

## DESARROLLO EMBRIONARIO DEL MERO PIEDRERO *Epinephelus labriformis* (JENYNS, 1840) Y DESCRIPCIÓN DEL ELEUTEROEMBRIÓN

Torres-Hernández, Pablo<sup>1</sup>, Paulina Cebada-Martínez<sup>2</sup>, Diego A. Girón-Cruz<sup>3</sup>,  
Germán I. Garrido-Fariña<sup>4</sup> & Carlos A. Alvarez-González<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Industrias, Universidad del Mar. Ciudad Universitaria, Puerto Ángel, Municipio de San Pedro Pochutla Oaxaca, México. Tel (958) 5843057. <sup>2</sup>Programa de Ingeniería en Acuicultura, Universidad del Mar. <sup>3</sup>Programa de Biología Marina, Universidad del Mar. <sup>4</sup>FES Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. <sup>5</sup>DACBIOL, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. email: torresp@angel.umar.mx.

**RESUMEN.** A partir del desove inducido y la fertilización *in vitro* del huevo del mero piedrero *Epinephelus labriformis* se describe el desarrollo embrionario y el eleuteroembrión. La inducción a la maduración y desove se realizó con dos inyecciones de 700 UI GCH·kg<sup>-1</sup>, se procedió a realizar el desove y fertilización *in vitro*. El huevo se colocó en incubadoras de 6 L, a 35 UPS y se cultivó a 23, 24, 25 y 27°C hasta la eclosión. Se realizó la descripción de los estadios de segmentación, gastrulación, nerula y hasta la eclosión del eleuteroembrión a 25°C. Se reporta el promedio ± desviación estándar del diámetro de huevo, el diámetro de la gota de aceite, la longitud notocordial y la apertura de la boca. El huevo de *E. labriformis* es pelágico, con corión liso y con una sola gota de aceite en posición central. El diámetro del huevo fue 726.1 ± 18.4 µm y de la gota de aceite 135.5 ± 17 µm. En el cultivo a 25°C, la primera segmentación se observó a los 40 min, siendo la discoblastula evidente a tres horas después la fertilización. La nerula con vesículas ópticas, somitas bien definidos y con presencia de melanóforos a las 25 horas, eclosionando a las 27 horas posteriores a la fertilización. La longitud notocordal fue 1,327 ± 186.3 µm, diámetro de la gota de aceite de 131.3 ± 17.1 µm, longitud del saco vitelino de 526.2 ± 72.8 µm y su altura 359.6 ± 74.6 µm. La ecuación que describe el tiempo de eclosión (T<sub>c</sub>) con respecto a la temperatura de incubación (T<sub>inc</sub>) fue: T = 119.68 - (3.5793 × T<sub>inc</sub>), en el intervalo de 23 a 27°C. La descripción del desarrollo embrionario y del eleuteroembrión contribuye en el conocimiento biológico de la especie y en el desarrollo de metodologías para su reproducción controlada y cultivo larval.

**Palabras clave:** Ontogenia, huevo, embrión, larva, Serranidae.

### Embryonic development of the starry grouper *Epinephelus labriformis* (Jenyns, 1840) and description of its eleutheroembryo

**ABSTRACT.** From the induced spawning and *in vitro* fertilization of the eggs of the starry grouper *Epinephelus labriformis* the embryonic development and the eleutheroembryo were described. The spawning induction was performed with two injections of 700 UI GCH·kg<sup>-1</sup> to carry out spawning and artificial fertilization. The viable eggs were placed in incubators of 6 L with 35 UPS and raised at 23, 24, 25, and 27 °C. A chronological description of segmentation stages, gastrulation, and nerula was made until hatching of the eleutheroembryo at 25°C. The average + standard deviation of the egg diameter and the diameter of oil drop from the eleutheroembryo were reported along with the notochordal length, yolk sac length, and diameter of the eleutheroembryo's oil drop. The egg is pelagic, spherical, transparent, smooth chorion with only one oil drop in a central position. The average diameter of the eggs is 726.1 ± 18.4 µm and 135.5 ± 17 µm for the oil drop. At 25°C the first segmentation was observed after 40 minutes post fertilization and the discoblastula is evident at 3 hours post fertilization. The nerula with optical vesicles, well-defined somites, and the presence of melanophores was observed at 25 hours. Eggs hatched at 27 hours post fertilization. The notochord average length of the eleutheroembryo was 1,327 ± 186.3 µm, the diameter of the oil drop is 131.3 ± 17.1 µm. The length of the yolk sac is 526.2 ± 72.8 µm and its height is 359.6 ± 74.6 µm. The equation that describes hatching time (T<sub>c</sub>) with respect to the temperature (T<sub>inc</sub>) was: T = 119.68 - (3.5793 × T<sub>inc</sub>) in an interval of 23°C to 27°C (n=8; r<sup>2</sup>=0.8631; p=0.0008). The description of the embryonic development and eleutheroembryo contribute to the biological knowledge of the species and the development of methods the controlled reproduction and larviculture of *E. labriformis*.

