



Tecnociencia 2012, Vol. 14, N° 2.

DESCRIPCIÓN MACRO Y MICROSCÓPICA DE LAS GÓNADAS DE LA CHERNA ROJA: *EPINEPHELUS ACANTHISTIUS* (SERRANIDAE) CAPTURADAS EN EL PARQUE NACIONAL COIBA, PACÍFICO PANAMEÑO

Leysi Del Carmen Díaz Madrid, Ángel Javier Vega y Yolani A. Robles P.
Universidad de Panamá. Centro Regional Universitario de Veraguas.
E-mail:angeljv@cwpanama.net

RESUMEN

Se recolectaron las gónadas de 23 individuos de *E. acanthistius* en giras al PNC, durante septiembre de 2009 y febrero de 2010. Las gónadas fueron removidas, medidas y asignadas a un estadio de madurez según criterios macroscópicos. Posteriormente fueron fijadas por 24 horas en solución FAAC. A cada gónada se le cortó una sección central del lóbulo derecho, la cual fue deshidratada y embebida en parafina para realizar cortes histológicos de 3 μ de espesor que fueron teñidos con hematoxilina y eosina, y examinadas bajo el microscopio. Se identificaron 14 ovarios y nueve testículos. Las gónadas son órganos pares, que variaron en peso, tamaño y forma según aumentó su grado de madurez, las pequeñas eran alargadas y flácidas, mientras que las maduras tenían aspecto globoso, compactas, con abundante irrigación sanguínea. En los ovarios se observaron ovocitos poliedros. Macroscópicamente, los testículos se presentaron en desarrollo y las hembras presentaron seis ovarios en desarrollo, cuatro desarrollados y cuatro maduros. *E. acanthistius* es una especie protógina monándrica; ontogenéticamente todos los machos se clasificaron como completos y todas las hembras como maduras, estas últimas presentaron estadios microscópicos maduro inactivo, maduro inactivo avanzado y maduro activo. También se identificaron cinco fases del ciclo ovocitario: cromatino nucleolar, perinucleolar, vesículas vitelinas, glóbulos vitelinos y núcleos migratorios; y tres formas de reabsorción ovocitaria: ovocitos previtelogénicos fragmentados, atresia y cuerpos amarillos, las tres presentes en las hembras y sólo cuerpos amarillos en los machos.

PALABRAS CLAVES

Epinephelus acanthistius, desarrollo gonadal, desarrollo ovocitario, reproducción en chernas, Parque Nacional Coiba.

ABSTRACTS

A total of 23 *E. acanthistius* gonads were collected between September 2009 and February 2010 during monthly trips to the Coiba National Park. Gonads removed from the groupers were measured to be macroscopically assigned to a level of maturity. They were fixed for 24 hours in FAAC solution. The middle section of the right lobe of each gonad was dehydrated and embedded in paraffin. 3 µm thick microtome slices were stained with hematoxylin and eosin and examined under a light microscope. We identified nine testes and 14 ovaries. The gonads were bilobed bodies and varied in shape, size, and weight according to their degree of maturity. The smaller ones were elongated and flacid, while the mature ones were globular, compacted, and with abundant blood irrigation. The ovaries showed polyhedral oocytes. Macroscopic examination of testis revealed nine gonads under development. Six female gonads were under development, four developed, and four in mature state. Ontogenetically all males were classified as complete, while females were classified as mature. Mature females were further classified as: resting mature (six gonads), advanced resting mature (four gonads), and mature (four gonads). *E. acanthistius* is a protogynus species (all fish begin as females and males develop from females that have changed sexes). Microscopic analysis of the females showed three stages of development: mature inactive, advanced mature inactive, and mature active. It was identified five phases in the oocyte developmental cycle: chromatin nucleolus, peri-nucleolus, yolk vesicles, yolk globules, and migratory nucleus. Also, three mechanisms for oocyte reabsorption: fragmented pre-vitellogenic oocytes, atresia, and yellow bodies were recognized. These three mechanisms were found on females, while males showed only yellow bodies.

KEYWORDS

Epinephelus acanthistius, gonadal development, ovocitaria development, reproduction of grouper, Coiba National Park.

INTRODUCCIÓN

Muchos autores han puesto su atención en estudios reproductivos en diferentes especies de peces de interés comercial (Dell' Arciprete *et al.*, 1987; González & Lugo, 1997, Samoily & Roelofs, 2000, McIlwain *et al.*, 2006, Mahmoud, 2009; Oliveira *et al.*, 2011), incluso han desarrollado modelos estandarizados para la identificación de las fases del ciclo reproductivo que se utilizan comúnmente en la ciencia

pesquera (Brown-Peterson *et al.*, 2011), haciendo hincapié en que el conocimiento de los patrones sexuales, ciclos gonadales y épocas de desove en las especies objetivo, son requeridos para realizar un manejo apropiado de las pesquerías.

