45 to 13.1 respectively ($KW=8.27$, $p=0.60$; Fig. 5A). The monthly values of the total condition index K_T for the males of the FW varied significantly from 0.011 to 0.034 ($KW=75.0$, $p<0.01$). No statistically significant differences were observed during the year for the other organisms of all the groups; the values for the females from FW vary from 0.009 to 0.023 ($KW=13.2$, $p=0.15$), and for the males and females of the MA vary from 0.160 to 0.384 ($KW=15.0$, $p=0.06$) and 0.039 to 0.105 ($KW=1.8$, $p=0.99$), respectively (Fig. 5B). The somatic condition index values (K_S) were similar to those of the K_T . For the males of the FW, monthly values indexes vary significantly between 0.011 and 0.034 ($KW=75.0$, $p<0.01$). In contrast, the females of the FW presented no significant differences along the year, with values oscillating from 0.009 to 0.024 ($KW=15.7$, $p=0.71$). A similar situation was recorded for the males and females of the MA, with values varying of 0.0159 to 0.382 ($KW=14.9$, $p=0.09$) and 0.039 to 0.103 ($KW=2.9$, $p=0.98$), respectively.

The greatest I_G values were recorded for both sexes of the MA, and only occasionally for some females and males of the FW (Fig. 5C). In the MA, both sexes presented a highly significant variation in I_G during the year. The males showed maximum values between June and August ($KW=99.3$, $p<0.001$), whereas high values were for females during a longer period from April to

September (KW=70.0, $p<0.001$). The males presented low values in the FW. However, significant differences were recorded and the maximum values were May and September (KW=69.1, $p<0.001$). The females presented no significant differences during the year (KW=14.2, $p=0.115$). The logistic analysis carried out for the MA estimated that the sizes at which 50% of the fish were mature (L_{50}) were 80 cm TL for the males and 85 cm TL for the females. In the FW, the L_{50} values were 78.7 cm TL for the males and 89 cm TL for the females.

The physicochemical parameters varied seasonally (Table 1). The minimum temperature values were recorded at the start and end of the year, while the maximum values were those of June to September. Salinity (S), electric conductivity (EC) and total dissolved solids (TDS) varied in agreement with the dry and rainy seasons, with the minimum values during the rainy months and the maximum values during the dry hot months. The dissolved oxygen concentration varied with respect to depth, low values were near to the bottom with a minimum in December in the MA, as well as in August in the FW.

DISCUSSION

This study reports the presence of both sexes of *C. undecimalis* in the *spawning capable* macroscopic maturity stage in freshwater environments, far from the reported spawning areas at the sea. This information represents an important contribution to the biology of the species, as previous studies carried out in these localities have reported common snooks in *spawning capable* macroscopic maturity stages only for the MA, and only early stages for the FW. This suggests that the gonadal maturation of *C. undecimalis* in freshwater habitats was considered to be restricted (Chávez-Lomelí *et al.* 1989, Perera-García *et al.* 2008, 2011). However, our results

suggest a variant in the reproductive strategy of the common Snook involving a physiological tolerance mechanism that allows the adults to remain in FW to reach the *spawning capable* stage. This strategy allows *C. undecimalis* to benefit from feeding and refuge resources in freshwater and brackish habitats (Adams *et al.* 2006, Brennan *et al.* 2008, Milton 2009) while gonads develop.

The coincidence in the timing of the macroscopic stages in the two environments throughout the year indicates that the reproductive cycle of the common snook is synchronized, independently of the environment in which it is found. This, combined with its capacity to migrate, suggests that when the fish reach *spawning capable* stage in either of these environments, they can migrate towards the spawning areas within one same reproductive season. Several studies have indicated that common snooks migrate easily (Adams *et al.* 2006, Brennan *et al.* 2008). In Florida, migrations of marine populations of common snooks have been observed covering distances up to 148 km (Stevens and Sulak 2001). In the localities of our study there are no specific reports of reproductive migrations in snooks; although, fishery data indicate an annual migratory event between FW and MA (Perera-García *et al.* 2011) this idea is complemented with information indicating that individuals from both localities belong to the same population, presenting a high migratory flux value at the genetic level (Hernandez-Vidal *et al. in press*). Reproductive migrations are valuable when seeking a habitat that favors the success of the progeny, varying in distance and time (Milton 2009). In the case of *Morone saxatilis*, a one-week reproductive migration has been observed between rivers and estuaries, covering a distance of up to 165 km (Carmichael *et al.* 1998). The migrations of *Gadus morhua* cover several hundred kilometers (Jørgensen *et al.* 2008), while *Polyprion americanus* can travel 1000 to 1500 km (Peres and Klippel 2003) in the same reproductive season. Information on migrations of several species,

including common snooks in Florida and similarities in genetic allele frequency for fishes from our study area, allow us to suggest that organisms of *C. undecimalis*, in *spawning capable* stage, can travel more than 300 km from the Grijalva-Usumacinta system to the spawning areas located in the Gulf of Mexico. However, Trotter *et al.* (2012) suggested that up to 40% of *C. undecimalis* individuals do not complete the annual migration for spawning that takes place in coastal Florida. These authors do not mention the gonadal condition of the resident or non-migrant fish, for which reason it is not possible to define the condition of gonadal development at the time of this occurrence. A gonadal maturation in the FW with no possibility to spawn supposes a waste in the fish energy budget and supports the idea of *spawning capable* snooks migrate towards the MA to spawn (Grier *et al.* 1985, Taylor *et al.* 1998, Perera-García *et al.* 2011). This requires evaluation, by studying migrations among environments in the Grijalva-Usumacinta system.

The *actively spawning* subphase was observed only in the MA. This coincides with reports supporting spawning of *C. undecimalis* at sea (Grier *et al.* 1985, Tucker *et al.* 1987, Taylor *et al.* 1998, Perera-García *et al.* 2011, Andrade *et al.* 2013). According with our data, high frequency of fishes spawn during the months of higher salinity and temperature. In contrast, no reports have recorded common Snook spawning in the FW. The fact that *C. undecimalis* depends on the MA to spawn may be related to limitations of production and survival of both gametes and embryos in the FW. Coward *et al.* (2002) reported that low salinities cause a loss of gamete viability and the death of embryos in fish species that spawn in marine environments, due to a deficient regulation of cellular osmolarity. In contrast with this apparent incapacity of the snooks to spawn in FWs, the euryhaline *Micropogonias furnieri* spawns in different salinity environments and favors the success of the progeny by providing a valuable strategy for the use of resources and the possibility of colonizing new habitats (Militelli *et al.* 2013).

The increase in the frequency of young males in *spawning capable* stage in the FW during down-river migrations, and the increase in the frequency of young adults in the MA during the following months, suggests that recruitment to the reproductive stock takes place in the MA. This incorporation coincides in macroscopic gonadal features and I_G in fishes inhabiting both environments. It is possible that the season of rains and floods in areas of the FW induces migratory behaviors and the recruitment of snooks to the MA. This has been reported for the Atlantic coast of Guatemala where an increase in the number of young specimens arriving from the rivers has been observed (Andrade *et al.* 2013). This pattern has also been suggested for several species of migratory fish in South American Rivers, suggesting that they take advantage of the fluvial connections generated among habitats to become established as breeders (Agostinho *et al.* 2004, Guerrero *et al.* 2009).

The analysis of the size, weight, sex composition and TW-TL relationships of *C. undecimalis* suggests that there is a sequence in growth that associates sex ratio changes and the optimal use of resources in the different environments. This sequence starts with a great abundance of young males in the FW that migrate to the MA as mature males, as well as few young females in the FW (possibly with a recent sexual reversion) and an abundance of large females in the MA. This sequence agrees with a sequential hermaphroditism that allows a change from male to female as the snooks grow, favoring a prevalence of large females (Taylor *et al.* 2000, Perera-García *et al.* 2011, Andrade *et al.* 2013). It is also related to freshwater and brackish environments role for the early developmental stages for *C. undecimalis*, providing protection and food during the juvenile stages, after which the adults migrate to the MA for spawning (McMichel *et al.* 1989, Peterson and Gilmore 1991, Aliaume *et al.* 2000, Brennan *et al.* 2008). These characteristics of the

snook's life cycle could explain the presence of a high proportion of males of small size and weight found in the FW, followed by a later increase in the proportion of females, with fishes of greater size and weight in the MA. Our findings are coincident with sex ratio values (M:F) reported by several studies. For example our values 7.6:1 for the FW of our study and reported by Perera-García *et al.* (2011) for the same area (6.2:1), as well as the value recorded for the MA of our study, by Perera-García *et al.* (2008, 2011) for the same area and by Andrade *et al.* (2013) for the Atlantic coast of Guatemala (all cases 1.5:1). However, it must be considered that part of the variation recorded for the sizes and sex ratios could respond to the type of fishing gear used at each site and a selective extraction applied by the local fisheries (Tuuli *et al.* 2011).

The results of this study provide new elements on the reproductive biology of the common snook along environmental gradient characterizing its distribution range, suggesting a variant in the reproductive strategy that has traditionally been described for *C. undecimalis*. This strategy suggests reproductive synchronization and capacity to reach advanced stages of gonadal maturity in the FW, a situation not previously reported. The results on morphometric data and sex composition suggest that young fish prefer the FW and adults prefer the MA. As this species represents an important fishery resource in the region, with fisheries established in both the FW and MA, this information should be taken into account when developing programs for the conservation and sustainable management of the resource, considering the complex biological characteristics of the species and a vulnerability generated by the migratory groups inhabiting the freshwater habitats and the large females as the main objective of the fisheries.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research is a component of the AquaFish Collaborative Research Support Program (CRSP), supported by the US Agency for International Development (USAID) award number CA/LWA No. EPP-A-00-06-0012-00 and by contributions from participating institutions. The AquaFish CRSP accession number is 1420. This study was also partially supported by PFICA research program at UJAT. We thank Moises Gonzalez and Alejandro Macdonald for field support and fishermen from Balancan and Centla municipalities.

REFERENCES

- Andrade H, Santos J, Taylor R. 2013. Life-history traits of the common snook *Centropomus undecimalis* in a Caribbean estuary and large-scale biogeographic patterns relevant to management. *J. Fish Biol.* 82: 1951-1974. <http://dx.doi.org/10.1111/jfb.12123>
- Agostinho AA, Gomes LC, Verissimo S, Okada EK. 2004. Flood regime, dam regulation and fish in the upper Paraná River: effects on assemblage attributes, reproduction and recruitment. *Rev. Fish Biol. Fish.* 14: 11-19. <http://dx.doi.org/10.1007/s11160-004-3551-y>
- Adams AJ, Wolfe RK, Pine WE, Thornton BL. 2006. Efficacy of PIT tags and an autonomous antenna system to study the juvenile life stage of an estuarine-dependent fish. *Est. Coast.* 29: 311-317. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02781999>
- Adams A, Wolfe RK, Barkowski N, Overcash D. 2009. Fidelity to spawning grounds by a catadromous fish, *Centropomus undecimalis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 389:213-222 (2009) <http://dx.doi.org/10.3354/meps08198>
- Aliaume C, Zerbi A, Joyeux J, Miller J. 2000. Growth of juvenile *Centropomus undecimalis* in a tropical island. *Environ. Biol. Fish* 59: 299-308. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1007662611839>
- Bagenal T, Tesch FW. 1978. Age and Growth. In: Bagenal T. (ed.), *Methods for assessment of fish production in fresh waters*: 101-136. Blackwell Scientific Publications. London, U.K.
- Brennan NP, Walters CJ, Leber KM. 2008. Manipulations of stocking magnitude: Addressing density-dependence in a juvenile cohort of Common Snook (*Centropomus undecimalis*). *Rev. Fish. Sci.* 16: 215-227. <http://dx.doi.org/10.1080/10641260701689022>
- Brown-Peterson NJ, Wyanski DM, Saborido-Rey F, Macewicz BJ, Lowerre-Barbieri SK. 2011. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Mar. Coast. Fish.* 3:52-70. <http://dx.doi.org/10.1080/19425120.2011.555724>
- Carmichael JT, Haeseker SL, Hightower JE. 1998. Spawning migration of telemetered Striped Bass in the Roanoke River, North Carolina. *Trans. Am. Fish. Soc.* 127: 286-297. [http://dx.doi.org/10.1577/1548-8659\(1998\)127<0286:SMOTSB>2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1577/1548-8659(1998)127<0286:SMOTSB>2.0.CO;2)

Chávez-Lomelí MO, Mattheeuws AE, Pérez-Vega MH. 1989. Biología de los peces del Río San Pedro en vista de determinar su potencial para la piscicultura. INREB-FUCID, Veracruz, México. 222 p.

Coward K, Bromage NR, Hibbitt O, Parrington J. 2002. Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* 12: 33-58.
<http://dx.doi.org/10.1023/A:1022613404123>

Guerrero HY, Cardillo E, Poleo G, Marcano D. 2009. Reproductive biology of freshwater fishes from the Venezuelan floodplains. *Fish Physiol. Biochem.* 35: 189-196.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10695-008-9249-7>

Grier HJ. 1985. Reproduction of the snook, *Centropomus undecimalis*: structure of the testis I reproductive males. In: Proc. World Marine Soc. 16th Annual Meeting. January 13-17, Florida, USA.

Gayanilo F, Pauly D. 1997. Stock assessment tools reference manual. FAO-ICLARM, Rome Italy, 255 pp.

Jørgensen C, Dunlop ES, Opdal AF, Fiksen Ø. 2008. The evolution of spawning migrations: State dependence and fishing-induced changes. *Ecology* 89: 3436-3448.
<http://dx.doi.org/10.1890/07-1469.1>

Hernández-Vidal U, Leshner-Gordillo J, Contreras-Sánchez WM, Chiappa-Carrara FX. 2014. Genetic variability of the Common Snook *Centropomus undecimalis* (Perciformes: Centropomidae) in connected marine and riverine environments. *Rev. Biol. Trop.* 62. In press

McMichael RH, Peters KM, Parsons GR. 1989. Early life history of the snook, *Centropomus undecimalis* in Tampa Bay Florida. *NE Gulf Sci.* 10: 113-126.

Militelli MI, Rodrigues KA, Cortés F, Macchi GJ. 2013. Influence of environmental factors on the spawning of sciaenids in the Buenos Aires Coastal Zone, Argentina. *Cienc. Mar.* 39: 55-68.
<http://dx.doi.org/10.7773/cm.v39i1.2176>

Milton DA. 2009. Living in two worlds: Diadromous fishes, and factors affecting population connectivity between tropical rivers and coasts. In: Nagelkerken I, (Ed). *Ecological Connectivity among Tropical Coastal Ecosystems*. Springer, Netherlands. pp 325-355

Perera-García MA, Mendoza-Carranza M, Contreras-Sánchez WM, Huerta-Ortiz M, Pérez-Sánchez E. 2011. Reproductive biology of Common Snook *Centropomus undecimalis* (Perciformes: Centropomidae) in two tropical habitats. *Rev. Biol. Trop.* 59: 669-681.

Perera-García MA, Mendoza-Carranza M, Contreras-Sánchez WM, Ferrara A, Huerta-Ortiz M, Hernández-Gómez R. 2013. Comparative age and growth of common snook *Centropomus undecimalis* (Pisces: Centropomidae) from coastal and riverine areas in Southern Mexico. *Rev. Biol. Trop.* 61: 807-819.

Perera-García MA, Mendoza-Carranza M, Páramo-Delgadillo S. 2008. Dinámica reproductiva y poblacional del robalo, *Centropomus undecimalis* (Perciformes: Centropomidae), en barra San Pedro, Centla, México. *Univ. Cienc.* 24: 49-59.

Peres MB, Klippel S. 2003. Reproductive biology of Southwestern Atlantic wreckfish *Polyprion americanus* (Teleostei: Polyprionidae). *Environ. Biol. Fish.* 68:163-173. <http://dx.doi.org/10.1023/B:EBFI.0000003845.43700.29>

Peterson MS, Gilmore RG. 1991. Eco-physiology of juvenile snook *Centropomus undecimalis* (Bloch): life-history implications. *Bull. Mar. Sci.* 48: 46-57.

Stevens PW, Sulak KJ. 2001. Egress of adult sport fish from an estuarine reserve within Merritt Island National Wildlife Refuge, Florida. *Gulf Mex. Sci.* 2:77-89.

Taylor RG, Grier HJ, Whittington JA. 1998. Spawning rhythms of Common Snook in Florida. *J. Fish Biol.* 53: 502-520. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8649.1998.tb00998.x>

Taylor RG, Whittington JA, Grier HJ, Crabtree RE. 2000. Age, growth, and protandric sex reversal in Common Snook *Centropomus undecimalis* from the east and west coasts of Florida. *Fish Bull.* 98: 612-624.

Tringali MD, Bert TM. 1996. The Genetic stock structure in common snook *Centropomus undecimalis*. *Can. J. Fish. Aqua. Sci.* 53:974-984. <http://dx.doi.org/10.1139/f96-027>

Tringali MD, Bert TM, Seyoum S. 1999. Genetic identification of centropomine fishes. *Trans. Am. Soc.* 1: 446-458. [http://dx.doi.org/10.1577/1548-8659\(1999\)128<0446:GIOCF>2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1577/1548-8659(1999)128<0446:GIOCF>2.0.CO;2)

Trotter AA, Blewett DA, Taylor RG, Stevens PW. 2012. Migrations of common snook from a tidal river with implications for skipped spawning. *Trans. Am. Soc.* 141:1016-1025. <http://dx.doi.org/10.1080/00028487.2012.675903>

Tucker JW. 1987. Snook and tarpon snook culture and preliminary evaluation for commercial farming. *Prog. Fish. Cult.* 49:49-57. [http://dx.doi.org/10.1577/1548-8640\(1987\)49<49:SATSCA>2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1577/1548-8640(1987)49<49:SATSCA>2.0.CO;2)

Tuuli CD, Sadovy DM, Liu M. 2011. Reproductive biology of the greyfin croaker *Pennahia anea* in the northern South China Sea. *Ichthyol Res.* 58: 302-309. <http://dx.doi.org/10.1007/s10228-011-0228-0>

Vazzoler AE. 1996. Biología da reprodução de peixes Teleósteos: Teoría e práctica. EDUEM, Maringá, Brasil. 169 pp.

Zar JH. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey, USA. 662 pp

Figure 1. Sampling localities of *C. undecimalis*. Marine environment (MA) along the Gulf of Mexico coast (★), and freshwater environment (FW) along a tributary of the Grijalva-Usumacinta system (●).

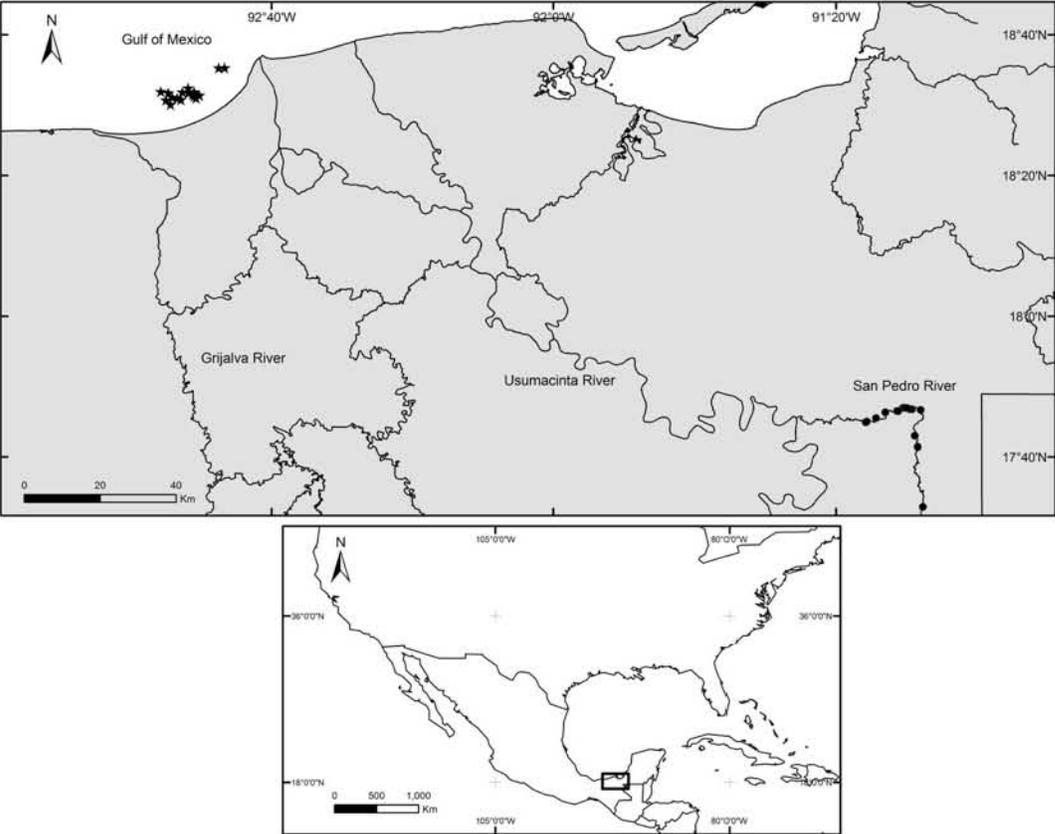


Figure 2. TW-TL relationship for all *C. undecimalis* sampled. FW Males (FWm), MA males (MAm), FW females (FWf), MA females (MAf).

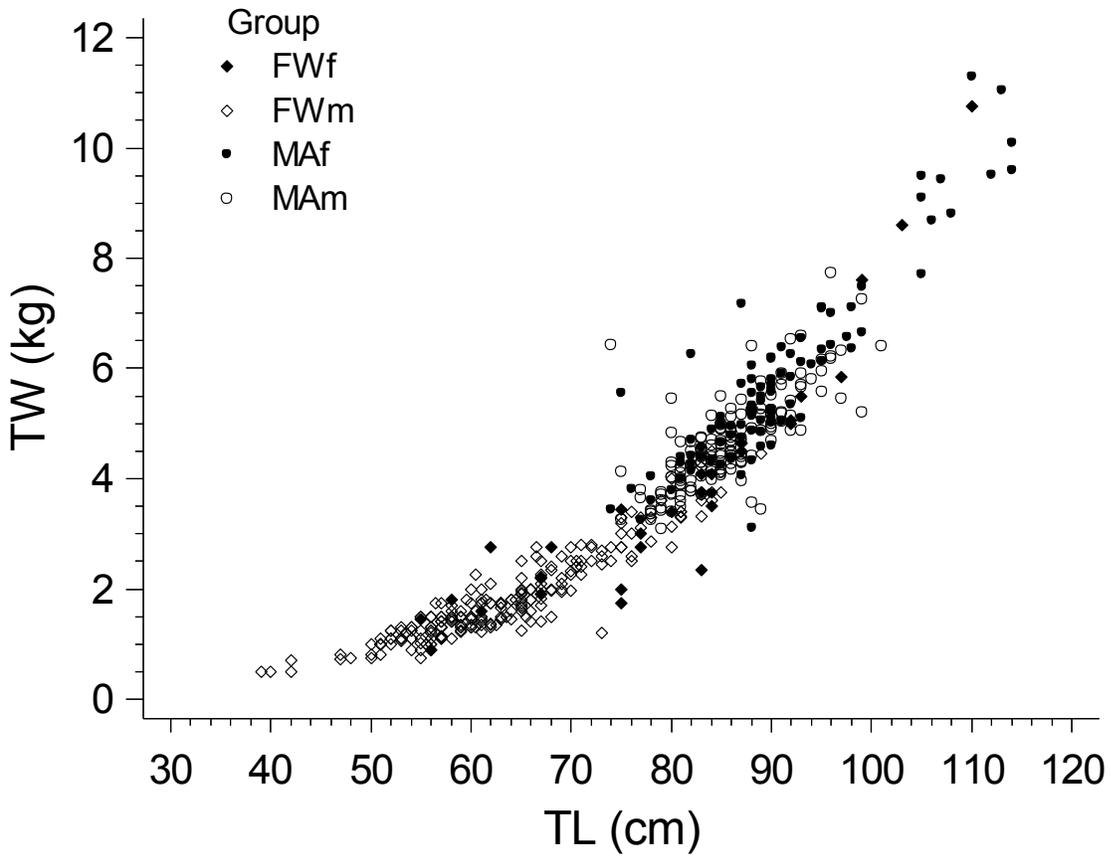


Figure 3. Sex ratio per size range of *C. undecimalis* from the MA (A), the FW (B) and all the fishes (C). The number on the bar corresponds to *n*. (*) No significant difference with respect to the ratio 1:1 (M:F) using the test $\chi^2 p > 0.05$.