**Keywords:** Ontogeny, egg, embryo, larvae, Serranidae.

Torres-Hernández, P., P. Cebada-Martínez, D. A. Girón-Cruz, G. I. Garrido-Fariña & C. A. Alvarez-González. 2015. Desarrollo embrionario del mero piedrero *Epinephelus labriformis* (Jenyns, 1840) y descripción del eleuteroembrión. *CICIMAR Océánides*, 30(2): 27-33.

### INTRODUCCIÓN

Los meros son especies longevas, caracterizadas como depredadores activos por encontrarse en los niveles superiores de la cadena alimentaria, siendo un componente ecológico importante en las comunidades arrecifales (Aburto-Oropeza *et al.*, 2008). Los meros del género *Epinephelus* (Perciformes: Serranidae) son peces demersales que se distribuyen en zonas tropicales y subtropicales (Fisher *et al.*, 1985).

Tienen importancia económica por que representan un recurso pesquero artesanal y de pesca deportiva (Aburto-Oropeza *et al.*, 2008); existe también interés en el desarrollo de tecnologías para su cultivo (Marino *et al.*, 1998; Tucker, 1998).

El mero piedrero *Epinephelus labriformis* (Jenyns, 1840) es una especie común en las comunidades arrecifales a profundidades de 3 a 30 m, localizadas en las costas del Pacífico tropical, desde Baja Cali-

fornia, México hasta Perú, incluyendo las islas costeras de Cocos, Revillagigedo y las Islas Galápagos (Fisher *et al.*, 1985).

Los huevos de estos peces son pelágicos y sus larvas planctónicas; cuando son juveniles, buscan arrecifes en aguas más someras o áreas protegidas como manglares, para encontrar refugio y alimento (Aburto-Oropeza *et al.*, 2008). Craig *et al.* (2006) sugieren que los estadios larvales prolongados de *E. labriformis*, le permiten tener poblaciones genéticamente homogéneas a través de zonas de transición del Pacífico tropical oriental. Por su parte, Craig & Hastings (2007) indican que *E. labriformis* se encuentra más relacionado filogenéticamente con *E. clippertonensis* y *E. analogus* distribuidos en Pacífico tropical oriental, que con *E. adscensionis*, *E. morio*, *E. striatus* y *E. guttatus*, distribuidos en el Golfo de México y Caribe. Considerando lo anterior, el conocimiento de la biología básica de la especie en relación con su reproducción y su desarrollo ontogenético temprano es limitado, por lo que el presente trabajo muestra la descripción del desarrollo embrionario y el eleuteroembrión a partir del desove inducido y la fertilización *in vitro* del huevo del mero piedrero *E. labriformis*, con el fin de establecer el tiempo de eclosión y de esta manera aportar referencias básicas para lograr la reproducción en cautiverio y el larvicultivo.

### MATERIAL Y MÉTODO

Se capturaron reproductores de *E. labriformis* en aguas adyacentes a la “La tijera” en Puerto Ángel, Oaxaca (15°41'25.5 N y 96°26'27.7 W). Los reproductores, seis hembras (con tallas de 23 a 25 cm) y seis machos (con tallas de 29 a 31 cm) fueron capturados con anzuelo y líneas de monofilamento a una profundidad de 6 a 14 m. Una vez concluida la captura fueron transportados con aireación suplementaria al Laboratorio de Acuicultura de la Universidad del Mar campus Puerto Ángel, Oaxaca.

Se seleccionaron dos hembras considerando la presencia de ovocitos postvitelogénicos de 400 a 430  $\mu\text{m}$  de diámetro, previamente obtenidos por biopsia ovárica que consistió en coleccionar ovocitos intraováricos mediante un catéter de polietileno con diámetro de 1.2 mm. Las hembras fueron inducidas a la maduración con dos inyecciones intramusculares de 700 UI GCH·kg<sup>-1</sup> hembra, aplicándose la segunda dosificación a las 24 horas de acuerdo con Tucker *et al.* (1991). Obtenida la ovulación se procedió a realizar un masaje abdominal para extraer los huevos. La fertilización *in vitro* se realizó añadiendo 0.01 ml de esperma extraído de un macho maduro. Se seleccionó el huevo viable de acuerdo a Álvarez-Lajonchere y Hernández Molejón (1994) y se colocó en incubadoras McDonald de 6 L, con agua marina filtrada a 10  $\mu\text{m}$ . Para el estudio se diseñó un experimento para evaluar el efecto de la temperatura a 23, 24, 25 y 27° C a partir de la obtención

de los huevos fertilizados, para lo cual se utilizaron termostatos de 100 watts con el fin de regular la temperatura. El tiempo de eclosión (TE) se determinó desde la fertilización hasta que el 100% de las larvas eclosionaron. Para la descripción durante el desarrollo y el cálculo de la temperatura óptima de incubación, se realizó un análisis de regresión lineal simple considerando como variable independiente la temperatura de incubación ( $T_{inc}$ ) y como variable dependiente, el tiempo de eclosión ( $T_e$ ).