En especies hermafroditas, la identificación de algunos individuos, especialmente los intersexos, sólo se logra mediante el análisis histológico de las gónadas evidenciando que la microscopía es una herramienta indispensable de apoyo y validación a las evaluaciones macroscópicas y que ayuda a despejar dudas sobre la interpretación realizada por métodos macroscópicos (García-Cagide & García, 1995; Mackie & Lewis, 2001).

Los serránidos son un grupo importante en pesquerías (Aburto-Oropesa *et al.*, 2008), aportando volúmenes importantes dentro de la pesca artesanal con destino a la exportación (Vega, 2006; Vega *et al.*, 2011). A pesar de esto, es muy poco lo que se conoce sobre la biología reproductiva de las especies explotadas en el Pacífico Oriental Tropical, por lo que en el presente trabajo se describen las características macro y microscópicas de las gónadas de la cherna roja, *Epinephelus acanthistius*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Entre septiembre de 2009 y febrero de 2010, se recolectaron las gónadas de 23 individuos de *Epinephelus acanthistius*; capturados en aguas del Parque Nacional Coiba, Pacífico de Panamá (Fig. 1). Los ejemplares capturados fueron medidos en su longitud total (cm) y pesados (g) para luego ser abiertos ventralmente para extraer las gónadas, las cuales fueron pesadas (g) y caracterizadas según color, consistencia, forma e irrigación sanguínea, para asignar los estadios de madurez a nivel macroscópico, según escala modificada a cinco criterios con base en Laevastu (1971), Dell' Arciprete *et al.*, (1987) y McIlwain *et al.*, (2006):

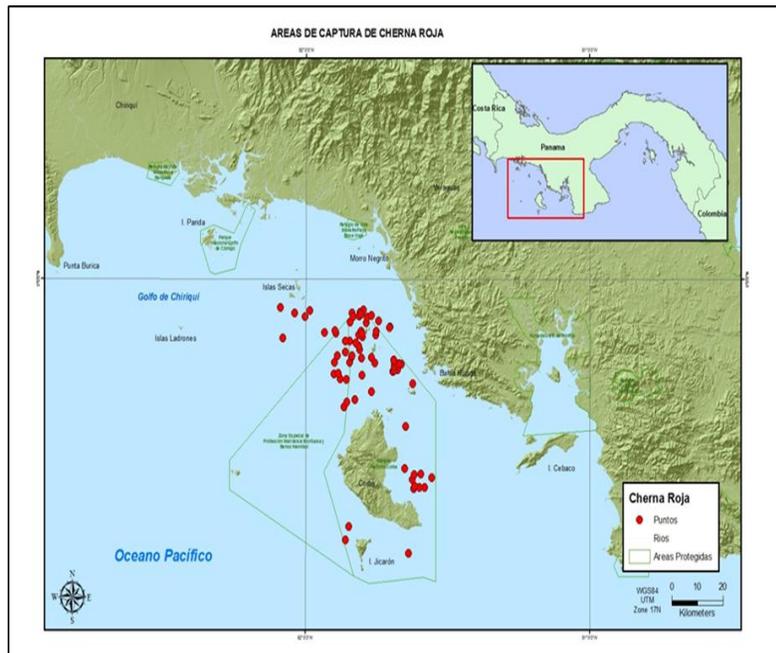


Fig. 1. Golfo de Chiriquí. Los puntos rojos indican los sitios de muestreo para la Cherna roja: *Epinephelus acanthistius*. Las muestras de gónadas fueron obtenidas de peces capturados en el Parque Nacional Coiba. Fuente Vega *et al.*, 2011.

Estadio I. (Indiferenciado): gónadas muy pequeñas, no se puede distinguir el sexo.

Estadio II. (En Desarrollo): Se puede distinguir el sexo, mediante la forma y color de las gónadas, estas son pequeñas, de consistencia flácida y ocupan $\frac{1}{4}$ de la longitud de la cavidad abdominal.

Estadio III (Desarrollado): Ovarios anaranjados-rojizos con huevos opacos visibles a simple vista, testículos blanco-rojizos ocupando $\frac{2}{4}$ de la cavidad abdominal.

Estadio IV (Maduro): gónadas ocupan $\frac{3}{4}$ de la longitud total de la cavidad abdominal, ovarios de color rosáceo, amarillo o naranja, de aspecto granular con huevos transparentes a translucidos, testículos blancos a crema.

Estadio V (Desovado): Ovas y testículos flácidos, contraídos cerca de la mitad de la cavidad abdominal; en hembras, con restos de huevos opacos y vasos sanguíneos rotos.

Posteriormente, las gónadas fueron depositadas en envases plástico y fijadas utilizando FAACC (formalinal, ácido acético glacial y cloruro de calcio anhidro) (Mackie, 2000, Samoily & Roelofs, 2000). Pasadas 24 horas, se cortó un fragmento de la sección media del lóbulo derecho de cada gónada, el cual fue deshidratado e incluido en parafina; se efectuaron cortes transversales de 3 μ de espesor y se tiñeron con hematoxilina y eosina, para la obtención de los preparados histológicos (Samoily & Roelofs, 2000; Ferreira *et al.*, 2004).