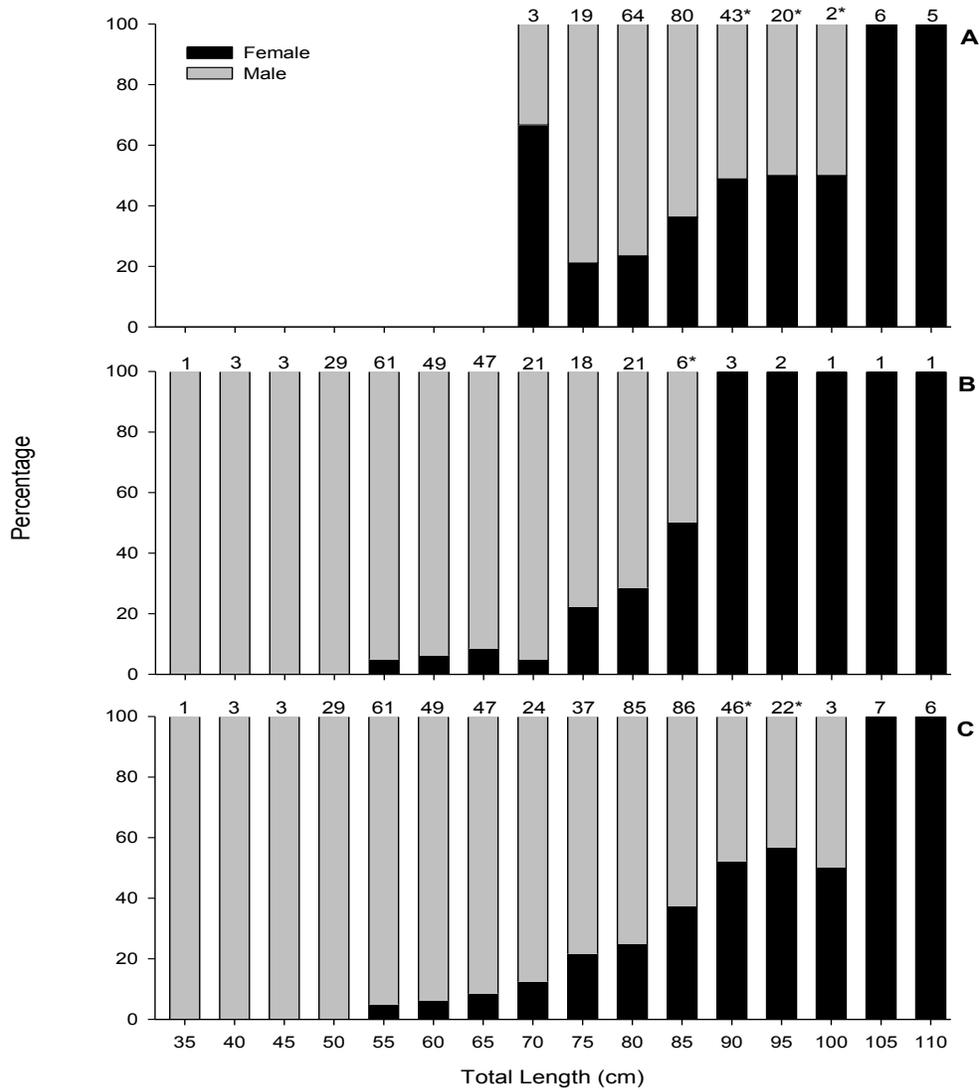


Figure 4. Monthly frequency distribution of macroscopic gonad stages of *C. undecimalis*. Males (A) and females (B) from marine area. Males (C) and females (D) from freshwater area. Stages: I *immature*, II *developing*, III *spawning capable* and IV *regressing*. The number on the bar corresponds to *n*.

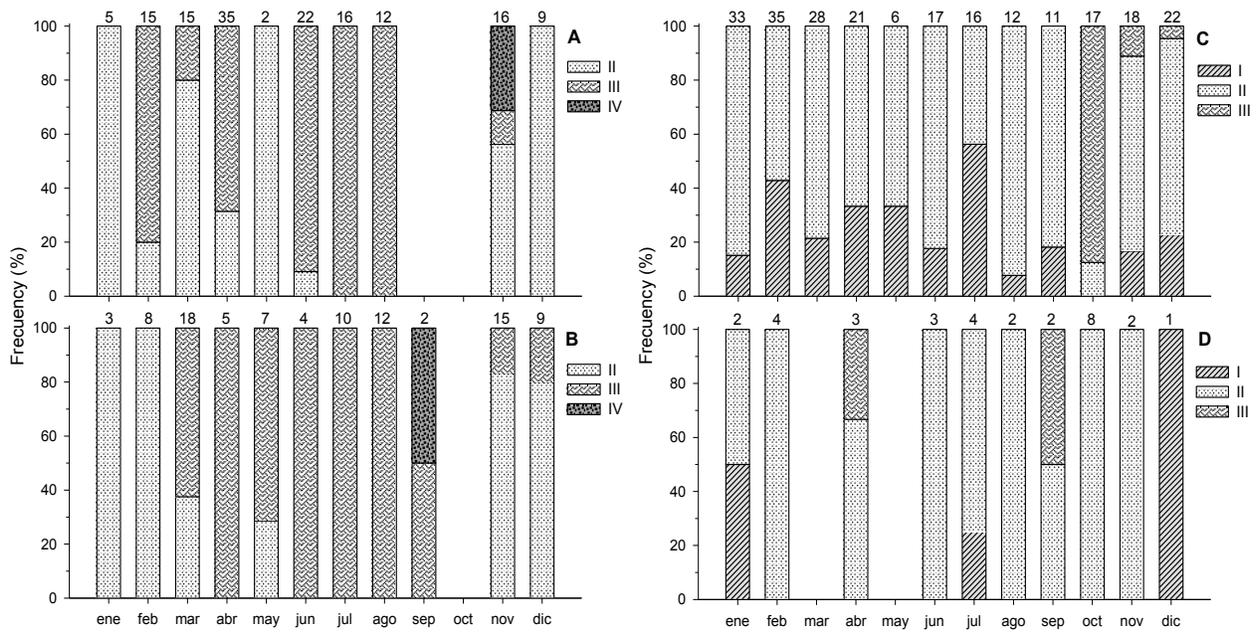


Figure 5. Monthly mean values for indexes for *C. undecimalis*. Fulton's condition (K_F), total condition (K_T) and gonadosomatic (I_G). Freshwater females (FWf), marine females (MAf), freshwater males (FWm), and marine males (MAm).

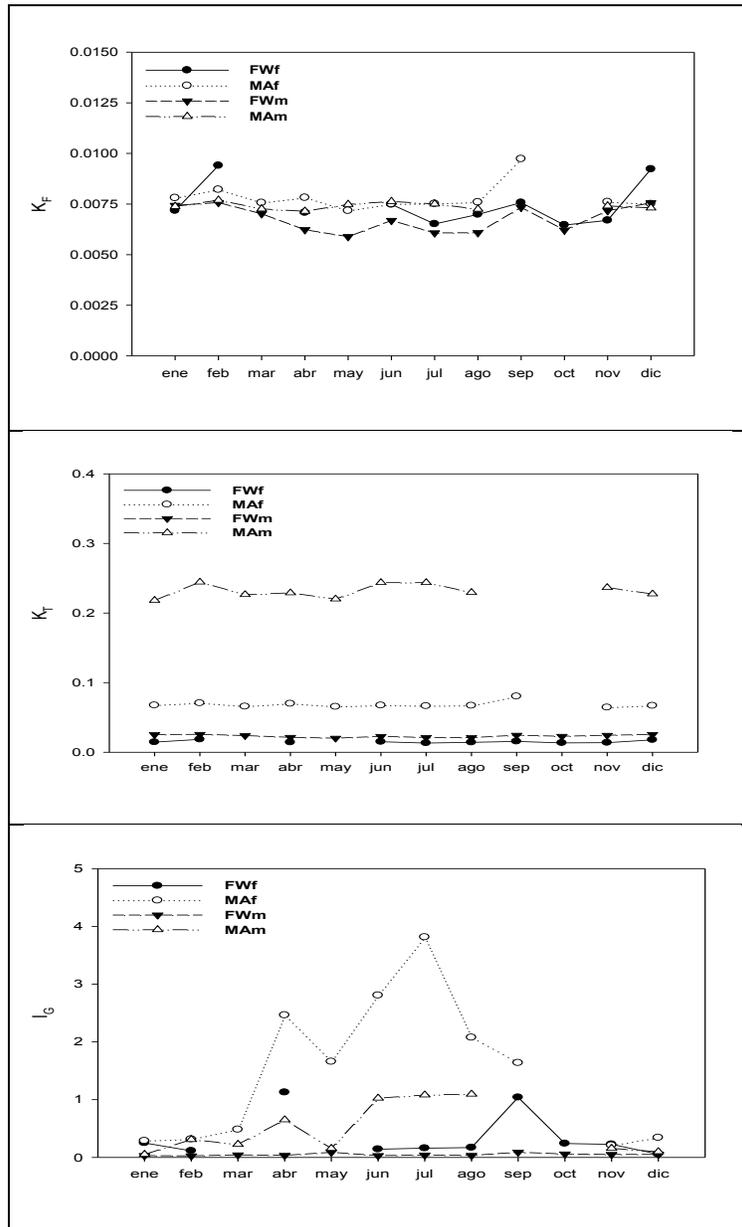


Table 1. Monthly average of physicochemical parameters in marine (MA) and freshwater (FW) environments interconnected. Temperature (T), dissolved oxygen (DO), salinity (S), electric conductivity (EC) and total dissolved solid (TDS).

Month	T(°C)		DO(mg/L)		S(ups)		EC(mS/cm ²)		TDS(g/L)	
	MA	FW	MA	FW	MA	FW	MA	FW	MA	FW
Jan	24.0	26.4	6.3	5.45	34.2	< 2	48.7	1.11	24.4	0.56
Feb	25.1	25.8	6.4	6.03	33.7	< 2	49.2	1.10	24.6	0.55
Mar	24.8	28.4	6.5	7.97	35.1	< 2	48.6	1.25	24.3	0.62
Apr	27.0	28.2	5.6	6.45	34.2	< 2	43.8	0.90	21.3	0.44
May	28.9	30.1	5.0	6.64	34.5	< 2	52.2	1.25	22.6	0.59
Jun	26.6	32.3	5.8	5.47	34.0	< 2	50.2	1.42	25.1	0.60
Jul	28.6	30.4	6.3	3.81	32.5	< 2	42.0	1.00	20.7	0.50
Aug	27.2	30.7	6.5	3.78	32.9	< 2	51.1	0.75	25.7	0.37
Sep	29.4	30.3	5.7	4.10	31.9	< 2	48.6	0.73	24.3	0.21
Oct	27.5	28.0	5.9	4.43	24.0	< 2	32.8	0.72	16.4	0.36
Nov	26.4	26.9	5.5	4.74	33.6	< 2	46.9	0.72	23.5	0.36
Dec	24.7	22.6	4.8	5.88	33.7	< 2	46.9	0.90	23.4	0.45

CAPÍTULO IV

Fisiología reproductora del robalo común *Centropomus undecimalis* en ambientes contrastantes interconectados por el sistema fluvial Grijalva-Usumacinta

Ulises Hernández-Vidal, Xavier Chiappa-Carrara, Wilfrido Contreras-Sánchez,
María del Carmen Uribe A. y Arlette Hernandez Franyutti

Preparado para ser enviado a la revista *Biología Tropical*.

Resumen. *Centropomus undecimalis* es un pez eurihalino y migratorio de gran importancia en el sur del Golfo de México y otras zonas de la costa Atlántica donde se captura intensamente en ambientes marinos (AM) y dulceacuícolas (AD). Debido a que desconoce el efecto del ambiente de salinidad contrastante sobre su ciclo reproductor, se analizaron características reproductoras correspondientes a la fisiología hormonal e histología gonadal durante un ciclo anual en hábitats de AD y AM interconectados por el sistema del río Grijalva-Usumacinta. Se obtuvieron evidencias de que ambos sexos de este pez pueden alcanzar etapas avanzadas de la gametogénesis en AD aunque desovan en AM. El ciclo reproductor del robalo común muestra un patrón de tipo estacional al presentar periodos definidos por alta y baja actividad gametogénica y hormonal que permiten definir una fase reproductora y una no reproductora. Estas fases involucran un patrón similar entre los niveles de indicadores bioquímicos y morfológicos cuando se localizan tanto en AM y AD. El ciclo reproductor completo se observa en AM, mientras que en AD se presentan la mayor parte de las etapas con excepción de la ovulación y el desove. Estas características reproductoras representan para *C. undecimalis* una ventaja al hacer un uso estratégico de estos hábitats diferenciados por la salinidad sin repercutir en su desarrollo gonadal. Debido a que este estudio presenta información reproductora nueva dentro del contexto de las diferencias ambientales con información no conocida para esta especie en el AD, los resultados pueden ser considerados en el desarrollo del plan de manejo pesquero en la región y la modificación de la regulación existente que favorezca la permanencia del recurso considerando todo el ámbito de distribución.

INTRODUCCIÓN

El robalo común *C. undecimalis* es un pez con amplia capacidad eurihalina y conducta migratoria entre hábitats marinos, estuarinos y dulceacuícolas de la costa atlántica tropical del continente americano (Grier *et al.* 1985, Tucker *et al.* 1987, Tringali y Bert 1996, Taylor *et al.* 1998). *C. undecimalis* desova en el mar, en los estuarios y lagunas costeras. Las larvas alcanzan los ríos en los que se desarrollan desde la etapa juvenil y permanecen en ellos por tiempo indeterminado. Al ser una especie de alto valor económico su captura ocurre todo el año por parte de las pesquerías

artesanales establecidas en áreas fluviales y costeras; además de ser una especie valiosa para la pesca deportiva.

C. undecimalis es una especie que ha sido tradicionalmente estudiada en hábitat marino aún cuando es abundante en el dulceacuícola (Taylor *et al.* 1998, Huber 2007, Perera-García *et al.* 2011). Alcanza la madurez sexual a edad y tallas pequeñas con la condición de hermafroditismo protándrico por lo que alcanza la madurez sexual como macho y posteriormente ocurre la transformación a hembra (Taylor *et al.* 2000). Los desoves se presentan en la zona submareal a lo largo de las playas, en los estuarios y lagunas costeras durante los meses de primavera y verano en temperaturas entre 22 a 31° C y salinidades entre 28 y 35 (Grier *et al.* 1985, Tucker *et al.* 1987, Taylor *et al.* 1998). En la literatura no existen reportes de ocurrencia de desove en ambientes dulceacuícolas.

El ciclo testicular y el desarrollo gonadal de las hembras de la especie ha sido descrito ampliamente en el ambiente marino para organismos de las costas de Florida (Taylor *et al.* 1998, Neidig 2000). Las etapas de desarrollo, en términos generales se han dividido en: regresión avanzada (RA), madurez temprana (MT), madurez media (MM), madurez avanzada (MA) y regresión temprana (RT). En ambos sexos se reporta un incremento significativo en los niveles de las hormonas que controlan la reproducción a nivel bioquímico durante la estación reproductora. En machos, los andrógenos testosterona (T) y 11 cetotestosterona (11-KT), mientras que en las hembras el estrógeno 17 β estradiol (E₂) y fósforo de proteínas lábiles a álcali (FPLA) equivalente a vitelogenina (Vg), presentan incrementos en los niveles plasmáticos a partir de abril con su máximo en agosto, en coincidencia con los desoves (Roberts *et al.* 1999).

Grier *et al.* (1985) y Taylor *et al.* (1998) indican que la reproducción de esta especie en la región marina de la Florida presenta un patrón temporal que varía de acuerdo con la zona geográfica específica. Esta condición de regionalización está relacionada con las particularidades del ambiente que rigen las variaciones espacio-temporales del ciclo reproductor. Estas diferencias entre los grupos de peces localizados en la región Atlántica y los del norte del Golfo de México concuerdan con las diferencias a nivel genético entre los peces de ambas localidades (Tringali *et al.*, 2008).

En México, *C. undecimalis* se considera como un recurso pesquero en explotación máxima en la principal área de aprovechamiento ubicada en el golfo de México. La falta de regulación de las capturas y el incremento en el esfuerzo pesquero durante la temporada de desoves en el mar y las migraciones desde los ríos parecen incrementar su vulnerabilidad. Debido a la importancia económica del recurso y las características del régimen de explotación, existe amplio interés por comprender los procesos fisiológicos del ciclo reproductor que ocurren en los hábitat contrastantes en los que se encuentra esta especie ya que el análisis de esta información incidirá en el desarrollo de estrategias de aprovechamiento y conservación en condición silvestre y cautiverio.

En el sur del Golfo de México, tanto en los hábitat marino como dulceacuícola se capturan ejemplares de robalo común de ambos sexos con peso, talla y edad reproductora. La presencia de adultos a lo largo del año en ambientes dulceacuícolas ubicados a más de 300 km del mar representa una incógnita importante en relación a los procesos fisiológicos que regulan el ciclo reproductor, ya que esta información es limitada a los datos obtenidos en el ambiente marino. La información reportada en ambiente dulceacuícola indica que solo se pueden alcanzar etapas de madurez macroscópica temprana y no hay evidencia de desoves (Chávez-Lomelí *et al.* 1989, Perera-García *et al.* 2008, 2011, 2013). Estas observaciones sugieren que existen limitaciones para el desove ocurra en condiciones agua dulce. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo es establecer las características del ciclo reproductor a nivel gametogénico y hormonal en ejemplares de *C. undecimalis* capturados en ambientes contrastantes, dominados por características dulceacuícolas y marinas, que se encuentran interconectados por el sistema fluvial Grijalva-Usumacinta.

MÉTODOS

Área de estudio y caracterización ambiental. Para este estudio, se seleccionaron dos sitios en los que se explota comercialmente el robalo blanco *C. undecimalis* en el estado de Tabasco, México (Fig. 1. Cap. I). Uno se ubicada en la zona costera y se denomina aquí *ambiente marino* (AM), y otro se encuentra sobre el cauce principal del río San Pedro, tributario del río Grijalva-

Usumacinta, denominado *ambiente dulceacuícola* (AD). Las localidades de captura están separadas por una distancia aproximada de 300 km. En cada sitio, se determinó la posición geográfica con un GPS (Garmin™) y la profundidad con una ecosonda (NorCross Marine Products, Inc. USA). Para determinar los parámetros fisicoquímicos se recolectaron muestras de agua en la superficie, a profundidad media y del fondo con una botella van Dorn (Wild Co., USA). Se obtuvo la concentración de oxígeno disuelto (OD) y la temperatura (T) con un oxímetro de campo (YSI modelo 95), la salinidad (S), conductividad eléctrica (CE) y sólidos disueltos totales (SDT) con un conductímetro (HI9835 Hanna Instruments).

Material biológico. Entre abril 2010 y marzo 2011 fueron recolectados 507 ejemplares en los dos ambientes. La recolecta de los peces se realizó empleando redes agalleras con luz de malla de 3 a 6 pulgadas. De cada ejemplar se registraron la longitud total (TL, mm \pm 1.0), longitud estándar (SL, mm \pm 1.0) y peso total (PT, g \pm 1.0). Los peces fueron inmovilizados y se obtuvieron muestras sanguíneas mediante punción de la vena caudal con una jeringa estéril. Cada muestra fue transferida a un tubo estéril, mantenida en hielo durante las actividades en campo y refrigerada durante la noche para coagulación. El suero se obtuvo por centrifugación a 2500 g y las alícuotas obtenidas fueron mantenidas en nitrógeno líquido (-196°C) hasta su análisis. Los peces fueron sacrificados y las gónadas extraídas, medidas y fijadas en solución de Bouin por 24-48 h, posteriormente fueron conservadas en alcohol etílico al 70% hasta su procesamiento histológico.

Estradiol y hormonas tiroideas. Las concentraciones en suero de esteroides y hormonas tiroideas en ambos sexos fueron determinadas mediante el método de ELISA, empleándose pruebas comerciales. La curva estándar para 17 β estradiol (E₂) se construyó en el intervalo de concentración de 19 a 129 pg/mL y para la 11 cetotestosterona (11 KT) de 1.3 a 5 pg/mL (Cayman Chemicals, USA). Los niveles de detección para T₃ fueron entre 0 o no detectable (ND) a 18 pg/mL y para T₄ entre 0-7.7 ng/mL (Mexlab, México).

Fósforo de proteínas lábiles a álcali (FPLA). La concentración sérica de FPLA fue medida con la técnica propuesta por Hallgren *et al.* (2009), ajustada para pequeños volúmenes. Las concentraciones fueron determinadas en todas la hembras. En los machos una muestra mensual

fue empleada como control debido a que esta proteína se mantiene en concentración basal (Roberts *et al.* 1999).

Histología gonadal y análisis microscópico. Las gónadas fijadas fueron procesadas mediante la técnica histológica convencional, y preparadas en cortes de 5 μm para el análisis microscópico. Las etapas de desarrollo del epitelio germinal testicular y del ciclo ovárico fueron asignadas de acuerdo a la caracterización y nomenclatura reciente para *C. undecimalis* y otras especies marinas. En todos los casos se consideró la etapa o clase más avanzada (Taylor *et al.* 1998, Grier *et al.* 2009, Grier y Uribe 2009, Grier 2012).

