

Ministerio de Agricultura



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Reproducción de los peces en el trópico

Editores

Piedad Victoria Daza
Miguel Ángel Landines Parra
Ana Isabel Sanabria Ochoa

Bogotá, D. C. - Colombia
2005

Directivos

Andrés Felipe Arias Leiva
Ministro de Agricultura y Desarrollo Rural

Luis Vicente Támara Matera
Viceministro de Agricultura

Luis Ortíz López
Gerente General INCODER

Julián Botero Arango
Subgerente de Pesca y Acuicultura

Argiro Ramírez Aristizabal
Asesor Subgerencia de Pesca y Acuicultura

Luis Enrique Álvarez Ruiz
Coordinador Grupo de Investigaciones

EQUIPO TÉCNICO

Autores

Adriana Patricia Muñoz
Elisabeth Criscuolo Urbinati
Gustavo Álvaro Wills
Hermes Orlando Mojica Benítez
Jaime Fernando González Mantilla
Jesús Hernando Gamboa
José Ariel Rodríguez Pulido
Jose Augusto Senhorini
Juan Valverde Pretelt
Julián Botero Arango
Miguel Ángel Landines Parra
Pablo Emilio Cruz Casallas
Rafael Rosado Puccini
Sergio Zimmermann
Yohana María Velasco Santamaría

PRESENTACION

El éxito de cualquier programa de acuicultura sin duda comienza con la reproducción en cautiverio de los individuos que van a ser cultivados, pues sólo garantizando dicho proceso se podrán obtener volúmenes importantes y constantes de producción. No obstante, aunque existen varias técnicas de manejo y reproducción de peces suficientemente conocidas, las mismas corresponden a metodologías propias de otros países y, en ocasiones, no se adaptan completamente a las condiciones del trópico, las cuales suponen un manejo particular. Actualmente no existe en el país un documento reciente que explique los procesos reproductivos de los peces en el trópico, por lo que se presenta un gran vacío al respecto entre los interesados en el tema.

Por esta razón, el Instituto Colombiano de Desarrollo Rural —INCODER—, a través de la subgerencia de Pesca y Acuicultura, ha querido llenar este vacío para lo cual acudió a los más reconocidos investigadores nacionales e internacionales en la materia, en un proceso liderado por el grupo de investigaciones de la mencionada subgerencia y por algunos profesores de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia, quienes a lo largo de más de un año se dieron a la tarea de recopilar toda la información necesaria para generar este documento.

Como fruto de dicho trabajo, presentamos el libro **Reproducción de peces en el trópico**, cuyo propósito fundamental es poner a disposición de los interesados los aspectos fundamentales de la reproducción de peces, como una herramienta para el entendimiento del proceso y el mejoramiento de la acuicultura de nuestros países. De igual manera, esperamos que el texto les sirva de guía a todos aquellos que decidan iniciarse en esta promisoriosa actividad para el desarrollo pecuario del país.

Luis Ortíz López
Gerente General
INCODER

3

JUAN VALVERDE PRETELT

Abordar la labor de escribir sobre Juan nos resulta algo difícil si se tienen en cuenta todas las facetas de su vida que pudimos conocer y durante casi 15 años compartir; pero al mismo tiempo lo asumimos como un homenaje para su ausencia, como una forma de reconocer hoy y dar a conocer mañana, a uno de los grandes del Pacífico, de aquella costa que la mayoría de los colombianos no conocen y a la que Juan dedicó su vida y dejó un legado muy grande.

Nació en la capital natural del Pacífico, Buenaventura, el 16 de enero de 1958 donde se crió al lado de su familia, hasta alcanzar su grado de bachiller en el Instituto Técnico Industrial Gerardo Valencia Cano, para trasladarse luego a Cali a iniciar estudios de Biología en la Universidad del Valle. De esa época recordaba mucho las anécdotas del bloque Uganda, las residencias universitarias donde se alojaban la mayoría de los hijos del Pacífico y donde transcurrieron buena parte de las primeras etapas en su vertiginosa vida académica. Allí donde también junto a su amigo Hernando y bajo la dirección de Raúl Cuero abordaron los primeros acercamientos hacia la biotecnología, que en este caso se aplicaba a mejorar la calidad de conservación del pescado en las plantas de Buenaventura, tema que motivó su tesis y le permitió su grado en 1982.

Vino entonces una carrera profesional marcada por la dedicación y el esfuerzo y por ende de logros y metas cumplidas, asesorando plantas de producción de camarón y comercialización de pescado, antes de llegar en 1985 a dirigir la División de Pesca Artesanal del Instituto Nacional de los Recursos Naturales Renovables y del Ambiente -INDERENA-, cargo que de alguna manera siempre desempeñó, a pesar de los ajustes gubernamentales en 1990 para conver-

tirlo en el Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura -INPA- y finalmente en el 2003 en el Instituto Colombiano de Desarrollo Rural -INCODER-.

Académicamente recorrió diferentes lugares como el Instituto Científico de Investigaciones Marinas de Bredene y la Universidad Estatal de Ghent en Bélgica y la Universidad de Vermont en Estados Unidos hasta llegar a la Universidad de Strathclyde en el Reino Unido, donde recibió su título de Máster en Ciencias en Biotecnología de Alimentos Marinos en 1993, donde nuevamente y a pesar de estar en Europa orientó su investigación a resolver problemas locales, en esta ocasión dirigidos a la conservación y almacenamiento en hielo

del camarón de río, conocido como Muchillá y de gran importancia ecológica y económica en el Pacífico colombiano.

Fue miembro de la Comisión de Ciencia y Tecnología del Valle del Cauca y de la Comisión Permanente del Pacífico Sur -CPPS-, donde asistía como delegado de Colombia para los temas de pesca artesanal. Evaluador de proyectos de Colciencias, Asesor en Ciencia y Tecnología del Ministerio de Agricultura, Coordinador Regional de los Programas de Cooperación Técnica para la Pesca de la Unión Europea PEC y VECEP y fue galardonado por la Gobernación del Valle en 1994, con la Cruz de Plata como vallecaucano ilustre.

A pesar del sinnúmero de proyectos que abordó en toda su vida profesional, recordamos especialmente aquellos en que nos brindó un invaluable apoyo, los cruceros de investigación que el grupo de Evaluación de Recursos Marinos del INPA Regional Pacífico ade-

lantó desde 1991 hasta el año 2000, experiencias hermosas a bordo de buques comerciales y de la Armada Nacional, a lo largo y ancho de ese Pacífico, que nos permitieron dar a conocer zonas de pesca, épocas de reproducción y crecimiento de las especies, listas de diversidad biológica, biomasa de los principales recursos y medidas de ordenamiento hoy utilizadas para el manejo de los recursos pesqueros de nuestro país.

No podemos tampoco dejar de lado su otra pasión, el fútbol, donde al entrar a las canchas se transformaba, asumía su labor de defensa, mostraba un derroche de energía, iba, venía, dirigía, al punto que posiblemente esto era lo que nivelaba su espíritu, para que en la vida cotidiana y en lo laboral mantuviera esa calma que lo caracterizaba, ese don de gente que le permitía el diálogo pausado fuere con quien fuere y estuviese en la situación que fuese. Era tal esa pasión que por molestarlo le decíamos que en la bodega del carro no cargaba gato, ni herramientas de carretera sino balón, guayos y uniforme. Cuando no jugaba, organizaba los torneos, patrocinaba los equipos e incluso apoyaba a los jóvenes talentos para continuar una carrera deportiva profesional, que tal vez él cambió para dedicarse a la biología, a la pesca, a su gente.

Sin entender todavía qué pasó, después de más de cinco meses de incapacidad, a sólo una semana de tener viabilidad médica para retornar a la oficina a retomar todos sus proyectos, el 25 de noviembre del año 2004 no jugó más el partido de la vida, el árbitro supremo pitó y se le acabó el tiempo suplementario, se fue su luz a brillar en otras canchas, dejando un vacío inmenso no sólo en su familia y en el sinnúmero de personas con quienes compartió sino también en todo un proceso orientado al desarrollo sostenible del Pacífico.

Queda entonces un reto muy grande para todos los que hoy desarrollan y dan continuidad a su obra.

Las metas en acuicultura a las cuales había dedicado sus últimos años son muy altas y requerirán un gran esfuerzo y constancia del personal del INCODER para sacarlas adelante, por lo que significan en cifras, no sólo de producción y posible exportación sino también en seguridad alimentaria para las comunidades del Pacífico. En este mismo sentido y como un homenaje a Juan, quien lideró y entregó todo su esfuerzo a la construcción de la actual Estación Acuícola Bahía Málaga, queremos solicitar en nombre de todos los que lo conocimos que este centro de investigación lleve el nombre de Juan Valverde Pretelt.

Tal vez uno de los factores más importantes que el país pierde con la partida de Juan, es la punta de lanza en esa estrecha relación que logró con las comunidades, ese nivel de confianza que permitía que la institucionalidad, que la entidad gubernamental llegara a los grupos de base para sacar adelante el proceso que fuere. Es este un segundo reto, el de mantener los niveles de articulación estado-comunidad, que permitirán continuar la senda de logros que Juan marcó.

No nos queda más que en nombre de muchos darle las gracias, por permitirnos siempre llevar a cabo nuestros ideales de investigación, por ajustar esos detallitos administrativos que a veces olvidábamos, por el respaldo institucional permanente, por mostrarnos esa vida familiar junto a Yolanda y Vanesa, que nos alentó a pedirles que fueran nuestros padrinos de boda, por dejarnos conocer ese legado de paciencia con el que siempre se debe tratar a los demás y especialmente por entender que a pesar de los problemas, siempre detrás de las nubes está la luz del sol.

Vaya para ti en la cancha en que estés jugando, un sentimiento de gratitud y aprecio.

Luis Alonso Zapata Padilla
Beatriz Susana Beltrán León

CONTENIDO

La reproducción de los peces en el trópico

PRESENTACIÓN,	
OBITUARIO A JUAN VALVERDE, POR: LUIS ZAPATA.....	
AGRADECIMIENTOS	
MECANISMOS CELULARES DE LA REPRODUCCIÓN DE LOS PECES	11
Miguel Ángel Landines Parra	
BASES FISIOLÓGICAS DE LA REPRODUCCIÓN DE LOS PECES EN EL TRÓPICO	23
Elisabeth Criscuolo Urbinati	
EFFECTO DE CONTAMINANTES AMBIENTALES SOBRE EL SISTEMA REPRODUCTIVO DE LOS PECES	43
Jaime Fernando González Mantilla	
IMPORTANCIA DE LA NUTRICIÓN EN LA REPRODUCCIÓN DE PECES TELEÓSTEOS.....	63
Gustavo Álvaro Wills Adriana Patricia Muñoz	
GENERALIDADES SOBRE MANEJO Y SELECCIÓN DE REPRODUCTORES DE PECES REOFÍLICOS.....	79
José Augusto Senhorini Miguel Ángel Landines Parra	

REPRODUCCIÓN DE CARÁCIDOS EN CAUTIVERIO	91
Miguel Ángel Landines Parra	
Hermes Orlando Mojica Benítez	
REPRODUCCIÓN Y MANEJO DE SILÚRIDOS EN CAUTIVERIO.....	105
José Ariel Rodríguez Pulido	
Hermes Orlando Mojica Benítez	
MANEJO REPRODUCTIVO EN CAUTIVERIO DE LA TRUCHA ARCO IRIS ONCORHYNCHUS MYKISS WALBAUM, 1792	123
Rafael Rosado Puccini	
REPRODUCCIÓN DE LA TILAPIA.....	147
Sergio Zimmermann	
REPRODUCCIÓN DE LA CARPA	165
Miguel Ángel Landines Parra	
DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS SEMINALES Y SEMINACIÓN ARTIFICIAL EN PECES.....	175
Pablo Emilio Cruz Casallas	
Yohana María Velasco Santamaría	
REPRODUCCIÓN ARTIFICIAL DE PECES MARINOS	197
Julián Botero Arango	
REPRODUCCIÓN DEL PARGO LUNAREJO LUTJANUS GUTTATUS (STEINDACHNER, 1869).....	229
Jesús Hernando Gamboa	
Juan Valverde Pretelt	

MECANISMOS CELULARES DE LA REPRODUCCIÓN DE LOS PECES

Miguel Angel Landínes Parra¹

Introducción

Dentro de los vertebrados, los peces son el grupo más numeroso, pudiéndose encontrar cerca de 25.000 especies vivientes, la mayoría de las cuales pertenece al grupo de los teleósteos. Este grupo cuenta con una inmensa variedad de peces que incluye desde individuos de menos de 3 cm, como por ejemplo *Corydoras habrosus*, hasta el majestuoso *Arapaima gigas* con sus cerca de 3 metros de longitud, haciéndolo uno de los más complejos de estudiar desde el punto de vista reproductivo, pues gracias a la gran variedad de especies que lo componen son posibles diferentes mecanismos reproductivos, algunos de ellos únicos dentro de los vertebrados. Por esta razón, la mayoría de los autores coinciden en que existen por lo menos 3 tipos diferentes de reproducción (Lagler *et al.*, 1990; Vazzoler, 1996 y Moyle y Cech, 1996), cada uno de los cuales poseen sus propias especificidades y debe ser tratado de manera separada.

Por otro lado, el estudio de la célula, como unidad fundamental de la vida, también es tarea compleja cuando se habla de peces teleósteos, pues aunque en términos generales su desarrollo es similar al de la mayoría de los vertebrados, es posible encontrar características propias que ameritan un estudio particular y detallado.

Adicional a lo anterior, existe un sin número de teorías, terminologías y nomenclaturas que hacen referencia al desarrollo ovárico y testicular de los peces, encontrando en la literatura gran controversia al respecto. Por estas razones, el presente capítulo pretende hacer un resumen de los principales eventos que

¹ Zootecnista, Ph. D. Profesor Universidad Nacional de Colombia. malandinezp@unal.edu.co

ocurren a nivel celular en el ciclo reproductivo de los peces, así como también intenta unificar los conceptos de mecanismos celulares de su reproducción, presentando una posible estandarización de la terminología frecuentemente utilizada.

Oogénesis

La oogénesis en los teleósteos es el proceso mediante el cual las células de la línea germinativa completan su desarrollo, dando lugar a la célula de mayor tamaño que el individuo puede producir, el óvulo. En términos generales, oogénesis es la transformación de oogonias en oocitos, proceso que se cumple cíclicamente en el ovario del pez durante toda su vida reproductiva (Harvey y Carosfeld, 1993).

El proceso se inicia con una fase de crecimiento primario caracterizada por la multiplicación de las oogonias por mitosis, seguida de una fase en la que se da paso a los oocitos primarios que es cuando la célula ha entrado en la primera división meiótica. Este crecimiento es muy marcado (la célula puede aumentar hasta 100 veces su tamaño) y generalmente va acompañado del desarrollo de las células foliculares, las cuales en primera instancia forman una capa glandular denominada granulosa que está separada del ooplasma por la denominada zona pelúcida, que es una estructura que contiene numerosas microvellosidades (Harvey y Carosfeld, 1993), haciendo posible su comunicación con el oocito. Completando el folículo ovárico, se encuentra externamente la teca, que envuelve todo el conjunto llamado ahora oocito previtelogénico.

El proceso de crecimiento primario de los oocitos continúa durante toda la vida de los peces, espe-

cialmente en aquellos que desovan en repetidas ocasiones; es posible encontrar oocitos previtelogénicos durante todo el año en el ovario de dichos peces. Según Urbinati (1999), mediante divisiones de las oogonias cada año se van formando nuevos oocitos, los cuales estarán maduros en la próxima estación de desove de la especie.

Posteriormente, los oocitos previtelogénicos comienzan una serie de cambios que culminarán con su maduración, los cuales se resumen a continuación:

Formación de vesículas de vitelo (previtelogénesis)

Posterior al crecimiento inicial, los oocitos no experimentan evolución alguna, hasta cuando por efecto de cambios medioambientales se da continuidad a su maduración. Según Harvey y Carolsfeld (1993), el primer signo que indica que el proceso ha continuado es el apareamiento de las vesículas de vitelo en el citoplasma del oocito, las cuales están constituidas de glucoproteínas formadas al interior de la célula, razón por la cual en ocasiones esta fase es denominada vitelogénesis endógena (Carrillo y Rodríguez, 2001). Sin embargo, el término más adecuado es formación de vesículas de vitelo.

Vitelogénesis

Poco después de terminada la fase anterior, sucede un proceso denominado vitelogénesis, en el cual un fosfolípido producido en el hígado, conocido como vitelogenina es “capturado” de la corriente sanguínea y acumulado dentro del oocito bajo la forma de glóbulos de vitelo, los cuales se distri-

buyen por todo el ooplasma dándole mayor crecimiento al oocito (Romagosa *et al.*, 1990).

Maduración

Cuando la vitelogénesis culmina, son pocos los cambios que suceden dentro del oocito, pudiéndose mantener en “período de latencia” por un tiempo bastante prolongado, a la espera de que las condiciones medioambientales sean propicias para la maduración final (Zaniboni-Filho y Nuñez, 2004), proceso en el cual se vuelve a retomar la meiosis, que estaba detenida en la fase de primera división meiótica, específicamente en el estadio de diploteno de la profase I (Freire-Brasil *et al.*, 2003).

Como sucede con la mayoría de los animales, la meiosis es retomada en la denominada maduración final del oocito, es decir, cuando los oocitos posvitelogénicos (hasta ahora infértiles) se convierten en oocitos maduros (fértils) inmediatamente antes de la ovulación. Este es un proceso rápido que es mediado por los esteroides inductores de la maduración e incluye una serie de cambios en la estructura celular dentro de los que se destacan la clarificación del vitelo, la migración del núcleo celular y el rompimiento y desaparición del mismo.

Ovulación

Cuando termina la maduración final, los oocitos ya están listos para ser liberados, sucediendo entonces la separación del folículo ovárico y la liberación de los óvulos hacia el lumen del ovario, en donde ya se encuentran listos para ser expulsados; en ese momento continúa la meiosis hasta

la metafase, fase en la cual están aptos para ser fertilizados. Para entonces, la zona radiata está perfectamente desarrollada (Li *et al.*, 2000; Rizzo *et al.*, 2002; Rizzo *et al.*, 2003 y Kunz, 2004), presentando las características propias de cada especie. Así por ejemplo en silúridos la conformación es diferente porque la mayoría de las especies pertenecientes a este grupo poseen una capa gelatinosa externa (Fig. 1D). No obstante, en la mayoría de los casos es una estructura constituida por una red de poros que permiten la comunicación del óvulo con el exterior (Fig. 1C). Adicionalmente, se puede observar el micrópilo que por lo general es un único orificio (Fig. 1), aunque puedan existir especies con múltiples micrópilos en su superficie (Linhart y Kudo, 1997).

Fases de desarrollo ovárico

En términos generales, la oogénesis de los peces teleósteos se puede dividir en varios estadios, iniciando con el crecimiento oocitario, incluyendo la vitelogénesis y siguiendo con las fases de maduración y ovulación, las cuales se constituyen como los estadios finales del proceso. El crecimiento oocitario se caracteriza por ser un proceso complejo de desarrollo y diferenciación que envuelve diferentes aspectos: 1) formación de numerosos nucleolos, desarrollo de cromosomas e inclusión de corpúsculos en los núcleos, 2) acumulación de organelas de diversa morfología, RNA, e inclusiones en el ooplasma y 3) formación de varias envolturas (folículo) oocitarias (Guraya, 1986).

No obstante, el desarrollo oocitario de los peces ha sido descrito con variadas terminologías y nomenclaturas, causando siempre controversia entre los estudiosos del asunto. Sin embargo, la

mayoría coincide en que existen 4 fases principales perfectamente diferenciadas: Nueva célula, citoplasma basófilo, vitelogénesis y maduración (Chaves, 1985). Por regla general, microscópicamente se han caracterizado diversos tipos celulares, que han dado origen a las diferentes escalas de maduración comúnmente utilizadas en los teleosteos. Dichos tipos celulares son: Oogonias, oocitos en cromatina nucleolar, perinucleolares, con alvéolos corticales, vitelogénicos y maduros (Romagosa *et al.*, 2002), los cuales se describen a continuación:

Oogonias. Son las células primordiales de la línea germinativa de las hembras de teleosteos que

darán origen a los oocitos que se convertirán en óvulos maduros. Son células pequeñas que generalmente se encuentran agrupadas y cuyas características son las de poseer un núcleo grande, con poca afinidad por los colorantes y citoplasma escaso (Zaniboni-Filho y De Resende, 1988; Leino *et al.*, 2005).

Cromatina nucleolar. Son células que permanecen agrupadas en “nidios” que se localizan en las regiones vascularizadas de las lamelas ovígeras (Fig. 2). Poseen poco citoplasma y un núcleo redondeado, fuertemente basófilo y por lo general con un único nucleolo (Vazzoler, 1996 y Carrillo y Rodríguez, 2001).

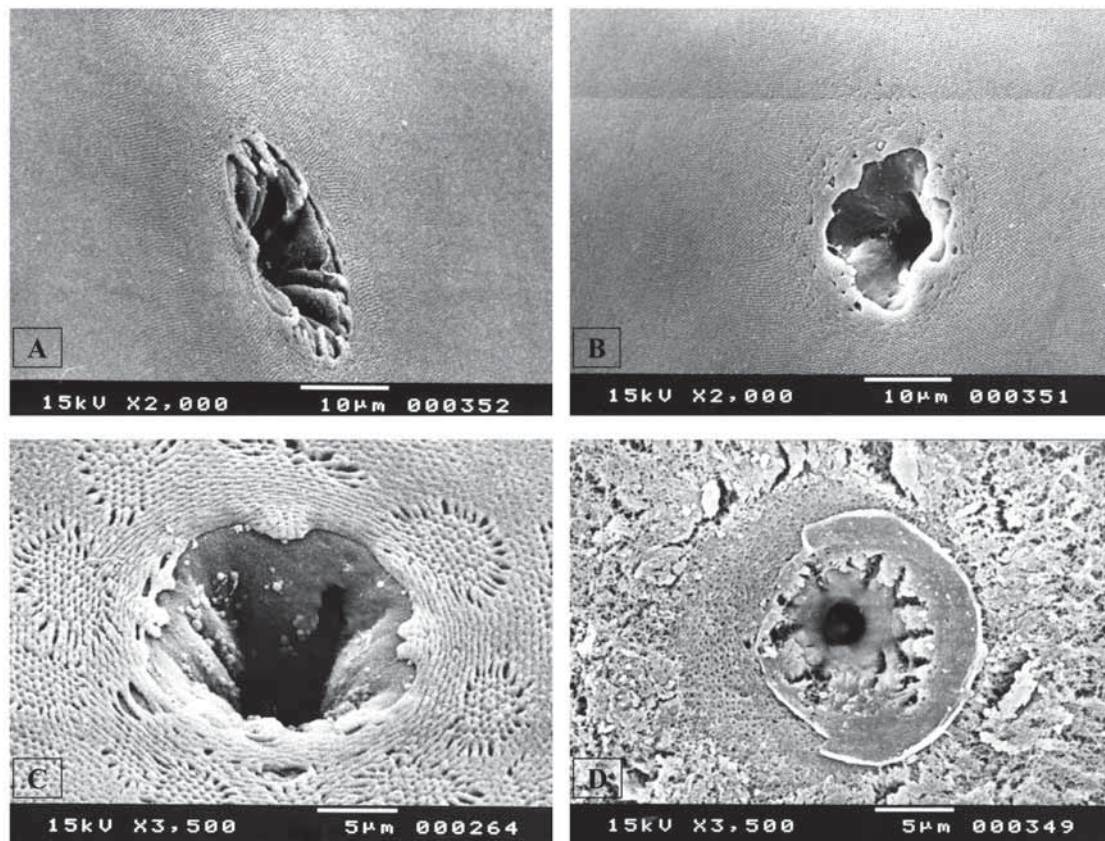


Figura 1. Detalle de la zona radiata y micrópilo de *Salminus maxillosus* (A y B), *Brycon orbignyanus* (C) y *Pseudoplatystoma coruscans* (D).

Perinucleolar. Son células de tamaño superior a las anteriores, lo que las ha obligado a desprenderse del “nido”. Su citoplasma es bien definido y más basófilo que en la fase anterior (Vazzoler, 1996). Su característica fundamental es la presencia de numerosos nucleolos en la periferia del núcleo (Utoh *et al.*, 2004), lo que da origen a su nombre. En algunas de estas células es posible observar los corpúsculos de Balbiani, los cuales aparecen en los oocitos inmediatamente antes de la vitelogénesis (Fig. 3).

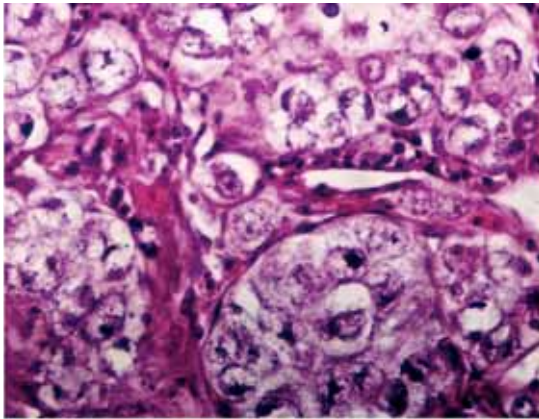


Figura 2. Oocitos de *Brycon cephalus* en fase cromatina nucleolar. Obsérvese el agrupamiento celular en “nidos”. 10 X.