Las placas fueron examinadas bajo la luz de un microscopio óptico en 4x, 10x y 40x y se tomaron microfotografías. La escala de madurez gonadal se confeccionó con base en los criterios para identificar los estadios de desarrollo de las hembras en *Plectropomus leopardus* donde se reconocen cinco estadios que se diferencian por el nivel de desarrollo gametogénico (Samoily & Roelofs, 2000). El ciclo ovocitario fue descrito con base en Lucano *et al.* (2001) donde se reconocen siete estadios basados en los cambios citológicos del ovocito.

RESULTADOS

Macroscopía: Se identificaron 14 hembras y nueve machos. Las gónadas de *E. acanthistius* son órganos pares, separados anteriormente y unidos en su extremo posterior, de color rosáceo translucido a anaranjado y consistencia flácida a globosa, según aumentó su grado de madurez.

Testículos: Los nueve machos, con longitudes entre 59.4 y 76.2 cm, presentaron sus gónadas en desarrollo (estadio 2). Los testículos fueron órganos pequeños y alargados, de consistencia muy flácida y coloración rosácea translúcida, con mínima irrigación sanguínea. El peso de la gónada osciló entre 2.2 y 5.1 g y su longitud promedio fue de 6 cm, aproximadamente (Fig. 2).

Ovarios

Ovario en desarrollo “2”: Seis individuos entre 41.5 y 70.2 cm de longitud total, presentaron estas gónadas. Consistieron en órganos pequeños, alargados y de color rosáceo, consistencia flácida y capilares sanguíneos poco evidentes. Las gónadas pesaron entre 0.4 y

7.2 g y midieron 4 cm, aproximadamente. No se observaron ovocitos a simple vista (Fig. 3).

Ovario desarrollado “3”: Se presentó en cuatro individuos entre 58.3 y 80.1 cm de longitud total. Su coloración fue anaranjada, de mayor tamaño que el estadio “2”, consistencia firme y forma elíptica. Sus pesos oscilaron entre 7.4 y 32.2 g y midieron 6.0 cm, aproximadamente. Se observaron ovocitos poliedros (Fig. 3).

Ovario maduro “4”: Se presentó en cuatro individuos entre 59.3 y 76.5 cm de longitud total. Estos ovarios aumentaron considerablemente su tamaño y su peso en relación a los estadios anteriores; su consistencia fue compacta y su aspecto globoso, su longitud se aproximó a 12 cm y el peso osciló entre 48.2 y 85 g. Los ovocitos se tornaron más diferenciados a los del estadio 3 y la vena ovárica se observó fuertemente pronunciada, con irrigación sanguínea prominente (Fig. 3).



Fig. 2. Estadio macroscópico en testículo de *E. acanthistius*. Estadio “2” en desarrollo. Escala modificada de Laevastu (1971) y McIlwain et al. (2006). Presentan forma alargada, consistencia flácida y mínima irrigación sanguínea.

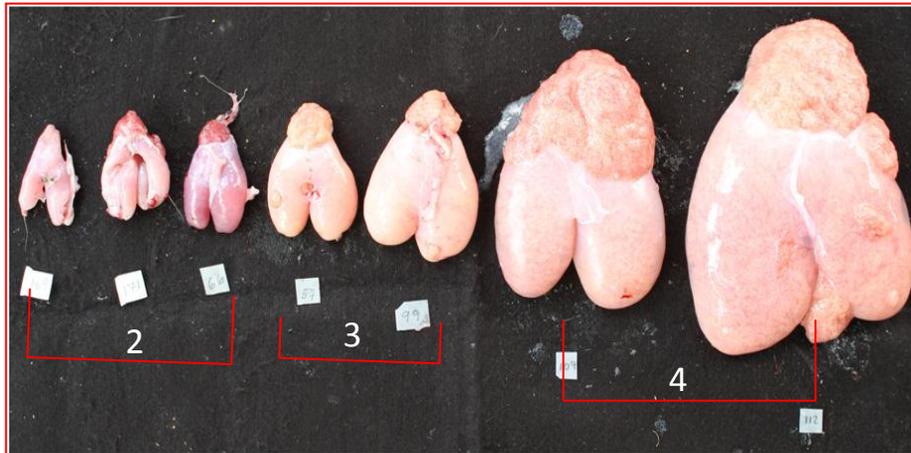


Fig. 3. Estadios macroscópicos de los ovarios de *E. acanthistius*: estadio “2” en desarrollo, estadio “3” desarrollado y estadio “4” maduro. Escala modificada de Laevastu (1971) y McIlwain et al. (2006).

Microscopía

Testículos: se observó agregación de túbulos seminíferos, revestida de epitelio germinativo en diferentes grados de espermatogénesis, lo cual sugiere un tipo de reproducción asincrónica o parcial. También se identificaron pequeñas porciones de tejido conectivo intertubular, tejido sanguíneo y fibras de tejido muscular liso dispersas. En los bordes del corte, apreciamos mayor proporción de tejido conectivo denso, también vasos sanguíneos y abundantes cuerpos amarillos. Según su desarrollo ontogenético todos los machos se clasificaron como completos (Fig. 4).