Análisis de datos. Las concentraciones séricas de esteroides, hormonas tiroideas y FPLA, así como las frecuencias de ocurrencia de las etapas del ciclo reproductor a nivel microscópico, fueron graficadas para mostrar las fluctuaciones temporales que presentan los individuos de cada sexo, en cada ambiente. Se calculó el volumen gonadal G_v de cada ejemplar de acuerdo a lo propuesto por Hernández-Franyutti y Uribe (2012). Las concentraciones promedio de E_2 , 11-KT y FPLA, agrupadas por las etapas de madurez microscópica, fueron comparadas mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov (KS) y Kruskal Wallis (KW). En todas las pruebas estadísticas se emplearon niveles de significancia menores a 0.05

RESULTADOS

Indicadores bioquímicos

A nivel general, los niveles de esteroides sexuales y FPLA mostraron un periodo de concentración mensual elevada y otro de concentraciones bajas durante el año que sugieren un comportamiento estacional. La concentración de esteroides en ambos sexos y ambientes incrementó a partir de abril, alcanzando los niveles más altos entre agosto y septiembre. En los peces del AM los valores fueron mayores a los del AD (Fig 1. A-B). La similitud en el comportamiento de las concentraciones de estos indicadores bioquímicos entre sexos y ambientes sugiere sincronización en la fisiología reproductora. Las hormonas tiroideas mostraron amplia variación sin tendencia clara durante el año como se observó en los otros indicadores.

Esteroides. El nivel de E₂ en las hembras provenientes de ambos ambientes mostró diferencia significativa durante el año (KW P<0.05). Incrementó significativamente a partir de abril y alcanzó su máximo en septiembre con 1.1 y 0.85 ng/mL para AM y AD respectivamente, mientras que de octubre a marzo se mantuvieron concentraciones basales alrededor de 0.1 ng/mL (Fig. 1A). Las concentraciones de 11-KT mostraron un comportamiento similar al observado en el E₂ de las hembras, mostrando diferencias significativas en ambos ambientes durante el año (KW P<0.05), incrementando el nivel en abril y alcanzando el máximo en agosto en el AM (9.5 ng/mL); mientras que en el AD este incremento se observó un mes más tarde, alcanzando el máximo en septiembre con 3.6 ng/mL.

FPLA. La concentración de FPLA en hembras del AM muestra diferencias durante el año, con dos periodos de incremento (Fig. 1A, KW P<0.05). Estos corresponden a los meses de abril a mayo y de agosto a septiembre, alcanzando el valor máximo en este último periodo con 83 µg de PO₄/mL de suero. Debido al reducido número de hembras en el AD, no se logró definir la fluctuación en la concentración para este ambiente; sin embargo, en el caso de las hembras con desarrollo avanzado de madurez de este ambiente, el nivel fue equiparable al observado en AM para hembras de la misma etapa.

Hormonas tiroideas. Las hormonas tiroideas muestran en general una fluctuación similar entre ambientes y sexos, no mostraron diferencia significativa a lo largo del año (KW P<0.05). La fluctuación en la T₃ en machos muestra ligero incremento en los peces del AM en abril y mayo, mientras que el resto del año la oscilación es similar entre ambientes (Fig. 3A); sin embargo, en las hembras no mostró alguna tendencia entre ambientes durante el año (Fig. 3B). La T₄ en ambos sexos mostró un patrón general similar entre ambientes; sin embargo, en las hembras del AM se observan algunos valores elevados hacia el final del año respecto al AD (Fig. 4).

Análisis microscópico

La frecuencia de los estadios de la gametogénesis a nivel microscópico durante el ciclo reproductor y los valores de Gv de ambos sexos entre los ambientes sugieren estacionalidad de *C. undecimalis*. Esta comprende dos periodos; una *fase no reproductora* con alta frecuencia de etapas tempranas del ciclo y caracterizada por abundancia de estadios iniciales de la

gametogénesis que implican la proliferación y crecimiento inicial del tejido ovárico y testicular de octubre a febrero con valores bajos en *Gv*; y otra denominada *fase reproductora*, que comprende etapas avanzadas del ciclo con gametogénesis desarrollada y valores elevados de *Gv* durante los meses de marzo a septiembre (Fig. 4-5). Este patrón se observa con más claridad en AM donde ambos sexos mostraron mayor frecuencia de etapas avanzadas del ciclo reproductor y gónadas de mayor tamaño durante el año. Etapas tempranas del ciclo y gónadas pequeñas fueron más frecuentes en AD, sugiriendo que los adultos jóvenes se localizan en este ambiente. De la totalidad de machos analizados en ambos ambientes, 11.3% mostraron algún grado de transformación de testículo en ovario, esta condición de cambio de sexo se caracterizó por la presencia de un número variable de ovocitos ubicados distalmente dentro de los lóbulos testiculares.

Hembras. El ciclo reproductor presenta tres etapas de acuerdo al máximo desarrollo observado en los folículos ováricos: previtelogénesis (PV, Fig. 7), vitelogénesis (VT, Fig. 8) y, maduración y desove (MD, Fig. 9). Durante estas etapas se observaron diversos estadios de la ovogénesis que corresponden a crecimiento primario (PG) tales como: múltiples nucléolos (PGmn), nucléolos periféricos (PGpn) y vesículas lipídicas (PGod); del crecimiento secundario (SG): temprano (SGe), tardío (SGI) y crecimiento completo (SGfg); mientras que de la maduración ovocitaria (OM): vesícula germinal excéntrica (OMegv) y vesícula germinal migrando (OMgvm). En el AM, durante los meses de noviembre a mayo, se presentó mayor frecuencia de la etapa de previtelogénesis. Este periodo corresponde a la estación no reproductora. Esta etapa de previtelogénesis se caracteriza por la mayor frecuencia del estadio PGmn de noviembre a diciembre y los estadios PGpn y PGod de noviembre a mayo. El valor promedio mensual de *Gv* oscila de 85.7 a 190.9 mm³. Los meses de abril a mayo corresponden a un periodo de transición entre la estación no reproductora y reproductora donde aparecen conjuntamente ejemplares en previtelogénesis y vitelogénesis. Se observa un cambio significativo en el valor de *Gv* que pasa de las oscilaciones basales durante la estación no reproductora, al máximo observado durante la estación reproductora (KW $P < 0.05$). Durante la estación reproductora se observan tanto la etapa de vitelogénesis con estadios del SG que son más frecuentes de febrero a septiembre y peces en la etapa de maduración y desove que de abril a agosto con la presencia de estadios del OM y folículos post-ovulatorios (POF). El *Gv* durante este periodo alcanza el valor promedio máximo

en abril con 643.2 mm^3 y posteriormente oscila de 378.1 a 479.8 mm^3 (Fig. 4). Durante la vitelogénesis los estadios SGe y SGI son más frecuentes al inicio y SGfg hacia el final de la etapa. En la etapa de maduración y desove, los estadios OMegv y OMgvm se presentan entre junio y agosto. Ejemplares con presencia simultánea de los estadios SG, OM y POF ocurren entre mayo y agosto, mostrando tendencia a incrementar la frecuencia de hembras con POF y del número de POF dentro de las gónadas conforme avanza la temporada. En AD en general, hay coincidencia en la temporalidad respecto al AM pero con un número reducido de hembras que se encuentran en su mayoría en etapa previtelogénica con los estadios PGmn y PGpn durante el año. Aunque en AD se encontraron hembras vitelogénicas en estadios SGe y SGfg en abril y septiembre que coinciden con la estación reproductora en AM; no se observó la etapa de maduración y desove pues no se registró algún ejemplar en estadio OM o la presencia de POF. Los valores de Gv se mantuvieron generalmente bajos durante el año; sin embargo, se observaron repuntes significativos en los meses de enero, abril y septiembre (Fig 4; KW $P < 0.05$).

Machos. El ciclo testicular de *C. undecimalis* presenta cinco etapas definidas principalmente por la frecuencia de estadios de la espermatogénesis observados y las características morfológicas del epitelio germinal: regresión avanzada (RA, Fig. 10), madurez temprana (MT, Fig. 11), madurez media (MM, Fig. 12), madurez avanzada (MA, Fig. 13) y regresión temprana (RT, Fig. 14). Al igual que en las hembras, los machos presentan un comportamiento estacional que caracteriza la estación reproductora y no reproductora. En el AM se observaron frecuentemente etapas avanzadas del ciclo con gónadas de gran tamaño y en AD, predominio de etapas tempranas con gónadas generalmente pequeñas (Fig. 5). Los individuos capturados en el AM presentaron gónadas en etapas avanzadas durante el año, pero las consideradas de mayor actividad reproductora y desove correspondientes a MM y MA fueron más frecuentes de marzo a agosto que se puede considerar la estación reproductora. Durante este periodo se observaron los valores promedio más altos de Gv del año, con picos en abril y julio con 267.7 y 436.0 mm^3 respectivamente (KW $P < 0.05$). De noviembre a febrero se observó transición entre las etapas MA, RT y MT indicando hacia fin de año disminución de la actividad reproductiva y su reactivación en febrero. Los valores de Gv en este periodo oscilaron de 42.1 a 118.5 mm^3 . Los machos del AD mostraron en general un comportamiento similar, con un periodo, entre abril y octubre, en el que se presentan con frecuencias altas las etapas avanzadas de madurez (MM y

MA). En cambio, de noviembre a marzo predominan las etapas tempranas de desarrollo gonádico (RT y MT). Las etapas de RT y RA fueron observadas con alta frecuencia durante el año. Aunque en este ambiente los valores promedio mensuales de G_v fueron reducidos durante el año, se observaron dos repuntes que corresponden a los máximos, uno en julio (23.9 mm^3) y otro en octubre (26.9 mm^3) que muestran diferencia significativa respecto al resto de valores mensuales (KW $P < 0.05$).

Transición sexual. Del total de organismos analizados histológicamente para ambos ambientes, el 11.3% de los ejemplares (41) correspondió a machos en transición sexual. Estos organismos presentaron un intervalo de talla de 51 a 96 cm LT ($n=343$). Los ovocitos se encontraron en número variable, ubicados generalmente en la región distal de los lóbulos testiculares (Fig. 15). En el AM se localizaron 28 de 129 organismos (el 21.7%) en transición, mismos que presentaron un intervalo de talla de 75 a 96 cm LT. La mayor frecuencia de aparición ocurrió en noviembre. En el AD se observaron 12 de 214 individuos (el 5.6%), con tallas entre 59 y 89 cm LT, en transición. Las mayores frecuencias se obtuvieron en octubre, noviembre y enero. En ambos ambientes los ejemplares con algún grado de transición se encontraron con la frecuencia más alta en las etapas MA y MM.

Análisis morfofisiológico. El análisis de las concentraciones de indicadores bioquímicos mostró en general diferencia significativas entre las etapas del ciclo reproductor entre individuos de ambos ambientes (KW $P < 0.05$). Este comportamiento es consistente respecto a las concentraciones de E_2 , FPLA y 11 KT que suelen incrementar durante la fase reproductora que corresponde a estadios avanzados de la gametogénesis y muestran valores más bajos durante la fase no reproductora con etapas consideradas como tempranas del ciclo y estadios iniciales de la gametogénesis (Fig. 6, KW $P < 0.05$). Las hormonas tiroideas no mostraron diferencias significativas entre etapas del ciclo reproductor para ambos sexos y ambientes (KW $P > 0.05$). Las hembras mostraron niveles de estradiol en concentraciones basales en la etapa PG y los valores más altos durante el SG, este valor disminuye durante la etapa OM ($P < 0.05$). Los niveles de FPLA no mostraron diferencia significativa respecto a los estadios de la ovogénesis (KW $P < 0.05$), pero sí en relación a la etapa del ciclo reproductor. Los machos de ambos ambientes muestran concentraciones menores de 11 KT durante las etapas tempranas RT y RA, que se

incrementan significativamente durante MM y MA (KW $P < 0.05$). De forma particular en el AM la concentración se incrementa durante MM y disminuye en la etapa MA, mientras que en AD la concentración de 11 KT continúa basal durante MM con un incremento significativo durante la etapa MA.

Los parámetros fisicoquímicos mostraron una variación estacional. Los valores de temperatura mínimos oscilaron entre 24 a 25 °C a inicio y fin del año, mientras que los valores máximos entre julio y septiembre oscilando entre 28 y 29 °C. La S, CE y SDT variaron en relación a la época de lluvias y sequía; los valores mínimos se observaron durante los meses lluviosos, mientras que los máximos durante los meses secos y calurosos. En AM la salinidad máxima se observó en marzo (37 UPS) y la mínima en octubre (24 UPS). En el AD la salinidad no rebasó 2 UPS durante el año. La CE y SDT en AM presentaron el valor mínimo en octubre (32.8 mS/cm², 16.4 g/L) y el máximo en agosto (51.1 mS/cm², 25.1 g/L). La concentración de oxígeno disuelto varió en función a la profundidad con una tendencia a presentar valores menores cerca del fondo; la en AM osciló de 4.8 a 6.5 mg/L y en AD de 3.7 a 7.9 mg/L.

DISCUSIÓN

Este estudio aporta nueva información a la biología de *C. undecimalis* puesto que, por primera vez, se describen las características del ciclo reproductor en AD y se aportan evidencias de que este pez puede alcanzar etapas avanzadas de la gametogénesis en agua dulce, aunque el desove ocurre en el mar. Esta información no ha sido previamente reportada por lo que contribuye a entender las diferentes etapas por las que atraviesa el desarrollo gonadal de esta especie y las ventajas que representa poder utilizar ambientes con salinidades contrastantes a lo largo del ciclo de vida.

Los estudios sobre el robalo común indican que es un pez marino con capacidad de incursionar AD con propósito de refugio y alimentación (Adams *et al.* 2006, Brennan *et al.* 2008, Milton 2009). Previamente, se había descrito que esta especie alcanza un desarrollo gonádico incipiente en agua dulce (Chávez-Lomelí *et al.* 1989, Perera-García *et al.* 2008, 2011). En contraste, los datos obtenidos en este trabajo indican que esta especie alcanza etapas avanzadas de desarrollo

gonadal en AD, con excepción del desove. El patrón del ciclo reproductor en AM se considera como un referente para la especie (Grier *et al.* 1985, Tucker *et al.* 1987, Taylor *et al.* 1998, Roberts *et al.* 1999, Perera-García *et al.* 2011, Andrade *et al.* 2013); sin embargo, nuestros resultados indican la presencia de un patrón similar en AD. Estas características reproductoras representan para *C. undecimalis* una ventaja dado que puede hacer uso de hábitats diferenciados por la salinidad sin repercutir negativamente en su desarrollo gonadal. Los datos obtenidos permiten sugerir que la salinidad actúa como factor *determinante* para el desove y no como un *condicionante* de la ocurrencia de las fases previas a este evento (Redding y Patiño 1993, Patiño 1997). Esto significa que la salinidad podría estar condicionando de forma específica la ocurrencia de la etapa de ovulación y desove en el AM; obedeciendo a alguna demanda fisiológica para la maduración final de gametos y su activación o la supervivencia de embriones y su eclosión (Coward *et al.* 2002). Lo anterior, en parte, podría explicar la ausencia de ejemplares en zonas de captura del AM durante los muestreos al final del periodo de desoves cuando se presentaron bajas salinidades en la zona costera. Durante esos momentos, los peces podrían estar alejados de la costa buscando condiciones favorables para el desove, mismas que no se logran en el área muestreada debido al efecto diluyente de la descarga dulceacuícola del sistema Grijalva-Usumacinta (Milton 2009).

A pesar de las limitantes ambientales para que ocurra el desove, las larvas de la familia Centropomidae muestran una fuerte actividad migratoria conforme crecen, incursionando rápidamente hacia ambientes estuarinos (McMichel *et al.* 1989). En nuestro laboratorio, las crías de *C. undecimalis* y *C. poeyi* despliegan una intensa actividad natatoria de forma circular en los tanques de larvicultura a partir del día 30 post-eclosión a 28 °C (datos no publicados). Este patrón conductual parece reflejar el tiempo en el cual las crías inician su migración hacia lagunas costeras y estuarios. A partir de ese momento, los peces soportan concentraciones de salinidad hasta de 15 UPS en un breve periodo de tiempo. Esto coincide con pruebas experimentales en *C. parallelus* en las que las larvas también toleran variaciones en la salinidad hasta niveles de 15 UPS (Araujo y Cerqueira 2005).

El fotoperiodo, la temperatura y la salinidad son considerados factores ambientales importantes en el control del ciclo reproductor de peces mediante su acción sobre el sistema neuroendócrino

que controla el desarrollo gonadal y el desove (Redding y Patiño 1993). En este contexto, para un pez marino como *C. undecimalis*, se había sugerido que su permanencia en AD podría limitar el desarrollo del ciclo reproductor puesto que, en estudios previos en la misma localidad del AD, sólo se habían obtenido peces con gónadas en los primeros estadios de desarrollo (Perera-García *et al.* 2011). Sin embargo, dicha hipótesis se descarta con las evidencias de este trabajo en el que se muestra la presencia inequívoca de peces de ambos sexos en el AD con características morfofisiológicas indicativas de estadios avanzados de maduración gonadal. La coincidencia en estadios de desarrollo gonádico en AM y AD observados en el presente estudio involucra etapas de gametogénesis descritas previamente en estudios realizados en AM (Taylor *et al.* 1998). Por lo tanto, se puede deducir que el proceso de transducción neuroendócrina que gobierna el desarrollo gonadal en *C. undecimalis*, no se altera en función del ambiente donde se localicen los peces. Esta transducción se refleja en la similitud del patrón del desarrollo gonádico y concentración de esteroides sexuales entre ambientes. Los desfases temporales que se presentan en los indicadores analizados entre ambientes como en 11 KT, E₂ y frecuencias de etapas del ciclo reproductor pueden obedecer a cambios locales de la temperatura, la edad de los peces muestreados y el tamaño de muestra, entre otros. Al respecto, Roberts *et al.* (1999) en un estudio sobre reproducción de *C. undecimalis* en la costa de Florida, observaron un atraso de un mes en el repunte de la concentración de hormonas reproductivas, entre el primer y segundo año de dicho estudio. Esta situación es atribuida a la variación anual de la temperatura superficial del mar en la región de estudio.

El análisis de las características histológicas y fisiológicas de los peces de ambos sexos y ambientes durante el año sugieren que el ciclo reproductor del robalo común muestra un patrón de tipo estacional al presentar periodos definidos por alta y baja actividad gametogénica y hormonal (Adebisi *et al.* 2013). Este patrón en el ciclo estacional de *C. undecimalis* comprende una fase no reproductora, que implica la disminución de la actividad gametogénica de octubre a febrero y una fase reproductora que se caracteriza por el incremento en la actividad gonádica y la ocurrencia de desoves entre marzo y septiembre.

La fase no reproductora de *C. undecimalis*, coincide con meses de baja temperatura en ambos ambientes. Esta fase es evidenciada por un incremento en la frecuencia de etapas tempranas del

ciclo gonádico en ambos sexos, bajo valor de G_v y bajas concentraciones de E_2 y 11 KT. Estas características son más frecuentes cuando hay bajas concentraciones de esteroides sexuales y equivalen en diversas especies de peces a las etapas tempranas del ciclo reproductor observadas en *C. undecimalis* como la previtelogénesis en hembras y RA-RT-MT en los machos (Adebiyi *et al.* 2013). Los niveles basales de esteroides sexuales durante esta fase, han sido ampliamente relacionados con la disminución de temperatura ambiental en peces tropicales mediante la regulación neuroendocrina donde participan conjuntamente el hipotálamo, la hipófisis y la gónada. La regulación genera bajos niveles de GnRH y una producción diferencial de gonadotropinas con una mayor actividad de la GtH I (FSH) (Redding y Patiño 1993, Rosenfeld *et al.* 2007, Bobe *et al.* 2008, Planas y Swanson 2008). En las hembras, durante la previtelogénesis el incremento en tamaño del ovario está determinado básicamente por procesos de división celular, síntesis y acumulación de ARN y enzimas que en conjunto aportan poco incremento en el peso estructural pero son fundamentales al preceder la etapa de vitelogénesis (Mylonas *et al.* 1997, Rosenfeld *et al.* 2007, Bobe *et al.* 2008, Grier 2012); mientras que en los machos estas etapas tempranas preceden a procesos de proliferación y división celular para la formación de espermatozoides para la temporada reproductora (Miura y Miura 2001, Schultz *et al.* 2010).

La fase reproductora de *C. undecimalis* coincide con el incremento en la temperatura ambiental y se caracteriza por incremento en el G_v , mayor frecuencia de etapas avanzadas del ciclo reproductor e incremento en las concentraciones de esteroides sexuales (E_2 y 11 KT) y FPLA en ambos sexos (Adebiyi *et al.* 2013). En los peces, esta fase se relaciona con el incremento paulatino en la síntesis de GnRH y la consecuente producción de GtH II (LH). El incremento en la concentración de LH conduce a la síntesis de esteroides sexuales en la gónada y la gametogénesis hacia etapas avanzadas que culminan en el desove (Sundararaj *et al.* 1982, Nagahama 1983, 1990, Nagahama *et al.* 1993, Planas y Swanson 2008, Urbatzka *et al.* 2011). El aumento de gonadotropinas en la fase reproductora de las hembras de *C. undecimalis* se refleja en el incremento en la concentración sérica de E_2 que promueve la producción de vitelogenina (FPLA) a nivel hepático y favorece la aparición de estadios SG de la ovogénesis durante el periodo de vitelogénesis del ciclo (Tyler *et al.* 1982). Esta acumulación de vitelo incrementa los valores de G_v observados a partir de marzo. Por otra parte, de mayo a agosto se observan estadios OM de la ovogénesis que coinciden con valores elevados de los parámetros bioquímicos y la

presencia de POF en el ovario. Estas características en conjunto, representan el periodo de maduración y desove del ciclo en AM. Los estadios del OM indican que los ovocitos se aproximan a la ovulación, mientras que los folículos post-ovulatorios son indicadores de que ha ocurrido ovulación previa (Patiño y Thomas 1990, Mylonas *et al.* 1997, Patiño *et al.* 2003). Los POF observados al mismo tiempo que estadios del SG caracterizan a especies con desoves múltiples durante la misma estación reproductora como es el caso del robalo común y que se muestra en las variaciones en el Gv durante el periodo de desoves observado en nuestro estudio (Grier 2000, 2012). Septiembre parece ser el periodo de transición hacia el final de la fase reproductora ante la ausencia de los estadios OM, POF y la disminución del Gv . Estos resultados coinciden con el patrón observado en *C. undecimalis* en la costa de Florida por Roberts *et al.* (1999). La presencia de hembras en AM en estadios del SG y alta concentración de E_2 y FPLA en nuestro estudio, podría indicar ovocitos remanentes en vitelogénesis o hembras incorporándose de forma tardía al desove en AM. Sin embargo, ante el limitado número de hembras capturadas en AM ese mes y la ausencia de capturas en octubre no permite generar argumentos contundentes sobre ese posible patrón. En AD se obtuvo un número pequeño de hembras -condición habitual para este tipo de ambiente (Perera-García *et al.* 2008, 2011); el hecho de observar un 9.7% de las hembras en el sistema dulceacuícola en vitelogénesis es una condición sin precedentes. Las hembras del AD presentaron un patrón temporal en las concentraciones de esteroides sexuales parecido al AM; asimismo, se observaron hembras en el estadio SG de la ovogénesis al mismo tiempo en ambos ambientes, lo que sugiere que el ciclo reproductor está sincronizado en ambos ambientes. De esta forma, los organismos son capaces de desovar al mismo tiempo independientemente del sitio en el que se desarrollan sus gónadas.