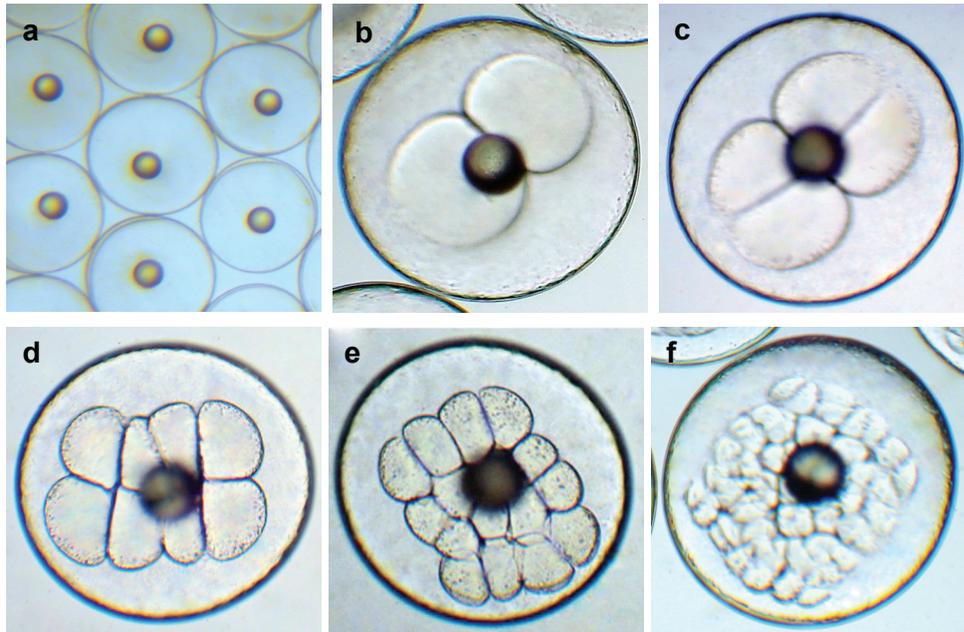
Asimismo, se realizó la descripción cronológica de los estadios de segmentación, gastrulación, nerula hasta la eclosión del eleuteroembrión a 25°C. Para cada una de las muestras obtenidas se midió el diámetro de huevo y el diámetro de la gota de aceite; al eclosionar se obtuvo la longitud notocordial, la longitud y altura del saco vitelino, la posición y diámetro de la gota de aceite del eleuteroembrión, así como el número de miómeros en las regiones preanal y postanal. Al abrir la boca se midieron la longitud y el ancho del maxilar superior y se calculó la abertura bucal de acuerdo a Shirota (1970). Las medidas se obtuvieron a partir de microfotografías realizadas en un microscopio óptico (Olympus BX51) con una cámara digital (Olympus E-30), y utilizando el programa Axionvision<sup>®</sup>, registrándose promedio y desviación estándar.

### RESULTADOS

El huevo de *E. labriformis* se caracteriza por ser pelágico, con corión liso, no adhesivo, esférico, transparente, con una sola gota de aceite en posición central y un espacio vitelino reducido (Fig. 1a). El diámetro promedio  $\pm$  desviación estándar del huevo es  $726.1 \pm 18.4 \mu\text{m}$  y de la gota de aceite  $135.5 \pm 17 \mu\text{m}$ .

El desarrollo embrionario observado en *E. labriformis* durante la incubación a 25° C, evidenció una segmentación meroblástica, observándose la primera segmentación y sus dos blastómeros resultantes a 30 min después post fertilización (Fig. 1b). La segmentación sucedió aceleradamente dando lugar al segundo clivaje después de 15 min adicionales (Fig. 1c), con una división transversal al primer eje de división. El tercer y cuarto clivaje están presentes a 70 min de iniciado el desarrollo (Figs. 1d y 1e). A las tres horas post fertilización, la discoblástula está plenamente formada (Fig. 1f) y el blastodermo se eleva formando una estructura semejante a un domo, dando lugar al periblasto (Fig. 2a).