Ovarios: en sección transversal se observó tejido conectivo, fibras de tejido muscular liso y vasos sanguíneos que apoyan la formación de crestas o láminas llamadas lamelas, las cuales albergan numerosas ovogonias. Según su desarrollo ontogenético, las catorce hembras se consideraron maduras. En cuanto al desarrollo sexual, identificamos seis ovarios en estadio maduro inactivo, cuatro en estadio maduro inactivo avanzado y cuatro en estadio maduro activo.

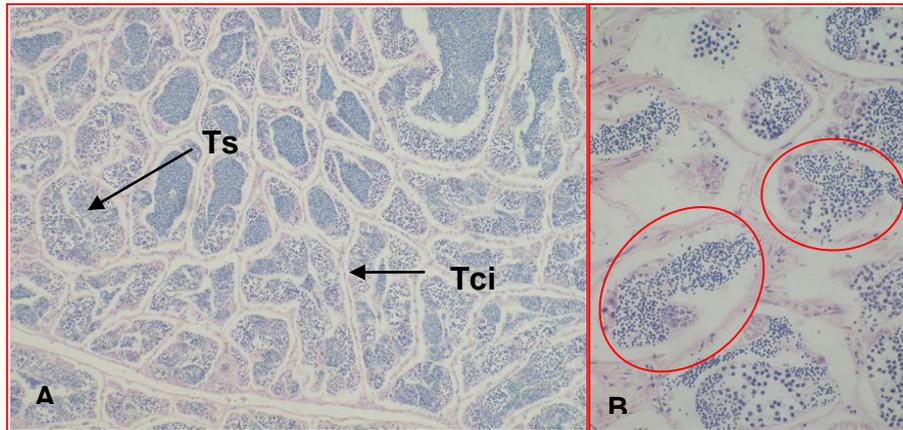


Fig. 4. Macho completo de *E. acanthistius*. A: Gónada dominada (>50%) por tejido testicular. Ts= túbulo seminífero, Tci= tejido conectivo intertubular. Objetivo: 10x. B: epitelio germinativo en diferentes grados de espermatogénesis. Objetivo 40x.

Estadio Maduro Inactivo: se observó únicamente ovocitos previtelogénicos de diversas formas y tamaños, embebidos en lamelas compactas y organizadas. También observamos comúnmente cuerpos amarillos y ovocitos previtelogénicos fragmentados (Fig. 5a).

Estadio Maduro Inactivo Avanzado: Se presentaron formas vitelogénicas incipientes y poca vitelogénesis secundaria; sin embargo, estuvieron dominados por ovocitos previtelogénicos. La expansión de las lamelas fue notoria, los cuerpos amarillos, ovocitos previtelogénicos fragmentados y ovocitos atrésicos fueron comunes pero no siempre estuvieron presentes (Fig. 5b y c).

Estadio Maduro Activo: se presentaron ovocitos en todos los estadios de desarrollo, sin embargo dominaron los ovocitos vitelogénicos, especialmente los glóbulos vitelinos que proliferaban por toda la gónada. También exhibieron amplias lamelas. Los ovocitos previtelogénicos fragmentados y los ovocitos atrésicos fueron comunes, mas no siempre estuvieron presentes (Fig. 5d).