La fase reproductora de los machos de *C. undecimalis* coincide en el comportamiento sincronizado observado en las hembras, con mayor frecuencia de etapas avanzadas del ciclo testicular, incremento en la concentración de 11 KT y en los valores promedio de Gv de marzo a agosto. Esta fase en los peces es regulada por la acción de las gonadotropinas, promoviendo el desarrollo de las células germinales, de soporte y la producción de andrógenos que inciden en la maduración de espermatozoides, así como el incremento en la masa testicular, tal y como se observa en nuestro estudio (Roberts *et al.* 1999). Si bien, los machos del AM presentaron gónadas de mayor tamaño en comparación con los del AD, la presencia de etapas avanzadas del

ciclo testicular y espermatozoides maduros en AD sugiere que estos ejemplares corresponden a machos jóvenes que se encuentran en sus primeros ciclos de maduración, al presentar las menores tallas entre los ejemplares capturados durante el estudio. Estos machos maduros en AD representan una incógnita en relación al grado de participación en los desoves debido a su bajo G_v que implica un aporte reducido de gametos en los desove. Taylor *et al.* (2000) han reportado una situación similar para esta especie, con machos de hasta 12.4 cm en áreas de desoves en la Florida.

El estadio OM y los POF sólo se observaron en ovarios provenientes del AM. La ausencia de estas características en AD sugiere que no ocurren desoves en este ambiente. Sin embargo, el reducido número de hembras capturadas en AD no permite explorar etapas del ciclo reproductor más avanzadas que sí pudieron ser observadas en los machos jóvenes provenientes del AD. En este contexto, existen algunas explicaciones plausibles como la posibilidad de que ocurra una migración de *C. undecimalis* con fines reproductores; ésta es una posibilidad que se sustenta en la capacidad migratoria de esta especie y en la similitud que existe a nivel genético entre los ejemplares de estas localidades distantes (Huber 2007, Hernandez-Vidal *et al.* 2014), al igual que la posibilidad de evasión de desoves observadas en otras localidades (Trotter *et al.* 2012). Esto implica que los peces maduros podrían migrar entre ambientes para completar el ciclo reproductor, participando en los desoves a lo largo de la fase reproductora como ocurre en diversas especies de peces (Carmichael *et al.* 1998, Peres and Klippel 2003, Jørgensen *et al.* 2008); o bien, mantenerse en el AD por tiempo desconocido, sin participar en los desoves en AM como ocurre en *C. undecimalis* en la Florida, donde se ha observado que hasta un 40% de los peces no participan en la migración anual reproductiva (Trotter *et al.* 2012).

Las concentraciones de hormonas tiroideas se han sido consideradas como indicadoras de la migración en peces (Kitani *et al.* 2003, Blanton y Specker 2007). En el presente trabajo intentamos determinar si los organismos presentes en AD durante la temporada de desove mostraban patrones de variación en T_3 y T_4 indicativos de migraciones. Sin embargo, los niveles medidos para estas hormonas no aportan información que permita generar inferencias sobre este comportamiento en *C. undecimalis*. En los salmónidos y otros teleósteos se ha encontrado una relación y tendencia a incrementarse concomitante entre GnRH, esteroides y hormonas

tiroideas. En el caso de hormonas tiroideas incrementan conforme se acerca la temporada de migraciones y posteriormente bajan cuando el proceso se completa. Este comportamiento se ha observado en especies migratorias como *Oncorhynchus nerka* y *O. keta* (Kitani *et al.* 2003), en *Acipenser gueldenstadtii* (Barannikova *et al.* 2003) y en *Acipenser stellatus* (Ceapa *et al.* 2002). Conforme a lo observado en *C. undecimalis*, será necesario realizar estudios de marcaje y seguimiento migratorio o bien explorar otros indicadores bioquímicos que pueda aportar información precisa en relación a estas alternativas. Algunos de estos indicadores pueden ser hormonas como la prolactina, del crecimiento y el cortisol que juegan un papel importante en el balance hídrico mediante acción de diversos órganos en el proceso de adaptación a distintas condiciones osmóticas (Mancera y McCormick 1999, McCormick 2001).

La presencia de individuos en transición sexual de macho a hembra es una condición característica del hermafroditismo protándrico de *C. undecimalis*. En este estudio, la evidencia de transición ocurre al inicio de la fase no reproductora y en un intervalo de talla amplio con individuos en etapas avanzadas del ciclo testicular tal como lo observaron Taylor *et al.* (2000) en la costa de Florida. Lo anterior sugiere que el proceso podría completarse antes de que inicie la siguiente fase reproductora anual como lo propone Taylor *et al.* (2000), cuando el tejido testicular se reduce debido a la presencia de estadios tempranos de la espermatogénesis y puede desarrollarse el tejido ovárico (Patzner 2008). Es posible suponer que los estrógenos conduzcan parte del proceso de feminización como se ha observado en diversas especies de peces (Kitano y Abe, 2008). Aunque no se analizó en estos individuos de forma particular el estradiol, las etapas de MM y MA donde son abundantes los estadios más avanzados de la espermatogénesis en *C. undecimalis* corresponden a altos niveles de 11 KT en nuestro estudio y el de Roberts *et al.* (1999), quienes encontraron altas concentraciones de testosterona en dichas etapas, que podrían sugerir un comportamiento similar a lo largo del sistema fluvial del Grijalva-Usumacinta. La mayor proporción de intersexos fue observada en AM, lo que sugiere que este tipo de ambiente podría favorecer la inversión sexual de macho a hembra. Al observarse ejemplares de mayor talla y peso en AM y en consecuencia de mayor edad (Perera-García *et al.* 2011), es posible que la transición también esté relacionada con la edad de los ejemplares. En contraste a este supuesto, Taylor *et al.* (2000) reportan en la costa de Florida un macho de 24 cm de longitud y un año de edad estimada con abundantes ovocitos, por lo que no se puede descartar el potencial efecto de la

estructura demográfica, las proporciones de sexo y las condiciones sociales presentes en la población de estudio sugerida por diversos autores (Candi *et al.* 2004; Brusléa, 1987).

Los resultados de este estudio aportan evidencia suficiente para afirmar que el ciclo reproductor de *C. undecimalis* en ambientes diferenciados por la salinidad presenta un patrón estacional con dos fases: la fase reproductora y la fase no reproductora. La primera parece que no se completa en AD, puesto que no se obtuvieron evidencias de desove (estadio OM y POF), mientras que la segunda ocurre en los dos ambientes. Estos hechos aportan nuevos conocimientos a la biología reproductora de *C. undecimalis* en AD y generan nuevas hipótesis sobre el papel que juegan los ambientes dulceacuícolas que, hasta ahora, sólo se consideraban importantes para la alimentación y refugio de etapas juveniles (Gilmore *et al.* 1983, Peters *et al.* 1998, Huber 2007, Perera-García *et al.* 2011).

Esta nueva información sobre la biología de la reproducción del robalo blanco en los hábitats dulceacuícolas debe ser considerada para desarrollar un plan de manejo de esta especie en la región y modificar la regulación existente para favorecer el flujo de individuos entre las localidades.

REFERENCIAS

Adams A, Wolfe RK, Barkowski N, Overcash D. 2009. Fidelity to spawning grounds by a catadromous fish, *Centropomus undecimalis*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 389:213-222

Adebisi FA, Siraj SS, Harmin SA, Christianus A. 2013. Plasma sex steroid hormonal profile and gonad histology during the annual reproductive cycle of river catfish *Hemibagrus nemurus* (Valenciennes, 1840) in captivity. Fish Physiol. Biochem. 39:547-557

Andrade H, Santos J, Taylor R. 2013. Life-history traits of the common snook *Centropomus undecimalis* in a Caribbean estuary and large-scale biogeographic patterns relevant to management. J. Fish Biol. 82: 1951-1974.

Araujo J, Cerqueira V. 2005. Influencia da salinidade na incubacao de ovos do robalo-peva (*Centropomus parallelus* Poey, 1860). Acta Sci 27:85-89.

Barannikova IA, Baunova LV, Gruslova AB, Semenkova TB. 2003. Steroids in sturgeon's migration regulation. Fish Phys. Biochem. 28: 263-264.

- Blanton M, Specker J. 2007. The hypothalamic-pituitary-thyroid (hpt) axis in fish and its role in fish development and reproduction. *Crit. Rev. Tox*, 37:97–115.
- Bobe J, Jalabert B, Fostier A. 2008. Oogenesis: Postvitellogenic events leading a fertilizable oocyte. In: Rocha MA, Arukme S, Kapoor B, (Eds) *Fish Reproduction*. Science Publishers. USA pp.1-36.
- Brennan NP, Walters CJ, Leber KM. 2008. Manipulations of stocking magnitude: Addressing density-dependence in a juvenile cohort of Common Snook (*Centropomus undecimalis*). *Rev. Fish. Sci.* 16:215-227.
- Brusléa S. 1987. Sex-inversion of the hermaphroditic, protogynous teleost *Coris julis* L. (Labridae). *J. Fish Biol.* 30: 605–616.
- Ceapa C, Williot P, Le Menn F, Davail-Cuisset B. 2002. Plasma sex steroids and vitellogenin levels in stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas) during spawning migration in the Danube River. *J. Appl. Ichthyol.* 18: 391–396
- Candi G, Castriota L, Andaloro F, Finioia MG, Marino G. 2004. Reproductive cycle and sex inversion in razor fish, a protogynous labrid in the southern Mediterranean Sea. *Journal of Fish Biology*, 64: 1498–1513.
- Carmichael JT, Haeseker SL, Hightower JE. 1998. Spawning migration of telemetered Striped Bass in the Roanoke River, North Carolina. *Trans. Am. Fish. Soc.* 127: 286-297.
- Chávez-Lomelí MO, Mattheeuws AE, Pérez-Vega MH. 1989. Biología de los peces del Río San Pedro en vista de determinar su potencial para la piscicultura. INREB-FUCID, Veracruz, México. 222 p.
- Coward K, Bromage NR, Hibbitt O, Parrington J. 2002. Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. *Rev. Fish Biol. Fish.* 12: 33-58.
- Gilmore RG, Donohoe CJ, Cooke DW. 1983. Observations on the distribution and biology of the Common Snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch). *Florida Sci.* 46: 313 -336.
- Grier H. 1985. Reproduction of the Snook, *Centropomus undecimalis*: structure of the testis I reproductive males. In: *Proc. World Marine Soc. 16th Annual Meeting*. January 13-17, Florida, USA.
- Grier, H. 2000. Ovarian germinal epithelium and folliculogenesis in the Common Snook *Centropomus undecimalis* (Teleostei:Centropomidae). *J. Morphol.* 243:265-281.
- Grier H. 2012. Development of the follicle complex and oocyte staging in Red Drum, *Sciaenops ocellatus* Linnaeus, 1776 (Perciformes, Sciaenidae). *J. Morphol.* 273: 801-829

Grier H, Uribe M. 2009. The testis and spermatogenesis in Teleost. In Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes (Aganthans and bony fishes) Vol 8A B. Jamieson (Ed). Science Publishers, USA. pp 119-142.

Grier, H., M. Uribe and R. Patiño. 2009. The ovary, folliculogenesis and oogenesis in Teleost fishes. In Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes (Aganthans and bony fishes) Vol 8A B. Jamieson (Ed). Science Publishers, USA. pp 25-84.

Hallgren P, Mårtensson L, Mathiasson L. 2009. Improved spectrophotometric vitellogenin determination via alkali-labile phosphate in fish plasma—a cost effective approach for assessment of endocrine disruption. Int. J. Env. Anal. Chem. 89:1023-1043

Hernández-Franyutti A, Uribe MC. 2012. Seasonal spermatogenic cycle and morphology of germ cells in the viviparous lizard *Mabuya brachypoda* (Squamata, Scincidae). J. Morphol. 273:1199-213

Hernández-Vidal U, Leshner-Gordillo J, Contreras-Sánchez WM, Chiappa-Carrara FX. 2014. Genetic variability of the Common Snook *Centropomus undecimalis* (Perciformes: Centropomidae) in connected marine and riverine environments. Rev. Biol. Trop. 62. In press

Huber C. 2007. Habitat preferences of juvenile common snook in the lower Rio Grande Texas. Master of Science Thesis. Texas Tech University. 52 p.

Jørgensen C, Dunlop ES, Opdal AF, Fiksen Ø. 2008. The evolution of spawning migrations: State dependence and fishing-induced changes. Ecology 89: 3436-3448.

Kitani T, Matsumoto S, Yamada H, Amano M, Iwata M, Ueda H. 2003. Changes in GnRH levels in the brain and pituitary gland during migrations of sockeye salmon and chum salmon. Fish Physiol. Biochem. 28: 269–270

Kitano T, Abe S. (2008). Involvement of endocrine and environmental factors in gonadal sex differentiation in gonochoristic fish. In: Fish reproduction (Rocha MJ, Arukwe A, Kapor BJ Eds) Science publishers USA. pp.421-434.

Mancera JM, McCormick SD. 1998. Evidence for growth hormone/insulin-like growth factor I axis regulation of seawater acclimation in the euryhaline teleost *Fundulus heteroclitus*. Gen. Comp. Endocrinol. 111: 103–112.

McCormick SD. 2001. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish. Amer. Zool. 41:781–794

McMichael RH, Peters KM, Parsons GR. 1989. Early life history of the Snook, *Centropomus undecimalis*, in Tampa Bay, Florida. NE Gulf Sci. 10: 113-126.

Milton DA. 2009. Living in two worlds: Diadromous fishes, and factors affecting population connectivity between tropical rivers and coasts. In: Nagelkerken I, (Ed). Ecological Connectivity among Tropical Coastal Ecosystems. Springer, Netherlands. pp. 325-355

- Miura T, Miura C. 2001. Japanese eel: A model for analysis of spermatogenesis. *Zool Sci* 18:1055-1063.
- Mylonas CC, Magnus Y, Klebanov Y, Gissis A, Zohar Y. 1997. Reproductive biology and endocrine regulation of final oocyte maturation of captive white bass. *J. Fish Biol.* 51: 234- 250.
- Nagahama Y. 1983. The functional morphology of teleost gonads. In *Fish Physiology*, Vol. IXA (Hoar WS, Randall DJ, Donaldson EM Eds). Academic Press, New York, N.Y. pp. 223-275.
- Nagahama Y. 1990. Endocrine control of oocyte maturation in teleosts. *Prog. Comp. Endocr.* 358-392.
- Nagahama Y, Yoshikuni M, Yamashita M, Sakai N, Tanaka M. 1993. Molecular endocrinology of oocyte growth and maturation on fish. *Fish Physiol. Biochem.* 11:3-14.
- Neidig LC, Skapura DP, Grier H, Dennis WC. 2000. Techniques for spawning Common Snook: broodstock handling, oocyte staging and egg quality. *North Am. J. Aquac.* 62:103-113.
- Patiño R, Thomas P. 1990. Gonadotropin stimulates 17α , 20β 21-trihydroxy-4-pregnen-3-one from endogenous substrates in Atlantic Croaker ovarian follicles undergoing final maturation in vitro. *Gen. Comp. Endocr.* 78: 474-478
- Patiño R, Thomas P, Yoshizaki G. 2003. Ovarian follicle maturation and ovulation: an integrated perspective. *Fish Physiol. Biochem.* 28:305-308
- Patiño R. 1997. Manipulations of the reproductive system of fishes by means of exogenous chemicals. *Prog. Fish Cult.* 59: 118-128.
- Patzner R. 2008. Reproductive strategies of fish. In *Fish Reproduction* (Rocha MJ, Arukwe A, Kapor BJ Eds) Science publishers USA. pp. 311-350.
- Perera-García MA, Mendoza-Carranza M, Contreras-Sánchez WM, Huerta-Ortiz M, Pérez-Sánchez E. 2011. Reproductive biology of Common Snook *Centropomus undecimalis* (Perciformes: Centropomidae) in two tropical habitats. *Rev. Biol. Trop.* 59: 669-681.
- Perera-García MA, Mendoza-Carranza M, Contreras-Sánchez WM, Ferrara A, Huerta-Ortiz M, Hernández-Gómez R. 2013. Comparative age and growth of Common Snook *Centropomus undecimalis* (Pisces: Centropomidae) from coastal and riverine areas in Southern Mexico. *Rev. Biol. Trop.* 61: 807-819.
- Perera-García MA, Mendoza-Carranza M, Páramo-Delgadillo S. 2008. Dinámica reproductiva y poblacional del robalo, *Centropomus undecimalis* (Perciformes: Centropomidae), en barra San Pedro, Centla, México. *Univ. Cienc.* 24: 49-59.
- Peres MB, Klippel S. 2003. Reproductive biology of Southwestern Atlantic wreckfish *Polyprion americanus* (Teleostei: Polyprionidae). *Environ. Biol. Fish.* 68:163-173.

- Peters KM, Matheson RE, Taylor RG. 1998. Reproduction and early life history of Common Snook, *Centropomus undecimalis*, (Bloch) in Florida. Bull. Mar. Sci. 63: 509-529.
- Planas JV, Swanson T. 2008. Physiological function of gonadotropin in fish. In Fish Reproduction (Rocha M, Arukme A. Kapoor BJ, Eds). Science publishers. USA pp.37-66.
- Redding MJ, Patiño R. 1993. Reproductive Physiology. In The Physiology of Fishes Chapter 16. Evans DH (Ed). CRC Press, Boca Ratón Florida.
- Roberts SB, Jackson LF, King W, Taylor RG, Grier H, Sullivan CV. 1999. Annual reproductive cycle of the Common Snook: endocrine correlates of maturation, Tran. Am. Fish. Soc. 128: 436-445
- Rosenfeld, H, Meiri I, Elizur A. 2007. Gonadotropic regulation of oocyte development. In The Fish Oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Applications (Babin PJ, Cerdà J, Lubzens E. (Eds.) Springer pp. 175–202.
- Schultz W, Renato L, Lareyre J, Le Gac F, Chiarini-Garcia H, Nobrega R, Miura T. 2010. Spermatogenesis in fish. Gen. Comp. Endocr. 165:390-411
- Sundararaj BI, Nath P, Burzawa-Gérard E. 1982. Synthesis of vitellogenin and its uptake by the ovary in the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) in response to carp gonadotropin and its subunits. Gen. Comp. Endocr. 46: 93-98.
- Taylor RG, Grier HJ, Whittington JA. 1998. Spawning rhythms of Common Snook in Florida. J. Fish Biol. 53: 502-520.
- Taylor RG, Whittington JA, Grier HJ, Crabtree RE. 2000. Age, growth, and protandric sex reversal in Common Snook *Centropomus undecimalis* from the east and west coasts of Florida. Fish Bull. 98: 612-624.
- Tringali MD, Bert TM. 1996. The Genetic stock structure in common snook *Centropomus undecimalis*. Can. J. Fish. Aqua. Sci. 53:974-984.
- Tringali, MD, Seyoum S, Wallace EM, Higham M, Taylor RG, A. A. Trotter AA, Whittington JA. 2008. Limits to the Use of Contemporary Genetic Analyses in Delineating Biological Populations for Restocking and Stock Enhancement. Rev. Fish. Sci. 16:111-116.
- Trotter AA, Blewett DA, Taylor RG, Stevens PW. 2012. Migrations of common snook from a tidal river with implications for skipped spawning. Trans. Am. Soc. 141:1016-1025.
- Tucker JW. 1987. Snook and tarpon snook culture and preliminary evaluation for commercial farming. Prog. Fish. Cult. 49:49-57.
- Tyler C, Sumpter JP, Bromage N. 1988. In vivo ovarian uptake and processing of vitellogenin in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Exp. Zool. 246: 171-179.

Urbatzka R, Rocha M, Rocha E. 2011. Regulation of ovarian development and function in teleost. In *Hormones and Reproduction of Vertebrates* Norris D. Lopez K. (Eds) Elsevier, USA. pp. 65-82.

Figura 1. Variación temporal de la concentración sérica promedio (\pm error estándar) de estradiol y FPLA en hembras (A) y de 11-cetotestosterona (KT) en machos (B) de *C. undecimalis* capturados en ambientes dulceacuícola (AD) y marino (AM) interconectados por el sistema fluvial Grijalva-Usumacinta.

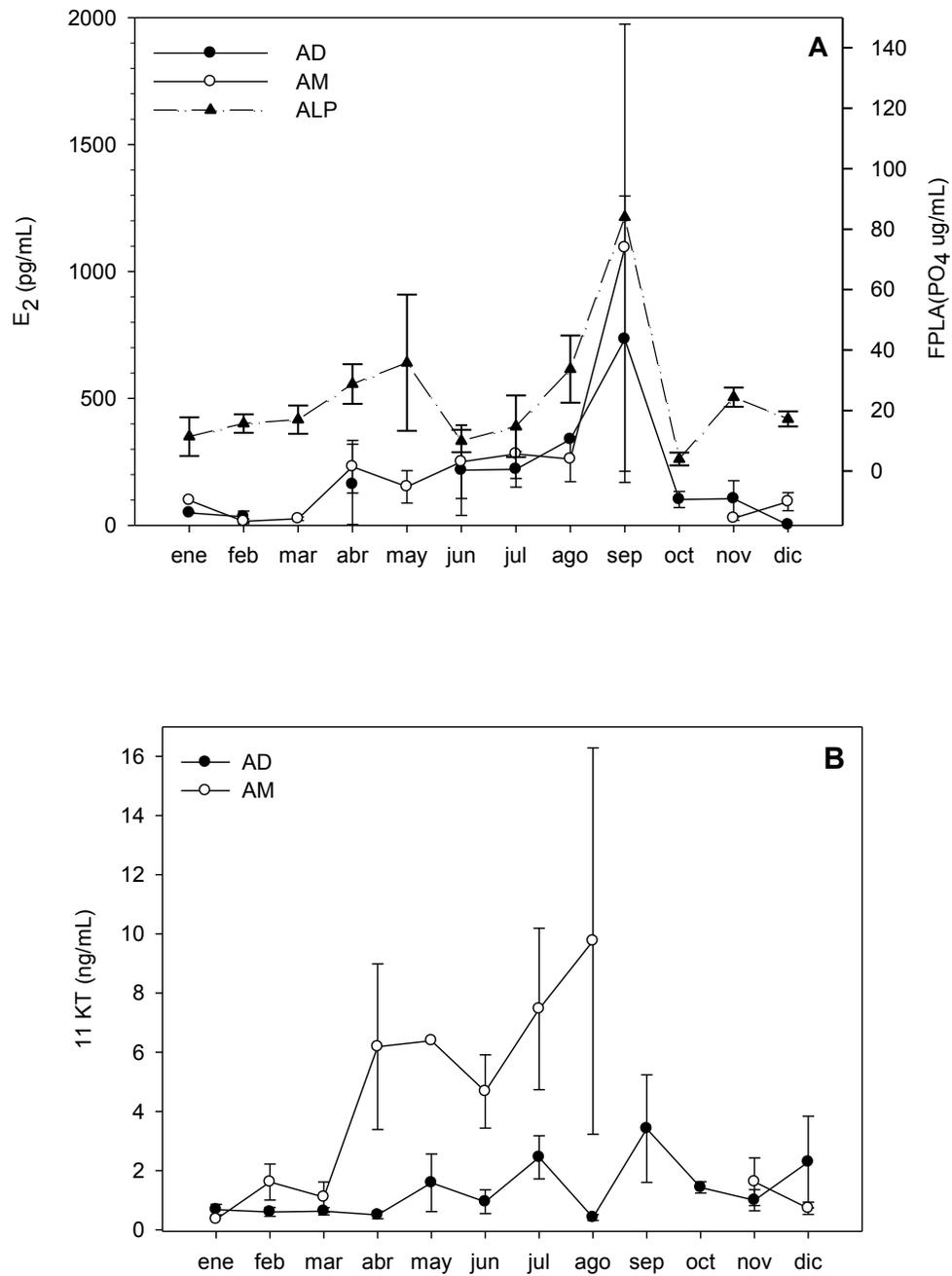


Figura 2. Variación temporal de la concentración sérica promedio (\pm error estándar) de T_3 en machos (A) y en hembras (B) de *C. undecimalis* capturados en ambientes dulceacuícola (AD) y marino (AM) interconectados por el sistema fluvial Grijalva-Usumacinta.