En la gastrulación, se observó el movimiento de epibolia, extendiéndose el blastodermo sobre el vitelo (Fig. 2b). Al concluir los movimientos gastruladores de elongación es evidente la formación del embrión temprano, destacando el hemisferio cerebral en la región anterior, así como en la región posterior, la caudal (Fig. 2c). La nerula presenta diferenciadas las cápsulas ópticas y óticas (Fig. 2d). Se desarrolla la segmentación mesodérmica y la nerula

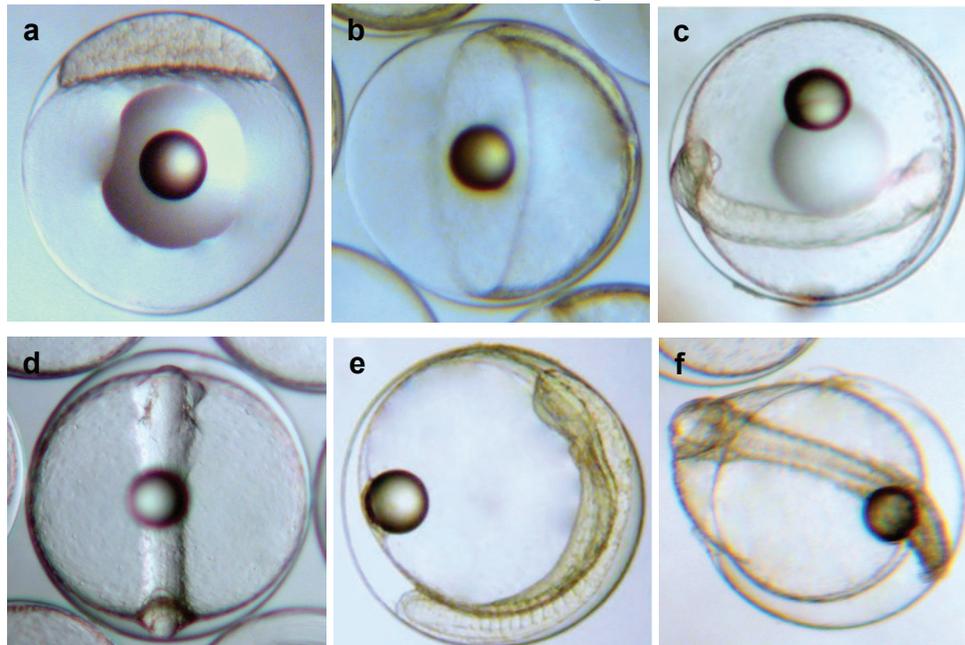


**Figura 1.** Desarrollo del huevo fecundado a discoblástula. a) huevo fecundado, b) primer clivaje, c) segundo clivaje, d) tercer clivaje, e) cuarto clivaje y f) discoblástula. Barra (500  $\mu$ m).

presenta somitas bien definidos y con presencia de melanóforos a las 25 horas post fertilización (Fig. 2e). Previo a la eclosión se observó la separación de la región caudal del embrión del saco vitelino, con movimientos breves del embrión anunciando la proximidad de la eclosión. Los eleuterembriones iniciaron la eclosión a las 27 horas post fertilización,

en la fig. 2f es notorio el rompimiento del corión dando principio a la liberación del eleuterembrión.

El tiempo hasta obtener la eclosión ( $T_c$ ) fue inversamente proporcional a la temperatura de incubación ( $T_{inc}$ ). El mayor tiempo de eclosión se encontró a 23°C con un promedio de  $35.6 \pm 4.8$  h, mientras que a 25°C la eclosión se obtuvo a las 29.7



**Figura 2.** Desarrollo del embrión a eclosión. a) Discoblástula, b) gástrula, c) esbozo embrión, d) nerula tardía, e) somitas y f) eclosión. Bar (500  $\mu$ m).

$\pm 5.2$  h, y finalmente la eclosión más rápida fue en la incubación a  $27^\circ\text{C}$  a las  $22.5 \pm 0.7$  h (Fig. 3).

Dentro del intervalo de  $23$  a  $27^\circ\text{C}$ , la ecuación que describió el tiempo de eclosión ( $T_e$ ) con respecto a la temperatura de incubación ( $n = 8$ ;  $r^2 = 0.86$ ;  $p = 0.0008$ ), fue:  $T_e = 119.68 - (3.60 \times T_{inc})$ .

El eleuteroembrión tiene un cuerpo moderadamente alargado y comprimido, presentando un saco vitelino que se extiende por delante de la cabeza con una gota de aceite que se encuentra en la región posterior del saco. Alrededor del eleuteroembrión se observa un saco dérmico que recubre el cuerpo, principalmente visible en la región dorsal y caudal (Fig. 4a). Se observan dos regiones de pigmentación, con un melanóforo en la región posterior del saco vitelino y otro en la región ventral del notocordio medio. Son evidentes los latidos cardíacos, así como es capaz de responder con movimientos corporales a estímulos mecánicos.

Al eclosionar, el eleuteroembrión temprano presentó una longitud notocordal de  $1,327 \pm 186.3$   $\mu\text{m}$ , con un diámetro de la gota de aceite de  $131.3 \pm 17.1$   $\mu\text{m}$ , la longitud del saco vitelino de  $526.2 \pm 72.8$   $\mu\text{m}$  y altura de  $359.6 \pm 74.6$ .