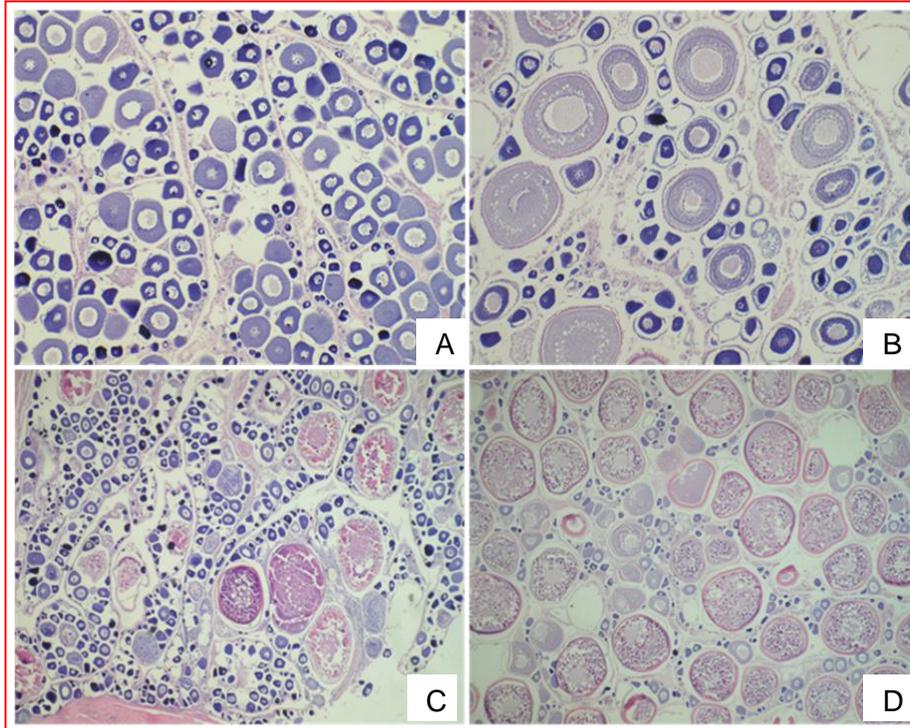


Fig. 5. Estadios microscópicos de desarrollo del ovario de *E. acanthistius*. **A:** Ovario maduro inactivo. Objetivo 10x, se observan ovocitos previtelogénicos de diversas formas y tamaños con citoplasmas muy basófilos. **B:** Ovario maduro inactivo avanzado. Objetivo 10x, posee ovocitos con formaciones vitelinas incipientes. **C:** Ovario maduro inactivo avanzado. Objetivo 4x, presenta pocos ovocitos vitelogénicos. **D:** Ovario maduro. Objetivo 4x, dominio de ovocitos en segunda fase de crecimiento.

Ciclo ovocitario: con base en los cambios citológicos específicos identificamos cinco fases ovogénéticas y tres formas de reabsorción ovocitaria:

Fase 1: Ovocitos cromatina nucléolo (CN): fueron las células más simples y de menor tamaño identificadas en los ovarios, con apariencia redondeada y basófila. Con un núcleo esférico central de gran tamaño y nucléolo central (Fig. 6a).

Fase 2: Ovocitos Perinucléolos (PN) (tempranos PNT/ tardíos PNTA): ovocitos de diferentes tamaños y formas (ovales, angulares), sus nucléolos se encontraban en contacto con la envoltura nuclear, el citoplasma fue homogéneo y menos basófilo que los ovocitos cromatina nucléolo. Las células foliculares fueron poco evidentes, sólo en algunas regiones se observaron sus núcleos. Estos ovocitos estuvieron presentes en los ovarios de todas las hembras y conjuntamente con los ovocitos CN abarcaron el mayor porcentaje de los ovarios de las hembras maduras inactivas (Fig. 6b).

Los perinucléolos tempranos y tardíos se diferenciaron por su grado de desarrollo, los tardíos fueron mayores en tamaño y en proliferación de nucléolos periféricos, mientras que los tempranos algunas veces se tornaron más basófilos.

Fase 3: Ovocitos alveolos corticales (AC): de forma esférica, con vesículas que iniciaron la deposición de sustancias en el citoplasma, nucléolos hacia la periferia del núcleo, la zona pelúcida más gruesa y las células foliculares se hicieron más evidentes. Encontramos vesículas vitelinas en los estadios: maduro inactivo avanzado y maduro (Fig. 6c).

Fase 4. Ovocitos Glóbulos vitelinos (GV): células grandes, de forma esférica, núcleo de contornos irregulares debido a la acumulación de reservas en el citoplasma, con unos cuantos nucléolos en su periferia, citoplasma completamente cubierto de gránulos y vesículas de vitelo con apariencia de pequeñas gotas de aceite, zona pelúcida engrosada y células foliculares bien definidas con pequeños núcleos ovoides (Fig. 6d).

Fase 5. Núcleos migratorios (NM): etapa más avanzada identificada en los ovarios estudiados. Los cambios ocurrieron a nivel citoplasmático, el núcleo inició su migración hacia el polo y en algunas zonas se apreció la fusión de los glóbulos vitelinos (Fig. 6e).