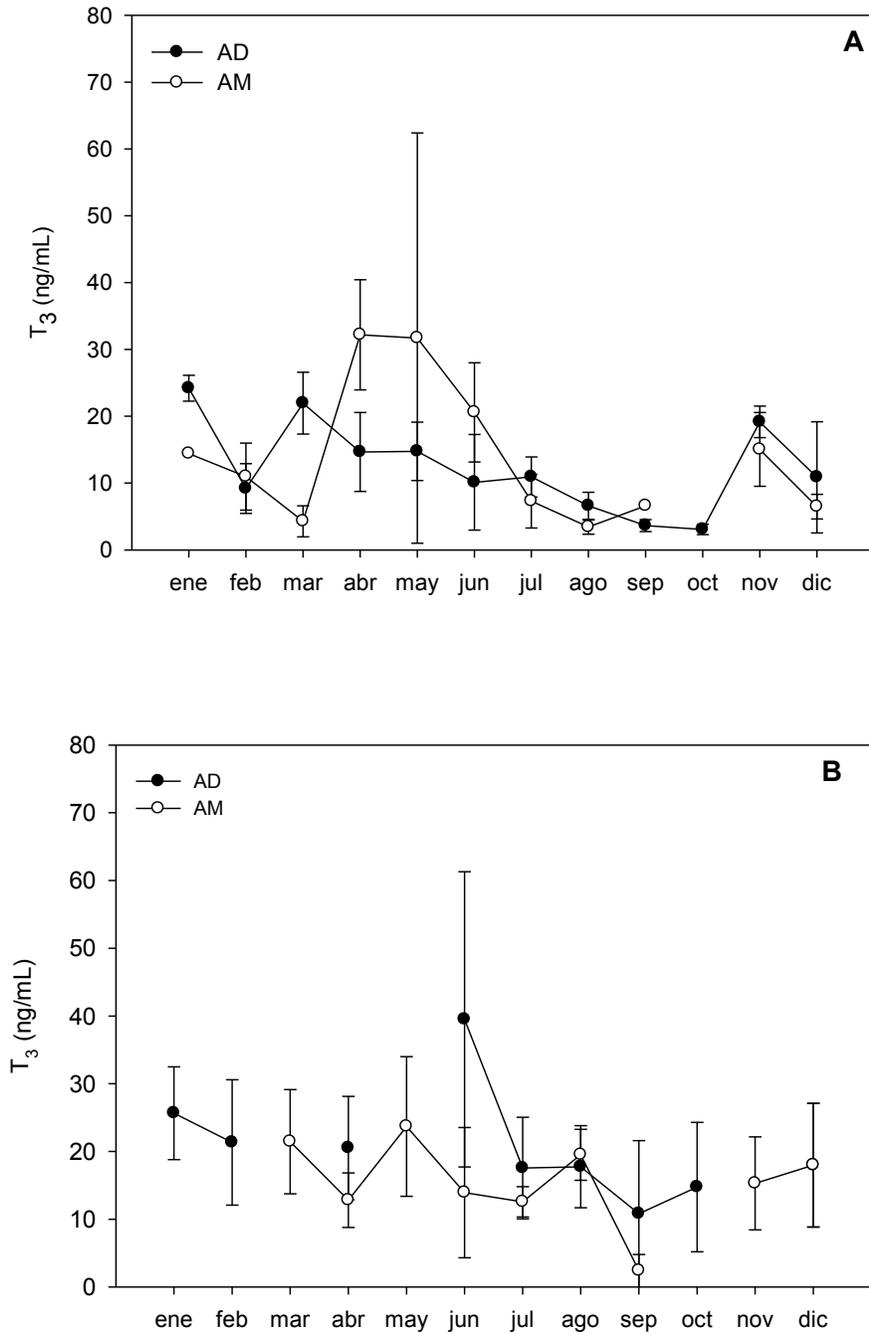


Figura 3. Variación temporal de la concentración sérica promedio (\pm error estándar) de T₄ en machos (A) y en hembras (B) de *C. undecimalis* capturados en ambientes dulceacuícola (AD) y marino (AM) interconectados por el sistema fluvial Grijalva-Usumacinta.

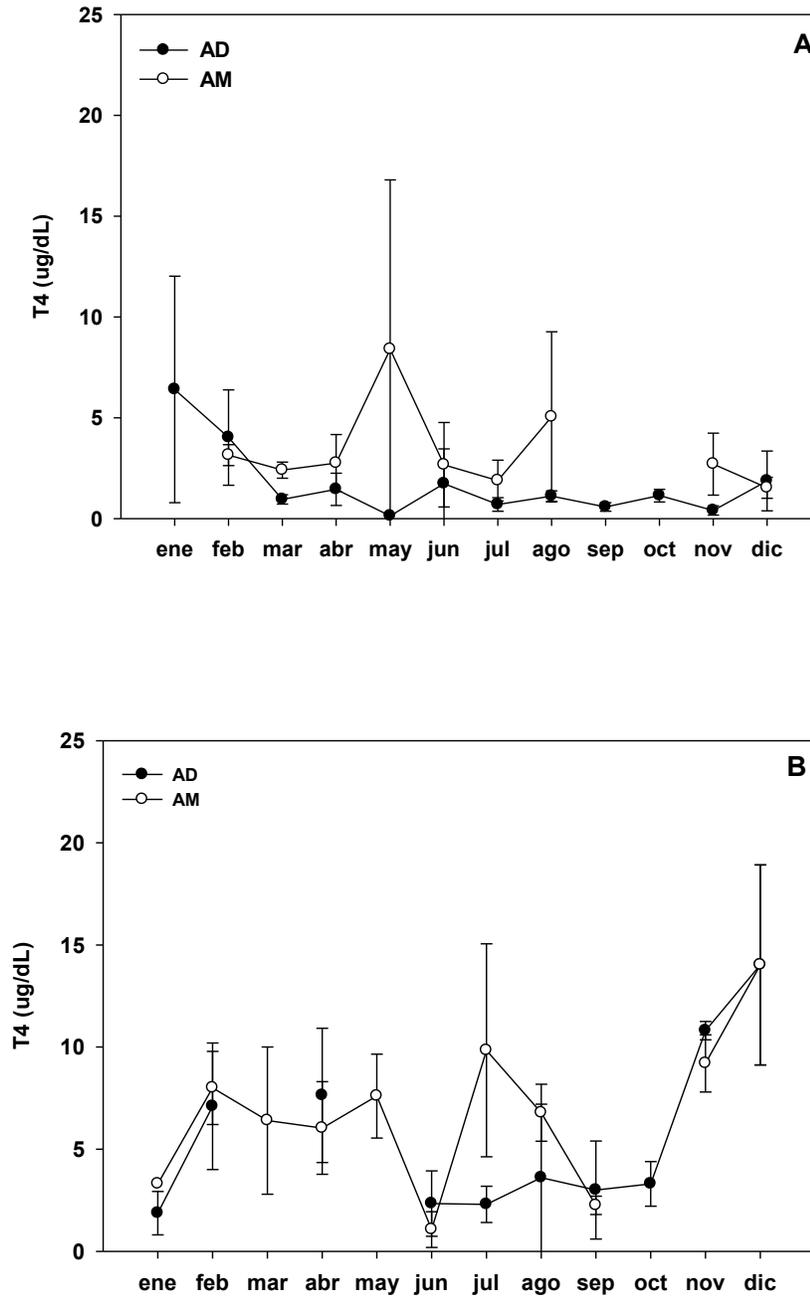


Figura 4. Frecuencia relativa de las etapas del ciclo reproductor (PV: Previtelogénicas; VT: Vitelogénicas; MD: Maduración y desove) y el volumen gonadal (Gv) en hembras de *C. undecimalis* capturadas en ambientes contrastantes [dulceacuícola (AD); marino (AM)] interconectados por el sistema fluvial Grijalva-Usumacinta.

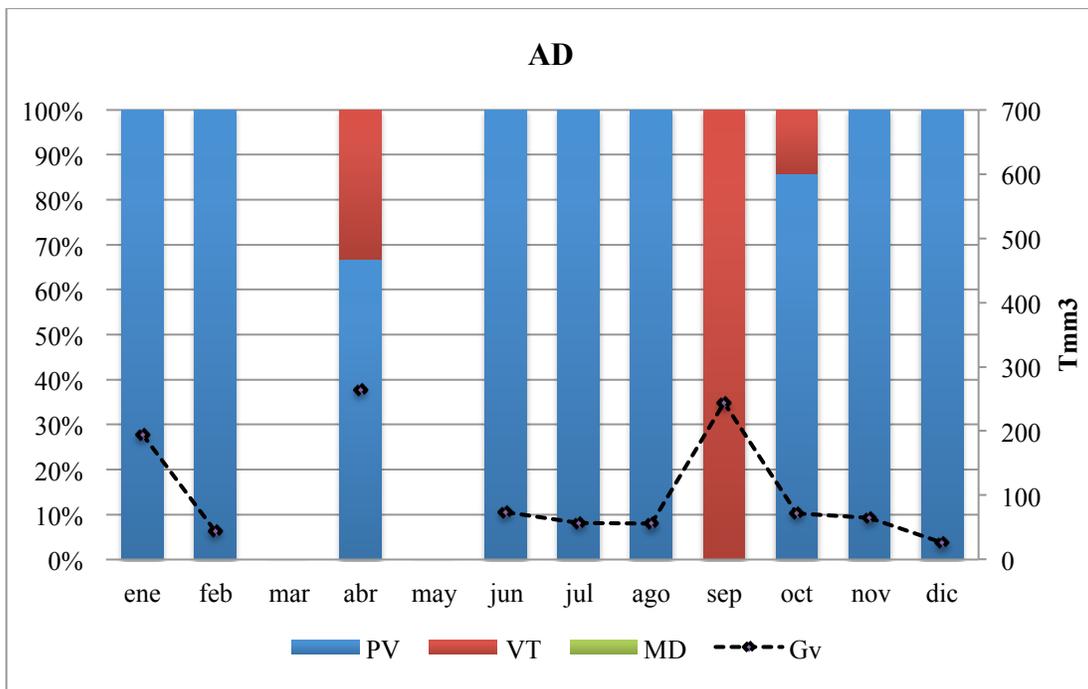
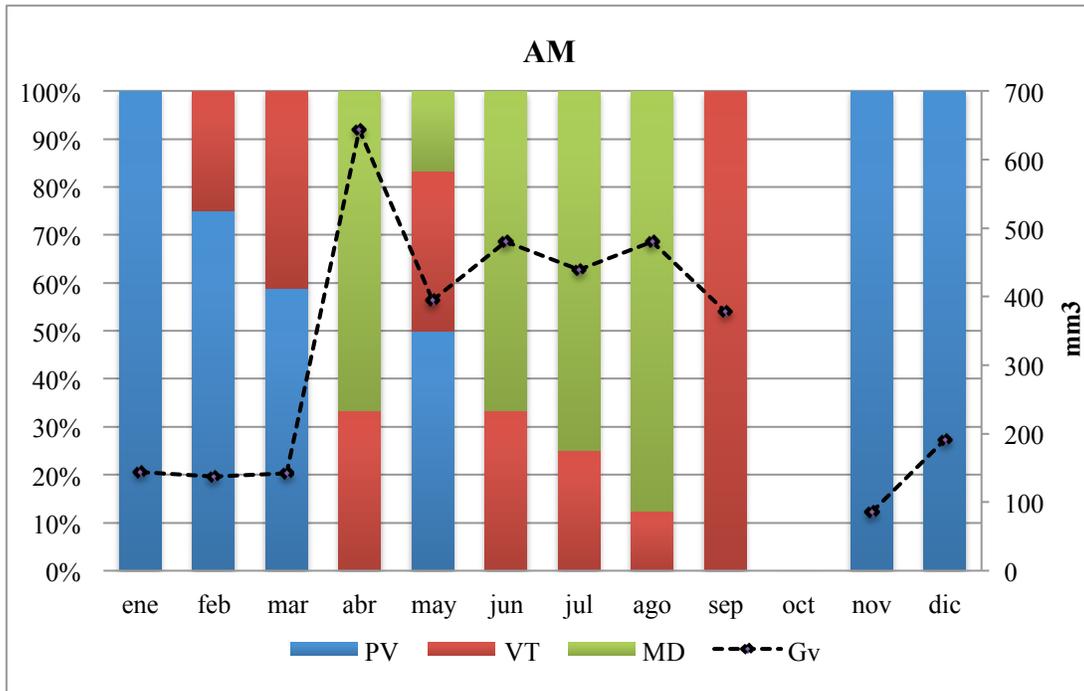


Figura 5. Frecuencia relativa de las etapas del ciclo reproductor (RA: regresión avanzada; MT: madurez temprana, MM: madurez media; MA: madurez avanzada y RT: regresión temprana) y volumen gonadal (Gv) en machos de *C. undecimalis* capturados en ambientes contrastantes [dulceacuicola (AD); marino (AM)] interconectados por el sistema fluvial Grijalva-Usumacinta.

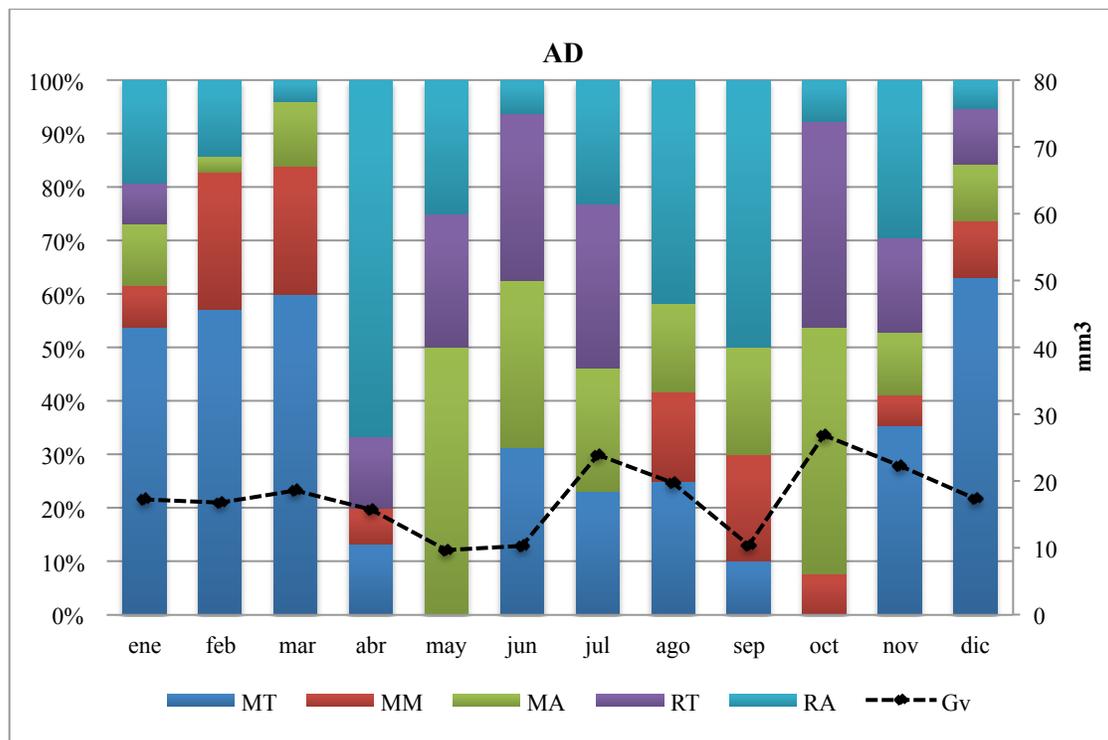
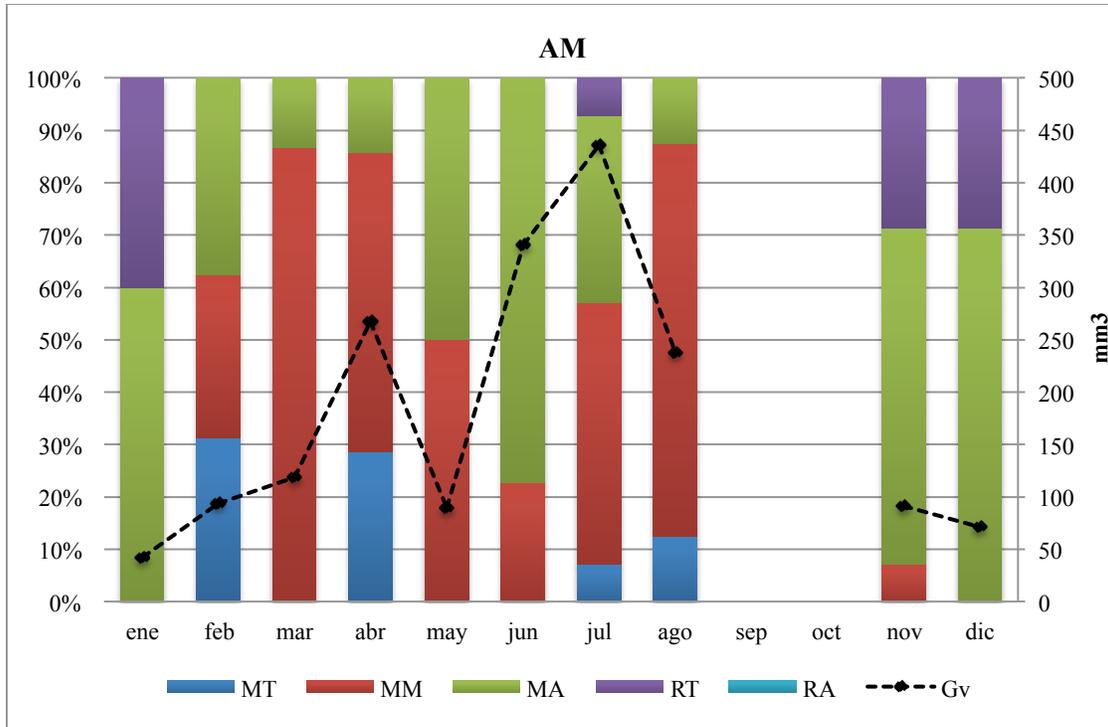
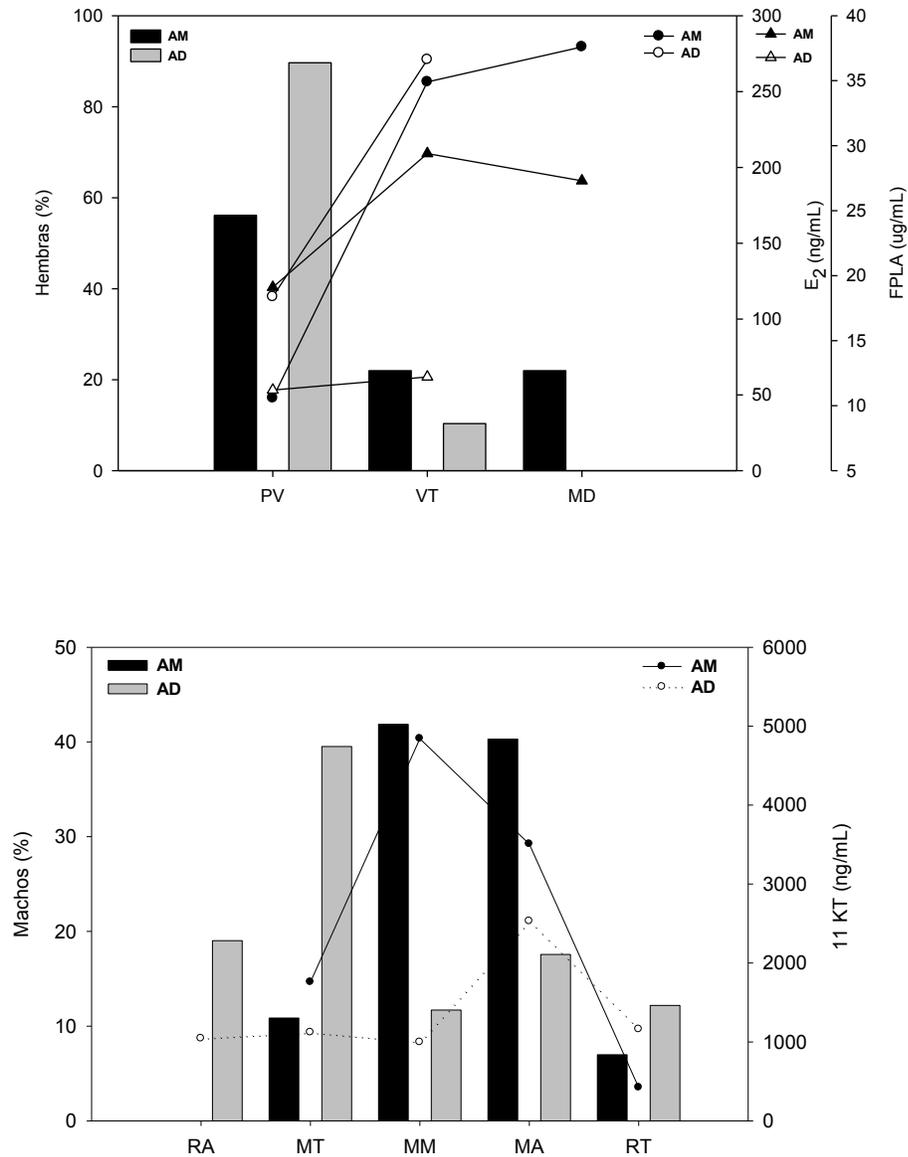


Figura 6. Proporción de ejemplares por etapa del ciclo reproductor y concentración de indicadores bioquímicos por sexo de *C. undecimalis* capturados en ambientes contrastantes [dulceacuicola (AD); marino (AM)] interconectados por el sistema fluvial Grijalva-Usumacinta. Hembras (PV: Previtelogénicas; VT: Vitelogénicas; MD: Maduración y desove). Machos (RA: regresión avanzada; MT: madurez temprana, MM: madurez media; MA: madurez avanzada y RT: regresión temprana). Estradiol (E₂), Fósforo de proteínas lábiles a álcali (FPLA), 11 CT (11-cetotestosterona).