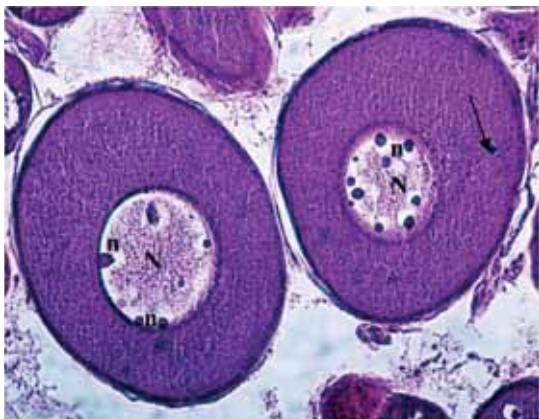


Figura 3. Oocitos de *Brycon cephalus* en fase perinucleolar. Obsérvese el núcleo (N) con numerosos nucleolos (n) y el corpúsculo de Balbiani (↓). 40 X.

Alvéolo cortical. La característica fundamental de esta fase es la vacuolización del citoplasma, principalmente cerca de la membrana celular (Fig. 4). Dicha vacuolización, va acompañada de la síntesis de vitelo, pudiéndose observar los alvéolos corticales principalmente en cercanías del micrópilo (Kunz, 2004), situación que puede ser explicada por la importante función de los alvéolos en la fertilización y en la prevención de la poliespermia (Guraya, 1986).



Figura 4. Oocito de *Prochilodus mariae* en fase de alvéolo cortical. Obsérvese los alvéolos corticales (ac) en la periferia celular. 40 X.

Vitelogénesis. El oocito continúa su crecimiento y desarrollo, pudiéndose observar un citoplasma abundante como consecuencia de la cantidad de gránulos de vitelo (Fig. 5), los cuales avanzan de manera centrípeta empujando las vacuolas para el centro de la célula. El núcleo continúa teniendo las características de la fase anterior presentando un contorno un poco irregular y manteniendo varios nucleolos en su periferia. La membrana vitelina se torna más espesa y las células foliculares son más evidentes (Vazzoler, 1996).

Maduro. El citoplasma ha aumentado considerablemente y se encuentra completamente lleno

de vitelo (Fig. 6). El núcleo celular se encuentra desplazado hacia la periferia y sus contornos son completamente irregulares. Los oocitos están listos para liberarse del folículo ovárico y ser fertilizados. En algunos de ellos se puede observar el micrópilo, orificio por donde ingresará el espermatozoide (Fig. 7).

Oocitos que no sean ovulados después de esta fase, iniciarán un proceso de regresión gonadal, mediante el cual el ovario involucionará y se preparará para la siguiente estación reproductiva.

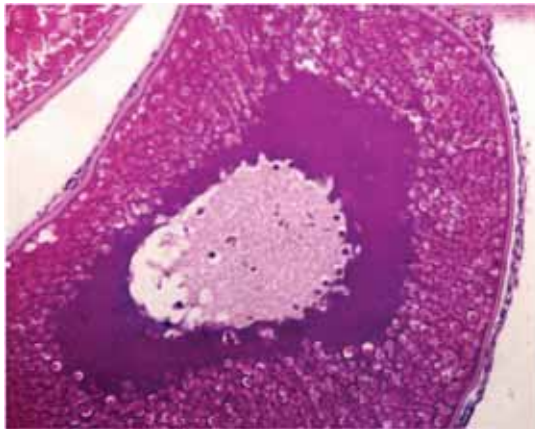


Figura 5. Oocito vitelogénico de *Prochilodus mariae*. 40 X.

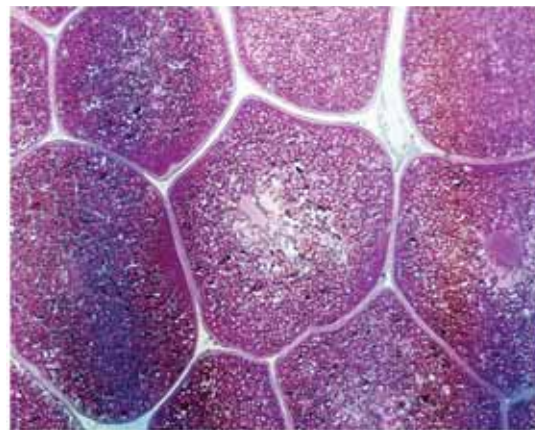


Figura 6. Oocitos maduros de *Prochilodus mariae*. 10 X.

Generalmente esta situación se presenta en individuos de cautiverio, en los que no existen condiciones medioambientales óptimas para la ovulación, impidiendo la realización del proceso, a menos que sean inducidos hormonalmente. En el medio natural, se espera que todos los oocitos maduros sean ovulados y desovados, pudiéndose encontrar posterior a estos eventos, ovarios vacíos.

Pese a la enorme variabilidad que existe en la nomenclatura especializada, con base en las anteriores características celulares se sugiere que la escala de maduración gonadal para hembras de peces teleósteos incluya los siguientes estadios: inmaduro o virgen, en reposo, en maduración, maduro y vacío o desovado (Landínez, 2001).

Espermatogénesis

La espermatogénesis de los peces es el proceso mediante el cual las células germinativas (espermatogonias) se convierten en espermatozoides, luego de una serie de cambios celulares ocurridos en los testículos.

Aunque en general el proceso es menos estudiado que en hembras (Da Cruz-Landim *et al.*, 2003), se sabe que las espermatogonias son células grandes y nucleadas que por división celular van a dar origen a los espermatoцитos, los cuales a su vez darán paso a las espermátides, que finalmente originarán los espermatozoides (Zaiden, 1997) en un proceso denominado espermiogénesis. La particularidad fundamental de la espermatogénesis es que de cada célula germinativa se originan 4 gametos viables, contrario a lo que sucede en la ovogénesis en donde solamente se obtiene un óvulo por cada oogonia.

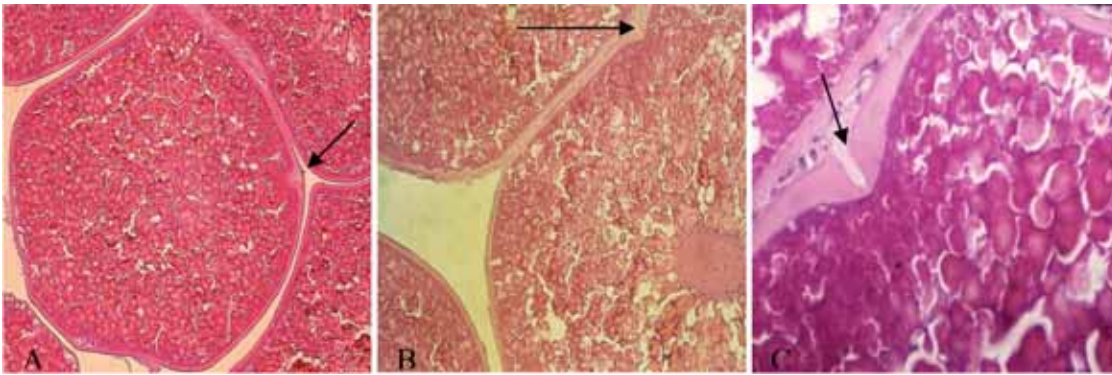


Figura 7. Oocitos maduros de *Prochilodus mariae*, mostrando el micrópilo (↓). A (10 X.), B (20 X.) y C (40 X.)

Desde el punto de vista de organización y diferenciación celular, el testículo presenta diversos cambios a lo largo del ciclo, pudiéndose identificar los diferentes estadios por el tamaño y localización de las células. En primera instancia se pueden identificar las espermatogonias (Fig. 8), las cuales están localizadas en el interior de los lóbulos del testículo (Weltzien *et al.*, 2002), lugar en el que se dividen por mitosis para dar origen a los espermatocitos primarios y secundarios (Fig. 9), los cuales darán lugar a las espermatides (Fig. 10). Posteriormente, tiene lugar la espermiogénesis, caracterizada por una expansión de los cistos dentro del lóbulo, seguida de una ruptura

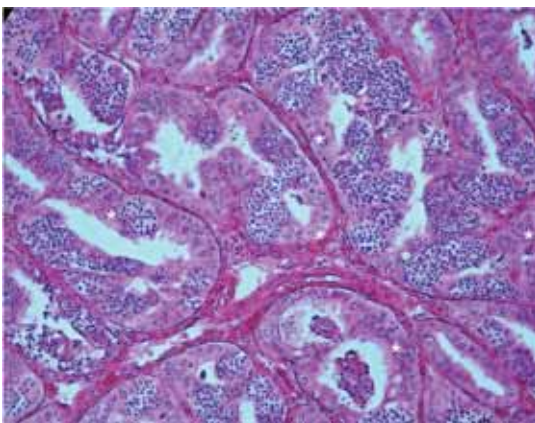


Figura 8. Testículo de *Brycon cephalus* mostrando los cistos dentro del lóbulo y las espermatogonias (*). 10 X

(anastomosis) y liberación de los espermatozoides al lumen central (Figs. 11 y 12), proceso denominado por algunos autores espermiación (Harvey y Carosfeld, 1993).

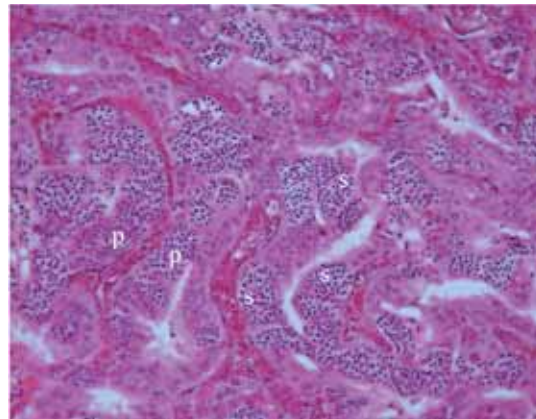


Figura 9. Testículo de *Brycon cephalus* mostrando los espermatocitos primarios (p) y secundarios (s). 10 X.

Según Kunz (2004), los espermatozoides tienen una doble función: la activación del oocito y la transmisión de material genético al nuevo individuo (herencia). En general su estructura en los teleosteos es simple, presentando cabeza, pieza media y flagelo, aunque a nivel ultraestructural existe una gran diversidad que varía de una especie a otra (Romagosa *et al.*, 1999; Quagio-Grassiotto *et al.*, 2001; Gwo *et al.*, 2004 y Gwo *et al.*,

2004b). Por regla general no existe acrosoma, justificando la presencia del micrópilo en el óvulo. No obstante, existen reportes de varias especies que poseen dicha estructura o por lo menos vestigios (Mattei, 1991).

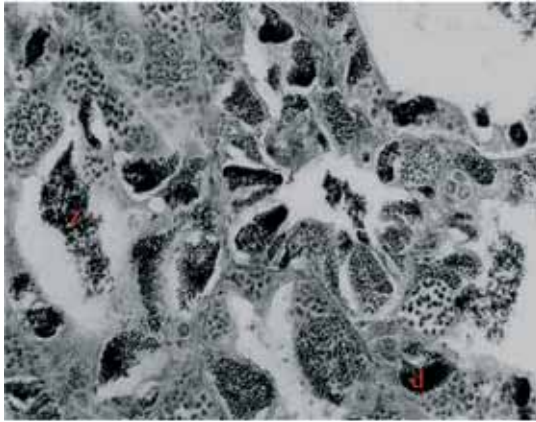


Figura 10. Testículo de *Brycon cephalus* mostrando las espermatidos (d) y algunos espermatozoides (z). 10 X.

y estadios de desarrollo que se encuentren en las gónadas en un momento dado. Dicha escala comprende los estadios de inmaduro o virgen, en reposo, en maduración, maduro y vacío o desovado (Landínez, 2001).

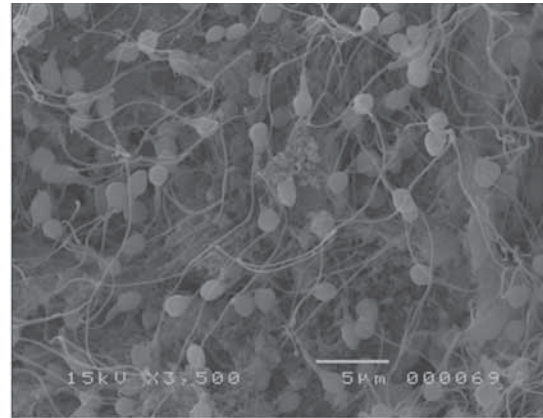


Figura 12. Espermatozoides maduros de *Brycon cephalus* en el lumen central del lóbulo.

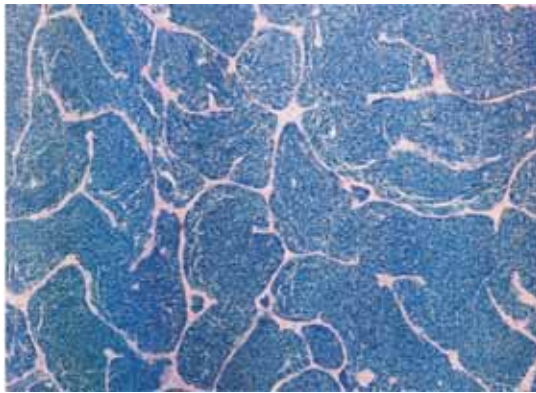


Figura 11. Testículo de *Prochilodus mariae* presentando ruptura de los cistos y espermatozoides maduros. 10 X.

Como se mencionó para las hembras, cuando se habla de escala de maduración gonadal existe una enorme variabilidad en la nomenclatura utilizada. No obstante, la intención del presente capítulo es sugerir que la escala de maduración ya presentada para hembras pueda ser utilizada también para los machos, dependiendo del número de células

Fertilización

Según Kunz (2004), la fertilización incluye varios pasos que van a tener como resultado final la fusión del espermatozoide con el óvulo, específicamente de sus pronúcleos.

En la mayoría de los teleósteos la fertilización es externa. La hembra libera gran cantidad de óvulos sobre los cuales el macho deposita su esperma. Cuando el gameto masculino entra al óvulo, induce en él un intenso movimiento citoplasmático en dirección al polo superior del recién formado huevo (Leme dos Santos y Azoubel, 1996). Dicho movimiento ya ha iniciado desde la ruptura de la membrana nuclear, momento en el cual el folículo empieza a perder conexión con el oocito maduro y se observan los alvéolos corticales alineados en la periferia del citoplasma en inmediaciones del

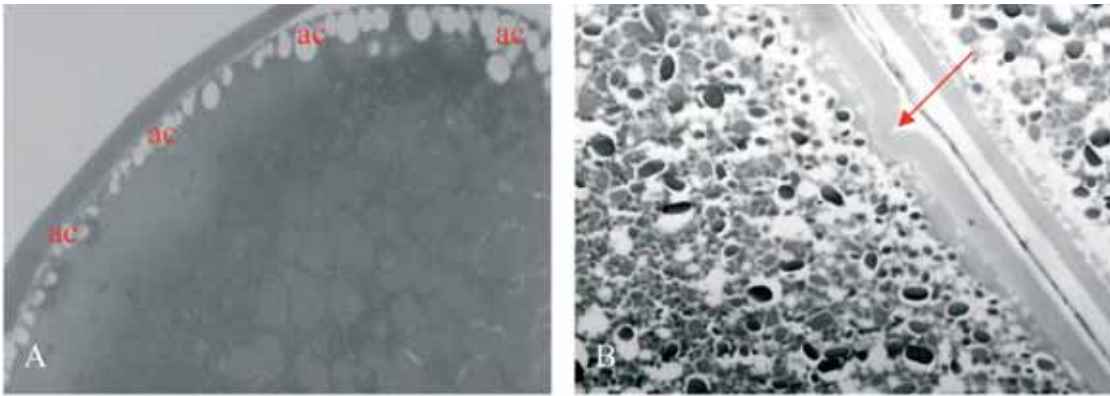


Figura 13. Oocitos maduros de *Prochilodus mariae*. A. Alvéolos corticales alineados en la periferia (ac) 40 X. B. Micrópilo desprovisto de la célula micropilar (↓). 40 X.

micrópilo (Fig. 12), con el objeto de posibilitar la reacción alvéolo-cortical que tendrá lugar en el instante de la fertilización e irá acompañada de la formación del espacio perivitelínico, como consecuencia de la separación del corion de la membrana citoplasmática. Por último, los alvéolos corticales terminan de organizarse, localizándose debajo de la membrana plasmática en una sola hilera (Freire-Brasil *et al.*, 2003). Todos estos eventos morfológicos coinciden con la diferenciación del polo animal y polo vegetativo, siendo evidente que el citoplasma de la célula se concentra en el primero de ellos.

Previo a la entrada del espermatozoide, el óvulo maduro presenta un micrópilo bien definido, que ha derivado de la célula micropilar, la cual presenta un núcleo con nucleolo evidente y un citoplasma en forma de embudo que impide acumulación de corion en este lugar, dando origen al vestíbulo del micrópilo. En el momento de la ovulación, dicha célula se retrae, asumiendo una forma esférica (Fig. 13) que desaparecerá en el momento del desove, permitiendo la entrada del espermatozoide (Freire-Brasil *et al.*, 2003).

Cuando la célula micropilar ha desaparecido por completo, el micrópilo se muestra abierto, posibilitando la entrada del espermatozoide (Fig. 14), pudiéndose observar que a pesar de que varios de ellos atraviesan el vestíbulo del micrópilo (Fig. 15), solo uno puede pasar por su canal inferior, debido al reducido diámetro del mismo, la mayoría de las veces similar al de la cabeza del espermatozoide.

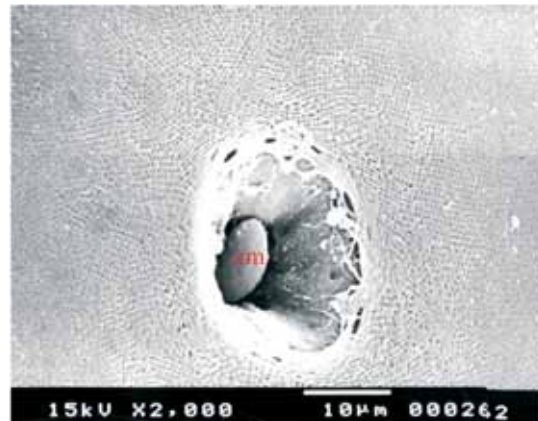


Figura 14. Micrópilo de *Brycon orbignyanus* mostrando la célula micropilar (cm) con formato esférico.

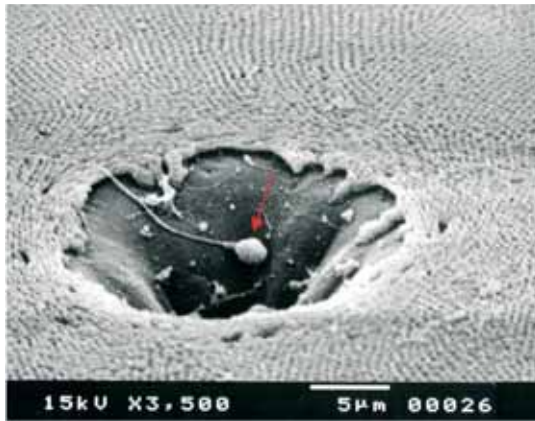


Figura 15. Momento de la fertilización de *Brycon orbignyanus*. Obsérvese un espermatozoide (↓) entrando en el vestíbulo del micrópilo.



Figura 16. Fertilización en *Salminus maxillosus*. Obsérvese el flagelo de dos espermatozoides (↓) entrando en el vestíbulo del micrópilo.

BIBLIOGRAFÍA

- CARRILLO, M.A. Y J.A. RODRÍGUEZ. 2001. Bases fisiológicas de la reproducción de peces tropicales. 189-217 p. En: Rodríguez, H.; P. Victoria y M. Carrillo (Eds). Fundamentos de Acuicultura Continental. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura, INPA. Bogotá, D.C., Colombia. Segunda edición. 423 p.
- CHAVES, P.T.C. 1985. O desenvolvimento ovocitário de representantes de 10 famílias de Teleósteos amazônicos: Aspectos estruturais e considerações. Dissertação-INPA. Manaus – Brasil.
- DA CRUZ-LANDIM, C.A.; F. CAMARGO-ABDALLA Y M.A. DA CRUZ-HÖFLING. 2003. Morphological study of the spermatogenesis in the teleost *Piaractus mesopotamicus*. Biocell, 27 (3): 319-328.
- FREIRE-BRASIL, D.; I. QUAGIO-GRASSIOTTO; L.S. OKADA-NAKAGHI; H.S. LEME-DOS SANTOS Y F. FORESTI. 2003. Análise morfológica da maturação final do ovócito em Curimbatá (*Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1836) CIVA 2003 (<http://www.civa2003.org>), 383-398.
- GWO, J.C.; W.T. YANG; M.C. KUO; A. TAKEMURA Y H.Y. CHENG. 2004A. Spermatozoal ultrastructures of two marine perciform teleost fishes, the goatfish, *Paraupeneus spilurus* (Mullidae) and the rabbitfish, *Siganus fuscescens* (Siganidae) from Taiwan. Tissue and Cell, 36: 63-69.
- GWO, J.C.; M.C. KUO; J.Y. CHIU Y H.Y. CHENG. 2004B. Ultrastructure of *Pagrus major* and *Rhabdosargus sarba* spermatozoa (Perciformes: Sparidae: Sparinae). Tissue and Cell, 36: 141-147.
- GURAYA, S.S. 1986. The cell and molecular biology of fish oogenesis. Karger Edit. Suiza. 213 p.
- HARVEY, B. Y J. CAROLSFELD. 1993. Induced breeding in tropical fish culture. IDRC, Ottawa.
- KUNZ, Y.W. 2004. Developmental biology of teleost fishes. Springer Edit. Noruega. 638 p.
- LAGLER, K.F.; J.E. BARDACH; R.R. MILLER Y D.R.M. PASSINO. 1990; Ictiología. AGT Edit. México. 489 p.

- LANDÍNEZ, M.A. 2001. Mecanismos celulares de la reproducción de los peces. En: Memorias del III Seminario Internacional de Acuicultura. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- LEINO, R.L.; K.M. JENSEN Y G.T. ANKLEY. 2005. Gonadal histology and characteristic histopathology associated with endocrine disruption in the adult fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19: 85-98.
- LEME DOS SANTOS, H.S. Y R. AZOUBEL. 1996. Embriología comparada: Texto e atlas. Funep. Edit. Brasil. 189 p.
- LI, Y.H.; C.C. WU Y J.S. YANG. 2000. Comparative ultrastructural studies of the zona radiata of marine fish eggs in three genera in Perciformes. *Journal of Fish Biology*, 56: 615-621.
- LINHART, O. Y S. KUDO. 1997. Surface ultrastructure of paddlefish eggs before and after fertilization. *Journal of Fish Biology*, 51: 573-582.
- MATTEI, X. 1991. Spermatozoon ultrastructure and its systematic implications in fishes. *Canadian Journal of Zoology*, 69: 3038-3055.
- MOYLE, P.B. Y J.J. CECH. 1996. Fishes: An introduction to ichthyology. Snavelly, (Edit). Estados Unidos de América. 590 p.
- QUAGIO-GRASSIOTTO, I.; J.N.C. NEGRÃO; E.D. CARVALHO Y F. FORESTI. 2001. Ultrastructure of spermatogenic cells and spermatozoa in *Hoplias malabaricus* (Teleostei, Characiformes, Erythrinidae). *Journal of Fish Biology*, 59 (6): 1494.
- RIZZO, E.; Y. SATO; B.P. BARRETO Y H.P. GODINHO. 2002. Adhesiveness and surface patterns of eggs in neotropical freshwater teleosts. *Journal of Fish Biology*, 61: 615-632.
- RIZZO, E.; H.P. GODINHO E Y. SATO. 2003. Short-term storage of oocytes from the neotropical teleost fish *Prochilodus marginatus*. *Theriogenology*, 60: 1059-1070.
- ROMAGOSA, E.; P. PAIVA. Y E.M. GODINHO. 1990. Pattern of oocyte diameter frequency distribution in females of de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (= *Colossoma mitrei* Berg, 1895), induced to spawn. *Aquaculture*, 86: 105-110.
- ROMAGOSA, E.; M.Y. NARAHARA; M.I. BORELLA; S.F. PARREIRA Y N. FENERICH-VERANI. 1999. Ultrastructure of the germ cells in the testis of matrinxá, *Brycon cephalus* (Teleostei, Characidae). *Tissue and Cell*, 31 (6): 540-544.
- ROMAGOSA, E.; M.I. BORELLA; M.Y. NARAHARA Y N. FENERICH-VERANI. 2002. Light and electron microscopy oogenesis in matrinxá, *Brycon cephalus*. *Journal Submicrosc Cytol Pathol*, 34 (4): 425-431.
- URBINATI, E. 1999. Controle hormonal da vitelogenese, maturação, ovulação e desova de peixes. En: Memorias del Primer Seminario de Morfofisiología de la reproducción de los teleosteos. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- UTOH, T.; N. MIKAWA; A. OKAMURA; Y. YAMADA; S. TANAKA; N. HORIE; A. AKAZAWA Y H.P. OKA. 2004. Ovarian morphology of the Japanese eel in Mikawa Bay. *Journal of Fish Biology*, 64: 502-513.
- VAZZOLER, A.E. 1996. Biología da reprodução de peixes teleosteos: Teoria e prática. EDUEM. São Paulo Brasil. 169 p.
- WELTZIEN, F.A.; G.L. TARANGER; O. KARLSEN Y B. NORBERG. 2002. Spermatogenesis and related plasma androgen levels in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 132: 567-575.
- ZAIDEN, S. 1997. Estrutura testicular da piracanjuba *Brycon orbignianus* (Valenciennes, 1849) (Pisces, Characidae), nos vários estádios do ciclo sexual. Dissertação. Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura da UNESP. Jaboticabal - SP. 78 p.
- ZANIBONI-FILHO, E. Y E.K. DE RESENDE. 1988. Anatomia de gônadas, escala de maturidade e tipo

de desova do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei: Characidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 48 (4): 833-844.