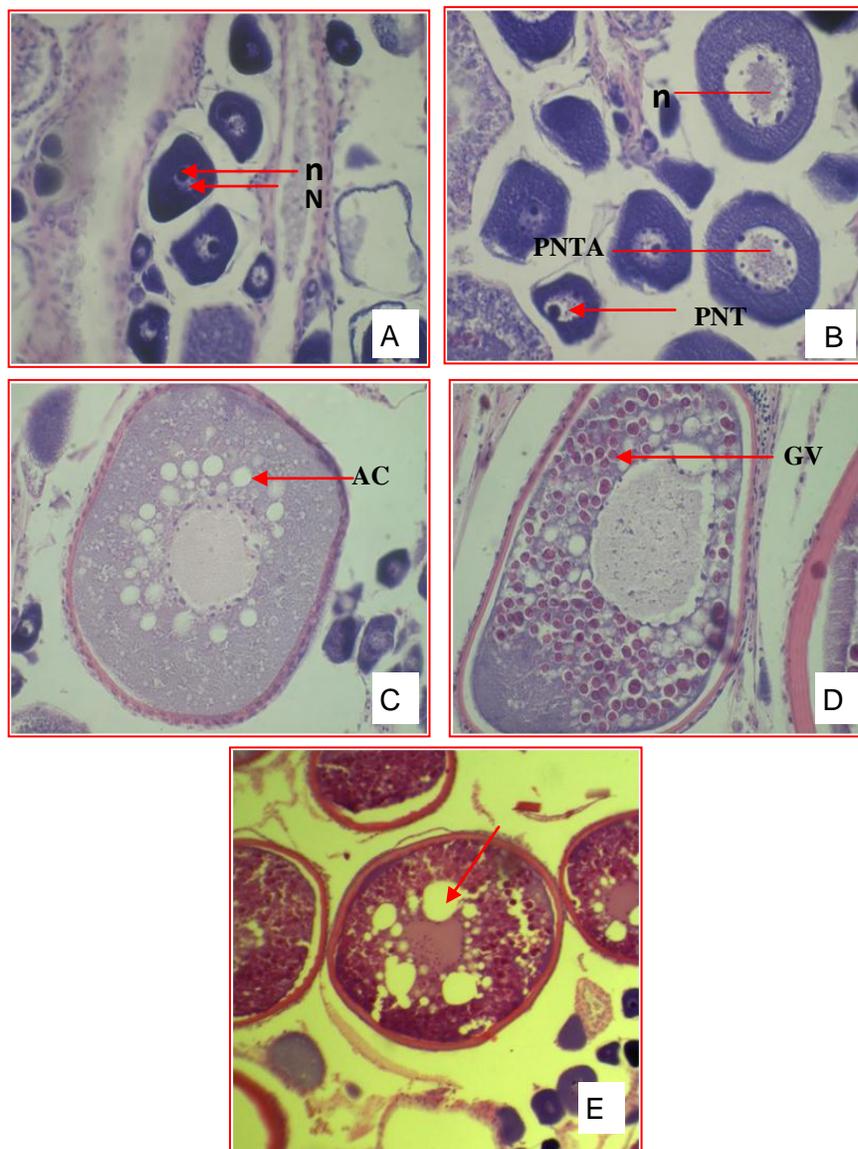


Fig. 6. Desarrollo ovocitario de *C. acanthistius* **A:** Ovocitos en fase de cromatina nucléolo (CN), citoplasma fuertemente basófilo, núcleo (N) y nucléolo (n). **B:** Ovocitos en fase de perinúcleolos (tempranos -PNT) y (tardíos -PNTA) nucléolos periféricos (n). **C:** Ovocito en fase de alveolos corticales, se aprecia las vesículas (AC). **D:** Ovocito en fase de glóbulos vitelinos (GV), el citoplasma se encuentra cubierto de glóbulos de vitelo (flecha). **E:** Ovocitos en fase de núcleo migratorio. La flecha indica la gota lipídica producto de la fusión de los gránulos de vitelo. Imágenes A, B, C y D: objetivo: 40x imagen E: objetivo 10x.

Reabsorción ovocitaria: se observaron ovocitos en degeneración, producto de que no fueron desovados. Se presentaron cuatro diferentes casos (Fig. 7):

Ovocitos previtelogénicos fragmentados: se observaron restos de ovocitos perinucleólos.

Atresia: se caracterizó por la desintegración nuclear, disolución de la zona p **Leysi Del Carmen Díaz Madrid** elúcida y reabsorción de las vesículas y glóbulos con ovocitos vitelogénicos. Este fue un fenómeno común, observado en ovarios inactivo avanzado y maduro.

Cuerpos amarillos: pequeñas manchas de color amarillento y apariencia oleosa presentes en testículos y ovarios.

Folículos post ovulatorios: se observó un conjunto de células granulosa que presentaron diferentes grados de absorción y fueron propias del estadio activo.

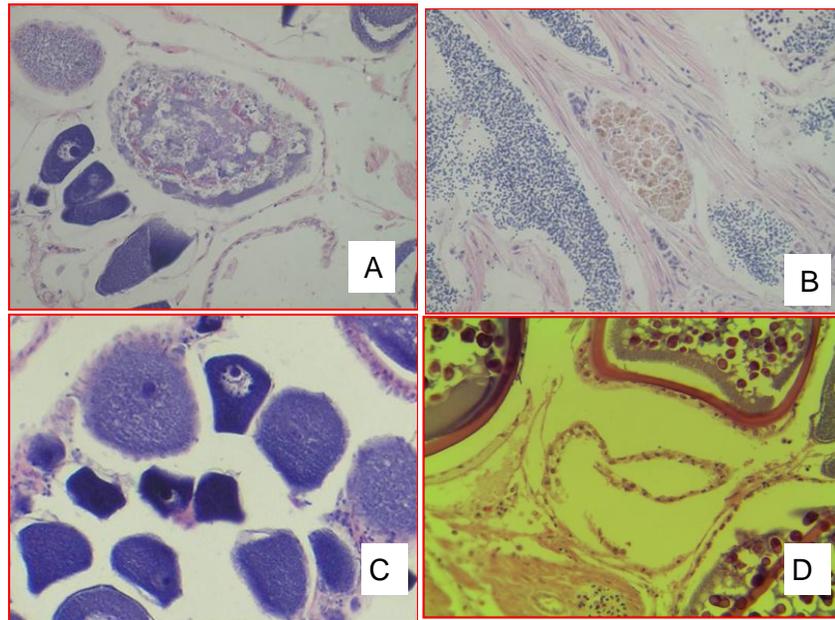


Fig. 7. Reabsorción ovocitaria. A: Atrecia, B: cuerpo café, C: Ovocitos previtelogénicos fragmentados, D: Folículo pos ovulatorio. Objetivo: 40x.