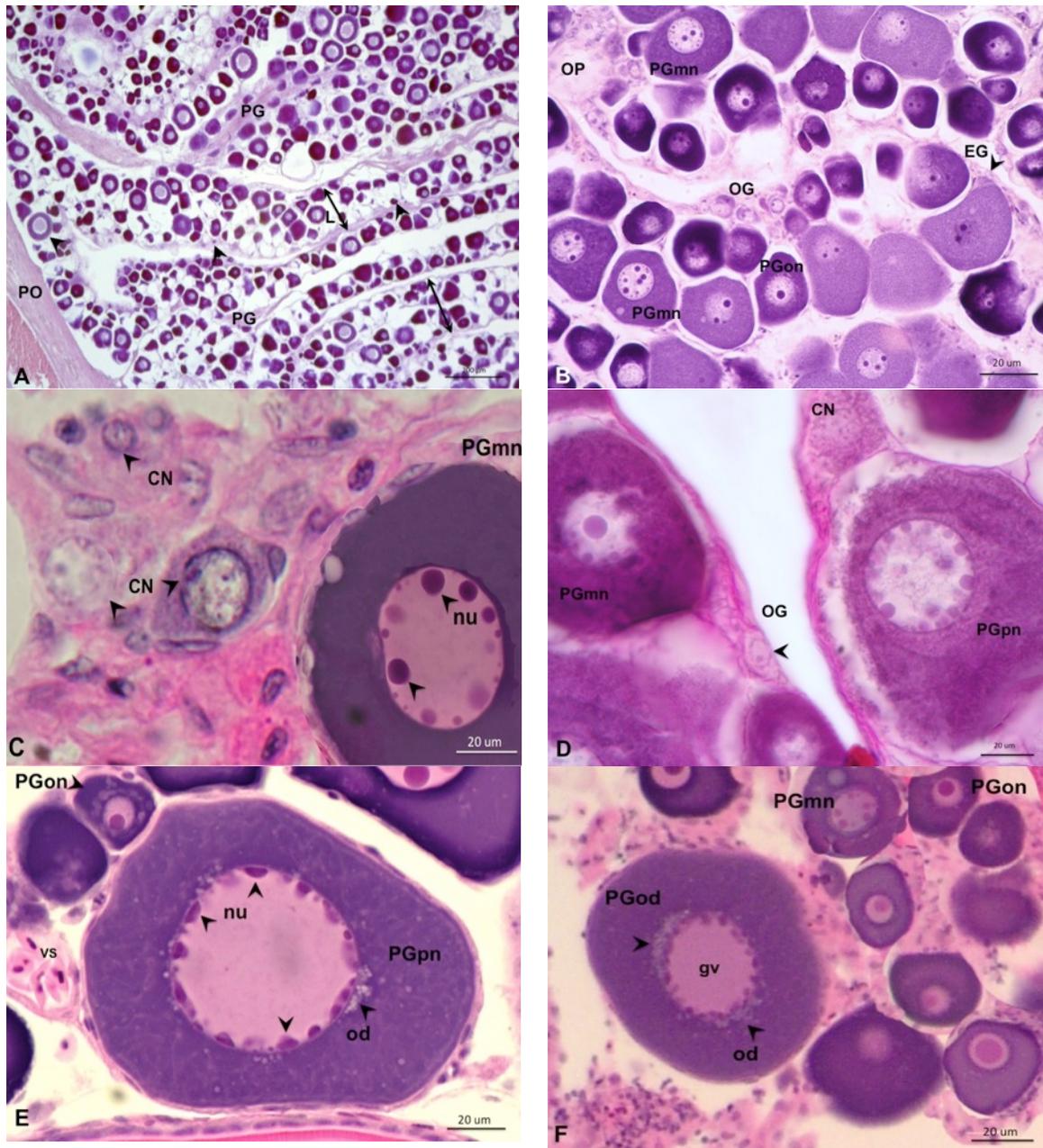


Fig. 7. Ovario de *C. undecimalis* (85-92 cm TL) etapa de previtelogénesis (PV). **A.** Vista de una sección del ovario delimitada por la pared ovárica (PO) mostrando lamelas ovíferas (L) con ovocitos en estadio de crecimiento primario (PG). **B.** Detalle de lamelas ovíferas mostrando el epitelio germinal (EG) con la presencia de nidos celulares (OP), ovogonias (OG) y diversos estadios del PG: un nucléolo (PGon) y de múltiples nucléolos (PGmn). **C.** Detalle mostrando el estadio de cromatina nucléolo (CN) y el nucléolos (nu) prominentes. **D.** Detalle del epitelio germinal mostrando una OG. **E.** Detalle del PG mostrando los estadios de PGon y de nucléolos periféricos (PGpn) con la aparición de algunas vesículas lipídicas (od). **F.** El estadio del PG de vesículas lipídicas (PGod) muestra las vesículas como espacios claros (flechas) y nucléolos en posición periférica de la vesícula germinal (gv), se pueden apreciar algunos vasos sanguíneos (VS). Hematoxilina y eosina (**HE**).

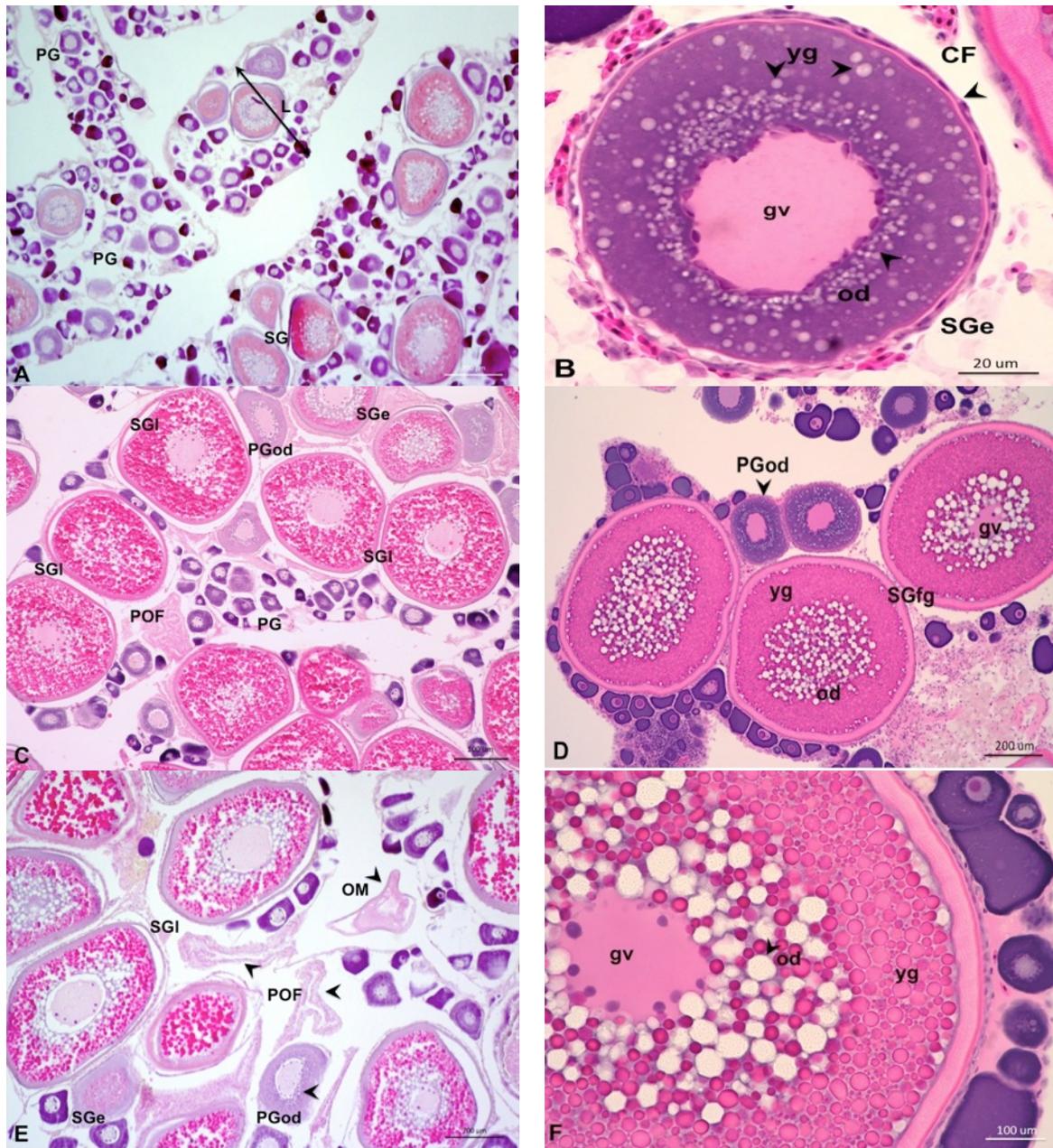


Fig. 8. Ovarios de *C. undecimalis* (85-92 cm TL) etapa de vitelogénesis (VT). **A.** Vista de lamelas ovíferas (L) con ovocitos en estadio de crecimiento primario (PG) y secundario (SG). **B.** Detalle un ovocito en estadio SG temprano (SGe) donde se pueden observar las vesículas lipídicas (od) y vitelinas (yg) que rodean la vesícula germinal (gv), dentro de las células foliculares (CF) se presentan vasos sanguíneos. **C-F.** Al presentar varios desoves en la temporada, se pueden encontrar estadios del PG, SG, maduración ovocitaria (OM) y la presencia de folículos postovulatorios (POF). Esta serie muestra estadios del PG, vesículas lipídicas (PGod). Estadios del SG como crecimiento temprano (SGe), avanzado (SGI) y desarrollo completo (SGfg) que muestra incremento en tamaño de las vesículas od y yg. Hematoxilina y eosina (HE).

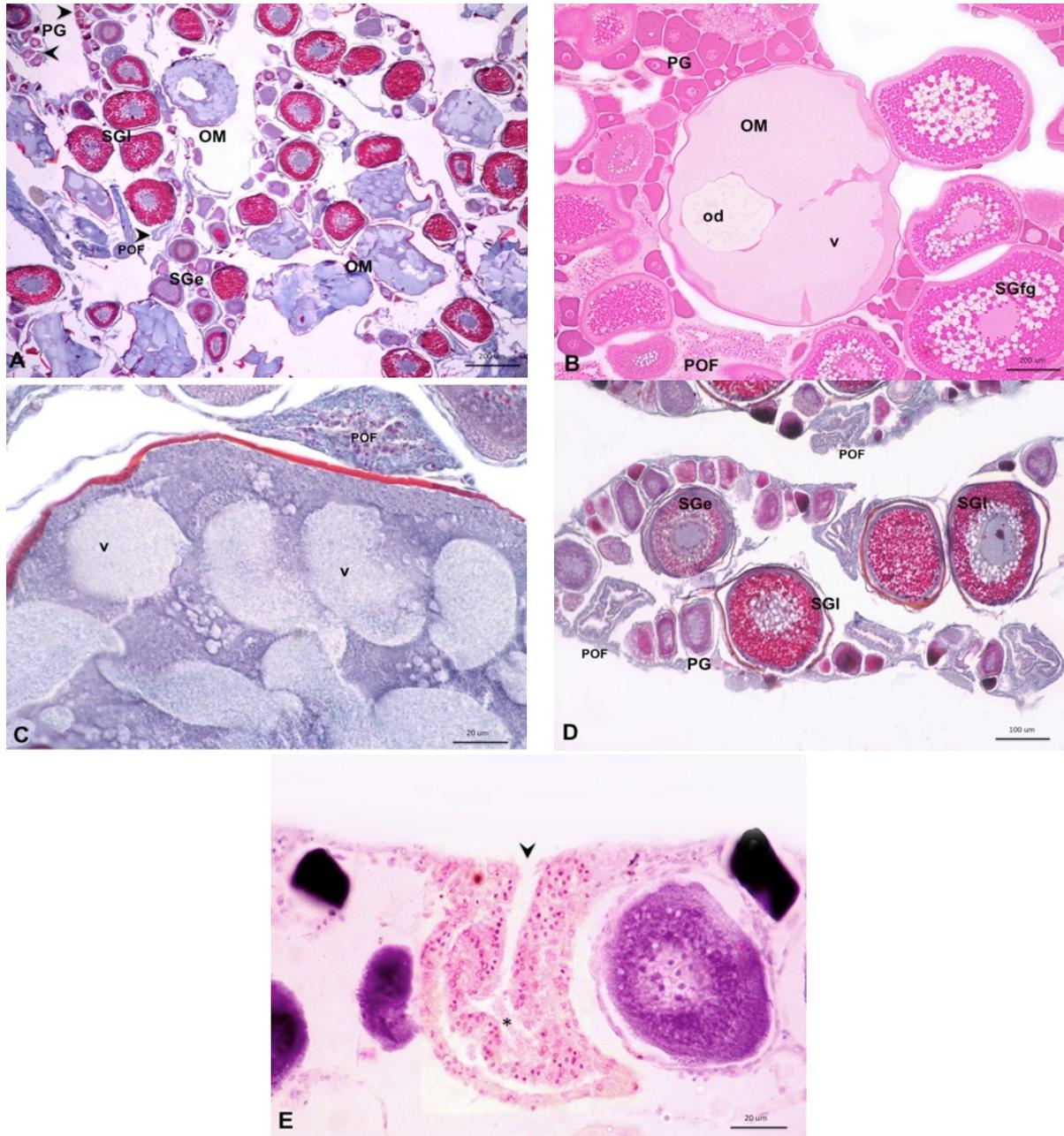


Fig. 9. Ovarios de *C. undecimalis* (88-95 cm TL) etapa de maduración y desove (MD). **A.** Vista de lamelas ovígeras con estadios del crecimiento primario (PG), crecimiento secundario (SG) y de maduración ovocitaria (OM). Los folículos postovulatorios (POF) indican desoves previos. **(TM)** **B.** Detalle un ovocito en estadio OM con una gran gota lipídica (od) y vitelo (v) hidratado típico del estadio OM de migración de vesícula germinal (OMgvm), estadios avanzados del SG como crecimiento completo (SGfg). **HE.** **C.** Detalle del proceso de coalescencia e hidratación del vitelo durante el estadio OM **(TM)**. **D.** Lamela ovárica mostrando multiples POF y estadios tempranos de la ovogénesis como PG y avanzados SGe y SGI. **(TM)**. **E.** Detalle de un POF mostrando el área de salida del ovulo. **HE.** Tricrómica de Masson **(TM)**, Hematoxilina y eosina **(HE)**.

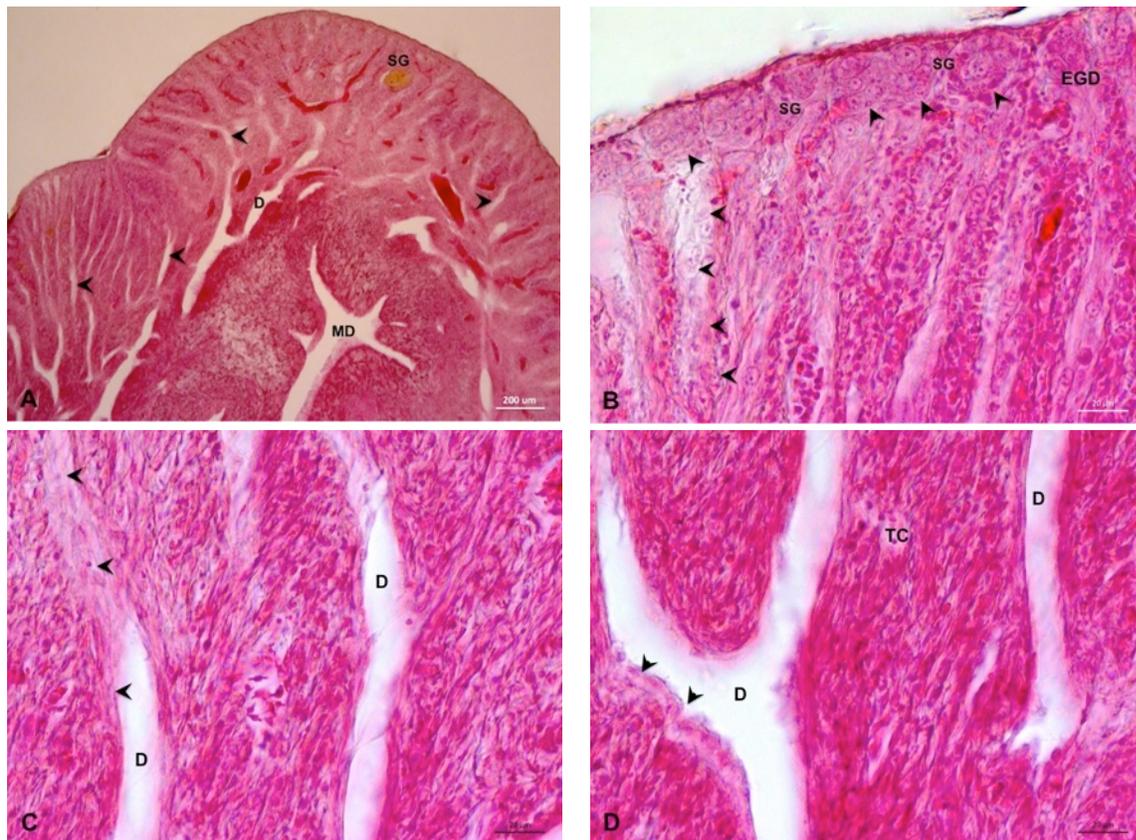


Fig. 10. Testículo de *C. undecimalis* (84 cm TL) etapa de regresión avanzada (RA). **A.** Vista general del testículo mostrando ausencia de espermatocitos y abundancia de espermatogonias (SG) en la zona más distal, los espacios del lumen de los lóbulos (flechas) son prominentemente vacíos y el tejido entre estos prolifera. **B.** La sección distal presenta grupos de SG proliferando para formar la nueva generación de espermatocitos del epitelio germinal continuo (EGC). **C-D.** Detalles de la sección proximal con conductos espermáticos (D) que aparecen vacíos y la proliferación de epitelio en la pared de los conductos (flechas). Hematoxilina y eosina (HE).

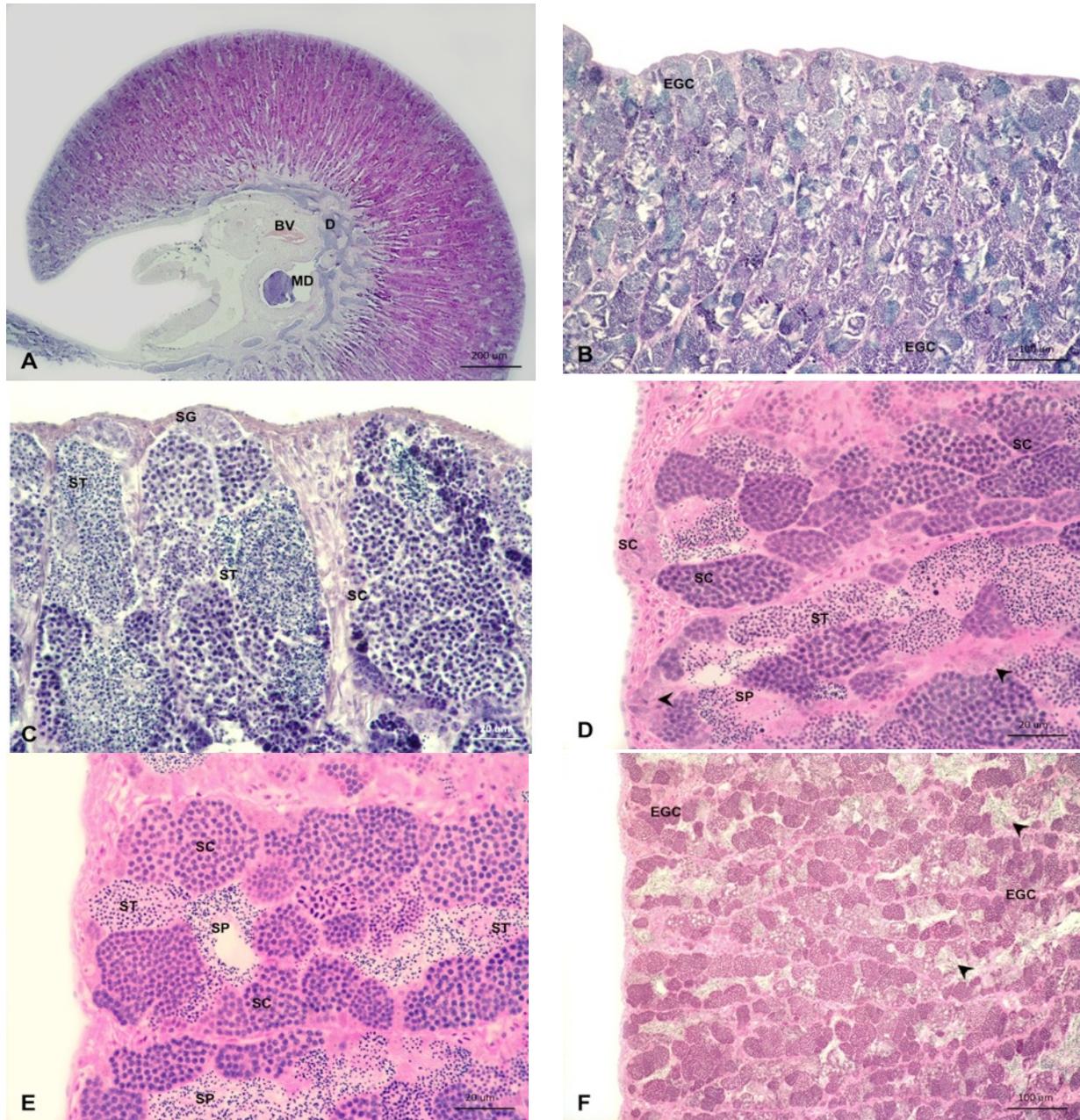


Fig. 11. Testículo de *C. undecimalis* (83 cm TL) etapa de madurez temprana (MT). **A.** Vista general del testículo mostrando el conducto principal (MD) y secundario (D) con pocos espermatozoides maduros. **B.** El epitelio germinal continuo (EGC) se localiza tanto en la porción distal como proximal de los lóbulos como característica de esta etapa. **C-E.** Detalle de la sección distal de lóbulos que aparecen con espermatoquistes mayormente en estadios tempranos de la espermatogénesis como espermatogonias (SG) y espermatocitos (SC), puede haber espermatidas (ST) en transición y espermatozoides maduros (SP). **F.** Detalle de la región distal con EGC y la presencia de SP que empiezan a llenar el lumen de la región proximal. Hematoxilina y eosina (HE).