ZANIBONI-FILHO, E. Y A. P. NUÑER. 2004. Fisiologia da reprodução e propagação artificial dos

peixes. 45-73p En: Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. Cyrino, J.E.P.; E.C. Urbinati; D.M. Fracalossi y N. Castagnolli (Eds.). Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática.

BASES FISIOLÓGICAS DE LA REPRODUCCIÓN EN PECES TROPICALES*

Elisabeth Criscuolo Urbinati¹

Introducción

Este capítulo tiene como objetivo discutir las bases fisiológicas de la reproducción de especies de peces tropicales, dado que la gran mayoría de la información disponible y el enfoque más moderno sobre el tema se refiere a especies de regiones templadas, especialmente salmónidos. No obstante la diversidad de especies, comportamientos biológicos y respetando las especificidades, serán discutidos los aspectos básicos del proceso reproductivo, mostrando siempre que sea posible el conocimiento disponible sobre la reproducción de algunas especies tropicales y subtropicales.

Para el proceso de domesticación es necesario tener el control sobre todas las fases del ciclo de vida del pez, especialmente la reproducción y para ello el conocimiento de la fisiología y de los mecanismos moleculares involucrados en el control del proceso reproductivo son indispensables para el desarrollo de tecnologías apropiadas para la piscicultura. Actualmente las herramientas de la biología molecular han permitido grandes avances en lo que se refiere al conocimiento de la fisiología reproductiva de los peces.

El capítulo abordará dos aspectos de la regulación de la reproducción: el sistema hormonal ligado directamente a los diferentes eventos del proceso de desarrollo gonadal y el sistema de equilibrio del balance energético corporal que afecta indirectamente el eje hormonal reproductivo. Muchas nuevas moléculas

¹ Biomédica, M. Sc., Ph. D. Docente Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP e Centro de Aqüicultura da UNESP (CAUNESP), campus de Jaboticabal-Brasil. bethurb@caunesp.unesp.br

* Traducido por: Miguel A. Landínes, Profesor Universidad Nacional de Colombia. malandinezp@unal.edu.co

han ganado importancia como mediadoras en el proceso reproductivo de los peces y serán presentadas.

El ambiente y el proceso reproductivo

El control de la reproducción en peces es un proceso multifactorial que envuelve la interacción de agentes ambientales, sociales, neurales, endocrinos y nutricionales. Aunque en regiones templadas, factores ambientales como el fotoperiodo y la temperatura del agua son determinantes en la regulación de la reproducción, en peces de aguas cálidas, como algunos ciprínidos, la temperatura es el factor predominante, aunque el fotoperiodo puede modular la gametogénesis. El desove en carpas fue estimulado por el aumento de la temperatura, mientras que la reducción de esta inhibió el desarrollo gonadal (Horváth, 1986). En regiones tropicales y semitropicales, el bagre africano presenta un periodo reproductivo bastante restricto, que coincide con la estación de lluvia, pero la temperatura parece ser el factor dominante en la regulación de la actividad ovárica de la especie (Richter *et al.*, 1987). La tilapia es una especie tropical y subtropical que refleja bien los efectos del ambiente en el desarrollo gonadal. En lugares donde se presentan temperaturas bajas, el periodo reproductivo se extiende mientras la temperatura es favorable y en las épocas frías la gametogénesis es bloqueada (Hepher y Pruginin, 1982).

Aunque en los trópicos casi no ocurren variaciones estacionales en el fotoperiodo ni en la temperatura, existe una cierta estacionalidad ocasionada por las lluvias, que alteran el nivel del agua de los ríos, facilitando el desplazamiento migratorio

de los reproductores y ofreciendo áreas favorables para el crecimiento de los huevos y de la prole. De este modo, en las regiones tropicales, la estación de lluvia parece ser determinante para el inicio de la maduración reproductiva de los peces. La reproducción de la sapuara (*Semaprochilodus insignis* y *S. taeniurus*), del tambaquí (*Colossoma macropomum*) y del matrinxã (*Brycon* sp.), especies de la amazonia central, ocurre en el inicio del periodo lluvioso (Val y Honczaryk, 1995). En las cuencas de los ríos Paraná, Paraguay y Uruguay, el pacú (*Piaractus mesopotamicus*), realiza una larga migración durante la estación seca, mientras sucede la maduración de las gónadas y el desove ocurre durante la estación lluviosa (Ferraz de Lima *et al.*, 1984). En cautiverio, la reproducción del pacú y del tambaquí, en el sudeste del Brasil, ocurre de octubre a marzo, época en que son registradas las temperaturas más altas y es mayor la incidencia de las lluvias (Bernardino y Lima, 1999). Estas condiciones ambientales también son determinantes para la reproducción del dorado (*Salminus maxillosus*) (Moreira *et al.*, 2004). El *Pseudoplatystoma blochii* y el *Pseudoplatystoma cariba* son reproductores estacionales, del río Orinoco en Venezuela, y presentan un ciclo gonadal anual muy relacionado con el ciclo hidrológico del río, que define dos niveles en las aguas: inundación y sequía (Marcano *et al.*, 2004).

Bases hormonales de la reproducción de los peces

A pesar de la gran influencia de los factores ambientales en el desarrollo gonadal de los peces, los factores endocrinos son los principales agentes que actúan en el control de este proceso. El sistema endocrino de los peces, como el de otros

vertebrados, está íntimamente asociado al sistema nervioso y juntos actúan en la coordinación del proceso reproductivo. La recepción de los estímulos ambientales por los receptores sensoriales de los centros nerviosos desencadenan una cascada de eventos, en un eje que envuelve órganos jerárquicamente relacionados como el hipotálamo, la pituitaria y las gónadas a través de la liberación de hormonas esteroides, peptídicas, aminas, y ecosanoides (Fig. 1). Múltiples hormonas y factores de crecimiento provenientes de otros sitios (cerebro, tiroides, hígado, páncreas, tejido adiposo, tracto gastrointestinal) también participan en la reproducción de los peces, actuando a través de mecanismos endocrinos (paracrinos y autocrinos) y metabólicos que serán presentados en este capítulo. En cada nivel del eje, un número limitado de células blanco está bajo la influencia de muchos factores. La respuesta celular final resulta de los efectos integrados de estos mediadores sobre los componentes de la transducción de señales intracelulares.

Eje Hipotálamo-Pituitaria, neuropéptidos y neurotransmisores en el control de la reproducción

- **Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)**

En un estudio pionero, Breton *et al.* (1971), demostraron que un factor hipotalámico estimulaba la liberación de la hormona gonadotrópica en la pituitaria. Una década después Sherwood *et al.* (1983) caracterizaron la primera GnRH (gonadotropin releasing hormone) de peces, en el salmón (sGnRH). Desde entonces muchos avances han sido obtenidos. Inicialmente se creía que sólo un tipo de neurona estimulaba la pituitaria dando

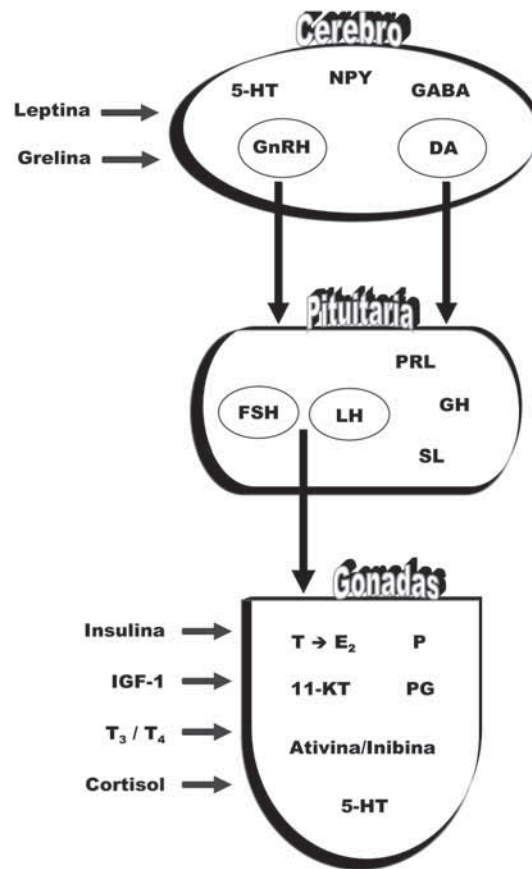


Figura 1 RH – hormona liberadora de gonadotropinas; DA – dopamina; 5-HT - 5-hidroxitriptamina; NPY – neuropéptido Y; GABA – ácido γ -aminobutírico; Leptina; grelina; FSH – hormona foliculo estimulante; LH – hormona luteinizante; PRL – prolactina; GH – hormona de crecimiento; SL – somatolactina; T – testosterona; 11- KT – 11 ceto-testosterona; E₂ – estradiol; P – progesterona; activina/inhibina; insulina; IGF-1 – Insulin Like Factor 1; T₃ – triyodotironina; T₄ – tiroxina; cortisol

inicio a la cascada de eventos hormonales del eje reproductivo, pero actualmente se sabe que cada especie de vertebrado expresa dos o tres formas de GnRH, deca péptidos que ejercen un efecto pleiotrópico a través de varias clases de receptores. Entre los vertebrados, los peces teleosteos representan el grupo que exhibe el mayor número de variantes de GnRH. Adicional a las GnRH de mamíferos (mGnRH) y aves (cGnRH) fueron

identificadas otras formas de sGnRH, todas llamadas por el nombre de la especie en la cual se identificaron por primera vez, entre ellas tenemos las siguientes: cfGnRH (catfish GnRH), hgGnRH (herringGnRH), pjGnRH (pejerreyGnRH), wfGnRH (whitefishGnRH) y sGnRH (salmon GnRH) (Lethimonier *et al.*, 2004).

Las formas de GnRH están distribuidas en múltiples tejidos, en donde aparentemente tienen diversas funciones incluyendo funciones neuro-endocrinas (liberación de gonadotropinas, hormona de crecimiento, prolactina), paracrinas (placenta y gónadas), autocrinas (neuronas GnRH, células inmunes) y neuromoduladoras en el sistema nervioso central (Millar, 2002).

- **Dopamina (DA)**

La regulación de la biosíntesis y secreción de las hormonas foliculoestimulante (FSH) y luteinizante (LH) es controlada por una interacción de múltiples factores gonadales y cerebrales. Si por un lado, la GnRH hipotalámica tiene efecto estimulador en la síntesis de las gonadotropinas (Yaron *et al.*, 2003), en muchos teleósteos, la dopamina (DA), un neuro-transmisor próximamente relacionado con la adrenalina y noradrenalina, actúa como inhibidor de esa síntesis (Peter *et al.*, 1990). Este mecanismo ha sido aprovechado en la reproducción artificial, a través de la administración a los reproductores de antagonistas de los receptores de DA (Domperidona®, Pimozide®), para bloquear su acción inhibitoria y potencializar los efectos de la GnRH. La exposición de células de la pituitaria de tilapia a sbGnRH, cGnRH o sGnRH aumentó los niveles de LH y de mRNA de los receptores para GnRH, pero la exposición a un

agonista de la dopamina (quinpirole) suprimió ese efecto, indicando efectos liberadores de GnRH e inhibidores de la dopamina (Levavi-Sivan *et al.*, 2004).

Un estudio de los cambios neuroendocrinos que ocurren durante el ciclo anual del *P. Blochii* y *P. Cariba*, en Venezuela, mostró en las dos especies cambios en la neurotransmisión de las catecolaminas y hormonas esteroides durante el ciclo reproductivo.

En el hipotálamo, la transmisión dopaminérgica fue baja durante el período predesove, comparado con los otros periodos del ciclo y la transmisión noradrenérgica fue baja a lo largo del periodo preparatorio y de predesove, pero aumentó durante el desove y postdesove. El momento exacto del pico de gonadotropina (GtH) es desconocido, pero el contenido de GnRH en el hipotálamo y GtH en la pituitaria de *P. cariba*, fue mayor un mes antes que el índice gonadosomático (IGS) fuese máximo, sugiriendo que el pico de GtH puede ocurrir inmediatamente antes del desove. El aumento en la GnRH hipotalámica en el periodo preparatorio, junto con la disminución de la dopamina e incremento de la noradrenalina, puede contribuir al aumento de la liberación de GtH en la pituitaria y ser parte del mecanismo que regula el pico ovulatorio de GtH en estos teleósteos. Altos niveles de 17 β -estradiol (17 β -E) en las hembras y testosterona (T) en los machos fueron registrados en el periodo preparatorio y de predesove, junto con una caída de GnRH hipotalámico, de la actividad noradrenérgica y del aumento de la transmisión noradrenérgica, sugiriendo que la secreción de GnRH y la transmisión catecolaminérgica son moduladas por los estrógenos circulantes (Marcano *et al.*, 2004).

- **Serotonina (5-HT)**

La relación de los neurotransmisores como las aminas biogénicas, particularmente la serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), en el control de la reproducción de teleósteos, a través de la regulación de las gonadotropinas, ya es conocido (Peter *et al.*, 1990). Los teleósteos no presentan sistema vascular porta-hipofisario y la pituitaria es innervada directamente por el hipotálamo. Fibras y células serotoninérgicas fueron identificadas en la pituitaria de varios teleósteos, sugiriendo que la 5-HT tiene un papel regulador en su actividad, mientras que fibras neurales de GnRH y 5-HT están localizadas próximas en el cerebro. Por otro lado, la 5-HT estimula la secreción de gonadotropina y potencializa los efectos de los análogos de GnRH (Khan y Thomas, 1993).

- **Ácido γ -aminobutírico (GABA)**

Tanto el glutamato como el ácido γ -aminobutírico (GABA) están relacionados con el control de la secreción de la pituitaria. El glutamato actúa como transmisor y precursor en la síntesis de GABA. Hay evidencias claras de la participación del GABA en la estimulación de la liberación de LH y FSH en peces (Trudeau *et al.*, 2000). El mecanismo de acción del GABA parece ser una combinación de efectos sobre la liberación y potencialización del efecto del GnRH y, en algunos casos, directo en la célula productora de LH. Estas acciones parecen ser dependientes de factores como sexo, nivel de hormonas sexuales y de las especies. En machos y hembras maduros de trucha, el GABA mostró una acción estimuladora en la secreción de FSH y LH, aunque no haya sido efectivo en animales inmaduros (Mañanos *et al.*,

1999). Los sitios y mecanismos de acción de los neurotransmisores derivados de aminoácidos, en la liberación de LH, aún no son totalmente conocidos. Es posible que, por lo menos parcialmente, un receptor GABA_A actúe en las neuronas GnRH y en el propio gonadotrofo (Trudeau *et al.*, 2000).

- **Hormona del Crecimiento (GH), Prolactina (PRL) y Somatolactina (SL)**

La hormona del crecimiento (GH), producida por la pituitaria, es directa e indirectamente responsable del crecimiento de los peces, pero hay evidencias de una función gonadotrópica en varias especies. Singh *et al.* (1988), demostraron que el tratamiento de *Fundulus heteroclitus* con GH recombinante de salmón evitó la regresión gonadal y estimuló la producción de 17 β -E y testosterona. La GH también aumentó la producción de 17 β -E por la GtH II en el ovario de *Carassius auratus* (Van Der Kraak y Wade, 1994), mientras fueron registradas variaciones estacionales de la GH coincidentes con variaciones de la GtH II (Trudeau, 1997). El contenido de GH en la pituitaria de tilapia también estuvo acompañado de cambios en el ciclo reproductivo de las hembras (Weber y Grau, 1999).

La prolactina (PRL) es una hormona peptídica de la familia de las GH, importante para la osmorregulación de los peces, pero parece tener influencia en la producción de esteroides gonadales, inicio de la pubertad y comportamiento reproductivo. Sitios de ligación específicos para PRL fueron detectados en el testículo de tilapia, sugiriendo su participación en la regulación de la función testicular de teleósteos (Hirano, 1986). Recientemente un estudio con *Sparus aurata* mostró que el estra-

diol afecta la expresión de la PRL en la pituitaria y la expresión del gen de receptores de PRL en la pituitaria y en las gónadas de machos y hembras, dependiendo del estado de maduración, reforzando su papel en la gametogénesis de los peces (Cavaco *et al.*, 2002).

La somatolactina (SL), producida en el lóbulo intermedio de la pituitaria, así como la prolactina, pertenece a la familia de las GH y parece estar relacionada con la reproducción de teleosteos, aunque no se conoce su mecanismo de acción. La determinación de los niveles plasmáticos de SL en el salmón mostró un aumento gradual durante la maduración sexual (Rand-Weaver y Swanson, 1993), mientras que *in vitro* estimuló la esteroidogénesis gonadal (Planas *et al.*, 1992). Estudios inmunocitoquímicos mostraron un aumento del número, el tamaño y la actividad de las células de la pituitaria productoras de SL durante la maduración gonadal, culminando con el desove, confirmando que las gónadas son el órgano-blanco de la hormona (Olivereau y Rand-Weaver, 1994).

- **Gonadotropinas (GtH I - FSH y GtH II - LH)**

La pituitaria es una glándula compleja, constituida por varios tipos celulares, con receptores para las diferentes hormonas liberadoras/inhibidoras del hipotálamo y centros neurales que responden por la producción de hormonas peptídicas específicas. Un estudio realizado con pituitaria de pirarucú (*Arapaima gigas*) y arawana (*Osteoglossum bicirrhosum*), especies endémicas de la amazonia, identificó dos regiones en la adenohipófisis de individuos adultos y juveniles: la par distal (PD) y la par intermedia (PI). Se identificó inmunorreactividad para prolactina (PRL), adrenocorticotropina

(ACTH), hormona de crecimiento (GH), gonadotropina LH (GtH II), tirotropina (TSH, solamente en *O. bicirrhosum*), melanocortina (MSH) y somatolactina (SL) (Borella *et al.*, 2004).

Los gonadotrofos son células especializadas en la producción de gonadotropinas como la hormona foliculo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), glucoproteínas que tienen papel central en la regulación de la gametogénesis y en la esteroidogénesis necesaria para el desarrollo del comportamiento sexual y de las características sexuales secundarias de los vertebrados. La naturaleza química exacta de las dos gonadotropinas de peces, homólogas a la de LH y FSH de mamíferos, fue determinada en la mitad de la década de los 80, a partir de cuando surgieron los grandes avances en el conocimiento sobre la FSH y la LH. Los estudios bioquímicos iniciales de las gonadotropinas en peces sugirieron que una única molécula “LH-like” regulaba la gametogénesis. Posteriormente se sugirió la existencia de una segunda gonadotropina que mediaba en la incorporación de vitelogenina por el oocito, pero la verdadera naturaleza química de esta proteína no fue reportada. Finalmente, en 1988, la presencia y estructura de dos gonadotropinas, GtH I y GtH II, fueron establecidas en salmón (Suzuki *et al.*, 1988). Desde entonces, los DNA complementarios que codifican subunidades de gonadotropinas de más de 20 especies de peces están registrados en el GenBank y el análisis estructural de las secuencias de los aminoácidos indican que las GtHs I y II son ortólogos del FSH y LH de los tetráodos, respectivamente (Quérat *et al.*, 2000).

Gracias a las técnicas de la biología molecular para cuantificar la expresión génica de las proteínas, informaciones sobre la regulación y patrones de

la expresión génica de las gonadotropinas durante el ciclo reproductivo están disponibles; aunque pocos avances se han encontrado para el entendimiento de las funciones biológicas de las hormonas LH y FSH en peces, debido principalmente a falta de proteínas purificadas, especialmente la FSH. Con la creciente técnica de clonación de receptores de FSH y LH y la producción de gonadotropinas recombinantes biológicamente activas de varias especies de peces, las herramientas están disponibles para identificar órganos y células-blancas, constituyéndose en un avance para la comprensión del significado biológico de las gonadotropinas en los peces.

El control gonadotrópico de la gametogénesis en teleósteos envuelve las hormonas FSH y LH (Swanson *et al.*, 1991). En salmones y truchas, la FSH plasmática aumentó en el inicio de la oogénesis y en las fases iniciales de la espermatogénesis. En la trucha, los niveles de la FSH disminuyeron al final del crecimiento oocitario y aumentaron nuevamente después de la ovulación, en el reclutamiento de oocitos para el nuevo ciclo (Santos *et al.*, 2001), mientras que en el salmón del Pacífico, los niveles permanecieron elevados y declinaron inmediatamente antes de la ovulación y la espermiación (Swanson *et al.*, 1991). En salmonidos y otras especies que presentan desarrollo gonadal sincrónico en grupo, los transcritos de la subunidad β FSH siguen un patrón semejante con los niveles aumentando durante el inicio del crecimiento gonadal y en algunas especies, bajando en el desove (Gómez *et al.*, 1999; Vischer *et al.*, 2003). Diferente de la FSH, los niveles plasmáticos de LH son bajos y no cambian hasta el final de la maduración oocitaria en las hembras y producción de espermatozoides maduros en los ma-

chos (Swanson *et al.*, 1991; Gómez *et al.*, 1999). Los niveles son muy bajos a diferencia del gran aumento en el contenido de LH en la pituitaria y de los transcritos de las subunidades de LH que ocurren durante la vitelogénesis y fases más avanzadas de la espermatogénesis (Gómez *et al.*, 1999 y Hassin *et al.*, 1999, 2000), sugiriendo que la secreción es altamente regulada.

Durante la vitelogénesis de diversos teleósteos, la LH y la FSH estimulan la producción del 17β -estradiol (E_2) ovárico con potencia equivalente (Suzuki *et al.*, 1988; Van Der Kraak *et al.*, 1992 y Planas *et al.*, 2000), y en *Pagrus major*, FSH y LH estimulan la producción de 17β -estradiol (Tanaka *et al.*, 1993), aunque en estudios más recientes con la misma especie, la FSH fue menos eficiente que la LH (Kagawa *et al.*, 2003). Anteriormente la única función descrita para la FSH en hembras fue la incorporación de vitelogenina *in vivo* en truchas (Tyler *et al.*, 1991), aunque, esa gonadotropina puede estar involucrada con el reclutamiento de oocitos en la vitelogénesis (Santos *et al.*, 2001).

Antes de la ovulación, cuando la producción de esteroides se desvía de 17β -estradiol para $17\alpha,20\beta$ -dihidroxi-4-pregnen-3-ona ($17\alpha,20\beta$ -P), la potencia de la LH en estimular la producción de $17\alpha,20\beta$ -P y la ruptura de la vesícula germinativa supera mucho a FSH (Suzuki *et al.*, 1988; Planas *et al.*, 2000; Kagawa *et al.*, 1998, 2003). Así, la LH parece regular la maduración final de los oocitos en todos los peces hasta ahora estudiados, mientras que el papel de FSH y la LH en la regulación de la esteroideogénesis durante el crecimiento secundario del oocito varía entre especies. Los niveles circulantes de LH y 17β -estradiol durante el ciclo reproductivo de hembras de

pacu en cautiverio, mostró un aumento, del reposo a la maduración avanzada, y señales de caída a partir de la regresión gonadal. Después de inyección de LHRH-a en hembras en avanzado estado de maduración gonadal ocurrió aumento de los valores de LH y 17β -estradiol 8 horas después de la inyección (Iseki *et al.*, 2003).

Durante la espermatogénesis del salmón y del *Pagrus major*, tanto la LH como la FSH estimularon la producción testicular *in vitro* de 11-cetotestosterona (11-KT) (Planas y Swanson, 1995 y Kagawa *et al.*, 1998). La potencia relativa de estas hormonas parece ser dependiente del estado de la espermatogénesis. La potencia de la LH en la producción tanto de la 11-KT como de la $17\alpha,20\beta$ -P aumentó en relación a la de la FSH, a medida que la espermatogénesis avanzó. La potencia aumentada de LH coincidió con el apareamiento de las células germinativas postmeióticas y de receptores de la LH en los testículos, aumento de la LH plasmática y espermiación. En la trucha, la FSH parece estimular directamente la proliferación de espermatogonias en cultivos de células testiculares somáticas y germinativas (Loir, 1999).

Regulación hormonal a nivel gonadal

- Esteroides

En las hembras el 17β -estradiol (E_2) es sintetizado en la capa folicular de los oocitos. La teca convierte el colesterol en testosterona, que es aromatizada a E_2 por la aromatasa citocromo P450 (P450arom), enzima importante para la conversión de la testosterona a E_2 presente en la capa granulosa. Cambios en la producción ovárica de E_2 son resultado de modificaciones en la actividad

y expresión de la enzima P450arom. Ya existen evidencias de que la regulación de la producción de la FSH y la LH pueden ocurrir por la acción directa en la aromatasa (Kagawa *et al.*, 2003 y Montserrat *et al.*, 2004). El 17β -estradiol a su vez actúa en el hígado estimulando la síntesis de vitelogenina y en el oocito promueve la incorporación de vitelo por micropinocitosis y el crecimiento oocitario (vitelogénesis).

Durante la maduración final del oocito la teca produce 17α -hidroxiprogesterona que atraviesa la membrana basal del foliculo y es convertida en $17\alpha,20\beta$ -diidroxipregnen-3-ona ($17\alpha,20\beta$ -P), la hormona inductora de la maduración (MIH) por la 20β -hidroxisteroide deshidrogenasa, en las células de la granulosa donde la LH estimula la actividad de la enzima (Suzuki *et al.*, 1988 y Nagahama, 1994). Además de la $17\alpha,20\beta$ -P, otros derivados de la progesterona pueden actuar como factores de maduración oocitaria ($17\alpha,20\beta,21$ -triidroxipregnen-3-ona (20β -S) (Nagahama, 1994); $17,20\alpha$ -diidroxipregnen-3-ona ($17,20\alpha$ -P) e $17,21$ -diidroxipregnen-3-ona ($17,21$ -P) (Canario y Scott, 1990); 20β -hidroxipregnen-3-ona (20 -P) (Moses y Haider, 1999).