DISCUSIÓN

E. acanthistius presentó desarrollo asincrónico de los ovarios y ovocitos en varios estadios de desarrollo en las gónadas, lo que la ubica como una especie con desoves parciales o fraccionados y reproducción continua (Wallace & Selman, 1981; Samoily & Roelofs, 2000). La estructura anatómica de la gónada es similar a la descrita para otras especies de serránidos (Dell' Arciprete *et al.*, 1987; Shapiro *et al.*, 1993; Erisman *et al.*, 2008) y al igual que *Cephalopholis urodeta*, posee estructuras gonadales características de especies monándricas (Nakay & Sano, 2002), las cuales no presentan machos primarios (Sadovy & Shapiro, 1987). Los testículos examinados pertenecían a machos secundarios, ya que al desarrollarse a partir de ovarios maduros conservaron la forma lamelar y el lumen. Otro aspecto a considerar es que los machos aparecieron en tallas superiores a los 40 cm de longitud total, siendo todos los individuos inferiores a esta tallas hembras (A.J. Vega: datos no publicados).

Los testículos analizados pertenecían a machos completos, puesto que estaban constituidos totalmente por tejido testicular (Adams, 1996 en Samoily & Roelof, 2000). En el caso de las hembras, los ovarios analizados pertenecían a hembras maduras, ya que exhibían rasgos de actividad reproductiva previa, tales como: paredes gonadales gruesas y reabsorción ovocitaria (Samoily & Roelofs, 2000).

Todos los ovarios que presentaron el estadio macroscópico en desarrollo, presentaron el estadio microscópico maduro inactivo y todas las gónadas que presentaron el estadio macroscópico maduro, presentaron el estadio microscópico maduro activo. Sin embargo, las gónadas que presentaron el estadio macroscópico desarrollado poseían características microscópicas intermedias a los estadios microscópicos maduros inactivo y maduro activo y por esta razón se asignó el estadio microscópico “maduro inactivo avanzado”, que coincide con lo que Mackie (200) identifica como ovario en estadio de maduración para *Epinephelus rivulatus*.

En la literatura existen diversas escalas para describir el desarrollo ovocitario en peces teleósteos, donde todas concuerdan en el crecimiento progresivo del ovocito y en los cambios estructurales que ocurren en dicha célula (Samoily & Roelofs, 2000; Lucano *et al.*,

2001; Shein *et al.*, 2004; Mahmoud, 2009). No obstante, difieren en el número de fases representadas, lo que se atribuye a las derivaciones tempranas o tardías de las fases descritas por los autores. Así, existen clasificaciones de nueve fases en *Plectropomus leopardus* (Samoilys & Roelofs, 2000), siete para *Lutjanus peru* y *Epinephelus septemfasciatus* (Lucano *et al.*, 2001; Shein *et al.*, 2004) y seis para *Epinephelus aerolatus* y *Lethrinus nebulosus* (Mahmoud, 2009). Basado en los trabajos mencionados, las fases de desarrollo propuestas para *E. acanthistius* son seis (cromatino nucleolar, perinucleolar, vesículas vitelinas, glóbulos vitelinos, núcleos migratorios y ovocitos hidratados) de las cuales observamos cinco.

CONCLUSIONES

La caracterización de los estadios micro y macroscópicos de las gónadas permite establecer criterios para reconocimiento de hembras y machos a través de la revisión macroscópica de las gónadas y poder interpretar con mayor precisión la relación entre lo observado macroscópicamente y las características del desarrollo gonadal y ovocitario. En este sentido, la descripción presentada permitió mayor certeza en los análisis cualitativos de los estudios reproductivos en una especie hermafrodita.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se realizó gracias al financiamiento de la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (Senacyt), la Fundación Marviva y Conservación Internacional, dentro del marco del proyecto “Estudios biológico pesqueros en el Golfo de Chiriquí”. Se agradece a la Dra. Celia Eva Cotero, del Centro de Investigación Pesquera de Ensenada, México por la verificación de las descripciones microscópicas de las gónadas. Igualmente se agradece a los técnicos de campo Fernando Quezada y Olmedo Quintero, así como a las empresas exportadores en Puerto Remedios, Chiriquí por facilitar el uso de sus instalaciones.