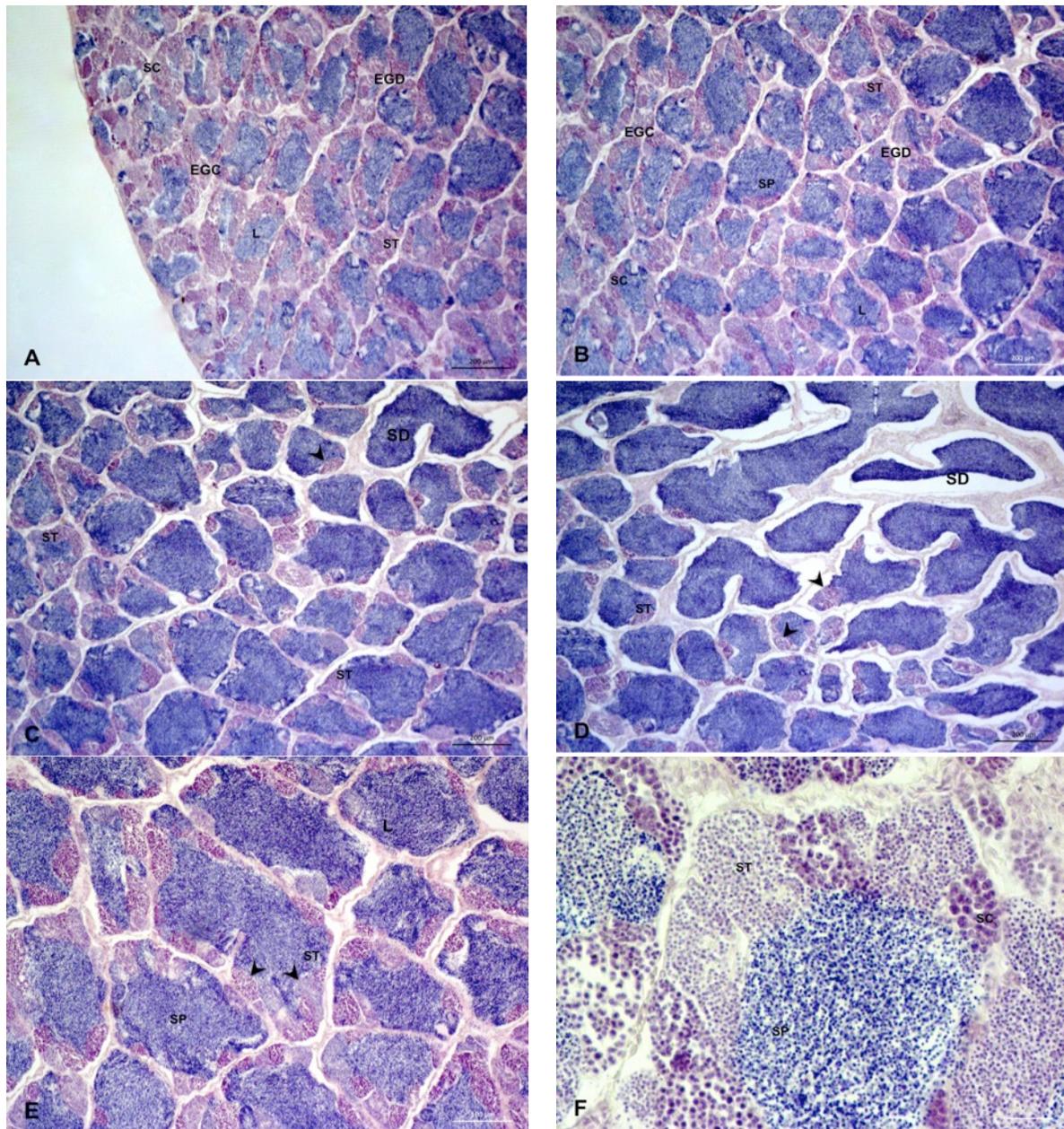


Fig. 12. Testículo de *C. undecimalis* (86 cm TL) etapa de madurez media (MM). **A.** Vista general del testículo mostrando la presencia de epitelio germinal continuo (EGC) en los lóbulos (L) de la región distal y epitelio germinal discontinuo (EGD) en los de la región proximal. **B-C.** La sección central muestra la transición entre EGC y EGD que caracteriza esta etapa, con disminución gradual de espermatocitos (SC) e incremento de espermatidas (ST) y espermatozoides (SP). **D.** La sección proximal cercana a los conductos espermáticos (SD) aparece llena de SP y los espermatocitos remanentes (flechas) prevalecen con estadios avanzados de la espermatogénesis. **E.** Detalle de la sección central mostrando incremento en espacios del epitelio germinal debido a la desaparición de espermatocitos. **F.** Detalle de un lóbulo de la región distal con EGC, con el lumen lleno de SP y gran cantidad de espermatocitos con estadios avanzados como ST y reducida presencia de SC. Hematoxilina y eosina (HE).

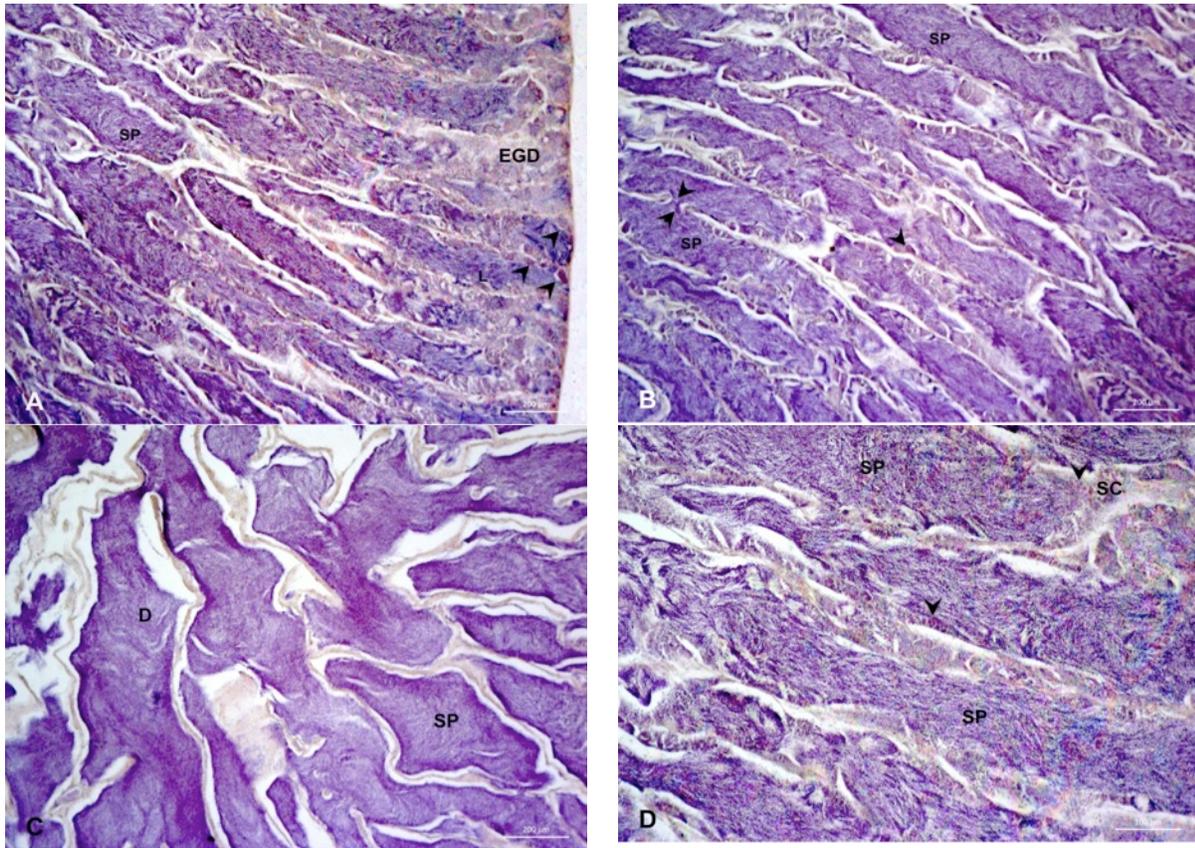


Fig. 13. Testículo de *C. undecimalis* (93 cm TL) etapa de madurez avanzada (MA). **A.** Vista general del testículo mostrando la presencia de epitelio germinal discontinuo (EGC) en los lóbulos de la región distal, los espermatocitos remanentes corresponden a etapas avanzadas de la espermatogénesis. **B.** La sección central completamente llena de espermatozoides (SP) y fusión entre algunas zonas de lóbulos. **C.** Detalle de la sección proximal cercana a los conductos espermáticos (D) que aparece llena de SP y no hay presencia de espermatocitos. **D.** Detalle de la región distal con EGD, con el lumen lleno de SP y reducida presencia de SC. Hematoxilina y eosina (**HE**).

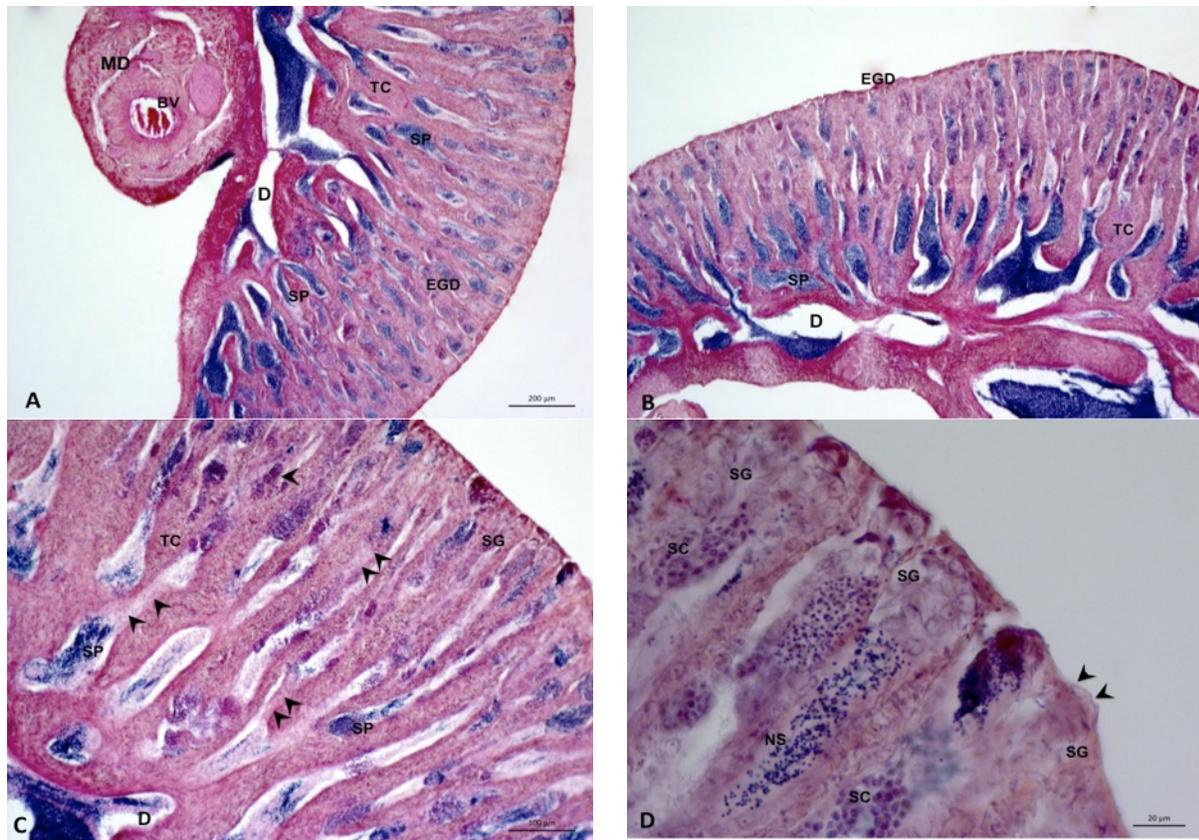


Fig. 14. Testículo de *C. undecimalis* (91 cm TL) etapa de regresión temprana (RT). **A-B.** Vista general del testículo mostrando la presencia de epitelio germinal discontinuo (EGD) en la región distal de los lóbulos, hay poca presencia de espermatozoides maduros (SP) remanentes en los conductos (D) y el tejido conjuntivo (TC) prolifera. **C.** La sección distal presenta espermatoquistes remanentes y SP, espermatogonias (SG) proliferan abundantemente en la región distal pero hay grupos en la región central y proximal (flechas). **D** Detalle de la sección distal mostrando la proliferación en grupos de SG, hay SP y espermatoquistes con espermátidas y espermatoцитos (SC) remanentes. Hematoxilina y eosina (HE).

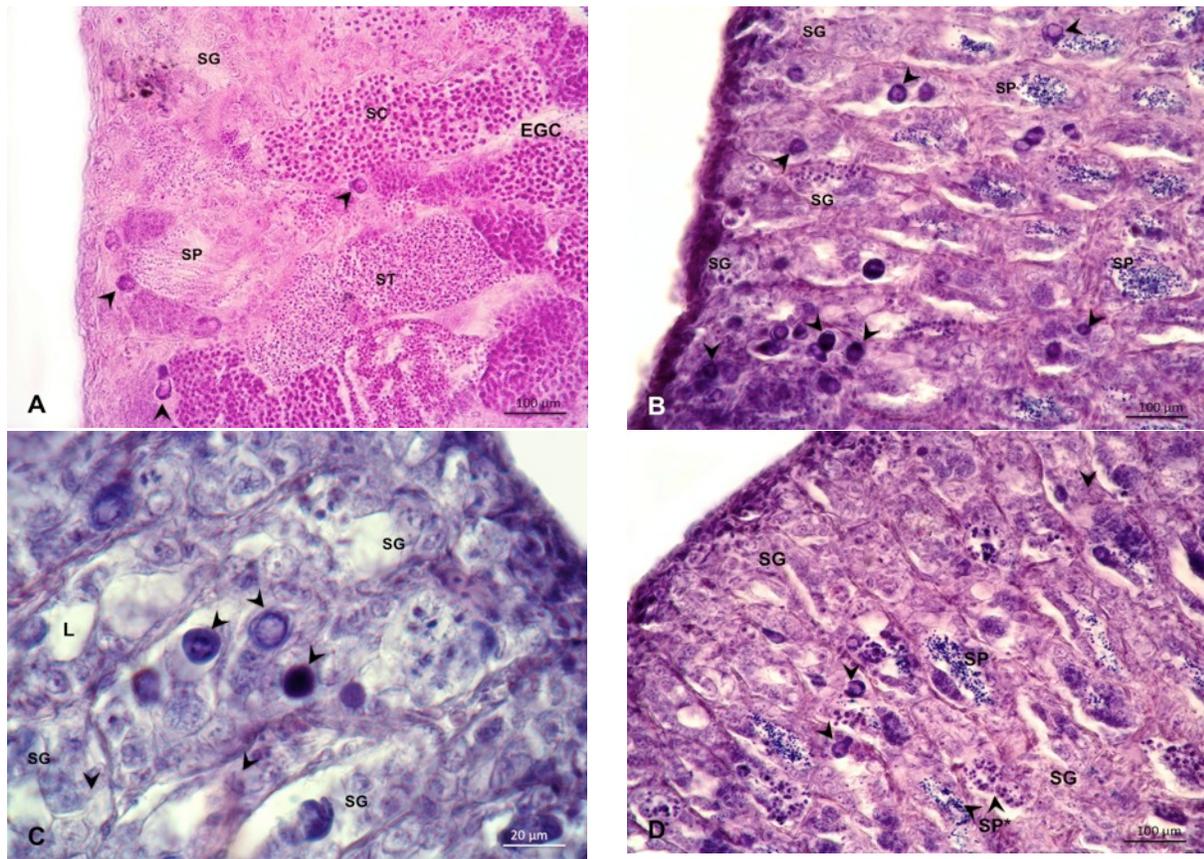


Fig. 15. Testículo de *C. undecimalis* en transición sexual. **A.** Etapa de madurez temprana (MT) mostrando la presencia de epitelio germinal discontinuo (EGD) con algunos ovocitos (flechas), la etapa MT muestra espermatozoides maduros (SP), presencia de espermatogonias (SG), espermatocitos (SC) y espermátidas (ST). **B.** Sección distal mostrando gran cantidad de ovocitos (flechas) en un ejemplar en regresión avanzada (RA). Se aprecian nuevos grupos de SG y SP remanentes. **C.** Detalle de la sección distal mostrando los ovocitos (flechas) y el repoblamiento del Lúmen (L) por SG que formaran epitelio germinal continuo en la siguiente temporada. **D.** Detalle que muestra SP remanentes, algunos convirtiéndose en espermatozoides necróticos (SP*) en un ejemplar en RA. Hematoxilina y eosina (**HE**)

DISCUSIÓN GENERAL

Los resultados de nuestro estudio aportan nuevos conocimientos a la biología reproductora del robalo común *Centropomus undecimalis* en los hábitats que ocupa en el sur del Golfo de México a lo largo del sistema fluvial Grijalva-Usumacinta. El robalo tiene la capacidad de vivir en sitios interconectados pero diferenciados por la salinidad, que están separados geográficamente entre sí por más de 300 km. El análisis genético nos sugiere que los individuos presentes en ambos ambientes pertenecen a la misma unidad poblacional que aprovechan los recursos presentes en cada hábitat de forma estratégica durante su ciclo de vida. Por primera vez se reporta la presencia de individuos de ambos sexos en estadios avanzados de la gametogénesis en el ambiente dulceacuícola, cuando esta condición reproductora sólo había sido documentada en los ambientes marinos en los que ocurre en desove. La combinación de la información obtenida en este estudio y la reportada por diversos autores nos sugiere la existencia de una variación en la estrategia reproductora del robalo común en estos ambientes del sur del golfo de México, respecto a la que se ha descrito previamente tanto en esta localidad, como en otras áreas de distribución en el continente.

Un aspecto relevante de esta variante en la estrategia reproductora de *C. undecimalis* implica que se establece un flujo migratorio entre ambientes para completar su ciclo vital. El flujo migratorio es evidenciado en nuestro estudio genético por el número elevado de genes que se comparten en los individuos que fueron capturados en ambas localidades. Sin embargo, aunque no es posible definir la frecuencia en la que ocurren los recorridos y el sentido de estos viajes, es posible sugerir que la migración comprende por lo menos dos eventos: el primero ocurre desde las fases larvales hasta las de juveniles en las que los organismos se desplazan hacia el ambiente dulceacuícola, atendiendo necesidades de alimentación y refugio después de su nacimiento en el ambiente marino (Gilmore *et al.* 1983, Peters *et al.* 1998, Perera-García *et al.* 2011). El segundo evento corresponde a su retorno como adultos maduros hacia el ambiente marino e incorporarse al grupo reproductor (Perera-García *et al.* 2011). Es posible que estos movimientos ocurran en varias ocasiones durante su vida.

Las características fisiológicas de *C. undecimalis* le permiten completar la mayor parte de los estadios de la gametogénesis en el ambiente dulceacuícola. Perera-García *et al.* (2011, 2013) mostraron la presencia de adultos de varios años de edad en las localidades río arriba y varios autores ha documentado la capacidad migratoria de esta especie (Gilmore *et al.* 1983, Adams *et al.* 2006, Brennan *et al.* 2008, Andrade *et al.* 2013). Este conjunto de evidencias permiten suponer que los adultos puedan realizar migraciones entre estos ambientes con propósitos de reproducción y, posiblemente, de alimentación. Se ha reportado que la población del robalo que habita en las áreas marinas de la Florida en ocasiones no participa en eventos de desove. Esta condición denominada evasión de desove ocurre en peces que con base en la talla y peso no se incorporan a los grupos que desovan durante la estación reproductora (Trotter *et al.* 2012). Este comportamiento no puede descartarse en los peces de las localidades de este estudio. Sin embargo, la presencia de individuos maduros de ambos sexos en ambiente dulceacuícola hace difícil pensar que los organismos que se encuentran en el ambiente dulceacuícola no participen en los eventos de desove. El desarrollo gonadal requiere de una gran inversión de energía que sólo se ve compensada cuando ocurre el desove en el ambiente marino. De otra forma, los ejemplares que permanecen en el ambiente dulceacuícola tendrían un gasto energético ineficiente al madurar sin poder, finalmente, desovar. El estudio de Trotter *et al.* (2012) no define la condición gonadal de los peces que evaden el desove por lo que no puede precisarse si este fenómeno ocurre tanto en animales maduros como en aquellos que alcancen las últimas fases del desarrollo gonadal en ese ciclo de reproducción.

Las consideraciones anteriores permiten plantear como hipótesis que los peces que maduran en ambiente dulceacuícola realizan una migración hacia las zonas de desove en ambiente marino y aquellos que no maduran permanecen en ambiente dulceacuícola por tiempo indefinido. Esto podría ser sustentado en parte por la presencia de ejemplares adultos de varios años de edad en etapas tempranas de madurez observados por Perera-García *et al.* (2011, 2013). Sin embargo, será necesario probar este supuesto mediante un estudio que combine los aspectos migratorios con los reproductores de los individuos en estas localidades.

C. undecimalis presenta un ciclo reproductor estacional. Su ciclo se caracteriza en estos hábitats por presentar periodos definidos por el comportamiento de los parámetros morfofisiológicos que

incluyen los estadios del ciclo gametogénico, la madurez macroscópica, el volumen gonadal, el índice gonadosomático y las concentraciones de indicadores bioquímicos. La *fase reproductora* se caracteriza por presentar los estadios de la gametogénesis avanzada, que implican la maduración gonadal y el desove, además de concentraciones elevadas de los indicadores bioquímicos y valores elevados de índices reproductores. La *fase no reproductora* presenta estadios tempranos de la gametogénesis y bajas concentraciones en los indicadores e índices reproductores. Si bien ambas fases se presentan en los dos ambientes, las evidencias nos sugieren que en el ambiente dulceacuícola las hembras no pueden completar las etapas del ciclo reproductor que implican la maduración y el desove. Por lo tanto, aunque se encuentran machos completamente maduros en este ambiente, el desove no ocurre posiblemente a causa de limitaciones fisiológicas para la activación de los gametos y el desarrollo de los embriones y de las larvas (Coward *et al.* 2002).

La fase reproductora coincide con el incremento en los valores mensuales de temperatura y salinidad que ocurren entre los meses de marzo a septiembre, mientras que la no reproductora ocurre cuando se presentan disminución en estos parámetros fisicoquímicos entre octubre y febrero. El acoplamiento de las características reproductoras y las condiciones ambientales locales juega un papel fundamental en los peces puesto que proporciona las condiciones favorables para la maduración gonadal, el desove y el desarrollo de los embriones y de las larvas en términos de las necesidades fisicoquímicas y de alimento (Gilmore *et al.* 1983, McMichel *et al.* 1989). En *C. undecimalis* el acoplamiento en los valores de temperatura y salinidad durante la fase reproductora que favorecen el proceso reproductor ha sido previamente reportado en las poblaciones marinas de la Florida (Roberts *et al.* 1999). El momento en el que ocurre el desove y el desarrollo larvario del robalo común parece coincidir con la presencia de otros organismos que aprovechan las condiciones favorables y constituyen el alimento de larvas y adultos.

Los desoves y el desarrollo larvario también coinciden con la temporada de tormentas y nortes característicos de esta zona del golfo de México (Salas de León *et al.* 1992, Expósito *et al.* 2009). Estos fenómenos pueden favorecer la dispersión de embriones y larvas mediante las corrientes costeras que se intensifican localmente y que facilitan el acceso de las larvas a los sistemas estuarinos. La migración larvaria hacia los sitios de menor salinidad, característica de los

centropómidos, coincide con la disminución en la salinidad del ambiente marino medida hacia el final del año. Esto implica que las larvas de *C. undecimalis* que viajan con las corrientes costeras se desplacen hacia las aguas poco salinas características de las descargas del sistema Grijalva-Usumacinta. Se mueven así hacia los estuarios y lagunas costeras que son los sitios preferidos para su desarrollo juvenil (Gilmore *et al.* 1983, Peters *et al.* 1998, Díaz-Jaimes *et al.* 2007, Prodocimo *et al.* 2008, Tringali *et al.* 2008). Este mecanismo de transporte permitiría que juveniles procedentes de diversas áreas de desove de la región, donde confluyen adultos provenientes del sistema de ríos y áreas marinas cercanas, ingresen hacia los ríos y cumplan parte de su ciclo de vida en ambiente dulceacuícola.