Los esteroides gonadales ejercen efectos negativos y/o positivos en la secreción de las gonadotropinas de los peces. Este efecto varía de acuerdo con el estado de desarrollo gonadal. En la gran mayoría de las especies estudiadas, durante la vitelogénesis, los niveles del 17β -estradiol y de la testosterona son elevados, lo que promueve una retroalimentación negativa sobre la secreción de GtHs de la pituitaria, mientras que en la maduración final del oocito, ocurre una reducción en la secreción y en los niveles plasmáticos del 17β -

estradiol y la testosterona, eliminando la retroalimentación negativa, lo que hace aumentar el nivel de GtH plasmático y estimula la síntesis y liberación de $17\alpha,20\beta$ -P (Trudeau y Peter, 1995).

Algunos estudios describen el perfil de las hormonas reproductivas de los teleósteos de las regiones tropicales y semitropicales. En hembras de *Piaractus mesopotamicus* los niveles plasmáticos de 17β -estradiol y testosterona fueron más altos en el inicio de la maduración gonadal y disminuyeron en la maduración avanzada y en la regresión, iniciando la recuperación de los valores en la fase de reposo (Gazolla *et al.*, 1996). El comportamiento de los esteroides de las hembras de *Salminus maxillosus* mostró un aumento del estradiol durante el reposo gonadal hasta la maduración, con aumentos drásticos desde el inicio hasta el final de la maduración. Un aumento de la testosterona fue correlacionado con el aumento del estradiol (Moreira *et al.*, 2004). En el *Rhamdia quelen*, especie endémica de América del sur que presenta desarrollo oocitario asincrónico, fueron registradas variaciones estacionales en los esteroides gonadales, acompañando la ovogénesis y la maduración ovárica (Barcellos *et al.*, 2001). La concentración de 17β -estradiol aumentó progresivamente durante el desarrollo oocitario, simultáneamente con el apareamiento de las vesículas vitelínicas y el aumento del vitelo. Dos picos de progesterona ($17\alpha,20\beta$ -diidroxidehidro-4-pregnen-3-ona, $17\alpha,20\beta$ -P; 17-hidroxidehidro-4-pregnen-3,20-diona, 17-P; $17\alpha,20\beta,21$ -triidroxidehidro-4-pregnen-3-ona, 20β -S) fueron detectados, correspondiendo a dos periodos de desove sugiriendo que uno o más de estos esteroides pueden ser el MIH en el *R. quelen*. La concentración de testosterona fue más alta cuando las gónadas eran más grandes, insinuando que

este esteroide puede indicar el desarrollo oocitario. Un nivel alto de 11-cetotestosterona (11-KT) fue registrado en hembras maduras, hecho poco común por tratarse de esteroides de presencia común en machos.

Diferentes funciones han sido propuestas para la testosterona en las hembras, incluyendo una acción vitelogénica directa o indirecta por ser el sustrato para la aromatización y producción del estradiol en las células de la capa granulosa. En muchos teleósteos, un pico de testosterona antes de la ovulación sugiere que esta hormona puede tener una función en la maduración final de los oocitos.

En los machos, los dos esteroides gonadales más frecuentes son 11-cetotestosterona (11KT) y la testosterona (T), y se cree que son los probables controladores de una serie de procesos que definen el desarrollo de los testículos y la espermatogénesis. En la mayoría de los teleósteos estudiados, el desarrollo testicular coincide con el aumento de los niveles circulantes de 11-cetotestosterona (11-KT) y en menor intensidad de la testosterona (T) (Borg, 1994). La 11-KT es considerada como el principal andrógeno en los machos y es el producto de la transformación enzimática de la testosterona, vía 11β -hidroxitesterona en las células intersticiales de Leydig (Nagahama, 1994). La testosterona parece ser el estimulador más efectivo de las actividades hipotalámica e hipofisiaria (Amano *et al.*, 1994 y Montero *et al.*, 1995), con la posterior activación testicular. La espermatogénesis y la esteroidogénesis dependen de la estimulación de las hormonas FSH y LH. El testículo del bagre africano posee receptores tanto para la LH como para la FSH (Bogerd *et al.*, 2001).

Los progestágenos como 17,20 α -diidrox-4-preg-
n-3-ona (17,20 α -P) y 17,20 β -diidrox-4-preg-
n-3-ona (17,20 β -P) responden al tratamiento
con un análogo de GnRH y el 17,20 β -P parece
tener un papel importante en el proceso de es-
permación de los peces (Vermeirssen *et al.*, 1998).
Otro progestágeno el 17-hidrox-4-preg-
n-3,20-diona (17-hidroxiprogesterona, 17P4), fue asocia-
do con la espermación del salmón; sin embargo,
su efecto en la producción de semen no ha sido
atribuido a su transformación en 17,20 β -P (King
y Young, 2001).

En *Piaractus mesopotamicus*, los niveles plasmá-
ticos más altos de T y 11-KT en machos ocurrieron
durante la maduración gonadal y los más bajos
en el estado de reposo reproductivo (Gazolla y
Borella, 1997). En *R. quelen* (Barcellos *et al.*,
2002), la concentración de testosterona aumentó
progresivamente durante la espermatogénesis y
alcanzó el valor máximo durante el inicio de la
espermación, presentándose posteriormente una
disminución progresiva. Los valores plasmáticos
coincidieron con los valores producidos en el testí-
culo. Las concentraciones de 11-KT fueron mucho
más altas durante el primer período reproductivo
observado y decayó en los dos ciclos siguientes,
sugiriendo acciones más intensas en la instalación
de la pubertad. Los niveles plasmáticos de 17-
hidrox-4-preg-
n-3,20-diona (17-P) y 17 α ,20 β -
diidrox-4-preg-
n-3-ona (17 α ,20 β -P) fueron
significativamente más altos en la espermación
que en los otros estados del ciclo reproductivo. En
Salminus maxillosus hubo una correlación inver-
sa entre la testosterona (aumento) y el estradiol
(bajo) durante el período reproductivo en ambien-
tes naturales (Moreira *et al.*, 2004).

• Prostaglandinas (PG)

La ovulación es definida como el proceso que
conduce a la liberación del oocito maduro del fo-
lículo ovárico y envuelve el rompimiento de las
conexiones entre las microvellosidades de las cé-
lulas de la granulosa y los oocitos, estrechamiento
y formación de una cavidad en la pared folicular y
un proceso activo envolviendo la musculatura lisa
de la pared folicular.

Las prostaglandinas (PG), eicosanoides produci-
dos a partir de ácido araquidónico tienen un pa-
pel importante en este proceso. Las PG son muy
eficientes en la inducción de la ovulación en va-
rios teleósteos y la PGF_{2 α} ha sido considerada la
más potente prostaglandina conocida (Kagawa
y Nagahama, 1981). El aumento de los niveles
plasmáticos y ováricos de la PGF_{2 α} son observa-
dos durante la ovulación de *Salvelinus fontinalis*
(Goetz y Cettam, 1983). Una modificación en el
pH del medio durante la ovulación puede estimu-
lar este proceso con el inicio de la síntesis de PG y
activación de las enzimas necesarias para el rom-
pimiento del folículo (Goetz y Nagahama, 1985).

• Sistema activina/inhibina

Aunque las hormonas LH y MIH ováricas son im-
portantes para la maduración oocitaria, también
existen factores endógenos ováricos no-esteroides,
como la activina, la inhibina y la folistalina (Bi-
lezikjian *et al.*, 2001) que parecen actuar en este
proceso. Las activinas e inhibinas son proteínas
de la superfamilia de los factores de crecimiento
de transformación (TGF) y ya fueron encontradas
en el cerebro, en la pituitaria (melanóforos, en la
parte intermedia adyacente a los gonadotrofos) y

en el ovario (células foliculares y oocitos) de teleósteos (Mousa y Mousa, 2003).

Las activinas e inhibinas regulan la liberación de GnRH en el hipotálamo y de gonadotropinas en la pituitaria (Yam *et al.*, 1999), con funciones autocrinas y parácrinas (Ge *et al.*, 1997; Mousa y Mousa, 2003). Además estos péptidos ejercen un efecto regulatorio en las gónadas, durante la esteroidogénesis, en la proliferación de las células de la granulosa, en la modulación de los receptores de la hormona FSH y en el desarrollo y maduración folicular (Mather *et al.*, 1997). La presencia de la activina en el ovario en maduración indica una acción local sobre la GtH hipofisiaria y sobre la $17\alpha,20\beta$ -P. La respuesta de los oocitos de *Danio rerio* a la acción de la $17\alpha,20\beta$ -P y a la gonadotropina hCG (human chorionic gonadotropin) aumentó después de la exposición a la activina (Pang y Ge, 2002). Estudios con *Liza ramada* confirmaron el importante papel de la activina y la inhibina en el crecimiento y maduración oocitaria (Mousa y Mousa, 2003). El citoplasma y las células foliculares de oocitos previtelogénicos presentaron una fuerte inmunorreactividad a la activina la cual disminuyó cuando los oocitos entraron en estado vitelogénico. En la medida que el vitelo se acumuló en el citoplasma, la actividad de la activina disminuyó hasta desaparecer en los oocitos maduros, que mostraron una reacción positiva frente a la inhibina. Otra glucoproteína ovárica es la folistatina, que se une a la activina con alta afinidad y a la inhibina con baja afinidad e interfiere en sus actividades, neutralizando la activina e impidiendo la interacción con sus receptores y consecuentemente aumentando su degradación (Phillips y Kretser, 1998). La folistatina inhibió, en *Danio rerio*, la maduración oocitaria inducida tanto por la activina e inhibina como por la hCG y

MIH, mostrando que la activina y la inhibina pueden ser reguladores locales de la gonadotropina y de la MIH en la maduración oocitaria (Pang y Ge, 2002). Además de la función mediadora en la acción de la gonadotropina y de la MIH ovárica, la activina puede tener acción directa en la maduración oocitaria. La expresión del sistema activina (subunidades de la activina/receptores, folistatina y moléculas indicadoras de la actividad intracelular de la activina) fue detectada en todo el folículo ovárico de *Danio rerio*; sin embargo, es probable que la activina trabaje directamente en la maduración de los oocitos. En vez de ser controlado pasivamente por las células foliculares, el oocito puede participar activamente en el desarrollo del folículo liberando mediadores como la folistatina (Wang y Ge, 2003).

Pocos estudios han investigado el efecto del sistema activina/inhibina en machos, pero la activina parece tener un importante papel en la estimulación de la espermiogénesis *in vivo* e *in vitro* en la anguila japonesa (Miura *et al.*, 1995).

- **Hormonas tiroideas (HTs)**

Las hormonas de la tiroides T_4 (tiroxina) y T_3 (triiodotironina) tienen acciones conocidas en la reproducción de los teleósteos (Leatherland, 1987). Alteraciones cíclicas relacionadas con el ciclo reproductivo fueron detectadas en *Brycon cephalus* donde las mayores concentraciones plasmáticas de las HTs fueron registradas durante el periodo reproductivo, pero también coinciden con el aumento de la temperatura (Figueredo-Soares *et al.*, 2003). En salmónidos, el aumento de la T_3 estuvo relacionado con la instalación de la vitelogénesis o con las últimas fases del desarrollo oocitario (Mylonas *et al.*, 1994). Las hormonas de la tiroi-

des parecen actuar sinérgicamente con las gonadotropinas, aumentando la esteroidogénesis gonadal y el desarrollo de los oocitos, pero también tienen efecto directo en la gónada. La T_3 estimuló *in vitro* la producción de andrógenos por la acción directa en las células de Leydig en *Anabas testudineus* (Bhattacharya y Jana, 1995).

- **Factor de crecimiento semejante a la insulina I (IGF I)**

Los factores de crecimiento semejantes a la insulina (IGF I y II) son hormonas proteicas mitoquénicas, presentes en muchos tejidos, que actúan como reguladores del crecimiento esquelético y muscular. El IGF-I puede estimular el proceso reproductivo de los teleosteos a nivel de gónadas y pituitaria. Por ejemplo, indujo la maduración final de los oocitos en *Pagrus major* (Kagawa *et al.*, 1994) y la producción de esteroides en las células de la granulosa de *Oncorhynchus kisutch*, aunque haya inhibido la producción celular de la teca (Maestro *et al.*, 1997). Como factor mitogénico, el IGF-I estimuló la proliferación espermatogonial *in vitro* de la trucha (Loir, 1999). En la pituitaria de la *Anguilla anguilla*, aumentó la producción de la hormona LH (Huang *et al.*, 1998). Por otro lado, la co-incubación de células de la pituitaria de salmón con IGF-I y sGnRH aumentó la sensibilidad de estas células al GnRH (Weil *et al.*, 1999).

- **Insulina**

La insulina producida por las células β del páncreas además de sus efectos metabólicos clásicos puede interferir directamente en el proceso reproductivo por acción en las gónadas. Ya fue demostrado que la insulina afecta la esteroidogénesis

gonadal, la diferenciación y proliferación de células somáticas en las gónadas y maduración de oocitos (Poretsky y Kalin, 1987). En *Carassius auratus*, la insulina aumentó la producción de esteroides por los folículos ováricos (Srivastava y Van Der Kraak, 1994) y más recientemente, un efecto gonadotrópico de la insulina fue descrito en juveniles de pacu (60g) que presentaron maduración gonadal avanzada y altos niveles de testosterona después de la administración crónica de insulina bovina (Urbinati *et al.*, 1997). Adicionalmente, han sido detectados receptores de insulina en el ovario de carpas en la fase de maduración reproductiva, así como también en las capas foliculares ováricas de salmón en fase preovulatoria (Maestro *et al.*, 1997).

- **Serotonina (5-HT)**

Es sabido que la serotonina (5-HT) está relacionada con el control de la secreción de las gonadotropinas en los teleosteos; esta amina también afecta los tejidos gonadales actuando como regulador de la maduración oocitaria, promoviendo la capacidad de las células foliculares para secretar $17\alpha,20\beta$ -P (MIH) como respuesta al pico de secreción de gonadotropina y afectando la capacidad de respuesta del oocito a la MIH. El mecanismo específico que lleva al oocito a la maduración es afectado por la 5-HT y parece ser diferente entre las especies estudiadas hasta hoy. En *Oryzias latipes*, la 5-HT estimuló la síntesis de 17α -estradiol y $17\alpha,20\beta$ -P por las células de la granulosa (Iwamatsu *et al.*, 1993), promoviendo la maduración oocitaria, mientras que en *Fundulus heteroclitus* la 5-HT inhibió la reinicialización de la meiosis inducida por la gonadotropina y la MIH, sin afectar la esteroidogénesis en la granulosa (Cerdá *et al.*, 1995).

- **Glucocorticoides**

Existen evidencias de que el estrés ejerce efectos inhibitorios sobre el proceso reproductivo de los peces y que estos son ejercidos por modificaciones de la función endocrina. Estos efectos se pueden manifestar en varios niveles del eje endocrino. Niveles elevados de cortisol, producido por las células del tejido interrenal en situaciones de estrés promueven efectos perjudiciales en el pez, como la reducción de la producción de FSH y LH con efectos subsecuentes en las gónadas, en la producción de estradiol, progesterona, testosterona y 11-cetotestosterona, los cuales van a actuar en la definición de los caracteres sexuales secundarios, vitelogénesis hepática, desarrollo y calidad de los gametos, maduración de los oocitos y ovulación y espermiación (Pankhurst y Van Der Kraak, 1997).

El balance energético y la reproducción de los peces

El balance energético del organismo es mantenido por un sistema que envuelve el cerebro y la periferia y tiene al hipotálamo como componente clave. En la última década han sido descritos muchos péptidos hipotalámicos que actúan en la homeostasis energética. En condiciones naturales y estables existe un equilibrio entre péptidos anabólicos que estimulan el comportamiento alimenticio y la reducción del gasto energético y utilización de grasa en favor de la deposición, y péptidos catabólicos que aumentan la ingestión de alimentos y reducen la deposición de la grasa por aumento del metabolismo lipídico. Actualmente en mamíferos se han descrito 9 neuropéptidos envueltos en este proceso. La información energética periférica es

transmitida al sistema nervioso central por factores hormonales como la insulina, glucocorticoides, hormonas tiroideas, neuropéptido Y, leptina y grelina y también por nutrientes como glucosa y lípidos. Estos factores circulantes son señales primarias de la disponibilidad de combustible para atender la demanda de los procesos celulares y tiene un profundo impacto en la expresión y producción de los neuropéptidos, que a su vez inician las respuestas anabólicas y catabólicas apropiadas para la recuperación del equilibrio (Leibowitz y Wortley, 2004).

El proceso de maduración gonadal en los peces es altamente elaborado, incluyendo pasos especializados como la producción, maduración y liberación de los gametos, también como la síntesis de las hormonas y el comportamiento sexual, lo que requiere una gran cantidad de energía disponible. La reducción de la ingestión de alimento es una ocurrencia natural durante el ciclo de vida de los peces, incluyendo la migración para la reproducción (Mackenzie *et al.*, 1998). La ingestión de alimento de los peces que pasaron por la reproducción comienza a declinar durante el periodo de desarrollo gonadal y llega al mínimo durante el periodo reproductivo. Este patrón inverso de la distribución de la ingestión y la reproducción sugiere que el estado nutricional puede estar envuelto en la modulación del eje reproductivo.

- **Leptina**

La leptina es una proteína producida y secretada por los adipositos, que circula en niveles relacionados con el almacenamiento de grasa corpórea y es considerada como una señal hormonal que informa sobre la reserva energética del cuerpo,

participando en el control de la reproducción y la pubertad. La leptina y sus receptores aún no han sido caracterizados en peces pero ya fue descrita una posible acción de la leptina recombinante humana en la producción gonadotrópica en peces. La acción directa de la leptina en la liberación de la LH por células de la pituitaria de *Dicentrarchus labrax* dependió del estado de desarrollo sexual, siendo más intensa en machos prepúberes. Hubo un cambio en la sensibilidad de los gonadotrofos durante el desarrollo sexual, mostrando un papel facilitador de la leptina en la secreción de la LH en la instalación de la pubertad. La acción de la leptina fue independiente de la GnRH, sugiriendo mecanismos de acción diferentes (Peyon *et al.*, 2001). En machos y hembras de trucha la producción de FSH y LH (liberación y contenido celular) también fue dependiente del estado sexual del pez y estuvo ausente en peces inmaduros y hembras en postovulación (Weil *et al.*, 2003). Se observó una respuesta relativamente constante de la leptina sobre la FSH, durante la maduración gonadal, mientras que la respuesta de la LH fue más evidente en el ciclo de la espermatogénesis y vitelogénesis endógena. Es evidente el posible efecto sinérgico de la leptina y la GnRH al final de la espermatogénesis e inicio de la vitelogénesis. Por otro lado, la leptina también es un candidato para actuar en el proceso reproductivo desde que ya fue descrito que la adiposidad tiene un papel importante en la incidencia de la maduración sexual de los salmónidos (Silverstein *et al.*, 1998).

- **Neuropéptido Y (NPY)**

El neuropéptido Y (NPY) es una proteína ampliamente distribuida en el sistema nervioso central de vertebrados y está envuelta en el control de la

ingestión de alimentos y en el balance energético para estimular el apetito. Por otro lado, su participación en la reproducción de peces ya es conocida. El NPY estimula la liberación de LH por una acción combinada en los gonadotrofos y por aumentar la acción del GnRH en *Clarias batrachus* (Trudeau, 1997). Su acción sobre el hipotálamo y la pituitaria fue confirmada por la administración intracerebral de NPY en *Clarias batrachus* que resultó en aumento expresivo del área del cerebro ocupada por fibras de neuronas productoras de GnRH, aumentó el número y el tamaño de las células de la pituitaria productoras de LH (Gaikwad *et al.*, 2003). Un efecto sinérgico entre NPY y la leptina en la liberación de LH por los gonadotrofos de *Dicentrarchus labrax*, especialmente en machos prepúberes y adultos, sugieren la posibilidad de que la interacción Leptina-NPY actúe en la instalación de la pubertad y en la capacidad de mantener la función reproductiva del adulto. Es posible que la acción liberadora de la LH de muchos neuropéptidos y neurotransmisores sea modulada por esteroides sexuales (estradiol y testosterona). Ambos esteroides, especialmente la testosterona aumentaron la expresión genética del NPY en el cerebro de *Carassius auratus*, y parecen ser la clave de las diferencias estacionales observadas (Peng *et al.*, 1994).

- **Grelina**

Entre los varios péptidos envueltos en la regulación de las hormonas de la pituitaria, en los peces, la grelina, producida por el cerebro y el tracto gastrointestinal, es uno de los más recientes y parece estar relacionada con la regulación de muchas funciones fisiológicas, especialmente en la secreción de la GH (hormona del crecimiento) y

en la ingestión de alimentos, razón por la cual se torna un péptido candidato a participar del grupo de factores que podrían actuar en la reproducción, a través del balance energético. La grelina tiene actividad orexígena en peces (Unniappan *et al.*, 2002). Esta actividad parece ser mediada por el NPY en el cerebro. El tratamiento con grelina aumentó la producción hipotalámica de mRNA y de NPY en pequeños mamíferos (Wang *et al.*, 2002). Así, la grelina parece ser una unión endocrina entre el estómago, el hipotálamo y la pituitaria. Sin embargo, aún es incierto si el efecto primario de

la grelina producida en el estómago del pez es estimular la liberación de GH en la pituitaria o estimular el comportamiento alimenticio directa o indirectamente a través de otros factores hipotalámicos como el NPY. Se debe tener en cuenta que la GH es una hormona lipolítica, que podría estar actuando en la disponibilización de la energía de las reservas de grasa corporal durante el periodo reproductivo cuando los peces disminuyen la ingestión de alimentos. Existen evidencias de la disminución de los lípidos en los tejidos de reserva durante la formación de las gónadas de piraputanga (*Brycon hilarii*) (Urbinati *et al.*, 2005).

BIBLIOGRAFÍA

- AMANO, M.; S. HYODO Y A. URANO. 1994. Activation of salmon gonadotropin-releasing hormone synthesis by 17 α -methyltestosterone administration in yearling Masu salmon, *Oncorhynchus masou*. Gen. Comp. Endocrinol, 95: 374-380.
- BARCELLOS, L.J.G.; G.F. WASSERMANN; A.P. SCOTT; V. WOEHL; M.H. KRIEGER; R.M. QUEVEDO Y F. LULHIER. 2001. Steroid profiles of cultured female jundiá, the Siluridae *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pisces, Teleostei) during the first reproductive cycle. Gen. Comp. Endocrinol, 121: 325-332.
- BARCELLOS, L.J.G.; G.F. WASSERMANN; A.P. SCOTT; V.M. WOEHL; F. LULHIER; R.M. QUEVEDO; I. ITTÉS Y M.H. KRIEGER. 2002. Plasma steroid concentrations in relation to the reproductive cycle of cultured male *Rhamdia quelen*. J. Fish Biol, 61: 751-763.
- BERNARDINO, G. Y R.V. LIMA. 1999. SITUAÇÃO DA CRIAÇÃO DE *COLOSSOMA* E *PIARACTUS* NO SUDESTE DO BRASIL (1988-1991). Criação de *Colossoma* e *Piaractus* no Brasil, 262-266. p.
- BHATTACHARYA, S. Y N.R. JANA. 1995. Thyroid hormone induces the synthesis of a 52k protein in perch Leydig cell which stimulated androgen release. Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. July, Austin, Texas.
- BILEZIKJIAN, L.M.; A.L. BLOUNT; A.Z. CORRIGAN; A. LEAL; Y. CHEN Y W.W. VALE. 2001. Actions of activins, inhibins, and follistatins: implications in anterior pituitary function. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol, 28: 244-248.
- BOGERD, J.; M. BLOMENRÖHR; E. ANDERSSON; H.H.A.G.M. VAN DER PUTTEN, C.P. TENSEN; H.F. VISCHER; J.C.M. GRAN-NEMAN; C. JANSSEN-DOMMERHOLT; H.J.TH. GOOS Y R.W. SCHULZ. 2001. Discrepancy between molecular structure and ligand selectivity of a testicular follicle-stimulating hormone receptor of the African catfish (*Clarias gariepinus*). Biol. Reprod, 64: 1633-1643.
- BORELLA, M.; R. VENTURIERI; S. BATLOUNI Y J.M. MANCERA. 2004. The Amazon teleosts *Arapaima gigas* and *Osteoglossum bicirrhosum*: immunohistochemistry of the adenohipophysary cells. 5th Meeting of Physiology .
- BORG, B. 1994. Androgens in teleost fishes. Comp. Biochem. Physiol, 109C: 219-245.