REFERENCIAS

- Aburto-Oropeza, O., B. Erisman, V. Valdéz-Ornela & G. Danemann. 2008. Serránidos de Importancia Comercial del Golfo de California: Ecología, Pesquerías y Conservación. Ciencia y conservación. Volumen 2008 (1): 1-23.
- Brown-Peterson, N., D. Wyanski, F. Saborido-Rey, B. Macewicz & S. Lowerre-Barbieri. 2011. A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, management, and Ecosystem Science* 3: 52-70.
- Dell' Arciprete, P. H. E. Christinsen & J. M. Díaz De Astarloa. 1987. Observaciones sobre el ciclo reproductivo del mero, *Acanthistius brasiliensis* (Serranidae, Pisces). *Rev. Invest. Des. Pesq.* 7: 67-84.
- Erisman, B. E., J. A. Rosales-Casián & P. A. Hastings. 2008. Evidence of gonochorism in a grouper, *Mycteroperca rosacea*, from the Gulf of California, Mexico. *Environ. Biol. Fish.*, 82: 23-33.
- Ferreira, T. S., B. F. Padovani & P. I. Pereira. 2004. Aspects of fishing and reproduction of the black grouper *Mycteroperca bonaci* (Poey, 1860) (Serranidae: Epinephelinae) in the Northeastern Brazil. *Neotropical Ichthyology*, 2(1): 19-30.
- García-Cagide, A. & T. Garcia. 1995. Reproducción de *Mycteroperca bonaci* y *Mycteroperca venenosa* (Pisces: Serranidae) en la plataforma cubana. *Rev. Biol. Trop.* 44(2) B 771-780.
- González, L & T. Lugo. 1997. Ovogénesis de *Lutjanus purpureus* Poey, 1867 (Pisces: Lutjanidae) de la región Oriental de Venezuela. *Bol. Invest. Mar. Cost.* 26, 53-60.
- Laevastu, T. 1971. Manual de métodos de biología pesquera. Editorial Acribia, España. FAO, 243 p.
- Lucano, G., M. Villagrán, S. Ramírez & T. López. 2001. Histología de los ovocitos de *Lutjanus peru* (Nichols & Murphy, 1992) (Pisces: Lutjanidae). *Ciencias Marinas* 27(3): 335-349.

Mackie, M. 2000. Reproductive biology of the halfmoon grouper, *Epinephelus rivulatus*, at Ningaloo Reef, Western Australia. *Environmental Biology of Fishes*, 57: 363-376.

Mackie, M. & P. Lewis. 2001. Assessment of gonad staging systems and other methods used in the study of the reproductive biology of narrow-barred Spanish mackerel, *Scomberomorus commerson*, in Western Australia. *Fish. Res. Rep. West. Aust.*, 136: 1-32.

McIlwain, J., G. V. Hermosa, M. Claereboudt, H. S. Al-Oufi & M. Al-Awi. 2006. Spawning and reproductive patterns of six exploited finfish species from the Arabian Sea, Sultanate of Oman. *Journal of Applied Ichthyology*, 22 (2): 167–176.

Mahmoud, H. 2009. Gonadal maturation and histological observations of *Epinephelus areolatus* and *Lethrinus nebulosus* in Halaieb/Shalatién area “Red Sea”, Egipt. *Global Veterinaria*, 3 (5): 414-423.

Nakay, T. & M. Sano. 2002. Evidence of protogynous hermaphroditism in the darkfin hind *Cephalopholis urodeta* (Serranidae) at Iriomote Islan, southern Japan. *Fisheries science*, 68: 697-699.

Oliveira, M., R. Leao De Moura, R. Bastos, F. Filho & C. Minte-Vera. 2011. Spawning patterns of commercially important reef fish (Lutjanidae and Serranidae) in the tropical western South Atlantic. *Scientia Marina* 75 (1).

Sadovy, Y. & D. Shapiro. 1987. Criteria for the diagnosis of hermaphroditism in fishes. *Copeia*, 1: 136-156.

Samoilys, M. A. & A. Roelofs. 2000. Defining the reproductive biology of a large serranid, *Plectropomus leopardus*. *CRC Reef Research Technical Manual* 31, 36pp.

Shapiro, D. Y., Y. Sadovy & M. A. McGehee. 1993. Periodicity of sex change and reproduction in the red hind, *Epinephelus guttatus*, a protogynous grouper. *Bulletin of Marine Science*, 53 (3), 1151-1162.

Shein, N. L., H. Cruda, T. Arakawa, K. Mizuno & K. Soyano. 2004. Ovarian development and final oocyte maturation in cultured sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus*. Fisheries science, 70: 360-365.

Vega, A. J. 2006. Estado de las pesquerías en el Parque Nacional Coiba y en la zona de influencia. Consultoría para el Plan de Manejo del PNC. ANAM – STRI. Panamá. 34 p.

Vega, A.J., Y.A. Robles P. & R. Cipriani. 2011. Estudios biológico pesqueros en el Golfo de Chiriquí, Pacífico de Panamá. Informe final de investigación. UP-Senacyt-Marviva-CI. 311 p.

Wallace, R. & K. Selman. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleost. Rev. Amer. Zool. 21:325-343.

Recibido abril de 2012, aceptado agosto de 2012.