El eleuteroembrión se caracterizó por una absorción rápida del saco vitelino y de la gota de aceite (Fig. 4). A las primeras horas de eclosionado, es notorio el desarrollo del cristalino en el embudo óptico, y aunque los ojos no se encuentran pigmentados (Fig. 4b), al concluir el periodo los ojos están totalmente pigmentados (Fig. 4d).

Posterior a la eclosión, la cavidad bucal inicia a formarse, presentándose los primeros esbozos de la mandíbula (Fig. 4c). De igual forma, el tubo digestivo se hace evidente (Fig. 4b), engrosándose ligeramente, y desarrollándose el esbozo primario del estómago y concluyendo en el ano (Fig. 4d). El número de miómeros en la región preanal fue de 11

y en la postanal de 14.

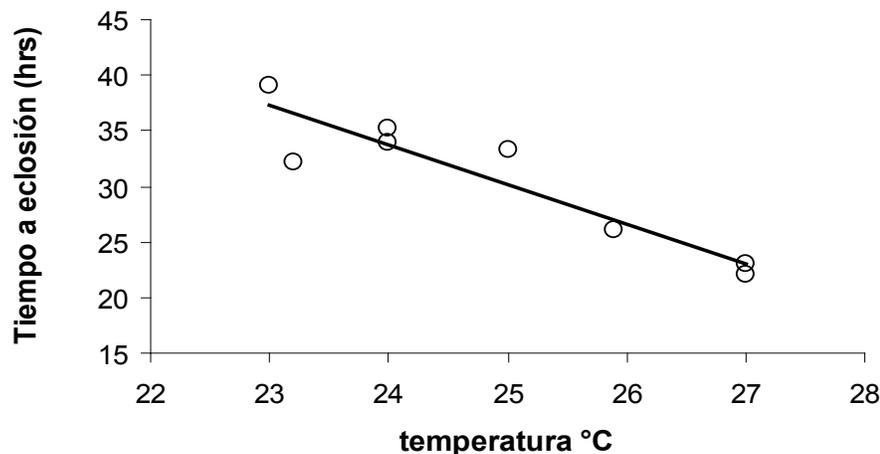
Las aletas pectorales se desarrollan y se observan activas (Fig. 4c). El melanóforo localizado en la región ventral del notocordio medio se expande lateralmente y pigmenta la región dorsal del notocordio, así como el melanóforo del saco vitelino, cubre la región de la gota de aceite aun remanente, y situada por debajo de la aleta pectoral (Fig. 4d).

La abertura bucal se observó al tercer día y fue de  $226.3$   $\mu\text{m}$ . La boca se extiende hasta el borde anterior de los ojos con un longitud del maxilar superior de  $160$   $\mu\text{m}$  y un ancho de  $470$   $\mu\text{m}$  (Fig. 5a y 5b). Se observaron estructuras, posiblemente pilosas, localizadas entre el maxilar superior y los lóbulos oculares, en la región del *primordium* nasal (Fig. 5c). En este momento la larva tiene los lóbulos ópticos pigmentados y el cristalino desarrollado, la boca y el tubo digestivo de la larva se encuentran formados, así como es capaz de localizar y desplazarse para capturar a su presa y dar inicio a su alimentación exógena (Fig. 5d).