- BRETON, B.; B. JALABERT; R. BILLARD Y C. WEIL. 1971. *In vitro* stimulation of the release of pituitary gonadotropic hormone by a hypothalamic factor in the carp *Cyprinus carp*. LCR. Acad. Sci. D, 273: 2591-2594.
- CANARIO, A.V.M. Y A.P. SCOUT. 1990. Identification of and development of radioimmunoassays for 17, 21-dihydroxy-4-pregnen-3, 20-dione in the ovaries of mature plaice (*Pleuronectes platessa*). Gen. Comp. Endocrinol, 78: 273-285.
- CAVACO, J.E.B.; C.R.A. SANTOS; P.M. INGLETON; A.V.M. CANRIO Y D.M. POWER. 2002. Quantification of prolactin (PRL) and PRL receptor messenger RNA in gilthead seabream (*Sparus aurata*) after treatment with estradiol-17 β . Biol. Reprod, 68: 588-594.
- CERDÁ, J.; T.R. PETRINO, Y-W.P. LIN Y R.A. WALLACE. 1995. Inhibition of *Fundulus heteroclitus* oocyte maturation by serotonin (5-hydroxytryptamine). J. Exp Zool, 273: 224-233.
- FERRAZ DE LIMA, J.A.; G. BARBIERI Y J.R. VERRANI. 1984. Período de reprodução, tamanho e idade de primeira maturação gonadal do pacu, *Colossoma mitrei*, em ambiente natural (Rio Cuiabá, Pantanal do Mato Grosso). Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, III, ANAIS, São Carlos, SP, 477-497 p.
- FIGUEREDO-SOARES, M.C.; E.C. URBINATI Y J.A. SENHORINI. 2003. Variação periódica da triiodotironina (T3) plasmática e sua ação na reprodução induzida do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em cativeiro. R. Bras. Zootec, 32: 1825-1834.
- GAZOLA, R.; M.I. BORELLA; E.M. DONALDSON; M.V. VAL-SELLA; N. SUKUMASAVIN; F. FAVA-DE-MORAES Y G. BERNARDINO. 1996. Plasma steroid and corticosteroid levels in female pacu *Piaractus mesopotamicus*, Teleostei-Characidae. Braz. J. Med. Biol. Res, 29: 659-664.
- GAZOLA, R. Y M.I. BORELLA. 1997. Plasma testosterone and 11-ketotestosterone levels of male pacu *Piaractus mesopotamicus*. Braz. J. Med. Biol. Res, 30: 1485-1487.
- GAIKWAD, A.; K.C. BIJU Y N. SUBHEDAR. 2003. GnRH-LH secreting cells axis in the pituitary of the teleost *Clarias batrachus* responds to neuropeptide Y treatment: an immunocytochemical study. Gen. Comp. Endocrinol, 131: 126-133.
- GE, W.; R.E. PETER E Y. NAGAHAMA. 1997. Activin and its receptors in the goldfish. Fish Physiol. Biochem, 17: 143-153.
- GOETZ, F.W. Y F. CETTAM. 1983. Ovarian and plasma PGE and PGF levels in naturally ovulating brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and the effects of indomethacin on prostaglandin levels. Prostaglandins, 26: 387-395.
- GOETZ, F.W. E Y. NAGAHAMA. 1985. Effects of pH on *in vitro* ovulation of goldfish (*Carassius auratus*) oocytes. J. Exp. Zool, 235: 81-85.
- GÓMEZ, J.M.; C. WEIL; M. OLLITRAULT; P.-Y. LE BAIL; B. BRETON Y F. LE GAC. 1999. Growth hormone (GH) and gonadotropina subunit gene expression and pituitary and plasma changes during spermatogenesis and oogenesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Gen. Comp. Endocrinol, 113: 413-423.
- HASSIN, S., M.C.H. HOLLAND E Y. ZOHAR. 1999. Ontogeny of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone gene expression during pubertal development in the female striped bass, *Morone saxatilis* (Teleostei). Biol. Reprod, 61: 1608-1615.
- HASSIN, S.; M.C.H. HOLLAND E Y. ZOHAR. 2000. Early maturity in the male striped bass, *Morone saxatilis*: follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone gene expression and their regulation by gonadotropin-releasing hormone analogue and testosterone. Biol. Reprod, 63: 1691-1697.
- HEPHER, B. E Y. PRUGININ. 1982. Tilapia culture in ponds under controlled conditions. In The Biology and culture tilapias, Pulin, R.S.V. y R.H. Lowe-McConnell. (Edit). ICLARM Conference Proceedings, Manila, 185p.
- HIRANO T. 1986. The spectrum of prolactin action in teleosts. En: Ralph CL (edit.), Comparative Endocrinology: Development and Directions. New York: Liss.

- HORVATH, L. 1986. Carp oogenesis and the environment. En *Aquaculture of Cyprinids*. Billard, R. y J. Marcel (Edit), INRA, Paris.
- HUANG, Y.S.; K. ROUSSEAU; N. LABELLE; B. VIDAL; E. BURZAWA-GERARD; J. MARCHELIDON Y S. DUFOUR. 1998. Insulin-like growth factor-I stimulates gonadotrophin production from eel pituitary cells: a possible metabolic signal for induction of puberty. *J. Endocrinol*, 159: 43-52.
- ISEKI, K.K.; S.A. CORREA; J.A. NEGRÃO Y A.M.L. CASTRUCCI. 2003. Seasonal changes in LH and 17 β -estradiol levels in the freshwater teleost *Piaractus mesopotamicus*. *World Aquaculture, Book of Abstracts*, Salvador, BA. 368 p.
- IWAMATSU, T.; Y. TOYA; N. SAKAI; Y. TERADA; R. NAGATA E Y. NAGAHAMA. 1993. Effect of 5-hydroxytryptamine on steroidogenesis and oocyte maturation in preovulatory follicles of the medaka, *Oryzias latipes*. *Dev. Growth Differ*, 35: 625-630.
- KAGAWA, H. E Y. NAGAHAMA. 1981. *In vitro* effects of prostaglandins on ovulation in goldfish *Carassius auratus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 47: 1119-1121.
- KAGAWA, H., M. KOBAYASHI; Y. HASEGAWA Y K. AIDA. 1994. Insulin and insulin-like growth factors I and II induce final maturation of oocytes of red seabream, *Pagrus major*; *in vitro*. *Gen Comp Endocrinol*, 95: 293-300.
- KAGAWA, H.; H. TANAKA; K. OKUZAWA Y M. KOBAYASHI. 1998. GTH II but not GTH I induces final oocyte maturation and the development of maturational competence of oocytes of red seabream *in vitro*. *Gen. Comp. Endocrinol*, 112: 80-88.
- KAGAWA, H.; K. GEN; K. OKUZAWA Y H. TANAKA. 2003. Effects of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone and insulin-like growth factor I on aromatase activity and P450 aromatase gene expression in ovarian follicles of red seabream, *Pagrus major*. *Biol. Reprod*, 68: 1562-1568.
- KHAN, I.A. Y P. THOMAS. 1993. Immunocytochemical localization of serotonin and gonadotropin-releasing hormone in the brain and pituitary gland of the Atlantic croaker *Micropogonias undulatus*. *Gen. Comp. Endocrinol*, 91: 167-180.
- KING, H.R. Y R. YOUNG. 2001. Milt production by non spermiating male Atlantic salmon (*Salmo salar*) after injection of a commercial gonadotropin releasing hormone analog preparation, 17 α -dihydroxy-4-pregnen-3-one, alone or in combination. *Aquaculture*, 193, 179-195.
- LEATHERLAND, J.F. 1987. Thyroid hormones and reproduction. En: Norris, D.O. y R.E. Jones, (Edit). *Hormones and reproduction in fishes, amphibians, and reptiles*. New York: Plenum Press.
- LEIBOWITZ, S.F. Y K.E. WORTLEY. 2004. Hypothalamic control of energy balance: different peptides, different functions. *Peptides*, 25: 473-504.
- LETHIMONIER, C., T. MADIGOU.; J.A. MUÑOZ-CUETO; J.J. LAREYRE Y O. KAH. 2004. Evolutionary aspects of GnRHs, GnRH neuronal systems and GnRH receptors in teleost fish. *Gen. Comp. Endocrinol*, 135: 1-16.
- LEVAVI-SIVAN, B.; H. SAFARIAN; H. ROSENFELD; A. ELIZUR Y A. AVITAN. 2004. Regulation of gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-receptor gene expression in tilapia: effect of GnRH and dopamine *Biol. Reprod*, 70: 1545-1551.
- LOIR, M. 1999. Spermatogonia of rainbow trout: II. *In vitro* study on the influence of pituitary hormones, growth factors and steroids on mitotic activity. *Mol. Reprod. Dev*, 53: 434-442.
- MACKENZIE, D.S.; C.M. VANPUTTE Y K.A. LEINER. 1998. Nutrient regulation of endocrine function in fish. *Aquaculture*, 161: 3-25.
- MAESTRO, M.A.; J.V. PLANAS; S. MORIYAMA; J. GUTIERREZ; J. PLANAS Y P. SWANSON. 1997. Ovarian receptors for insulin and insulin-like growth factor I (IGFI) and effects of IGF-I on steroid production by isolated follicular layers of the preovulatory coho salmon ovarian follicle. *Gen Comp. Endocrinol*, 106: 189-201.
- MAÑANOS, E.L.; I. ANGLADE; J. CHYB; C. SALIGAUT; B. BRETON Y O. KAH. 1999. Involvement of γ -aminobutyric acid in the control of

- GTH-1 and GTH-2 secretion in male and female rainbow trout. *Neuroendocrinology*, 69: 269-280.
- MARCANO, D.; E. CARDILLO; N. GAGO Y H.Y. GUERRERO. 2004. Regulation of reproductive endocrinology in teleosts from the Orinoco River floodplain. 5th Meeting of Physiology.
- MATHER, J.P.; A. MOORE. Y R. LI. 1997. Activins, inhibins, and follistatins: further thoughts on a growing family of regulators. *Proc. Exp. Biol. Med.*, 215: 209-222.
- MILLAR, R.P. 2002. GnRH II and type II receptors. *Trends Endocrinol. Metab.*, 14: 35-43.
- MIURA, T.; C.MIURA, K. YAMAUCHI E Y. NAGAHAMA. 1995. Human recombinant activin induces proliferation of spermatogonia in vitro in the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Fish Sci.*, 6: 434-437.
- MONTERO, M.; N. LE BELLE; J.A. KING; R.P. MILLAR Y S. DUFOUR, 1995. Differential regulation of the two forms of gonadotropin-releasing hormone (mGnRH and cGnRH-II) by sex steroids in the European female silver eel (*Anguilla anguilla*). *Neuroendocrinology*, 61: 525-535.
- MONTERRAT, N.; A. GONZÁLEZ; E. MÉNDEZ; F. PIFERRER Y J.V. PLANAS. 2004. Effects of follicle stimulating hormone on estradiol-17 β production and P-450 aromatase (CYP19) activity and mRNA expression in brown trout vitellogenic ovarian follicles *in vitro*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 137: 123-131.
- MOREIRA, R. G.; R. VENTURIERI; R.M. OLIVEIRA-FILHO; O.M. MIMURA Y G. BERNARDINO. 2004. Plasma estradiol and testosterone levels during the reproductive cycle of *Salminus maxillosus* in a natural environment. 5th Meeting of Physiology.
- MOSES, R. Y S. HAIDER. 1999. Confirmation of maturation induced steroids in a freshwater catfish, *Clarias batrachus*, 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish, Bergen, July 4-5.
- MOUSA, M.A. Y S.A. MOUSA. 2003. Immunohistochemical localization of inhibin and activin-like proteins in the brain, pituitary gland, and the ovary of thin-lipped grey mullet, *Liza ramada* (Risso). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 132: 434-443.
- MYLONAS, C.C.; C.V. SULLIVAN Y J.M. HINS-HAW. 1994. Thyroid hormones in brown trout (*Salmo trutta*) reproduction and early development. *Fish Physiol. Biochem.* 13: 485-493.
- NAGAHAMA, Y. 1994. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *Int. J. Dev. Biol.*, 38: 217-229.
- OLIVEREAU, M. Y M. RAND-WEAVER. 1994. Immunocytochemical study of the somatolactin cells in the pituitary of the Pacific salmon, *Oncorhynchus nerka*, and *O. keta* of some stages of the reproductive cycle. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 93: 28-35.
- PANG, Y. Y W. GE. 2002. Gonadotropin and activin enhance maturational competence of oocytes in the zebrafish (*Danio rerio*). *Biol. Reprod.*, 66: 259-265.
- PANKURST, N.W. Y G. VAN DER KRAAK. 1997. Effects of stress on reproduction and growth of fish. Pages 74-93 En: Iwama, G.K.; A.D. Pickering; J.P. Sumpter y C.B Schreck (Eds.). *Fish stress and health in aquaculture*. Cambridge University Press, New York.
- PENG, C., W.; R. E. GALLIN; A. PETER; G. BLOMQVIST Y D. LARHAMMAR. 1994. Neuropeptide-Y gene expression in the goldfish brain: distribution and regulation by ovarian steroids. *Endocrinology*, 134: 1095-1103.
- PETER, R.E.; K.L. YU; T.A. MARCHANT Y P.M. ROSENBLUM. 1990. Direct neural regulation of the teleost adenohypophysis. *J. Exp. Zool.*, 4: 84-89.
- PEYON, P.; S. ZANUY Y M. CARRILLO. 2001. Action of leptin on in vitro luteinizing hormone release in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Biol. Reprod.*, 65: 1573-1578.
- PHILLIPS, D.J. Y D.M. DE KRETSEK. 1998. Follistatin: a multifunctional regulatory protein. *Front. Neuroendocrinol.*, 19: 287-322.
- PLANAS, J.V.; P. SWANSON; M. RAND-WEAVER Y W.W. DICKHOFF. 1992. Somatolactin stimu-

- lates *in vitro* gonadal steroidogenesis in coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. Gen. Comp. Endocrinol, 87: 1-5.
- PLANAS, J.V. Y P. SWANSON. 1995. Maturation-associated changes in the response of the salmon testis to the steroidogenic actions of gonadotropins, GTH I and GTH II, *in vitro*. Biol. Reprod, 52: 697-704.
- PLANAS, J.V.; J. ATHOS; F.W. GOETZ Y P. SWANSON. 2000. Regulation of ovarian steroidogenesis *in vitro* by follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone during sexual maturation in salmonid fish. Biol. Reprod, 62: 1262-1269.
- PORETSKY, L. Y M.F. KALIN. 1987. The gonadotrophic functions of insulin. Endocr. Rev, 8:132-141.
- QUÉRAT, B.; A. SELLOUK Y C. SALMON. 2000. Phylogenetic analysis of the vertebrate glycoprotein hormone family including new sequences of sturgeon (*Acipenser baeri*) subunits of two gonadotropins and the thyroid-stimulating hormone. Biol. Reprod, 63: 222-228.
- RAND-WEAVER, M. Y P. SWANSON. 1993. Plasma somatolactin levels in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during smoltification and sexual maturation. Fish Physiol. Biochem, 11: 175-182.
- RICHTER, C.J.J.; W.J.A.R. VIVEEN; E.H. EDING; M. SUKKEL; A.J. ROTHUIS; M.F.P.M. VAN HOOF; F.G.J. VAN DEN BERG Y P.G.W.J. VAN OORDT. 1987. The significance of photoperiodicity, water temperature and an inherent endogenous rhythm for the production of viable eggs by African catfish, *Clarias gariepinus*, kept in subtropical ponds in Israel and under Dutch hatchery condition. Aquaculture, 63: 169-183.
- SANTOS, E.M.; M. RAND-WEAVER Y C.R. TYLER. 2001. Follicle stimulating hormone and its alpha and beta subunits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Purification, characterization, development of radioimmunoassays, and their seasonal plasma and pituitary concentrations in females. Biol. Reprod, 65: 288-294.
- SHERWOOD, N.; L. EIDEN; M. BROWNSTEIN; J. SPIESS; J. RIVIER Y W. VALE. 1983. Characterization of a teleost gonadotropin-releasing hormone. Proc. Natl. Sci, USA 80: 2794-2798.
- SILVERSTEIN, J.T.; K.D. SHEARER; W.W. DICKHOFF Y E.M. PLISETSKAYA. 1998. Effects of growth and fatness on sexual development of Chinook salmon (*Onchorhynchus tshawytscha*) parr. Can. J. Fish. Aquat. Sci, 55, 2376-2382.
- SINGH, H.; R.W. GRIFFITH; A. TAKAHASHI; H. KAWAUCHI; P. THOMAS Y J.J. STEGEMAN. 1988. Regulation of gonadal steroidogenesis in *Fundulus heteroclitus* by recombinant salmon growth hormone and prolactin. Gen. Comp. Endocrinol, 72: 144-53.
- SRIVASTAVA, R.K. Y G. VAN DER KRAAK. 1994. Insulin as an amplifier gonadotropin action on steroid production: Mechanism and sites of action in goldfish prematuration full-grown ovarian follicles. Gen. Comp. Endocrinol, 95: 60-70.
- SUZUKI, K.; Y. NAGAHAMA Y H. KAWAUCHI. 1988. Steroidogenic activities of two distinct salmon gonadotropins. Gen. Comp. Endocrinol, 71: 452-458.
- SWANSON, P.; H. KAWAUCHIM; Y W. DICKHOFF. 1991. Isolation and characterization of two Coho salmon gonadotropins, GTH I and GTH II. Biol. Reprod, 44: 29-38.
- TANAKA, H.; H. KAGAWA; K. OCKUZAWA Y K. HIROSE. 1993. Purification of gonadotropins (pmGTH I and II) from red seabream (*Pagrus major*) and development of homologous radioimmunoassay for pmGTH II. Fish Physiol. Biochem, 10: 409-418.
- TYLER, C.R.; J.P. SUMPTER; H. KAWAUCHI Y P. SWANSON. 1991. Involvement of gonadotropin in the uptake of vitellogenin into vitellogenic oocytes of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Gen. Comp. Endocrinol, 84: 291-299.
- TRUDEAU, V.L. 1997. Neuroendocrine regulation of gonadotrophin II release and gonadal growth in the goldfish, *Carassius auratus*. Rev. Reprod, 2: 55-68.
- TRUDEAU, V.L. Y R.E. PETER. 1995. Functional interactions between neuroendocrine systems regulating GTH II release. En: Goetz, F.W. y

- P.Thomas, (edit.), Reproductive Physiology of Fish. Austin: University of Texas Press.
- TRUDEAU, V.L.; D. SPANSWICK; E.J. FRASER; K. LARIVIÈRE; D. CRUMP; S. CHIU; M. MACMILLAN Y R.W. SCHULZ. 2000. **The role of amino acid neurotransmitters in the regulation of pituitary gonadotropin release in fish.** Biochem. Cell Biol./Biochim. Biol. Cell, 78: 241-259.
- UNNIAPPAN, S.; X. LIN Y L. CERVINI. 2002. Goldfish ghrelin: molecular characterization of the complementary deoxyribonucleic acid, partial gene structure and evidence for its stimulatory role in food intake. Endocrinology, 143: 4143-4146.
- URBINATI, E.C.; M.L.F. GARUTTI Y H.S.L. SANTOS. 1997. A case report on hyperandrogenism in juvenile fish under insulin treatment. Braz. J. Morph. Sci, 14: 37-38
- URBINATI, E.C.; S.F. ZAIDEN Y R. PERES. 2005. Energy investment over a reproductive cycle in piraputanga, *Brycon hilarii*, (Teleostei: Characidae). J. Aqua. Trop (en prensa)
- VAL, A. Y A. HONCZARYK, CRIANDO PEIXES NA AMAZÔNIA. INPA, MANAUS, 1995, 160p.
- VAN DER KRAAK, G. Y M.G. WADE. 1994. A comparison of signal transduction pathways mediating gonadotropin actions in vertebrates. En: Davey, K.B.; R.E Peter. y S.S. Tobe, (edit). Perspectives in comparative endocrinology. Ottawa: National Research Council of Canada, p. 59-63.
- VAN DER KRAAK, G.; K. SUZUKI; R.E. PETER; H. ITOH Y H. KAWAUCHI. 1992. Properties of carp gonadotropin I and gonadotropin II. Gen. Comp. Endocrinol, 85: 217-229.
- VERMEIRSEN, E.L.M.; A.P. SCOTT; C.C. MYLONAS E Y. ZOHAR. 1998. Gonadotropin releasing hormone agonist stimulates milt fluidity and plasma concentrations of 17,20 β -dihydroxylated and 5 β -reduced, 3 α -hydroxylated C21 steroids in male plaice (*Pleuronectes platessa*). Gen. Comp. Endocrinol, 112: 163-177.
- VISCHER, H.F.; A.C.C. TEVES; J.C.M. ACKERMANS; W. VAN DIJK; R.W. SCHULZ Y J. BOGERD. 2003. Cloning and spatiotemporal expression of follicle-stimulating hormone β subunit complementary DNA in the African catfish (*Clarius gariepinus*). Biol. Reprod, 68: 1324-1332.
- YAM, K.M.; Y. YOSHIURA; M. KOBAYASHI Y W. GE. 1999. Recombinant goldfish activin B stimulates gonadotropin-Ib but inhibits gonadotropin-IIb expression in the goldfish, *Carassius auratus*. Gen. Comp. Endocrinol, 116: 81-89.
- YARON, Z.; G. GUR; P. MELAMED; H. ROSENFELD; A. ELIZUR Y B. LEVAVI-SIVAN. 2003. Regulation of fish gonadotropins. Int. Rev. Cytol, 225: 131-185.
- WANG, Y. Y W. GE. 2003. Spatial expression patterns of activin and its signaling system in the zebrafish ovarian follicle: evidence for paracrine action of activin on the oocytes. Biol. Reprod, 69: 1998-2006.
- WANG, L.; S. SAINT-PIERRE E Y. TACHE. 2002. Peripheral ghrelin selectively increases Fos expression in neuropeptide Y - synthesizing neurons in mouse hypothalamic arcuate. Neurosci. Lett, 325: 47-51.
- WEBER, G.M. Y E.G. GRAU. 1999. Changes in serum concentrations and pituitary content of the two prolactins and growth hormone during the reproductive cycle in female tilapia, *Oreochromis mossambicus*, compared with changes during fasting. Comp. Biochem. Physiol, 124: 323-335.
- WEIL, C.; F. CARRÉ; O. BLAISE; B. BRETON Y P-Y. LEBAIL. 1999. Differential effect of insulin-like growth factor I on in vitro gonadotropin (I and II) and growth hormone secretions in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at different stages of the reproductive cycle. Endocrinology, 140: 2054-2062.
- WEIL, C.; P.Y. LE BAIL; N. SABIN Y F. LE GAC. 2003. In vitro action of leptin on FSH and LH production in rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) at different stages of the sexual cycle. Gen. Comp. Endocrinol, 130: 2-12.

EFECTO DE CONTAMINANTES AMBIENTALES SOBRE EL SISTEMA REPRODUCTIVO DE LOS PECES

Jaime Fernando González Mantilla¹

Introducción

La toxicología acuática como ciencia derivada de la toxicología ambiental ha cobrado gran fuerza en las últimas décadas. La evolución de esta ciencia se debe en buena parte a una más efectiva identificación y a un mayor entendimiento de los procesos que afectan a los organismos acuáticos expuestos a los contaminantes ambientales. En un comienzo la toxicología acuática generó un mayor volumen de investigaciones e información en eventos de mortalidades agudas y masivas de organismos acuáticos debidas a la descarga accidental o premeditada de contaminantes. Sin embargo, el progreso en la detección de concentraciones subletales de los contaminantes así como una más detallada descripción de los mecanismos de detoxificación de los organismos acuáticos, han facilitado el estudio de los fenómenos ocasionados por concentraciones bajas y persistentes de los mismos.

El sistema reproductivo de los peces es blanco ideal de concentraciones subletales de contaminantes. Los diferentes procesos hormonales, fisiológicos y comportamentales que garantizan la reproducción de las especies piscícolas pueden verse afectados individual o colectivamente cuando ciertos contaminantes hacen presencia en los cuerpos de agua y acceden a órganos del sistema reproductivo o a aquellos que regulan su fisiología. Tanto los perfiles hormonales como el control de la gametogénesis, el desove, la fertilización, el tiempo de incubación y el desarrollo embrionario de la progenie pueden verse alterados por la acción de contaminantes.

¹ Médico Veterinario, M.Sc., Ph.D. (cand.). Profesor Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. jfgonzalezma@unal.edu.co

Las múltiples manifestaciones o estrategias reproductivas de las más de 22.000 especies de peces conocidas dificultan el poder generalizar con respecto a las respuestas del sistema reproductivo frente a la acción de los contaminantes (Heath, 1995). Además, la mayoría de reportes sobre el tema se han hecho en especies usadas como biomodelos por características especiales o en otras por su importancia económica. Por estas razones, no siempre será fácil hacer extrapolaciones a otras especies menos estudiadas o que ocupen ecosistemas con características muy diferentes. Los reportes relacionados con la respuesta del sistema reproductivo de especies tropicales son aún más escasos en la literatura y menos frecuentes, cuando no ausentes, son aquellos relacionados con el efecto sobre especies de la ictiofauna nativa colombiana.

El estudio de los efectos de contaminantes presentes en las aguas sobre las especies piscícolas es aún muy incipiente en Colombia. Si bien se presume sobre la aplicación indiscriminada de varios tipos de tóxicos, no hay un diagnóstico aproximado sobre el efecto, la depuración de los ecosistemas y las consecuencias de las múltiples fuentes de contaminantes sobre las especies nativas. Legislaciones débiles o ausencia de vigilancia y monitoreos metódicos sobre las principales fuentes de contaminación propician las condiciones necesarias para poner en mayor riesgo a las especies piscícolas. Entre los varios factores que se mencionan como posibles causantes del descenso dramático en la captura de especies nativas (ej. bocachico, bagre, nicuro) se incluyen las fuentes de contaminación química de las aguas. Sin embargo, no hay estudios en los que se hayan encontrado causalidad directa de dichos contaminantes con un pobre

desempeño reproductivo de las especies o con el descenso en el número de ejemplares. A pesar de la escasa información sobre la cinética y la dinámica de contaminantes acuáticos en los ecosistemas nacionales, en el presente capítulo se hacen menciones sobre el panorama de algunos de estos en las aguas de Colombia, de acuerdo con la información reportada sobre el tema. Además se hace una revisión de los principales contaminantes de las aguas que han sido identificados como causantes de desequilibrios en la actividad reproductiva de los peces. Si bien la lista no incluye la totalidad de compuestos que potencialmente pueden causar problemas de índole reproductivo, se ha tratado de reunir en la misma a aquellos que no solo tengan relevancia internacional sino también los que en Colombia se presumen o han sido diagnosticados como causantes de problemática reproductiva.