El comportamiento migratorio, reproductor y las condiciones ambientales donde ocurre el desove del robalo común parecen favorecer la mezcla y dispersión de descendientes promoviendo la alta variabilidad genética observada en los individuos de este estudio (Taylor *et al.* 1998, Díaz-Jaimes *et al.* 2007, Prodocimo *et al.* 2008, Tringali *et al.* 2008, Perera *et al.* 2011). Estas características biológicas, sumadas a la capacidad eurihalina de la especie, facilitan que el robalo aproveche los hábitats de salinidad contrastante. Los resultados del análisis de las frecuencias alélicas a través de los índices de similitud y diferenciación poblacional indican que los individuos capturados tanto en ambiente dulceacuicola como en el marino pertenecen a la misma unidad poblacional, por lo que la salinidad y la distancia no representan barreras geográficas y permiten considerar a todo el sistema fluvial y costero como parte del ámbito de distribución de *C. undecimalis*. Los organismos capturados en sitios distantes unos 300 km son genéticamente similares y se presenta un elevado número de migrantes por generación, por lo que no existen subpoblaciones locales de la especie. El flujo de genes entre individuos del ambiente marino y dulceacuícola sólo puede ser explicado por los movimientos migratorios entre ambas localidades. La alta variabilidad genética puede tener su origen en la participación de individuos provenientes de otras áreas en los eventos masivos de desove en ambiente marino, característicos de *C. undecimalis* (Taylor *et al.* 1998). Lo anterior nos sugiere que la capacidad migratoria que despliega esta especie juega un papel fundamental en las diferentes etapas de su ciclo de vida en el aprovechamiento de diversos recursos y ambientes.

El análisis de las variables morfométricas y las características biológicas de *C. undecimalis*, como el hecho de que presentan hermafroditismo secuencial y la presencia de ejemplares en transición observados en tallas intermedias en este estudio, nos permitió proponer la secuencia de eventos que ocurren conforme transcurre el ciclo de vida del robalo común en el sistema Grijalva-Usumacinta. Aunado a lo anterior, está el hecho de que se presente una alta proporción de machos de menor talla y peso en el ambiente dulceacuícola mientras que en el marino, se observa una mayor proporción de hembras e individuos de mayor talla y peso (Taylor *et al.* 2000; Perera-García *et al.* 2011; Andrade *et al.* 2013). Consideramos además el papel de protección y alimentación que juegan los hábitats dulceacuícola y salobre durante la etapa juvenil, así como el hecho de que los adultos dependen del ambiente marino para el desove (McMichel *et al.* 1989; Peters 1998; Aliaume *et al.* 2000; Brennan *et al.* 2008). Así, la secuencia inicia con la gran abundancia de machos jóvenes que alcanzan la madurez sexual en ambiente dulceacuícola. Estos organismos migran hacia el ambiente marino como machos maduros, posiblemente junto con algunas hembras jóvenes que son escasas en el ambiente dulceacuícola y así se establece un stock reproductor. Es factible que algunos de estos ejemplares se encuentren o están por iniciar la transición sexual, hecho que explicaría la abundancia de hembras de gran talla en el ambiente marino.

Los resultados de este estudio muestran que *C. undecimalis* presenta variantes en la estrategia reproductora cuando se localiza en ambientes distantes con condiciones disímiles. Las diferencias ambientales impuestas por el intervalo de salinidad (desde 0.1 hasta 35 ups) en el que habita el robalo común, no representan una barrera para el flujo genético entre dos localidades que se ubican a unos 300 km de distancia. Asimismo, esta especie puede alcanzar etapas avanzadas de madurez gonadal en el agua dulce.

Los organismos provenientes de ambas localidades deben ser considerados como integrantes de un solo grupo pesquero con ejemplares migrando entre el ambiente marino y dulceacuícola. Considerando los diversos aspectos biológicos del robalo común y las particularidades reproductoras observadas en este estudio, resulta necesario que las políticas de regulación pesquera incluyan una reducción de las capturas en la zona costera durante la estación reproductora y la protección del hábitat dulceacuícola para mantener las posibles rutas

migratorias y las áreas de alimentación en los hábitats ribereños. A la luz de los resultados de este estudio que aportan nuevos conocimientos sobre la biología y el ciclo de vida del robalo común, es necesario modificar las estrategias de conservación actuales de esta especie con la finalidad de establecer un programa de conservación que contemple el manejo integral del ámbito geográfico del robalo común en el sistema fluvial Grijalva-Usumacinta y permita su aprovechamiento sustentable.

CONCLUSIONES

Los individuos de *C. undecimalis* que habitan en ambientes distantes (≥ 300 km) y caracterizados por regímenes de salinidad contrastantes del sistema Grijalva-Usumacinta, pertenecen a la misma población genética. Hay evidencias del intenso flujo migratorio de estos organismos provenientes del elevado número de genes que se comparten entre los especímenes capturados en cada localidad.

El ciclo reproductor de ambos sexos de *C. undecimalis* se completa en el ambiente marino. Por primera vez se muestra que en el sistema de dulceacuícola, los individuos de esta especie alcanzan estadios avanzados de la gametogénesis, pero no existen evidencias de que ocurra el desove, el cual sólo se lleva a cabo en el mar.

C. undecimalis presenta un ciclo reproductor que comprende una fase en la que los organismos son capaces de reproducirse, separada en el tiempo de aquella en la que no se reproducen. Ambas se acoplan con las fluctuaciones estacionales de las condiciones ambientales, lo que permite que los recursos que ofrecen los sistemas dulceacuícolas y el costero sean aprovechados para maximizar el crecimiento individual.

En ambos sexos las concentraciones séricas de los esteroides sexuales y de la vitelogenina muestran un patrón que se relaciona con los índices que muestran el estado reproductor y la actividad gametogénica en ambos sexos. La progresión temporal de este patrón coincide tanto en los organismos que se obtuvieron en el ambiente dulceacuícola como en el marino. En cambio, en las hormonas tiroideas no se logró identificar algún patrón.

El robalo común presenta una secuencia de crecimiento que estratégicamente ubica a los jóvenes en el ambiente dulceacuícola donde son abundantes los machos y a los adultos en el marino donde abundan las hembras. En ambos ambientes se encuentran ejemplares en transición sexual en un intervalo de talla intermedia que incrementa la frecuencia de hembras en tallas mayores. La estrategia de cambio de sexo potencializa la capacidad reproductora.

Los eventos migratorios de la población de *C. undecimalis* que habita a lo largo del sistema fluvial tienen varios propósitos, entre los que están atender las necesidades de alimentación y refugio de las primeras fases del ciclo de vida, después de la eclosión que ocurre en el mar. Para que los organismos que maduraron sexualmente en el sistema de agua dulce participen en los eventos de desove en el mar, es necesario que retornen como adultos sexualmente maduros a las zonas de desove en la costa.

REFERENCIAS GENERALES

Adams A, Wolfe R, Pine W, Thornton B. 2006. Efficacy of PIT tags and an autonomous antenna system to study the juvenile life stage of an estuarine-dependent fish. *Estuaries and Coast.* 29: 311-317

Aliaume C, Zerbi A, Joyeux J, Miller J. 2000. Growth of juvenile *Centropomus undecimalis* in a tropical island. *Environmental Biology of Fishes* 59: 299-308.

Andrade H, Santos J, Taylor R. 2013. Life-history traits of the common snook *Centropomus undecimalis* in a Caribbean estuary and large-scale biogeographic patterns relevant to management. *Journal of Fish Biology* 82: 1951-1974

Barannikova I, Baunova L, Gruslova A, Semenkova T. 2003. Steroids in sturgeon's migration regulation. *Fish Physiology and Biochemistry* 28: 263-264.

Berg O, Finstad A. 2008. Energetic trade-off in reproduction: cost benefit considerations and plasticity, p. 351-375. In M.J. Rocha, A. Arukwe & B.C. Kapoor (eds.). Fish reproduction. Science, Edenbridge Ltd., New Hampshire, USA.

Blanton M, Specker J. 2007. The Hypothalamic-Pituitary-Thyroid (HPT) Axis in Fish and Its Role in Fish Development and Reproduction. *Critical Reviews in Toxicology* 37:97-115.

Brennan N, Walters C., Leber M. 2008. Manipulations of stocking magnitude: Addressing density-dependence in a juvenile cohort of Common Snook (*Centropomus undecimalis*). *Reviews in Fisheries Science* 16: 215-227.

Cardwell J, Liley R. 1991. Androgen control of social status in males of a wild population of stoplight parrotfish, *Sparisoma viride* (Scaridae). *Hormones and Behavior*, 25:1-18

Ceapa P, Williot F, Le Menn, Davail-Cuisset A. 2002. Plasma sex steroids and vitellogenin levels in stellate sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas) during spawning migration in the Danube River. *Journal of Applied Ichthyology* 18: 391-396.

Chan S, Tan C, Pang M, Lam T. 1991. Vitellogenin purification and development of assay for vitellogenin receptor in oocyte membranes of the tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1766). *The Journal of Experimental Zoology* 257: 96-109.

Chávez-Lomelí M, Mattheeuws A, Pérez-Vega E. 1989. Biología de los Peces del Río San Pedro en Vista de Determinar su Potencial para la Piscicultura. INREB-FUCID. Xalapa, Veracruz, México. 222 p.

Crim L, Evans D, Vickery B. 1983. Manipulation of seasonal reproductive cycle of the Landlocked Atlantic salmon *Salmo salar* by LHRH analogues administered at various stages of gonadal development. *Canadian Journal of fisheries and Aquatic Sciences* 40:61-67.

- Coward K, Bromage N, Hibbitt O, Parrington J. 2002. Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. *Reviews in Fish Biology* 12: 33-58.
- Díaz-Jaimes P, Sandoval-Castellanos E, Uribe-Alcocer M. 2007. Comparative population structure of three snook species (Teleostei: Centropomidae) from the eastern central Pacific. *Ichthyological Research* 54: 380–387
- Dodson J. 1988. The nature and role of learning in the orientation and migratory behavior of fish. *Environmental Biology of Fishes* 23(3):161-182
- Expósito G, Salas D, Monreal M, Salas D, Vázquez F. (2009). Inertial currents in the southern Gulf of Mexico. *Ciencias Marinas*, 35, 287-296.
- Fostier A, Jalabert B, Billard R, Breton B, Zohar Y. 1983. *The Gonadal Steroids*. In: W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson (editors). *Fish Physiology*, Vol. IXA. Academic Press, New York, N.Y. pp. 277-372.
- Gilmore R, Donohoe C, Cooke D. 1983. Observations on the distribution and biology of the common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch). *Florida Science*. 46: 313-336.
- Gorbman A. 1983. *Reproduction in Cyclostome fishes and its regulation*. In: W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson (editors). *Fish Physiology*, Vol. IXA. Academic Press New York pp. 1-30.
- Grier H. 1985. *Reproduction of the snook, Centropomus undecimalis: structure of the testis I reproductive males*. In: Proc. World Marine Society. 16th Annual Meeting. January 13-17, 1985. Orlando, FL. (abstract).
- Grier H. 2000. Ovarian germinal epithelium and folliculogenesis in the Common Snook *Centropomus undecimalis* (Teleostei: Centropomidae). *Journal Morphology*. 234. 265-281.
- Grier H, Uribe M, Patiño R. 2009. *The ovary, folliculogenesis and oogenesis in Teleost (2)*. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes: Agnatans and Bony Fishes* (Edited by B. G. Jamieson) Science Publishers, USA. pp 25-80.
- Grier H, Uribe M. 2009. *The testis and spermatogenesis in teleost (4)*. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes: Agnatans and Bony Fishes* (Edited by B. G. Jamieson) Science Publishers, USA. pp 119-142.
- Habibi H, Andreu-Vieyra C. 2007. Hormonal regulation of follicular atresia in teleost fish P.J. Babin et al (eds.), *The Fish Oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Applications*, 235–253. Springer
- Huber C. 2007. *Habitat preferences of juvenile common snook in the lower Rio Grande Texas*. Master of Science Tesis. Texas Tech University. 52 p.

Kitani T, Matsumoto S, Yamada H, Amano M, Iwata M, Ueda H. 2003. Changes in GnRH levels in the brain and pituitary gland during migrations of sockeye salmon and chum salmon. *Fish Physiology and Biochemistry* 28: 269–270.

Lahnsteiner F, Patzner R. 2009. *Male reproductive system: Spermatic duct and accessory organs of the testis (5)*. In: Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes: Agnatans and Bony Fishes (Edited by B. G. Jamieson) Science Publishers, USA. pp 142-186.

Le menn F, Cerdà J, Babin P. 2007. Ultrastructural aspects of the ontogeny and differentiation of ray-finned fish ovarian follicles. P.J. Babin et al (eds.), *The Fish Oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Applications*, 1–37. Springer.

Lombardi J. 1998. *Comparative Vertebrate Reproduction*. Kluwer Academic Publishers, N. Y. USA, 449 p.

McCormick S. 2001. *Endocrine Control of Osmoregulation in Teleost Fish*. *American Zoologist* 41:781–794

McMillan D. 2007. *Fish Histology: female reproductive systems*. Springer, The Netherlands, 598 p.

Mancera J, McCormick S. 1999. Influence of cortisol, growth hormone, insulin-like growth factor I and 3,30,5-triiodo-L-thyronine on hypoosmoregulatory ability in the euryhaline teleost *Fundulus heteroclitus*. *Fish Physiology and Biochemistry* 21: 25–33.

Mancera J, McCormick S. 2007. Role of prolactin, growth hormone, insulin-like growth factor I and Cortisol in Teleost regulation. In B. Baldisseroto, J. M. Mancera and B. G. Kapoor (Eds) *Fish Osmoregulation*. Science Publishers, 540 p.

Matsubara T, Sawano K. 1995. Proteolytic cleavage of vitellogenin and yolk proteins during vitellogenin uptake and oocyte maturation in barfin flounder (*Verasper moseri*). *The Journal of Experimental Zoology* 272:34-45

Matsubara T, Koya Y. 1997. Course of proteolytic cleavage in three classes of yolk proteins during oocyte maturation in barfin flounder *Verasper moseri*, a marine teleost spawning pelagic eggs. *The Journal of Experimental Zoology* 278: 189-200.

McMichael R, Peters J, Parsons G. 1989. Early life history of the snook, *Centropomus undecimalis*, in Tampa Bay, Florida. *NE Gulf Science*. 10: 113-126.

Miura T, Yamauchi K, Takahashi T, Nagahama Y. 1991. Hormonal induction of all stages of spermatogenesis in vitro in the male Japanese eel (*Anguillajaponica*). *Proc. Nati. Acad. Sci.* 88:5774-5778,

Miura T, Miura C. 2001. Japanese eel: A model for analysis of spermatogenesis. *Zool Sci* 18:1055-1063.

Modig C, Liselotte Westerlund L, Olsson P. 2007. Oocyte Zona Pellucida Proteins. P.J. Babin et al (eds.), *The Fish Oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Applications*, 113-139. Springer.

- Mylonas C, Magnus Y, Klebanov Y, Gissis A, Zohar Y. 1997. Reproductive biology and endocrine regulation of final oocyte maturation of captive white bass. *Journal of fish biology* 51: 234-250.
- Nagahama Y. 1983. *The functional morphology of teleost gonads*. In: W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson (editors). *Fish Physiology*, Vol. IXA. Academic Press, New York, N.Y. pp. 223-275.
- Nagahama Y. 1990. Endocrine control of oocyte maturation in teleosts. *Progress in Comparative Endocrinology*: 358-392.
- Nagahama Y, Yoshikuni M, Yamashita M, Sakai N, Tanaka M. 1993. Molecular endocrinology of oocyte growth and maturation on fish. *Fish Physiology and Biochemistry* 11(1-6): 3.14.
- Neidig L, Skapura D, Grier H, Dennis W. 2000. Techniques for spawning common snook: broodstock handling, oocyte staging and egg quality. *North American Journal of Aquaculture* (62):103-113.
- Patiño R. 1997. Manipulations of the reproductive system of fishes by means of exogenous chemicals. *The progressive fish-culturist* 59:118-128.
- Patiño R, Thomas P. 1990. Gonadotropin stimulates 17α , 20β 21-trihydroxy-4-pregnen-3-one from endogenous substrates in atlantic croaker ovarian follicles undergoing final maturation in vitro. *General and Comparative endocrinology* 78: 474-478.
- Perera-García M, Mendoza-Carranza M, Contreras-Sánchez W., Huerta-Ortiz M, Pérez-Sánchez E. 2011. Reproductive biology of Common Snook *Centropomus undecimalis* (Perciformes: Centropomidae) in two tropical habitats. *Revista Biología Tropical* 59: 669-681.
- Perera-García M, Mendoza-Carranza M, Contreras-Sánchez W, Ferrara A, Huerta-Ortiz M, Hernández-Gómez R. 2013. Comparative age and growth of common snook *Centropomus undecimalis* (Pisces: Centropomidae) from coastal and riverine areas in Southern Mexico. *Revista Biología Tropical* 61: 807-819.
- Peter R. 1983. *The brain and neurohormones in teleosts reproduction*. . In: W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson (editors). *Fish Physiology*, Vol. IXA. Academic Press, New York pp. 97-136.
- Peters K, Matheson R, Taylor R. 1998. Reproduction and early life history of common snook, *Centropomus undecimalis*, (Bloch) in Florida. *Bulletin of Marine Science*. 63. 509-529.
- Prodocimo V, Tscha M, Pie M, Oliveira-Nieto J, A. Ostrensky A, Boerger W. 2008. Lack of genetic differentiation in the fat snook *Centropomus parallelus* (Teleostei: Centropomidae) along the Brazilian coast. *Journal of Fish Biology* (73): 2075–2082

Rakowitz G, Berger B, Kubecka J, Keckeis H. 2008. Functional role of environmental stimuli for the spawning migration in Danube nase *Chondrostoma nasus* (L.). *Ecology of Freshwater Fish* 17:502–514

Redding M, Patiño R. 1993. *Reproductive Physiology*. In D.H. Evans (Editor). The Physiology of Fishes. Chapter 16. CRC Press, Boca Raton Florida.

Reddy P, Renaud R, Leatherland J. 1998. Effect of cortisol and triiodothyronine on ovarian steroidogenesis in vitro in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* at two different stages of oocyte maturation. 1998. In J. Trant, Y. Zohar, A. Place and D. Mackinlay (Editors). International Congress on the biology of fish. Baltimore MD, July 26-30 pp. 95-99

Roberts S, Jackson L, King W, Taylor R, Grier H, Sullivan C. 1999. Annual Reproductive Cycle of the Common Snook: Endocrine Correlates of Maturation. *Transactions of the American Fisheries Society*, 128, 436-445

Salas L, Monreal M, Aldeco J. (1992). Periodos característicos en las oscilaciones de parámetros meteorológicos en Cayo Arcas, México. *Atmósfera*, 5, 193-205.

Sandoval-Castellanos E, Uribe-Alcocer M, Díaz-Jaimes P. 2005. Diferenciación genética poblacional en robalos (Pisces:Centropomidae) del pacífico Mexicano. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 21 (Supl. 1):35-41

Schultz W, Renato L, Lareyre J, Le Gac F, Chiarini-Garcia H, Nobrega R, Miura T. 2010. Spermatogenesis in fish. *General Comparative Endocrinology* 165:390-411

Seyoum S, Tringali M, Sullivan J. 2005. Isolation and characterization of 27 polymorphic microsatellite loci for the common snook *Centropomus undecimalis*. *Molecular Ecology Notes*:192-194.

Shoji T, Yamamoto Y, Nishikawa D, Kurihara K, Ueda H. 2003. Amino acids in stream water are essential for salmon homing migration. *Fish Physiology and Biochemistry* 28: 249-251.

Sundararaj B, Nath P, Burzawa-Gérard E. 1982. Synthesis of vitellogenin and its uptake by the ovary in the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) in response to carp gonadotropin and its subunits. *General and comparative Endocrinology* 46: 93-98.

Suwa K, Yamashita M. 2007. Regulatory mechanisms of oocyte maturation and ovulation. P.J. Babin et al (eds.), The Fish Oocyte: From Basic Studies to Biotechnological Applications, 323-347 Springer.

Stewart D, Middlemas S, Youngson A. 2006. Population structuring in Atlantic salmon (*Salmo salar*): evidence of genetic influence on the timing of smolt migration in sub-catchment stocks. *Ecology of Freshwater Fish* 15: 552–558

Takey Y. 1993. Role of peptides hormones in fish osmoregulation. Rankin J. and F. Jensen (Edts). Fish ecophysiology. Chapman and Hall, London UK. pp. 137-160.

- Taylor R, Grier H, Whittington J. 1998. Spawning rhythmus of common snook in Florida. *Journal Fish Biology* 53: 502-520.
- Taylor R, Whittington J, Grier H, Crabtree R. 2000. Age, Growth, and Protandric sex reversal in common snook, *Centropomus undecimalis*, from the east and west coasts of Florida. *Fish Bulletin*. 98:612-624.
- Thomsen D, Koed A, Nielsen C, Madsen S. 2007. Overwintering of sea trout (*Salmo trutta*) in freshwater: escaping salt and low temperature or an alternate life strategy? *Canadian J. Fisheries and Aquatic Sciences* 64: 793-802.
- Tringali M, Bert T. 1996. The Genetic stock structure in common snook (*Centropomus undecimalis*). *Canadian Journal Fisheries Aquatic Science* 53. 974-984.
- Tringali M, Bert T, Seyoum S. 1999. Genetic identification of centropomine fishes. *Transactions of American Society*. 1(8): 446-458.
- Tringali M, Seyoum S, Wallace E, Higham M, Taylor R, Trotter A, Whittington J. 2008. Limits to the Use of Contemporary Genetic Analyses in Delineating Biological Populations for Restocking and Stock Enhancement. *Reviews in Fisheries Science*, 16(1–3):111-116.
- Trotter A, Blewett D, Taylor R, Stevens P. 2012. Migrations of common snook from a tidal river with implications for skipped spawning. *Transactions of the American Fisheries Society* 141:1016-1025
- Tucker J. 1987. Snook and tarpon snook culture and preliminary evaluation for commercial farming. *Progressive Fish Culturist*. 49. 49-57.
- Tyler C, Sumpter J, Bromage N. 1988. In vivo ovarian uptake and processing of vitellogenin in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *The Journal of Experimental Zoology* 246: 171-179.
- Vazzoler A. 1996. Biologia da reprodução de peixes Teleósteos: Teoría e práctica. EDUEM, Maringa, Brasil.
- Yaron Z. 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture* 129: 49-73.
- Zohar Y. 1998. *Gonadotropin Releasing hormones: why do fish need multiple forms?* 1998. In J. Trant, Y. Zohar, A. Place and D. Mackinlay (Editors). International Congress on the biology of fish. Baltimore MD, July 26-30 pp. 1-4