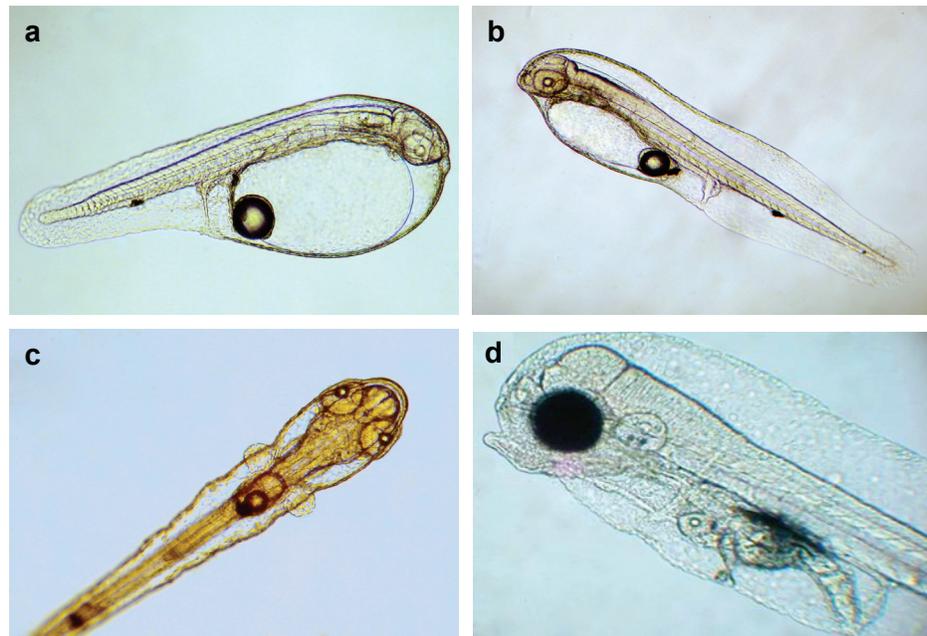
## DISCUSIÓN

El huevo de *E. labriformis* presenta las mismas características descritas del género *Epinephelus*; sin embargo, con respecto al diámetro del huevo de *E. labriformis* ( $726$   $\mu\text{m}$ ) es relativamente más pequeño en comparación a *E. septemfasciatus*  $820$   $\mu\text{m}$  (Kitajima *et al.*, 1991), *E. akkara*  $825$   $\mu\text{m}$  (Tseng & Ho, 1988), *E. fario*  $850$   $\mu\text{m}$  (Yeh *et al.*, 1987), *E. fuscoguttatus*  $890$   $\mu\text{m}$  (Kohno *et al.*, 1990), *E. tauvina*  $917$   $\mu\text{m}$  (Tucker & Woodward, 1996), *E. striatus*  $920$   $\mu\text{m}$  (Tucker *et al.*, 1991), *E. guttatus*  $944$   $\mu\text{m}$  (Tucker, 1998) y *E. amblycephalus*  $1000$   $\mu\text{m}$  (Tseng & Poon, 1983).

El tiempo de eclosión encontrado en *E. labriformis* es consistente con lo reportado para especies del mismo género (Tucker, 1991; Tseng & Poon, 1983; Chen *et al.*, 1977). En el caso de la incubación a



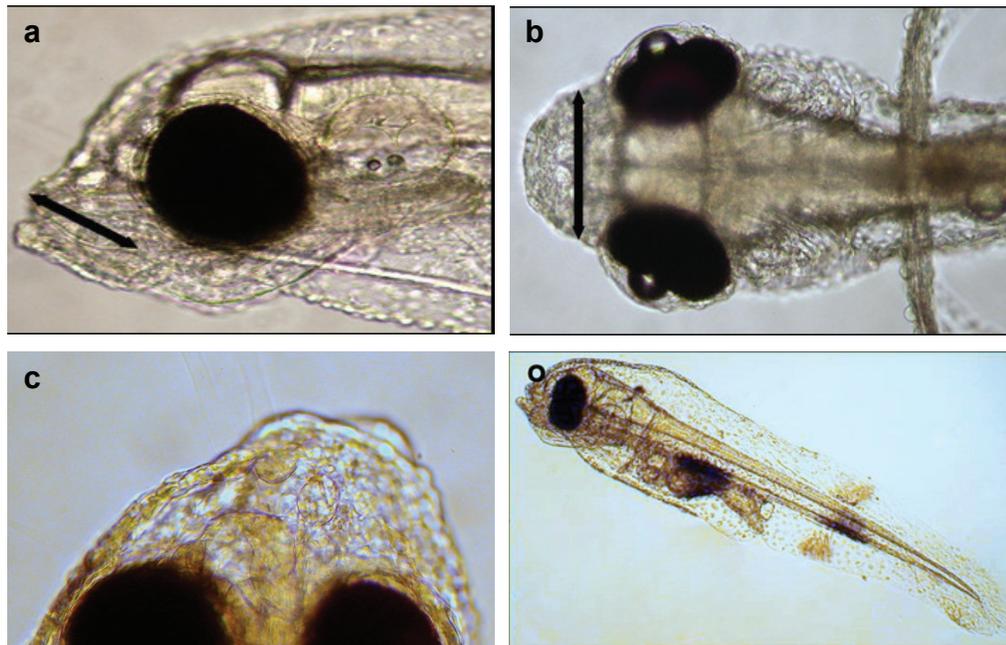
**Figura 3.** Relación entre la temperatura de incubación ( $T_{inc}$ ) y el tiempo de eclosión ( $T_e$ ) de *Epinephelus labriformis* ( $n = 8$ ;  $r^2 = 0.86$ ;  $p = 0.0008$ ).



**Figura 4.** Desarrollo del eleuteoembrión. a) larva recién eclosionada, b) lóbulos ópticos sin pigmentar, c) formación aletas pec torales y d) desarrollo del tracto digestivo y ojos pigmentados. Bar (500  $\mu\text{m}$ ).

27-28°C, los tiempos de eclosión de *E. labriformis* (22.5 hrs a 27°C) coinciden con los obtenidos en *E. striatus* de 23 a 25 horas (Tucker, 1991) y de 21.5 horas en *E. amblycephalus* (Tseng & Poon, 1983) a incubación a 28°C; así como con *E. tauvina* de 24 horas a 27°C (Chen *et al.*, 1977).