Contaminantes de las aguas que afectan el sistema reproductivo de los peces

Petróleo y productos derivados

El petróleo y sus derivados son una mezcla de diversos compuestos entre los que se destacan hidrocarburos alifáticos, cíclicos y otros elementos como azufre, níquel, vanadio, entre otros. Si bien los hidrocarburos que potencialmente hacen parte de las aguas como contaminantes no son sólo de origen geoquímico o petrogénico (ej. petróleo), la principal fuente de contaminación de las aguas con este tipo de compuestos proviene de la actividad propia de exploración de petróleo o de los accidentes en sistemas de transporte como tuberías de conducción de crudos o productos refinados (oleoductos, gasoductos, gasolinoductos) así

como buques-cisterna o carrotaques. El historial de accidentes con estos sistemas de conducción de hidrocarburos en Colombia desafortunadamente muestra una estadística preocupante y con consecuencias ecológicas presumiblemente serias. Solo entre los años 1990 y 1997 se reportaron más de 375 atentados al oleoducto Caño-Limón-Coveñas (Coordinación de Comunicaciones Externas, ECOPETROL). Quizás el accidente de mayor impacto ambiental pueda haber sido el presentado en la Ciénaga de Chimichagua del complejo cenagoso de la Zapatosa en el año 1990, donde más de 14.000 barriles de crudo fueron derramados involucrando varios islotes y ensenadas para finalmente cubrir 400 ha de cuerpo de agua (Ramírez y Viña, 1998). Viña *et al.* (1992) consideran que Colombia podría ser el país con mayores accidentes de derrame de crudos en aguas continentales en el mundo.

Los efectos de los hidrocarburos del petróleo sobre el sistema reproductivo de los peces parecen diferir según las especies involucradas. Diversos marcadores han sido utilizados para evaluar el impacto de los hidrocarburos en el sistema reproductivo.

Los niveles de andrógenos sufren un descenso significativo de hasta el 72% con respecto a los controles en peces expuestos a hidrocarburos del petróleo. Esto se ha visto tanto en exposiciones cortas de 7 a 14 días en salmón (*Salmo salar*) (Heath, 1995) como en crónicas (4 meses) en rodabayos (*Pleuronectes platessa*) (Idler *et al.*, 1995). Se cree que el mecanismo de acción ejercido por los hidrocarburos para causar este efecto es a través de la inducción (aumento de concentración y actividad) de las enzimas hepáticas (hidrocarburo

hidroxilasas) que metabolizan los esteroides haciendo que la concentración esté por debajo de los niveles esperados. En todos los estudios en donde se usan niveles de esteroides circulantes como indicadores de estrés reproductivo, es importante establecer claramente los valores de referencia y las variaciones cíclicas que estos pueden tener sin que necesariamente sean consecuencia del efecto de los contaminantes. En otras palabras, cambios drásticos en los niveles hormonales deben ser evaluados cuidadosamente ya que pueden corresponder a disminución por estrés de captura y confinamiento o simplemente corresponder a fluctuaciones significativas normales ocurridas durante el ciclo reproductivo (Greeley, 2002).

En el caso de las hembras, los estudios apuntan en mayor grado hacia el efecto vitelogenizante inducido por los hidrocarburos. No se ha establecido con claridad a través de qué mecanismo los hidrocarburos podrían cumplir con esta acción. Algunos han sugerido que inducirían la producción de vitelogenina a través de un estímulo similar al que ejercen los estrógenos (Lambert y Janssen, 1995). Sin embargo, en algunos reportes la elevación de vitelogenina se ha dado al mismo tiempo que los niveles de estrógenos estaban deprimidos por efecto de los hidrocarburos (Idler *et al.*, 1995).

Otras investigaciones han relacionado la exposición a hidrocarburos del petróleo con efectos en el desarrollo gonadal. El trabajo reportado por Khan (1986) demostró cómo exposiciones de doce semanas a fracciones de petróleo condujeron a retraso en el desarrollo gonadal (estados inmaduros de gametos) de bacalao (*Gadus morhua*). Otro estudio con gran relevancia medioambiental demostró que peces lenguados (*Pleuronectes vetulus*) mues-

treados en Puget Sound, una bahía con alto nivel de contaminación de hidrocarburos policíclicos aromáticos, mostraron una inhibición marcada del desarrollo gonadal (Collier *et al.*, 1998).

En Colombia, no se tiene una evaluación del efecto sobre el sistema reproductivo que posiblemente se dé en especies que habitan cuerpos de agua sometidos al derrame de crudos u otros derivados de esa naturaleza. La aproximación que se ha hecho en los pocos estudios disponibles ha estado más orientada a los efectos agudos causados por los accidentes (mortalidad) así como a la depuración de los ecosistemas meses después de la ocurrencia de dichos accidentes (concentración de las diferentes fracciones del petróleo en columna de agua y sedimentos) (Ramírez y Viña, 1998).

Pesticidas

Los pesticidas figuran entre el grupo de contaminantes con mayores efectos en la reproducción de especies piscícolas. La industria de pesticidas en Colombia ha tenido un desarrollo sostenido, ya que es uno de los mayores consumidores de plaguicidas de Latinoamérica y tiene una infraestructura bien desarrollada con cerca de 100 empresas dedicadas a la producción y comercialización de estos productos (Minambiente, 1998). Adicionalmente, el sistema de vigilancia epidemiológica que debería propender por un eficiente control en la aplicación y uso racional de estos productos es bastante débil. El otro aspecto que debería generar inquietud sobre los impactos en la salud reproductiva de los peces tropicales tiene que ver con la aplicación de pesticidas para la erradicación de cultivos ilícitos. La aplicación a través de la aspersión aérea de estos productos (ej. Glifosato para

la erradicación de coca y amapola) se caracteriza por alcanzar blancos diferentes al originalmente planeado. De esta forma, los cuerpos de agua están en riesgo inminente de sufrir los efectos de contaminación con estos productos.

Uno de los tópicos más controversiales y de interés científico en la última década con respecto al efecto de pesticidas en la reproducción es el de los disruptores o desacopladores endocrinos (DE). Algunos de los reportes sobre DE aparecerán en esta sección ya que un número significativo de pesticidas han sido identificados como tal. Sin embargo, no todos los DE son insecticidas y por ello reportes sobre otro tipo de compuestos serán discutidos en otros apartados de este capítulo.

Un DE ha sido definido por la EPA (*Environmental Protection Agency*) como un agente que interfiere con la producción, liberación, transporte, metabolismo, acción o eliminación de hormonas naturales encargadas de mantener la homeostasis u otros procesos de regulación en el organismo. La mayor parte de los DE han sido clasificados como de tipo estrogénico y por su naturaleza xenobiótica (ajena a la composición normal de un organismo) se les llama *exoestrógenos*. Sin embargo, un DE puede ser de tipo androgénico, antiandrogénico, antiestrogénico. Se cree que hasta unos 100.000 compuestos sintetizados por el hombre para diferentes usos pueden llegar a tener estructura y función similar a las hormonas naturales o ser moduladores de actividad endocrina (Tyler *et al.*, 1998).

Los peces han sido utilizados como bioindicadores de los efectos causados por los DE. Uno de los mayores hallazgos en este sentido fue el reportado por Harries *et al.* (1997) con respecto al poder es-

trogenizante de mezclas de efluentes descargadas en 5 ríos del Reino Unido. Este estudio se realizó en virtud de la inquietud que plantearon pescadores de estos ríos al encontrar que en sus capturas había un número significativo de peces con apariencias fenotípicas de hembra o, en algunos casos, con rasgos tanto de macho como de hembra haciendo muy difícil el sexaje de los ejemplares. Harries y su equipo de investigación decidieron entonces colocar peces machos en jaulas ubicadas en los ríos durante 3 semanas. Al cabo de este tiempo, los peces macho sintetizaron vitelogenina (Vtg) en niveles aun superiores al que sintetizan las hembras en el pico de producción de esta proteína de origen hepático. Como consecuencia de este hallazgo se consideró que varios compuestos de naturaleza estrogenizante que fueron detectados en las aguas eran los responsables de esta respuesta en los animales centinelas.

La inducción en la síntesis de Vtg en machos suele estar acompañada de cambios en tejido gonadal. Los índices gonado-somáticos (peso testis x 100/peso corporal) de peces macho sometidos a estímulos de exoestrógenos son normalmente inferiores a lo encontrado normalmente. Esto se atribuye a un *feedback* negativo causado por los exoestrógenos que hace que no persista el estímulo para mantener la morfofisiología normal de las gónadas. A su vez, el índice hepato-somático (peso hígado x 100/peso corporal) aumenta por el estímulo a la mayor síntesis de Vtg en este tejido (Harries *et al.*, 1997 y Greeley, 2002).

El diagnóstico del efecto estrogenizante de algunos compuestos en peces ha estado muy ligado a la detección de la síntesis de Vtg en machos. Sin embargo, las variaciones en la secuencia de los

aminoácidos de la Vtg entre las diferentes especies de peces no han permitido que las pruebas y los kits desarrollados para algunas especies (trucha, tilapia, etc.) puedan aplicarse para todas las demás. Al igual que lo indicado en su momento para la utilización de niveles de esteroides sexuales como biomarcadores de contaminación, en el uso de los niveles de Vtg debe tenerse precaución con marcadas variaciones fisiológicas que pueden presentarse en un ciclo reproductivo normal.

Las posibles implicaciones sobre la presencia de DE en las aguas son motivo de conjeturas y controversias. Las visiones más apocalípticas sugieren serios cambios a nivel de ecología poblacional como consecuencia de las variaciones en la proporción de machos/hembras, los desajustes hormonales y otras implicaciones de estos cambios reproductivos. De otra parte, para algunos especialistas en el tema, el estímulo de los DE sobre sus correspondientes receptores es demasiado débil en comparación con el ejercido por las hormonas naturales, lo cual determinaría respuestas que no alterarían el funcionamiento reproductivo de las especies. Esta última visión desestima las preocupaciones planteadas por sus opositores.

Insecticidas

En Colombia se comercializan diversos grupos de insecticidas. Dentro de los más usados se tiene a los organofosforados, carbamatos y piretroides. Otro grupo de insecticidas, los organoclorados, fueron utilizados en Colombia hasta que los cambios en la legislación ambiental (Resolución 10255 de 1993, Ministerio de Salud) prohibieron a los más tóxicos de este grupo (endrin, isodrin, aldrin, DDT, etc.). Estos últimos se caracterizan

por una alta persistencia tanto en aguas como en tejidos animales. El endosulfan es el último de los insecticidas organoclorados con aplicaciones de uso en Colombia ya que a pesar de su alta residualidad y poder tóxico fue autorizado hace pocos años para el control de la broca del café. Si bien existen reportes sobre el efecto tóxico de varios de estos insecticidas sobre el sistema reproductivo de los peces, los organoclorados son los de mayor efecto, particularmente como disruptores o desacopladores endocrinos.

Frecuentemente la contaminación de las aguas con insecticidas se da por la aplicación cercana de los productos en cultivos o sobre animales terrestres. A partir del sitio de aplicación del producto, el insecticida es distribuido a los cuerpos de agua por fenómenos naturales como vientos, lixiviación y escorrentía. El otro factor a tener en cuenta es que en varios casos (ej. Piretroides), los productos son mucho más tóxicos para los peces que para los animales terrestres.

Los insecticidas organofosforados (Op) y carbamatos (Cb) están entre los más utilizados en nuestro medio y en el mundo entero. Un aspecto interesante con respecto a los Op es que además de ser potenciales contaminantes de las aguas también tienen aplicaciones terapéuticas en acuicultura en el tratamiento de ectoparásitos. Si bien, el efecto tóxico principal tanto de los Op como de los Cb es la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, provocando una sintomatología nerviosa por persistencia en la conducción del impulso nervioso, algunos efectos sobre el sistema reproductivo causados por exposiciones subletales a estos dos tipos de insecticidas también han sido reportados.

Carbofuran, uno de los insecticidas tipo Cb más utilizados, fue estudiado en exposiciones por 30 días (1 y 2 mg/L) en una variedad de pez gato (*Heteropenustes fossilis*). En las dos concentraciones, el insecticida fue responsable de descensos significativos en el índice gonadosomático de hembras (peso ovario x 100/peso corporal). Además, los ovarios de estas hembras mostraron predominancia de oocitos en estadio I en comparación con los controles en donde predominaron los estadios II y III (Chatterjee *et al.*, 1997). Por su parte, Mani y Saxena (1985) compararon el efecto sobre maduración ovárica en *Channa punctatus* entre Carbofuran (5 ppm) y Fenitrotion (organofosforado) (1.5 ppm) encontrando que el Op condujo a un descenso en el peso del ovario más significativo que el causado por el carbamato, así como a un mayor retardo en la maduración de los oocitos. El carbaril, otro carbamato de gran uso, también ha sido estudiado con respecto a efectos reproductivos en peces. Usando pez cebrá (*Danio rerio*), este insecticida fue causante de un menor tamaño de ovas fertilizadas y embriones con respecto al de los controles. Adicionalmente, la eclosión de ovas embrionadas expuestas al insecticida tomó el doble del tiempo. Este factor hace a las mismas más susceptibles a la acción de predadores (Todd y Van Leeuwen, 2002).

Los piretroides son insecticidas de gran uso en animales terrestres debido a su alto margen de seguridad. Contrario a esta situación, los organismos acuáticos y particularmente los peces se encuentran entre las especies más susceptibles al efecto de los mismos (Bradury *et al.*, 1985 y David y Somasundaram, 1985). Por esta razón la mayor parte de reportes sobre el efecto tóxico de los piretroides en peces son de intoxica-

ciones agudas causando altas mortalidades. En varios de estos estudios se reportan efectos sobreagudos con concentraciones de piretroides en el orden de las partes por billón. Dhawan y Kaur (1996) estudiaron el efecto tóxico de los piretroides cipermetrina (40 mg/L), deltametrin (20 mg/L) y fenvalerato (20 mg/L) sobre el sistema reproductivo de los peces. Como consecuencia de la exposición de ovas a estas concentraciones de los insecticidas se presentó un 100% de mortalidad en las mismas. Este hallazgo también es un indicador del efecto sobreagudo ocasionado por estos insecticidas en especies piscícolas. Se ha sostenido que la mayor susceptibilidad de los peces a la acción tóxica de los piretroides en comparación con animales terrestres, es un factor asociado con la temperatura corporal y la actividad de enzimas tipo esterasas. Los estudios de toxicología que han intentado discernir el mecanismo de acción de estos productos sugieren que a una menor temperatura corporal del individuo intoxicado se presenta una mejor interacción entre el piretroide y sus receptores blanco en el organismo. La naturaleza ectotérmica de los peces los haría entonces más susceptibles que las especies terrestres a este tipo de pesticidas. De otra parte, la concentración de esterasas, enzimas importantes en la hidrólisis y oxidación de ésteres, pareciera ser significativamente menor en peces en comparación con los mamíferos (Valentine, 1990).

Los insecticidas organoclorados (Oc) que fueron prohibidos en Colombia 20 años después de que lo hicieran los países desarrollados se encuentran entre los productos con mayor poder estrogenizante. De todos los Oc, El DDT (diclorodifeniltricloroetano) es el más estudiado y conocido.

Las vidas medias del DDT y algunos de sus metabolitos (o,p'-DDT, p,p'-DDE) pueden alcanzar hasta los 50 años, lo cual los hace productos de marcado efecto residual en el medioambiente (Cooke y Stringer, 1982). A otros Oc como metoxicloro y lindano también se les han reconocido propiedades muy similares al DDT desde el punto de vista de desacople endocrino (Tyler *et al.*, 1998). En Colombia se ha comercializado el endosulfan, otro organoclorado de gran poder tóxico, con fines de erradicar la broca o gusano barrenador del café. El endosulfan también ha sido catalogado como DE. Adicionalmente, esta base química es uno de los agentes más tóxicos para formas de vida acuática conduciendo a mortalidades masivas y en muy cortos periodos de tiempo en concentraciones que usualmente están en el orden de las partes por billón. Las evidencias encontradas en casos de mortalidades masivas en peces hacen clasificar al endosulfan como supertóxico para estas especies (Leight y Van Dolah, 1999).

Herbicidas

Los herbicidas representan el grupo de pesticidas con mayor crecimiento en los últimos años en el país. Más de 300 formulaciones comerciales de herbicidas están disponibles en el mercado nacional. De hecho, herbicidas como el 2.4-D y glifosato son dos de las bases químicas con mayor número de formulaciones comerciales en Colombia (Minambiente, 1998). Es de anotar que si bien algunos de estos productos (ej. herbicidas tipo fenoxiacético) han sido clasificados entre ligera y moderadamente tóxicos para animales terrestres, se constituyen en productos de alto riesgo para formas de vida acuática.

La atrazina (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s-triazina) es un herbicida de amplio uso. Este herbicida puede alcanzar una vida media en aguas de hasta 350 días en condiciones de pH cercanas a un valor neutro (Exttoxnet, 1996 y Spanò *et al.*, 2004). Aunque es considerado un herbicida relativamente seguro para especies animales, efectos relacionados con disrupción endocrina han sido reportados en peces. Al estudiar los efectos de la exposición a atrazina (100 y 1.000 ug/L) por 21 días en goldfish (*Carassius auratus*) machos, Spanò *et al.* (2004) encontraron disminución en andrógenos plasmáticos (testosterona y 11-ketotestosterona) así como una elevación de 17 β -estradiol. Las dos concentraciones examinadas en este experimento causaron atresia ovárica en hembras. Si bien, los machos presentaron niveles elevados de estrógenos en este estudio, no se reporta una elevación de vitelogenina (Vtg) como sí sucede con otros DE. Este último hallazgo ha hecho considerar a la atrazina como un agente no estrogenizante aunque afecte la biosíntesis de estrógenos y de 11-ketotestosterona.

De otra parte, exposiciones a atrazina (5 y 50 ug/L) por 21 días en fathead minnows (*Pimephales promelas*) no causaron cambios significativos en los niveles de esteroides sexuales ni de otros parámetros reproductivos analizados (Bringolf *et al.*, 2004). Si bien las diferencias con respecto al estudio referenciado en goldfish podrían deberse a factores asociados con una variación interespecies, las concentraciones usadas en este último estudio son más bajas y quizás más pertinentes con las eventualmente encontradas en el medio natural.

piscícolas están más relacionadas con manifestaciones agudas o sobreagudas de las intoxicaciones. No hay reportes sustentados de efectos sobre el sistema reproductivo de los peces. El paraquat ejerce una acción particularmente lesiva sobre el tejido respiratorio y la piel. Sin embargo, no se descarta que este producto por su distribución sistémica pudiera causar problemas en el sistema reproductivo. Estudios orientados en este sentido se requieren dado el potencial tóxico y el gran volumen de ventas de este producto en el mercado nacional. El 2.4-D por su parte es un producto de relativo alto margen de seguridad en especies terrestres. Sin embargo, la contaminación de cuerpos de agua es poco recomendable dado el potencial tóxico del producto.

Metales

• Cadmio

El cadmio (Cd) es un elemento encontrado naturalmente en muy bajas concentraciones en suelos no contaminados (< 1 mg/K). Sin embargo, fuentes naturales (depósito por actividad volcánica) y antropogénicas (producción de hierro y acero, combustión de gas, aceite y carbón) contribuyen a emisiones anuales considerables. El Cd se encuentra en sus formas naturales combinado con oxígeno, cloro y azufre (Cooke y Johnson, 1996). La industria utiliza el Cd como componente en la fabricación de baterías, como estabilizador de cloruro de polivinilo (PVC), en la fabricación de fotoceldas, soldadura para aluminio, pigmentante de esmaltes, entre otros.

Colombia importó en el año 1999 un total de 912 toneladas de este metal (DANE, 1999). Según

Las características del efecto tóxico de herbicidas como el 2.4-D y el paraquat sobre las especies

la normatividad emanada del Ministerio de Salud de Colombia (Decreto 475 de 1998), el nivel máximo permitido de Cd en aguas es de 0.003 partes por millón (ppm). Estudios realizados en Colombia como el reportado por Niño y Panizo (1990) evaluaron la cantidad de Cd presente en sedimentos de la Bahía de Buenaventura a través de muestreos en seis estaciones diferentes encontrando entre 1.1 y 4.2 ppm del metal. En el río Magdalena, un estudio llevado a cabo entre 1986 y 1989 reporta una concentración promedio de Cd en fase soluble igual a 2.1 parte por billón (ppb) (= 0.002 ppm) (Ruiz, 1994). Por su parte, Claro (1999) recopila una serie de estudios entre 1958 y 1997 sobre concentración de Cd en el cauce del río Bogotá. Al evaluar las concentraciones de Cd en las investigaciones realizadas entre 1993 y 1997 en este mismo estudio, el metal alcanzó alrededor de 8.0 ppb en varias de las estaciones muestreadas a lo largo de su cauce. La valoración de la Cacha como bioindicador de aguas contaminadas con Cadmio mostró promisorios resultados en un estudio realizado en el laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (Rojas *et al.*, 2001).

Los efectos del Cd sobre el sistema reproductivo incluyen acciones sobre la producción de esteroides, vitelogenina, el tiempo de incubación de ovas fertilizadas y efectos sobre el sistema olfatorio con repercusiones en la detección de feromonas.

El Cd ha sido catalogado como elemento responsable de elevación de esteroides sexuales en trucha (*Salvelinus fontinalis*), aun después de la espermiación cuando normalmente declinan. Se ha especulado que esto se debe a un bloqueo ejercido por el metal en el sistema de biotrans-

formación (citocromo P450) el cual se encarga de metabolizar los esteroides que han cumplido su ciclo en el organismo (Sangalang y Freeman, 1974). Por su parte, Kime (1984) reporta que el Cd estimula directamente la producción de testosterona y 11 β -hidroxitestosterona en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), mecanismo diferente al sugerido previamente en *Salvelinus*. Contrario a lo visto en trucha, Tilton *et al.*, (2003) encontraron que en el pez Medaka (*Oryzias latipes*), el Cd provocó un descenso significativo en la liberación de esteroides sexuales a partir del tejido gonadal tanto en machos como en hembras que estuvieron expuestos a Cd (hasta 10 ppb) por 7 semanas.

El efecto del Cd a nivel reproductivo también incluye inhibición a la producción de vitelogenina (Vtg). El Cd compete con el calcio (los dos se comportan como cationes divalentes) alterando la homeostasis del mismo y conduciendo a una hipocalcemia (bajo nivel de calcio en la sangre). Este último es requerido para el transporte de la Vtg a los oocitos (Povlsen *et al.*, 1990). En el estudio mencionado previamente en el pez Medaka, el Cd no ocasionó ningún cambio sobre la Vtg (Tilton *et al.*, 2003).

En investigaciones llevadas a cabo por Rosenthal y Alderdice (1976), el Cd disminuyó el volumen de las ovas de ejemplares de la familia *Clupeidae* (Pacific herring) previo a la fertilización cuando estuvieron expuestas a una concentración 0.1 mM. En este caso y en forma análoga a lo descrito para la Vtg, el Cd compete con el calcio por receptores de los mucopolisacáridos que recubren las ovas causando una significativa disminución en su volumen.

El comportamiento ligado a la actividad reproductiva ha sido considerado un parámetro de gran ayuda para evaluar efectos subletales de contaminantes (Scott y Sloman, 2004). Las conductas migratorias con fines reproductivos dependen en buena parte del desplazamiento de los peces por corrientes de agua donde hay estímulos olfatorios ligados a la presencia de feromonas. En peces kokopu bandeados (*Galaxius fasciatus*), Baker y Montgomery (2001) reportan que la exposición previa a Cd (0.5 - 1.0 ug/L) fue causante de falta de respuesta a corrientes que habían sido marcadas con feromonas. Esta ausencia de respuesta al estímulo olfatorio ha sido atribuida al daño directo sobre el epitelio olfatorio en donde el Cd tiende a acumularse.

- Mercurio

Se estima que aproximadamente 100 toneladas de mercurio han sido liberadas anualmente en la atmósfera en las últimas dos décadas en el planeta. Solo en Brasil debido al proceso de extracción de oro, se libera un 45% del Hg utilizado para tal fin sobre los ecosistemas acuáticos (Hacon *et al.*, 1997). El mercurio (Hg) puede presentarse en las aguas en varias formas químicas: elemental (Hg^0), disuelto, en forma ionizada o en forma metilada (metilmercurio). El proceso de metilación de las formas inorgánicas ($Hg II$) sucede en los sedimentos o en la misma columna de agua y es mediado por actividad microbiana. Esta reacción es fundamental para la absorción y asimilación por parte de los peces (Wiener y Spry, 1996). La dieta parece ser la fuente primaria de ingreso de metilmercurio en peces y la eficiencia de asimilación llega a estar entre 65 y 80% (Rodgers, 1994). Adicionalmente, entre el 7 y 12% del metilmercurio

que pasa a través de las branquias se considera asimilable por los peces (Phillips y Buhler, 1978 y Rodgers, 1994).