De acuerdo a Ma *et al.* (2013), el eleuteoembrión de las especies de *Epinephelus* distribuidas en el indopacífico, se encuentran en el intervalo de 1.4 a 1.98 mm de longitud notocordial, por lo que el eleuteoembrión de *E. labriformis* con una longitud notocordial de 1.3 mm representaría la especie más pequeña de *Epinephelus*.



**Figura 5.** Apertura de la boca de *Epinephelus labriformis*. a) Longitud del maxilar superior 160  $\mu\text{m}$ , b) ancho del maxilar 420  $\mu\text{m}$ , c) estructuras pilosas en la región del primordium nasal, d) larva de *E. labriformis*. Bar (500  $\mu\text{m}$ ).

Por su parte, Ma *et al.* (2013) describen al eleuteroembrión recién eclosionado de *Epinephelus* con carencia de ojos pigmentados y aún sin el bosquejo del desarrollo de boca y aletas, como se observó en *E. labriformis*, por lo que el desarrollo ontogenético a partir de este periodo evidenció la capacidad de desplazamiento, de la visión y el funcionamiento del tracto digestivo, lo que le confiere al eleuteroembrión la capacidad de capturar su primer alimento exógeno entre los 2 y 4 días posteriores a la eclosión, una vez que el vitelo y la gota de aceite han sido consumidos, lo que concuerda con lo descrito por Tucker (1998), y Kawabe y Kohno (2009) para otras especies de peces marinos.

El proceso de apertura de la boca coincide a lo reportado por Kohno *et al.* (1997) en *Epinephelus coioides*, que establecen la presencia de elementos óseos (maxilar y premaxilar) a 6 horas antes de la apertura de oral, y concluida a 54 horas después de la eclosión. En *E. labriformis*, durante el periodo de apertura oral, se observaron estructuras, posiblemente pilosas en la región del *primordium* nasal; sin embargo, no se encontró información precedente de estas estructuras en otras especies, por lo que se requiere profundizar en este aspecto.

Por otra parte, el eleuteroembrión de *E. labriformis* presentó los patrones de pigmentación generales de *Epinephelus* para esta etapa (Kohno *et al.*, 1993; Kawabe & Kohno, 2009), como son la presencia de melanóforos en la parte dorsal del intestino y un conjunto de melanóforos en la región ventral del notocordio medio. Asimismo, el número de miomeros preanales (11) y postanales (14) coinciden con lo reportado para otras especies del género *Epinephelus* (Leis & Carson-Ewart, 2000).

La obtención de eleuteroembriones de *E. labriformis* permitió observar el momento de la apertura de la boca que se presentó al tercer día después de la eclosión, en este momento la larva tiene la capacidad para capturar a sus presas e iniciar la alimentación exógena; adicionalmente, la apertura de la boca presupone un tamaño de presa inicial entre 90 y 100  $\mu\text{m}$ , por lo que podrían ser alimentadas con larvas trocóforas de moluscos bivalvos, copépodos y rotíferos en su primera alimentación (Tucker, 1998).

### CONCLUSIÓN

El huevo y la larva de *E. labriformis* presenta las características propias del género *Epinephelus*, pero se caracteriza por presentar un diámetro menor del huevo y del eleuteroembrión. De esta manera, la descripción del desarrollo embrionario y del eleuteroembrión contribuye en el conocimiento biológico y ecológico de la especie, así como en el desarrollo de métodos para su reproducción controlada y su cultivo larval.

### AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo es parte del proyecto “Biología reproductiva del mero *Epinephelus labriformis* en el litoral de Puerto Ángel, Oax., e inducción a la reproducción controlada en cautiverio”, financiado por la Universidad del Mar campus Puerto Ángel con clave CUP 2III1001.

### REFERENCIAS

- Aburto-Oropeza O., B. Erisman, V. Valdez-Ornelas, G. D. Danemann, E. Torreblanca-Ramírez, J. T. Silva-Ramírez & G. Ortuño-Manzanares. 2008. Serránidos de Importancia Comercial del Golfo de California: Ecología, Pesquerías y Conservación. *Ciencia y Conservación*, 2008 (1): 1-23.
- Álvarez-Lajonchere, L. & O. G. Hernández-Molejón. 1994. *Manual de técnicas para la producción piloto de juveniles de peces marinos*. C.I.P. Cuba, UAM, México. 115 p.
- Chen, F. Y., M. Chow, T.M. Chao & R. Lim. 1977. Artificial spawning and larval rearing of the grouper, *Epinephelus tauvina* (Forsk.) in Singapore. *Sing. J. Pri. Ind.*, 5: 1-21.
- Craig, M.T., P. A. Hastings, D.J. Pondella II, D.R. Robertson & J.A. Rosales-Casián. 2006. Phylogeography of the flag cabrilla *Epinephelus labriformis* (Serranidae): implications for the biogeography of the Tropical Eastern Pacific and the early stages of speciation in a marine shore fish. *Journal of Biogeography*, 33(6): 969-979. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2006.01467.x>
- Craig, M.T. & P.A. Hastings. 2007. A molecular phylogeny of the groupers of the subfamily Epinephelinae (Serranidae) with a revised classification of the Epinephelini. *Ichthyological Research*, 54: 1-17. <https://doi.org/10.1007/s10228-006-0367-x>
- Fischer, W., F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter & V.H. Niem. 1985. 1201-1813, en: Vertebrados-Parte 2, *Guía para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico centro-oriental*. 1995. Volumen III.
- Kitajima, C, Takaya, M., Tsukashima Y., Arakawa T. 1991. Development of eggs, larvae and juvenile of the grouper, *Epinephelus septemfasciatus*, reared in the laboratory. *Japan J. Ichthyol.*, 38 :47-55. <https://doi.org/10.1007/BF02910108>
- Kawabe, K. & H. Kohno. 2009. Morphological development of larval and juvenile blacktip grouper, *Epinephelus fasciatus*. *Fisheries Science*, 75(5): 1239-1251. <https://doi.org/10.1007/s12562-009-0128-7>

- Kohno, H., P.T. Imanto, S. Diani, B. Slamet & P. Sunyoto. 1990. Reproductive performance and early life history of the grouper, *Epinephelus fuscoguttatus*. *Bull. Pen. Perikanan*, Spec. Ed. (1): 27-35.
- Kohno, H., S. Diani & A. Supriatna. 1993. Morphological development of larval and juvenile grouper, *Epinephelus fuscoguttatus*. *Japan J. Ichthyol.*, 40: 307-316
- Kohno, H., R. S. Ordonio-Aguilar, A. Ohno & Y. Taki. 1997. Why is grouper larval rearing difficult?: an approach from the development of the feeding apparatus in early stage larvae of the grouper, *Epinephelus coioides*. *Ichthyol. Res.*, 44 (3): 267-274.  
<https://doi.org/10.1007/BF02678706>
- Ma, Z., Gou, H., y Nie, Z., 2013, State of art for larval rearing of grouper *International Journal of Aquaculture*, 3(13): 63-72
- Marino, G., Azzurro, E., Boglione, C., Massari, A. & Mandich, A. 1998. Induced spawning and first larval rearing in *Epinephelus marginatus*, en: Acts of Int. Symp. Merou Médit. Embiez, Var, (France), 5-7 de noviembre de 1998.
- Tseng, W. Y. & C. T. Poon. 1983. Hybridization of *Epinephelus* species. *Aquaculture*, 34: 177-182.  
[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(83\)90302-2](https://doi.org/10.1016/0044-8486(83)90302-2)
- Tseng, W. Y. & S. K. Ho. 1988. *Grouper culture-a practical manual*. Chien Cheng Publisher, Kaohsiung, Taiwan, ROC, 134 p.
- Tucker, J. W., Jr. & P.N. Woodward. 1996. Nassau grouper aquaculture. 363-377, en: Arreguín-Sánchez, F., J.L. Munro, M.C. Balgos & D. Pauly (eds.), *Biology, Fisheries and Culture of Tropical Groupers and Snappers*. ICLARM Conf. Proc. 48.
- Tucker, J. W., Jr. 1998. *Marine Fish Culture*. Kluwer Academic Publ. EUA. 750 p.  
<https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4911-6>
- Tucker, J. W., Jr., J.E. Parsons, G.C. Ebanks & P.G. Bush. 1991. Induced spawning of Nassau grouper *Epinephelus striatus*. *J. World Aquac. Soc.*, 22: 187-191.  
<https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1991.tb00733.x>
- Shirota, A. 1970. Studies on the mouth size of fish larvae. *Bull Japan. Soc. Sci. Fish., Tokio.*, 36: 353-368. <https://doi.org/10.2331/suisan.36.353>
- Yee, S.L., Y.Ting & C.M. Kuo. 1987. Induction of sex reversal and spawning of grouper *Epinephelus salmonoides* and *Epinephelus fario*. *Bull. Taiwan Fish. Res. Inst.*, 43: 143-152.

Copyright (c) 2015 Torres-Hernández Pablo, Paulina Cebada-Martínez, Diego A. Girón-Cruz, Germán I. Garrido-Fariña & Carlos A. Alvarez-González.



Este texto está protegido por una licencia [Creative Commons 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Usted es libre para Compartir —copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato— y Adaptar el documento —remezclar, transformar y crear a partir del material— para cualquier propósito, incluso para fines comerciales, siempre que cumpla la condición de:

Atribución: Usted debe dar crédito a la obra original de manera adecuada, proporcionar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que tiene el apoyo del licenciante o lo recibe por el uso que hace de la obra.

[Resumen de licencia - Texto completo de la licencia](#)