Dentro de los estudios llevados a cabo en Colombia con respecto a la presencia de Hg en las aguas, el reporte de contaminación en el Oleoducto Colombia (Vasconia-Coveñas) muestra concentraciones bastante elevadas (0.3 - 3.9 $\mu g/g$) en ejemplares muestreados de Doncella (*Ageneiosus caucanus*), Blanquillo (*Sorobium lima*), Dorada (*Brycon moroi*) y Comelón (*Leporinus muyscorum*) (Mojica *et al.*, 1994) y según ICONTEC (Norma 1443), la concentración máxima permitida de Hg en carne de pescado debe ser menor a 0.5 $\mu g/g$. La contaminación con Hg en las aguas de este sector está muy asociada con la utilización del mismo en la extracción del oro.

Otros estudios llevados a cabo por Olivero *et al.* (1997, 1998) al evaluar la contaminación de peces con Hg en las zonas del Canal del Dique y las Ciénagas Grande, de Simití y Capote muestran que en el caso de la primera zona geográfica, la concentración de Hg en músculo estuvo entre No Detectable y 219 $\mu g/K$ de las especies muestreadas. Este rango de concentraciones está por debajo de las encontradas en otros lugares como el Río Tapajos en la región amazónica, en donde las concentraciones están casi 10 veces por encima (690 $\mu g/K$) que las de los peces del Canal del Dique. Sin embargo, en los especímenes muestreados en el Canal del Dique, la Arenca (*Triporthus magdalenae*) fue la especie con valores de Hg que podría causar mayor riesgo para el consumidor ($150 \pm 36 \mu g/K$). Por su parte, la Ciénaga Grande fue la que presentó los mayores niveles de Hg en músculo de pescado, aun por encima de los

0.5 ppm establecidos por la OMS. Si bien estas concentraciones determinan máximos permitidos con miras a establecer seguridad para el consumidor, las mismas concentraciones reportadas en los ejemplares mencionados no han sido evaluadas desde el punto de vista del impacto en su función reproductiva.

Investigaciones relacionadas con los efectos de las diversas formas de mercurio presentes en las aguas muestran interesantes hallazgos. En estudios hechos en *Fundulus heteroclitus*, una especie estuarina de Norteamérica, el metilmercurio causó una reducida fertilización debido a una activación prematura de la ova que sufre la ruptura de las vesículas corticales y posterior bloqueo al micrópilo. Las formas inorgánicas de mercurio por su parte fueron causantes de un reducido diámetro del micrópilo (Weis y Weis, 1983).

En otra especie, *Clarias sp.*, el Hg ha sido encontrado como causante de daño a las células de Leydig así como de un descenso marcado de colesterol plasmático. El descenso en los niveles plasmáticos del colesterol puede tener efectos serios en la síntesis de esteroides sexuales. El mecanismo específico para explicar este efecto no se sabe si obedece a una acción directa en las vías metabólicas encargadas de la síntesis de colesterol o por inducción al sistema P450 de citocromos (Heath, 1995).

• Plomo

El plomo (Pb) pertenece al grupo IV de la tabla periódica y sus fuentes más importantes son las emisiones volcánicas y los depósitos minerales. Además, este elemento es componente normal de

la corteza terrestre. El Pb se utiliza en la fabricación de baterías o acumuladores, soldaduras, anti-detonantes para gasolina, pigmentos, etc. De todas las fuentes antropogénicas, se estima que unas 450.000 toneladas de Pb se liberan a la atmósfera. Desde allí el elemento llega a suelos, plantas y agua (Badillo, 1990). Debido a las implicaciones ambientales del Pb como agente contaminante, el uso de este elemento se ha restringido significativamente. Es así como la gasolina que se comercializa en Colombia hoy por hoy está prácticamente libre de plomo. Las pinturas también están libres de plomo debido a riesgos en salud pública, particularmente en la población infantil. Otras acciones que han intentado minimizar la presencia de Pb en el medio como contaminante de las aguas han sido las relacionadas con el descarte apropiado de las baterías de automóviles y el reciclaje de aceites lubricantes para motores.

El Pb ha sido reportado como inhibidor de la espermatogénesis y la producción de andrógenos mediante la supresión a la liberación de gonadotropina en peces machos. Se asume que la interferencia con la liberación de gonadotropinas también puede ser cierta para las hembras (Heath, 1995). En otra investigación relacionada con este tema Thomas (1988) encontró que la administración crónica por vía oral de Pb en hembras de Atlantic Croaker (*Micropogonias undulatus*) fue causante de reducción en el crecimiento gonadal basado en el cálculo del índice hepato-somático. Los niveles de 17β -estradiol plasmático también sufrieron marcadas reducciones como consecuencia de la exposición al Pb.

En otros estudios asociados al efecto del Pb, Kumar y Pant (1984) encontraron que en expo-

siciones crónicas al metal (2 a 4 meses) en el pez *Puntius Conchonius* se presentaron cambios histopatológicos en gónadas tales como dilatación de capilares en testes, necrosis de túbulos seminíferos y atresia ovárica con un reducido número de oocitos. Este mismo hallazgo fue encontrado para el cobre y el zinc. Para los autores esto puede deberse al daño directo sobre gónadas causado por el metal o por efecto sobre la gonadotropina como fue reportado antes en el Atlantic Croaker.

- **Cobre**

El cobre (Cu) es un elemento esencial requerido como cofactor por más de 30 enzimas siendo reconocido como elemento traza en las células. Las principales fuentes antropogénicas de cobre en las aguas son las descargas industriales y los efluentes municipales. Se calcula que hasta unas 1.8 millones de toneladas métricas de cobre son liberadas a la biosfera a partir de estas fuentes. En acuicultura, también tiene aplicaciones terapéuticas como alguicida, molusquicida y ectoparasiticida (Eisler, 1998).

El cobre (Cu) es un elemento caracterizado por un muy bajo margen de seguridad para las especies piscícolas. Si bien puede ser usado con fines terapéuticos, la diferencia entre las concentraciones tóxicas y las terapéuticas es mínima. El interés por las respuestas de especies nativas frente a la presencia de agentes tóxicos permitió encontrar que juveniles de Cachama blanca (*Piaractus brachipomus*) expuestos a concentraciones terapéuticas de sulfato de cobre recomendadas para otras especies, fueron muy sensibles a las mismas. Aunque este estudio no incluyó una evaluación de índole reproductivo, los cambios en variables he-

matológicas y la acumulación del metal en tejidos como branquias e hígado indicaron su potencial tóxico en esta especie (Lozano *et al.*, 2003). El cobre es uno de los elementos que media su efecto tóxico en el sistema reproductivo a través de la elevación en los niveles de cortisol. El Cu se caracteriza por inducir un estrés de tipo osmótico en el pez debido a su posibilidad de modificar la capacidad ionorreguladora en las branquias. La inhibición a la toma de sodio es uno de los mayores efectos de esta descompensación de tipo osmótico. Igualmente, cuando el cobre se encuentra simultáneamente junto con el cadmio, inhiben la captación de calcio por parte de la branquia. Una respuesta compensatoria para contrarrestar el estrés osmótico es la liberación de cortisol. A su vez, este último estimula el metabolismo hepático de andrógenos, lo cual conduce a reducción de la concentración de los mismos en sangre (Hansson, 1981).

- **Selenio**

El Selenio (Se) es un elemento traza que al igual que el cobre tiene un muy bajo margen de seguridad para las especies animales. Es decir, la diferencia entre la cantidad requerida y el nivel causante de efectos tóxicos es muy pequeña. Una de las principales fuentes de Selenio es la combustión de carbón y petróleo. En Colombia han sido identificadas varias zonas seleníferas en donde por procesos de índole geológico quedaron “manchas” del elemento en el subsuelo. Aunque se requieren varios fenómenos químicos y geológicos para que se dé el “afloramiento” del elemento, la presencia de Se en algunas zonas del país amerita una investigación más profunda con respecto a la eventual contaminación de las aguas

circundantes. Dentro de los municipios con áreas de alta concentración de Selenio en el subsuelo se tienen: Villa de Leyva, Útica, Nocaima, Pacho, Puerto Salgar, Puerto Boyacá, La Palma, Ortega (Benavides y Silva, 1965).

Uno de los efectos tóxicos mejor documentados del selenio en peces es la teratogénesis en el estadio embrio-larvario. Algunas de las deformaciones que muestran las larvas están a nivel de columna (lordosis, xifosis, escoliosis) así como deformaciones en cabeza, opérculos y boca. Larvas con este tipo de anomalías no se espera que sobrevivan por mucho tiempo en ecosistemas naturales y menos aún bajo el permanente acecho de predadores (Hamilton, 2004).

El selenio, al igual que varios de los agentes tóxicos que se mencionan en este texto, ha sido más estudiado por sus efectos agudos o sobrea-gudos sobre las especies piscícolas que en otras circunstancias en donde concentraciones suble-tales hacen parte de las aguas. Los eventos de contaminación aguda han servido para entender diferentes grados de susceptibilidad entre las especies. En un accidente de contaminación con Se ocurrido en el Lago Belevs en Carolina del Norte (USA), 16 especies de peces desaparecieron por los efectos tóxicos del mismo mientras solamente tres sobrevivieron y fueron capaces de seguir con sus ciclos reproductivos (Lemly, 1985). Entre las susceptibles se encontraron varios centráquidos (*Lepomis*), peces gato (*Ictalurus*) y percas (*Morone*). Las especies que resistieron la alta concentración de selenio fueron la carpa (*Cyprinus*), el pez mosquito (*Gambusia*) y el pez gato cabeza de toro (*Ictalurus melas*). Ejemplos como el referido en el que son evidentes las diferencias en susceptibi-

lidad al selenio, han permitido sugerir la hipótesis de que algunas especies han desarrollado resistencia a través de cambios genéticos que les permite sobrevivir y reproducirse en ambientes con altas concentraciones del elemento. Esta hipótesis no ha sido soportada plenamente con evidencia científica.

Contaminantes de la industria

• Policlorinados bifenílicos

Los policlorinados bifenílicos (PCB) son compuestos que químicamente se caracterizan por un núcleo bifenilo que puede aceptar desde 1 hasta 10 átomos de cloro. Como resultados de las posibles sustituciones, un total de 209 congéneres pueden obtenerse. Las mezclas comerciales de PCB son conocidas por nombres como Aroclor, Clophen y Kanechlor. La producción de estos compuestos fue prohibida en los años 70 cuando fueron identificados como agentes de alta persistencia y mínima degradabilidad en el medio (Niimi, 1996). Las concentraciones de PCB en el medio varían ampliamente y se considera que en ecosistemas acuáticos de países en desarrollo alcanzan hasta 1 µg/L (Tyler *et al.*, 1998). Durante el auge de su uso, concentraciones tan altas como 100 mg/K fueron encontradas en tejidos de organismos acuáticos tomados del medio natural (Brown *et al.*, 1985).

Existe cierta discrepancia entre los efectos de exposiciones a PCB hechas bajo condiciones controladas de laboratorio y los análisis reproductivos de animales tomados del medio natural. Estudios relacionados con efectos de los PCB en la reproducción de los peces han mostrado que la

disfunción reproductiva se correlaciona con altas concentraciones de los mismos presentes en los tejidos. Investigaciones en trucha arco iris mostraron que concentraciones de PCB en tejidos de más de 30 mg/K pueden inhibir el desove. Sin embargo, los estudios que se han llevado a cabo en condiciones de laboratorio y que han mostrado posibles efectos en función reproductiva no necesariamente reflejan lo visto en condiciones de campo. Los muestreos hechos en animales tomados de su medio natural no son muy concluyentes sobre el verdadero efecto de los PCB en la función reproductiva.

Los PCB que tienen sustituciones en la posición orto tienen afinidad por el receptor estrogénico. Sin embargo, se cree que esta afinidad es de 50 a 500 veces más débil que la mostrada por el estradiol, su agonista natural (Tyler *et al.*, 1998). A pesar de esta menor afinidad por el receptor estrogénico, los PCB figuran en la lista de compuestos tipo desacoplador endocrino y han sido estudiados como tal.

- **Ptalatos**

Los ptalatos se encuentran entre los productos de mayor frecuencia como contaminantes de las aguas. Su presencia no solo se da a nivel de ríos, aguas de desecho sino también en agua de consumo. El uso primordial de estos productos es en la industria de plastificantes, ya que confieren gran flexibilidad al producto terminado. Otras aplicaciones son como componentes de insecticidas, tintas, cosméticos y aceites lubricantes (Peakall DB, 1975 y Tyler *et al.*, 1998).

Los ptalatos parecen estar entre los exoestrógenos más débiles de los hasta ahora reconocidos. Con-

centraciones de varios cientos de mg/K de peso parecen ser necesarias para causar efectos en gónadas cuando se han hecho ensayos a nivel de laboratorio con roedores (Gongolli, 1982 y Davis *et al.*, 1994). Por esta razón, la verdadera relevancia de los ptalatos sobre especies piscícolas con las concentraciones que se detectan a nivel medio-ambiental es incierta.

- **Derivados policarbonados y resinas epóxicas**

El bisfenol A, uno de los químicos usados en la elaboración de policarbonatos con destino a los plásticos también tiene efectos de naturaleza estrogénica (Krishnan *et al.*, 1993). A diferencia de los ptalatos, el bisfenol-A es considerado uno de los más fuertes agonistas de tipo exoestrógeno. Esto a pesar de que se une al receptor con una afinidad 2.000 veces menor que el 17 β -estradiol (Routledge y Sumpter, 1996). Sin embargo, algo que podría disminuir el riesgo sobre ejemplares susceptibles del efecto estrogénico es que la biodegradabilidad del bisfenol es bastante alta (De-Iolmo *et al.*, 1997).

- **Cianuro**

El cianuro es fundamentalmente utilizado en su forma de sal sódica (NaCN) para la extracción de oro y otros metales preciosos. Durante el proceso de obtención del oro se genera un complejo oro-cianuro que debe ser precipitado para la obtención del metal precioso en su estado libre. En este procedimiento, grandes volúmenes de agua alcalina con potencialmente altas concentraciones de NaCN, cianuro libre y otras formas metálicas pueden llegar a contaminar cuerpos de agua afec-

tando poblaciones de peces y de otras especies silvestres (Eisler *et al.*, 1999).

El cianuro como elemento tóxico se presenta de varias formas. En los animales terrestres, el riesgo de exposición e intoxicación con cianuro se da a través del consumo de glicósidos cianogénicos (azúcares modificados con ion ciano, CN^-) presentes en algunas plantas. Por su parte, en los peces la vía acuática es la prevalente a través de la contaminación de las aguas con el cianuro derivado de la extracción del oro en los aluviones. Los peces son el grupo de organismos acuáticos más sensibles a la acción del cianuro y a su vez son más sensibles que la gran mayoría de organismos terrestres (Eisler, 1991).

La mayoría de reportes de efecto tóxico del cianuro en peces se relacionan con eventos de naturaleza aguda o sobraguda ocasionando mortalidad masiva de poblaciones. Según la USEPA (Environmental Protection Agency) (1980) concentraciones entre 50 y 200 $\mu\text{g/L}$ (ppb) de ion cianuro son fatales en la mayoría de especies. Sin embargo, al evaluar efectos subletales, el sistema reproductivo puede sufrir efectos indeseables en peces que están expuestos continuamente a concentraciones entre 5 y 7.2 μg de ion cianuro (CN^-) por litro de agua (ppb) (Eisler, 1991). El cianuro afecta la función reproductiva de los peces mediante una reducción en el número de ovas disponibles para fertilización, así como causando una menor viabilidad de dichas ovas por un retraso en el depósito de vitelogenina en el ovario (Lesniak y Ruby, 1982 y Ruby *et al.*, 1986).

En otros estudios, el cianuro (10 $\mu\text{g/L}$) ha sido identificado como la causa de supresión en la

espermatogénesis en trucha (*Oncorhynchus mykiss*). Específicamente, la transformación de espermatogonias en espermatoцитos se ve afectada. Sin embargo, el efecto no parece ser mediado por acción directa a la gónada sino que envuelve una reducción en la secreción de gonadotropinas hipofisarias debida a la acción directa del cianuro sobre las células productoras de las mismas (Ruby *et al.*, 1993a). Con respecto a la acción del cianuro en el tracto reproductivo de hembras, la misma concentración utilizada para el estudio en machos fue causante de descenso en estradiol plasmático (>50%), hormona tiroidea (T3), Vtg y diámetro de oocitos (Ruby *et al.*, 1993b). También se sugiere como mecanismo de este efecto la acción directa sobre la hipófisis.

Otros contaminantes

Existen contaminantes que inducen efectos de tipo estrogénico en peces y que no se clasifican dentro del grupo de insecticidas o dentro de los derivados de actividades industriales *per se*. De estos se tienen compuestos sintéticos y naturales.

Entre los estrógenos sintéticos aparece el 17 α -etilnil-estradiol (EE_2), el cual ha sido ampliamente utilizado como la base química de la píldora anticonceptiva. Algunos de estos estrógenos sintéticos llegan a ser más potentes en su reacción con el receptor correspondiente que el mismo 17 β -estradiol. La fuente de EE_2 como contaminante de ríos son los efluentes que provienen del tratamiento de aguas en los acueductos municipales. Cuando el EE_2 ha cumplido con su efecto anticonceptivo es inactivado mediante conjugación con metabolitos endógenos como el ácido glucurónico. Después de que el EE_2 es conjugado puede ser eliminado

del organismo a través de la orina; sin embargo, vuelve a su forma biológicamente activa (no conjugada) gracias a la presencia de enzimas de origen bacteriano (especialmente de la *E. coli*) que se encuentran en las aguas negras y que se encargan de romper los enlaces entre EE₂ y el ácido glucurónico (Dray *et al.*, 1972). Así, el EE₂ activo queda disponible para las especies acuáticas haciendo parte de los ríos que han recibido las descargas de las aguas tratadas. En algunas mediciones hechas en ríos del Reino Unido, la concentración de EE₂ ha alcanzado valores entre 0.2 y 7 nanogramos/L (1 nanogramo = 10⁻⁹ gramos) (Routledge *et al.*, 1998). La capacidad estrogenizante de EE₂ sobre peces fue comprobada en machos de trucha que tras una exposición a 0.1 ng EE₂ / L durante tres semanas mostraron una significativa producción de vitelogenina (Purdom *et al.*, 1994).

Estrógenos de origen natural también pueden contaminar las aguas o hacer parte de la dieta recibida por los peces. Dentro de estos compuestos se tienen fitoestrógenos y micoestrógenos que a su vez pueden ser subdivididos en isoflavonoides (ej. genisteína), cumestrol y enterolactonas. Los fitoestrógenos son parte de la dieta de la mayoría de vertebrados herbívoros y omnívoros. Aunque estas son fuentes aditivas que potencialmente podrían ejercer su efecto sumado al de los estrógenos de origen sintético, no se tiene un estimativo preciso de la concentración de fitoestrógenos en las aguas o como componentes de las dietas. La otra fuente de estrógeno natural (17β-estradiol y estrona), y quizás en la que se ha hecho más énfasis dentro de las formas naturales presentes en las aguas es excretada normalmente por las mujeres. Una mujer puede eliminar entre 10 y 100 μg de estrógeno al día dependiendo de la fase del ciclo

mientras una mujer embarazada puede excretar hasta 30 mg de estrógeno diariamente (Aldercreutz *et al.*, 1986). Estas formas de estrógenos que también se conjugan para ser excretadas sufrirían el mismo tipo de reactivación en las aguas provenientes de acueductos por parte de las enzimas bacterianas que hidrolizan dichos conjugados liberando el estrógeno. Al igual que lo planteado en la sección de pesticidas en su rol de DE, el efecto verdadero de los estrógenos naturales como potenciales contaminantes en las aguas sobre la función reproductiva de los peces es aún materia de discusión y de confrontación con un mayor número de evidencias científicas.

Conclusiones

Diversos tipos de mecanismos son ejercidos por los tóxicos que afectan al sistema reproductivo de los peces. La interferencia con el funcionamiento normal puede darse a nivel hipotalámico, en la hipófisis o a nivel gonadal. Otros tóxicos (ej. Cobre) actúan induciendo una respuesta de ajuste fisiológico (estrés) caracterizada por la liberación de cortisol que finalmente afecta la función reproductiva. Otros actúan sobre órganos que como el hígado son mediadores o directos responsables del metabolismo de hormonas interfiriendo con las actividades de conjugación que garantizan la excreción de moléculas que han cumplido con su ciclo funcional. De otra parte, para un buen número de agentes potencialmente tóxicos aún no se ha caracterizado plenamente el mecanismo a través del cual ejercen sus efectos.

Los agentes tóxicos que han generado mayor número de estudios en la última década son los denominados disruptores o desacopladores endo-

crinos. Los peces no solo han servido como modelos de investigación en esta área sino que se han constituido en promisorios bioindicadores de los niveles de contaminación por este grupo de agentes tóxicos. La creciente lista de agentes con capacidad de disrupción endocrina es vista por una corriente de investigadores como sería amenaza para la integridad reproductiva de las especies piscícolas. Otra corriente de investigadores ha desestimado estas preocupaciones por la presencia de estos compuestos en las aguas basados en la debilidad que tienen estos al unirse a los receptores específicos en comparación con la afinidad de las hormonas naturales.

La gran mayoría de investigaciones que fueron citados en este capítulo, así como buena parte de las

evidencias científicas que se reportan diariamente en esta área del conocimiento, están basadas en exposiciones hechas en condiciones controladas y estudiando los efectos causados por un compuesto de interés. Si bien toda la información generada por estos estudios es muy valiosa, en el contexto de los fenómenos de contaminación de los ecosistemas acuáticos varios agentes suelen estar presentes haciendo que primordialmente sean mezclas de tóxicos las que simultáneamente ejercen su acción sobre el sistema reproductivo. Un mayor número de estudios en donde se contemplan estas condiciones de exposición a mezclas de compuestos se requieren para abordar en mejor forma la problemática de contaminación de las aguas y sus acciones sobre el sistema reproductivo de los peces.

BIBLIOGRAFÍA

- ALDERCREUTZ, H, T. FOSTIS; C. BANNWART; E. HAMALAINEN; S. BLOIGU Y A. OLLUS. 1986. Urinary estrogen profile determination in young finnish vegetarian and omnivorous women. *J Steroid Biochem*, 24:289-296.
- BADILLO, JF. 1990. Plomo. En *Curso Básico de Toxicología Ambiental*. L. Albert (Ed.). Limusa S.A. México, D. F.
- BAKER, CF Y JC. MONTGOMERY. 2001. Sensory deficits induced by cadmium in banded kokopu, *Galaxias fasciatus*, juveniles. *Environ. Biol. Fish.*, 62:455-464.
- BENAVIDES, S.T. Y F. SILVA. 1965. Seleniosis. Instituto Geográfico "Agustín Codazzi". Bogotá. 150 p.
- BRADURY, S; P. GOEL; R. COASTS Y IM. MCKIM. 1985. Differential toxicity and uptake of 2 fenvalerate for mutation in fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Environ Toxicol Chem*, 4:533-54.
- BRINGOLF, RB; J.B. BELDEN Y RC. SUMMERFELT. 2004. Effects of atrazine on fathead minnow in a short-term reproduction assay. *Environ Toxicol Chem*, 23:1019-1025.
- BROWN, M.P.; M.B. WERNER; R.J. SLOAN Y K.W. SIMPSON. 1985. Polychlorinated biphenyls in the Hudson River. *Environ Sci Technol*, 19: 656-661.
- CHATTERJEE, S., A.B. DUTTA Y R. GHOSH. 1997. Impact of carbofuran in the oocyte maturation of catfish, *Heteropenustes fossilis* (Bloch). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 32: 426-430.
- CLARO, D.P. 1999. Estudio físico-químico de la calidad del agua del Río Bogotá del año 1958 a 1993. Publicaciones "Fundación al Verde Vivo", Colombia.
- COLLIER, T; L. JOHNSON; C. STEHR; M. MYERS Y J. STEIN. 1998. A comprehensive assessment of the impacts of contaminants on fish from an urban waterway. *Mar Environ Res*, 46:243-247.

- COOK, J.A Y M.S. JOHNSON; 1996. Cadmium in small mammals. 377-389 p. En W.N. Beyer; G.H. Heinz y A.W. Redmon-Norwood (edit). Environmental Contaminants in Wildlife. CRC Press, Boca Raton.
- COOKE, B.K. Y A.J.N. STRINGER. 1982. Distribution and breakdown of DDT in orchard soil. Pesticide Sci., 13:545-551.
- DANE (BANDATOS). 1999. Importaciones por partidas arancelarias según países de origen.
- DAVID, B.V. Y L. SOMASUNDARAM. 1985. Synthetic pyrethroids – an evaluation of their potential effects on non-target organisms. Pesticides, 19:9-12.
- DAVIS, B.J; R.R. MARONPOT Y J.J. HEINDEL. 1994. Di(2-etilhexil) phthalate suppresses estradiol and ovulation in cycling rats. Toxicol. Appl. Pharmacol, 128:216-223.
- DELOLMO, M; A. GONZALEZ-CASADO; N.A. NAVAS Y J.L. VILCHEZ. 1997. Determination of bisphenol-A (BPA) in water by gas chromatography mass spectrometry. Analytica Chimica Acta, 346:87-92.
- DHAWAN, A Y K. KAUR. 1996. Toxic effects of synthetic pyrethroids on *Cyprinus carpio* Linn. Eggs. Bull Environ Contam Toxicol, 57:999-1002.
- DRAY, J.; F. TILLIER; F. DRAY Y A. ULLMANN. 1972. Hydrolysis of urinary steroid conjugates with *Escherichia coli* β -glucuronidase activity. Ann Inst Pasteur, 123:853-857.
- EISLER, R. 1991. Cyanide hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. US Fish and Wildlife Service Biol. Rep., 85 (1.23). 1-55.
- EISLER, R. 1998. Copper hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. USGS, Washington, D.C.
- EISLER, R; D.R. CLARK JR; S.N. WIEMEYER Y C.J. HENNY. 1999. Sodium cyanide hazards to fish and other wildlife from gold mining operations. 55-67 p. En: Azcue, J.M. (Ed.). Environmental impacts of mining activities: emphasis on mitigation and remedial measures. Springer-Verlag, Berlin.
- EXTOXNET (EXTENSIÓN TOXICOLOGY NETWORK), 1996. Atrazine. Pesticide Information Profiles ([http:// extoxnet.orst.edu/pips/atrazine](http://extoxnet.orst.edu/pips/atrazine)).
- GONGOLLI, S.D. 1982. Testicular effects of phthalate esters. Environ Health Perspect, 45:77-84.
- GREELEY, M.S. 2002. Reproductive indicators of environmental estres in fish. En: Marshall Adams, S. (Ed.). 321-377 p. Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Estres. American Fisheries Society, Bethesda (USA).
- HACON, S; E.R. ROCHEDO; R. CAMPOS; G. ROSALES Y L.D. LACERDA. 1997. Risk assessment of mercury in Alta Floresta, Amazon Basin, Brazil. Water Air Soil Pollut, 97:91-105.
- HAMILTON, S. J. 2004. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. Science Total Environ, 326:1-31.
- HANSSON, T. 1981. Effects of treated municipal waste water on the hepatic metabolism of 4-androstene-3,17-dione in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. En Pickering, A.D. (Ed.) *Estres and Fish*. Academic Press, New York. 339 p.
- HARRIES, J.E.; D.A. SHEAHAN; S. JOBLING; P. MATTHIESSEN; P. NEALL; P. SUMPTER; T. TYLOR Y N. ZAMAN. 1997. Estrogenic activity in five United Kingdom rivers detected by measurement of vitellogenesis in caged male trout. Environ. Toxicol. Chem., 16:534-542.
- HEATH, A.G. 1995. Reproduction. Water Pollution and Fish Physiology. CRC Press, Boca Raton, FA.
- IDLER, D.; Y. SO; G. FLETCHER Y J. PAYNE. 1995. Depression of blood levels of reproductive steroids and glucuronides in male Winter Flounder (*Pleuronectes americanus*) exposed to small quantities of Hibernia crude, used crankcase oil, oily drilling mud and harbour sediments in the four months prior to spawning in the late May-June. En: Goetz, F.W. y P. Thomas (Eds). Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. University of Texas. Austin, Texas. USA.
- KHAN, R. 1986. Effects of chronic exposure to petroleum hydrocarbons in two species of marine fish

- infected with a hemoprotozoan *Trypanosoma murmanensis*. *Can J Zool*, 65: 2703-2709.
- KIME, D.E. 1984. The effect of cadmium on steroidogenesis by testes of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Toxicol Lett*, 22:83.
- KRISHNAN, A.V.; P. STATHIS; S.F. PERMUTH Y L. TOKES. 1993. Bisphenol-A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinology*, 132:2279-2286.
- KUMAR, S. Y S.C. PANT. 1984. Comparative effects of sublethal poisoning of zinc, copper and lead on the gonads of the teleost *Puntius conchonus*. *Toxicol Lett*, 23:189-194.
- LAMBERT, J. Y P. JANSSEN. 1995. A long term study of the effect of polluted sediment on the annual reproductive cycle of the female flounder *Platichthys flesus*. En Goetz, F.W. y P. Thomas (Eds). *Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*. University of Texas. Austin, Texas. USA.
- LEIGHT, A.K. Y R.F. VAN DOLAH. 1999. Acute toxicity of the insecticides endosulfan, chlorpyrifos, and malathion to the epibenthic estuarine amphipod *Gammarus palustris* (Bousfield). *Environ. Toxicol. Chem.*, 18:958-964.
- LEMLY, A.D. 1985. Toxicology of selenium in a freshwater reservoir: implications for environmental hazard evaluation and safety. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 10:314-338.
- LESNIAK, J.A. Y S.M. RUBY. 1982. Histological and quantitative effects of sublethal cyanide exposure on oocyte development in rainbow trout. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 11:343-352.
- LOZANO, M.C.; J.F. GONZÁLEZ Y C.A. MORENO. 2003. Waterborne copper exposure in white cachama, *Piaractus brachipomus*, hematological and toxicological evaluation. *Rev. Asoc. Colomb. Ictiol.*, 6:99-105.
- MANI, K. Y P.K. SAXENA. 1985. Effect of safe concentrations of some pesticides on ovarian recrudescence in the freshwater murrel, *Channa punctatus* (Bl.): a quantitative study. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 9:241-249.
- MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE. 1998. Lineamientos de la política ambiental para el subsector de plaguicidas en Colombia. Bogotá, D.C.
- MOJICA, J.I.; G. GALVIS; R. RESTREPO Y R. GIRALDO. 1994. Evaluación del recurso pesquero en el área de influencia del Oleoducto Colombia. 19-32 p. En *Memorias Segundo Seminario Nacional de Limnología*. Medellín.
- NIIMI, A.J. 1996. PCBs in aquatic organisms. 311-152 p. En: Beyer, W.N.; G.H. Heinz. y A.W. Redmon-Norwood (Eds). *Environmental Contaminants in Wildlife*. CRC Press, Boca Raton.
- NIÑO, M.C. Y L. PANIZO. 1990. VII Seminario de Ciencias y Tecnologías del Mar, Comisión Colombiana de Oceanografía. Cali.
- OLIVERO, J.; V. NAVAS; A. PÉREZ; B. SOLANO; I. ACOSTA; E. ARGÜELLO Y R. SALAS. 1997. Mercury levels in muscle of some fish species from the Dique Channel, Colombia. *Bull Environ. Contam. Toxicol.*, 58:865-870.
- OLIVERO, J.; B. SOLANO E I. ACOSTA. 1998. Total mercury in muscle of fish from two marshes in goldfields, Colombia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 61:182-197.
- PEAKALL, D.B. 1975. Phthalate esters: occurrence and biological effects. *Res. Rev.*, 54(1).
- PHILLIPS, G.R. Y D.R. BUHLER. 1978. The relative contributions of methylmercury from food or water to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in a controlled laboratory environment. *Trans Am Fish Soc*, 107:853-861.
- POVLSEN, A.; B. KORSGAARD Y P. BJERREGAARD. 1990. The effects of cadmium on vitellogenin metabolism in estradiol-induced flounder (*Platichthys flesus*) males and females. *Aquatic Toxicol.*, 17:253-262.
- PURDOM, C.E.; P.A. HARDIMAN; V.J. BYE; N.C. ENO; C.R. TYLER Y J.P. SUMPTER. 1994. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chem Ecol*, 8:275-285.
- RAMÍREZ, A. Y G. VIÑA. 1998. Contaminación por hidrocarburos. *Limnología Colombiana*. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano y British Petroleum Company.

- RODGERS, D.W. 1994. You are what you eat and a little bit more: bioenergetics-based models of methylmercury accumulation in fish revisited. En: Watras, C.J. y J.W. Huckabee (Eds.) 427-439 p. Mercury pollution: integration and synthesis. Lewis Pub. Boca Raton, FA.
- ROJAS, Y.; K. BARBOSA. Y J.F.GONZÁLEZ. 2002. White cachama, *Piaractus brachypomus*, as a bioindicator of cadmium-polluted waters. Rev. Asoc. Colomb. Ictiol., 5:19-25.
- ROSENTHAL, H. Y D.F. ALDERDICE. 1976. Sublethal effects of environmental estresors, natural and pollutional on marine fish eggs and larvae. J. Fish. Res. Bd., Can., 33:2047.
- ROUTLEDGE, E.J.; D. SHEAHAN; C. DESBROW; G.C. BRIGHTY; M. WALDOCK. Y J.P.SUMPTER 1998. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. II. In vivo responses in trout and roach. Environ. Sci. Technol., 32:1549-1558.
- ROUTLEDGE, E.J. Y J.P. SUMPTER. 1996. Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. Environ. Toxicol. Chem., 15:241-248.
- RUBY, S.M.; D.R. IDLER Y Y.P. SO. 1986. The effect of sublethal cyanide exposure on plasma vitellogenin levels in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) during early vitellogenesis. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 15:603-607.
- RUBY, S.; P. JAROSLAWSKI Y R. HULL. 1993A. Lead and cyanide toxicity in sexually maturing rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, during spermatogenesis. Aquatic. Toxicol., 26:225-238.
- RUBY, S.; D. IDLER. E Y. SO. 1993B. Plasma vitellogenin, 17 β -estradiol, T3 and T4 levels in sexually maturing rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* following sublethal HCN exposure. Aquatic Toxicol., 26:91-101.
- RUIZ, J. 1994. Pasado y presente del Río Magdalena. Fundación del Río Magdalena (Centro de Investigación y Educación). Departamento del Tolima.
- SANGALANG, G.B. Y H.C. FREEMAN. 1974. Effects of sublethal cadmium on maturation and testosterone and 11-ketotestosterone production *in vivo* in brook trout. Biol Reprod, 11:429-435.
- SCOTT, G.R. Y K.A. SLOMAN. 2004. The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. Aquatic Toxicology, 68: 369-392.
- SPANÒ, L.; C.R. TYLER; R. VAN AERLE; P. DEVOS; S.N.M. MANDIKI; F. SILVESTRE; J.P. THOMÈ. Y P. KESTERMONT. 2004. Effects of atrazine on sex steroid dynamics, plasma vitellogenin concentration and gonad development in adult goldfish. Aquatic Toxicol, 66:369-379.
- THOMAS, P. 1988. Reproductive endocrine function in female Atlantic croaker exposed to pollutants. Mar. Environ. Res., 24:179-183.
- TILTON, S.C.; C.M. FORAN. Y W.H. BENSON. 2003. Effects of cadmium on the reproductive axis of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Comp. Biochem. Physiol. C, 136: 265-276.
- TODD, N.E. Y M. VAN LEEUWEN. 2002. Effects of sevin (carbaryl insecticide) on early life stages of zebrafish (*Danio rerio*). Ecotoxicol Environ. Saf., 53:267-272.
- TYLER, C.R.; S. JOBLING. Y J.P. SUMPTER. 1998. Endocrine disruption in wildlife: a critical review of the evidence. Critical Rev. Toxicol., 28:319-361.
- US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). 1980. Ambient water quality criteria for cyanides. US Environmental Protection Agency Rep 440/5-80-037. pp. 1-72.
- VALENTINE, W.M. 1990. Pyrethrin and pyrethroid insecticides. Vet Clin North Am, 20: 375-382.
- VIÑA, G.; E. SÁNCHEZ-TRIANA. YE. URIBE. 1992. Impacto de los derrames de petróleo en Colombia. Revista de Planeación y Desarrollo, 23:291-313.
- WEIS, P. Y J.S. WEIS. 1983. Effects of embryonic pre-exposure to methylmercury and Hg²⁺ on larval tolerance in *Fundulus heteroclitus*. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 31: 530-534.
- WIENER, J.G. Y D.J. SPRY. 1996. Toxicological significance of mercury in freshwater fish. 297-339 p. En: Beyer, W.N.; G.H. Heinz. y A.W. Redmon-Norwood (Eds.). Environmental Contaminants in Wildlife. CRC Press, Boca Raton.

IMPORTANCIA DE LA NUTRICIÓN EN LA REPRODUCCIÓN DE PECES TELEÓSTEOS

Gustavo Álvaro Wills Franco¹ y Adriana Patricia Muñoz Ramírez²

Introducción

En el presente capítulo se pretende revisar las principales relaciones existentes entre nutrición y reproducción de peces, detallando aspectos determinantes que presentan los nutrientes y la energía en esta fundamental etapa del desarrollo animal.

Las exigencias nutricionales de peces deben ser consideradas en todas las etapas de desarrollo incluyendo larva, alevino, crecimiento y reproducción. Las diferencias entre las exigencias nutricionales de peces en estas diferentes etapas es ampliamente reconocida pero debe ser estudiada con más detalle (Lall, 1991).

Moyano y Alarcón (1997) afirman que, a diferencia de lo que ocurre en animales terrestres, no hay estudios concluyentes que permitan extraer información práctica relacionada con aspectos particulares de la nutrición de reproductores en peces. Los autores señalan que, al parecer, los niveles proteicos óptimos son los mismos que para la fase de crecimiento y la relación proteína/energía debe ser la adecuada para evitar un engrasamiento excesivo. En algunas especies se ha demostrado un efecto positivo de las vitaminas sobre la calidad del desove.

Boulekbache (1981) ha reportado que las exigencias energéticas de los peces aumentan durante la ovogénesis, principalmente durante la etapa de vitelo-

¹ Zootecnista, M.Sc. Profesor Universidad Nacional de Colombia, Nutricionista - DSM Nutritional Products Colombia S. A. gawillsf@unal.edu.co

² Zootecnista, M.Sc., Ph.D. Profesora Universidad Nacional de Colombia. apmunozr@unal.edu.co

génesis exógena, ya que durante esta etapa cantidades considerables de lípidos, proteína y glicógeno sintetizados por el hígado a partir de fuentes externas (dieta) y de fuentes internas (tejidos y reservas somáticas), son almacenadas en los ovocitos.

Como parte de las estrategias de crecimiento, los peces muestran un fenómeno llamado “crecimiento compensatorio”. Los peces pueden crecer más que lo esperado después de un periodo de ayuno, compensando la disminución de crecimiento o crecimiento negativo y rápidamente alcanzando el crecimiento de peces que han crecido continuamente. El ciclo de vida de muchas especies incluye extensas migraciones, las cuales aunque son metabólicamente costosas, afectando así el crecimiento, pueden encontrar nuevas fuentes de alimento o llevar a los peces a áreas mejor ubicadas para el rápido crecimiento de las futuras generaciones, más que maximizar la producción de la generación parental (Mommson, 1998).

Es bien conocido que una nutrición apropiada es uno de los factores más importantes que influyen la habilidad para alcanzar el potencial genético para crecimiento, reproducción y longevidad. El éxito de la alimentación depende del objetivo de producción, el cual, a su vez, está determinado por el potencial genético de los peces cultivados, fuentes de alimento y factores medioambientales (Lall, 1991).

Las exigencias nutricionales para cualquier especie animal pueden ser definidas usando varios criterios y la exigencia para un determinado nutriente puede variar con el criterio utilizado. Crecimien-

to, reproducción, patrones de comportamiento, almacenamiento de nutrientes, actividad enzimática y apariencia general e histológica de tejidos y su contenido de ácidos nucleicos y proteínas son los principales criterios usados para alcanzar el nivel nutricional óptimo de las dietas (Lall, 1991).

Para determinar el nivel de nutrientes para la formulación final deben ser considerados los siguientes factores: especie, línea y etapa de desarrollo, salud de los peces, disponibilidad de nutrientes y composición variable de los ingredientes, temperatura del agua y condiciones medioambientales, mudas, toxinas o inhibidores de los ingredientes, mezcla y procesamiento de ingredientes o dietas, duración y tipo de almacenamiento, método de alimentación y tiempo proyectado para venta (Lall, 1991).

Según Moyano y Alarcón (1997) las gónadas en un pez pueden representar hasta un 30-40% de su peso (lo que sería equivalente a un aparato reproductor de 45 kg en una cerda o de 200 kg en una vaca). Los autores recuerdan que es importante considerar este extraordinario desarrollo para definir estrategias de alimentación de reproductores, porque las demandas nutricionales en las hembras son muy elevadas.

Los peces poseen sustancias de reserva almacenadas en los tejidos, como estrategia para tener una fuente de nutrientes disponible para el desarrollo de las gónadas al entrar en la etapa de migración, ayuno y maduración final (Ridelman *et al.*, 1984).

La fluctuación de la disponibilidad de alimento en el medio ambiente es un factor determinante

para la frecuencia de reproducción en peces tropicales. Lo anterior toma aún más importancia a la hora de definir estrategias alimenticias de un lote de reproductores en cautiverio, con lo cual se podría aumentar la frecuencia de desoves en un determinado periodo. Según Vásquez y Zacarías (1996a), la cachama blanca *Piaractus brachyomus* presenta ovocitos primarios durante todo el ciclo de maduración gonadal, inclusive en ovarios maduros, sugiriendo que aparentemente la cachama tiene capacidad para realizar más de una postura al año, ya que inmediatamente después de un desove normal, dependiendo de lo favorable de las condiciones ambientales, los reproductores pueden reclutar huevos del lote de reserva e iniciar una nueva etapa de crecimiento secundario y de reproducirse nuevamente unas pocas semanas más tarde.

Davis y Dinos (2002) sugieren que la calidad, el balance y los componentes de las dietas de los reproductores son algunos de los factores críticos que afectan la frecuencia y tiempo de duración del desove, las reservas en el huevo y en las etapas de desarrollo temprano larval y por lo tanto la calidad de estas, debido a la transferencia de nutrientes a los huevos y a la proporción de las reservas acumuladas. Se han reportado problemas con las ovas y con la calidad larval de dos especies marinas (*Pargos major* y *Sparus aurata*), generados por bajos niveles de ácidos grasos poliinsaturados, fosfolípidos, astaxantina y carotenoides en la dieta de los reproductores.

Zaniboni-Filho y Nuñez (2004) reportan que la calidad y la cantidad del alimento del reproductor puede generar problemas reproductivos al inducir

la reabsorción de ovocitos vitelogénicos, afectando la vitelogénesis generando por lo tanto menor número de ovocitos maduros influyendo directamente sobre la fertilidad.

Se debe considerar la alimentación de los reproductores teniendo en cuenta tres puntos fundamentales: a) alimentación diferenciada por sexo; b) preparación al desarrollo, madurez y vitelogénesis gonadal, cuya duración puede variar entre especies (de semanas a meses); c) preparación para el desove (manejo alimenticio). Aunque hay poca información disponible sobre la nutrición de reproductores de especies nativas de agua dulce, serán discutidos trabajos realizados con otras especies. Un punto fundamental en la formulación de dietas para reproductores en cautiverio es que deben ser específicas para cada especie, teniendo en cuenta sus hábitos alimenticios en condiciones naturales.

Nutrientes

Proteína

La proteína es un nutriente esencial para el crecimiento de los peces y junto con los lípidos es uno de los componentes principales de la ova. La proteína se encuentra en el huevo en forma de lipoproteínas, hormonas y enzimas. Sin embargo, la información encontrada sobre requerimientos de proteína en dietas de reproductores es contradictoria siendo inferior a la determinada para crecimiento.

Existen niveles mínimos y máximos críticos que afectan parámetros reproductivos como fecundidad relativa (número de ovas/kg peso vivo), que fue disminuida en *Labeo rohita* alimenta-

dos con 20% de proteína, así como con dietas de 35 y 30% de proteína, siendo el 25% el resultado significativamente superior y por ello lo recomiendan. Las dietas bajas en proteína también afectaron los porcentajes de fertilidad e incubabilidad (Khan *et al.*, 2005). Gunasekera *et al.* (1996) trabajando con reproductores de *O. niloticus* con dietas de 10% de proteína encontraron producción de un alto número de ovas, pero infértiles. Al aumentar los niveles de proteína en la dieta al 20 ó 35% se incrementó la fertilidad (0, 79 y 83%) e incubabilidad de los huevos (0, 42 y 69%). Adicionalmente el nivel de 20% de proteína fue asociado a un alto porcentaje de larvas deformes (8%). De manera similar Manisseri *et al.* (2001) reportaron para *Cyprinus carpio* que la máxima fertilidad se consiguió con 35% de proteína, teniéndose una disminución importante al aumentar la proteína al 45%. Sin embargo, Siddiqui *et al.* (1998) evaluando el efecto de cinco niveles de proteína en tilapia nilótica (25 a 45%) encontraron que con el mayor nivel aumentó la frecuencia de desoves comparada con las de menor nivel. No hubo diferencias en el número de huevo por desove ni por peso vivo. Los autores concluyen

que las informaciones disponibles sobre nutrición proteica de reproductores de tilapia es inconsistente.

En contraste con los resultados encontrados para otras especies, Chong *et al.* (2004) trabajando con el pez ornamental *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae), encontraron incrementos directamente proporcionales a los niveles de proteína bruta (20 a 60%) en fertilidad, fecundidad relativa y producción de larvas, siendo mejor la dieta con 60% de proteína bruta.

No solamente los niveles de proteína y balance de aminoácidos son importantes en la alimentación de reproductores, sino la fuente proteica. Pereira *et al.* (1998) alimentaron durante 12 meses hembras de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* con dietas isoproteicas de origen animal (R1) o vegetal (R2 y R3), encontrando efecto significativo de la fuente proteica utilizada en fecundidad total y composición de la ova en aminoácidos. La fuente de origen animal generó picos plasmáticos de 17- β -estradiol y de vitelogenina mayores a los de los grupos vegetales, afectando favorablemente los parámetros reproductivos (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros reproductivos de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* alimentadas con dietas con diferentes fuentes de proteína (Pereira *et al.*, 1998).

Variable	R1	R2	R3
Hembras desovadas (%)	63a	40b	33b
Fecundidad total (número de ovas/hembra)	2723±1021a	1866±545b	1883±759b
Peso medio de ovas/hembra (g)	190±79a	123±43b	130±50b
Incubabilidad (%)	75a	78a	75a

Promedios en las filas seguidos de diferentes letras son significativamente diferentes (P<0,05).

La relación energía: proteína (kcal de energía/g de proteína) para reproductores de *Colossoma macropomum* y *Piaractus brachypomus* fue estudiada por Lochmann (2001), sugiriendo una relación de 8.7, debido a los mayores requerimientos de energía por los reproductores para mantenimiento y producción de gametos. Además fue sugerido el uso de 1% de lecitina de soya para mejorar la digestión y transporte de lípidos.

La alimentación de la cachama en el ambiente natural está constituida especialmente por frutas, semillas y hojas, lo que indica que este tipo de alimento de bajo contenido proteico y alto de carbohidratos, satisface sus exigencias nutricionales para crecimiento así como para reproducción (Arias-Castellanos y Vásquez, 1988). El efecto de tres dietas con niveles crecientes de proteína bruta (%) y energía digestible (Kcal/kg) (25.4 y 2605; 32.8 y 3415; 38.2 y 3828, respectivamente) en reproductoras de cachama blanca *Piaractus brachypomus* fue estudiado por Vásquez y Zacarías (1996b). Los autores no encontraron diferencias en la apariencia histomofológica del ovario, pero encontraron que las hembras del tratamiento con 25.4% de PB y 2605 Kcal/kg (41.7% carbohidratos) produjeron huevos con diámetro significativamente mayor (parámetro relacionado con mayor porcentaje de eclosión, sobrevivencia y tamaño larval) en un tiempo menor, indicando que la cachama no necesita elevados niveles de PB y ED en la dieta para obtener un buen crecimiento y reproducción. Las observaciones de dos ciclos consecutivos de maduración del ovario en dos hembras, confirmaron que la cachama puede madurar sus gónadas y ser reproducida artificialmente más de una vez al año.

Lípidos

Diversos estudios han demostrado que la cantidad de lípidos y el perfil de ácidos grasos de las dietas de los reproductores tienen gran influencia sobre los niveles hormonales de los padrotes, calidad y composición de ovas y semen, fertilidad, incubabilidad, desarrollo embrionario y sobrevivencia larval. También ha sido demostrada la importancia de los ácidos grasos como precursores de eicosanoides y su importancia como mensajeros paracrinos y con funciones sobre el sistema inmune.

En las dietas para peces tropicales las fuentes de ácidos grasos provienen en parte de los lípidos encontrados en la harina de pescado (n-3) y en otros ingredientes de origen vegetal (n-6). Ambos tipos de ácidos grasos, n-3 y n-6 son necesarios para la reproducción, pero las proporciones requeridas por los reproductores pueden variar según la especie. Araújo-Lima y Goulding (1997) reportan que ovas salvajes de peces de agua dulce del género *Colossoma* contienen niveles mayores de ácidos grasos n-3 que las ovas obtenidas en cautiverio. Lochmann (2001) recomienda la utilización de 1% de aceite de pescado en las dietas para reproductores de *Colossoma macropomum* y *Piaractus brachypomus*.

La composición de ácidos grasos de las ovas y el semen tiene relación directa con la composición de estos ácidos en la dieta como fue demostrado por Verakunpiriya *et al.*, 1996 (Tabla 2).

En varias especies, los ácidos grasos insaturados promueven el aumento de la fecundidad, fertiliza-

Tabla 2. Efecto de las dietas de los reproductores en las clases de lípidos en semen y ovas de “yellowtail” (Verakunpiriya et al., 1996).

	Semen		Ovas	
	Pescado crudo	Pellet seco	Pescado crudo	Pellet seco
Lípidos no polares*				
Ésteres de esteroles	26.0	15.0	55.8	48.4
Triglicéridos	0.9	33.0	10.1	30.8
Ácidos grasos libres	22.0	7.0	13.3	1.5
Lípidos polares*				
Fosfatidil etalonamina	20.6	11.2	6.9	0.7
Fosfatidil colina	20.7	27.9	8.1	10.2
Lisofosfatidil colina	-	-	1.1	5.2

* % del total de lípidos

ción, incubabilidad y calidad de la ova (Izquierdo *et al.*, 2001). Diferentes tipos de ácidos grasos poliinsaturados han sido reportados como esenciales (AGE) en las dietas de reproductores, como ácido docosahexaenoico (DHA), ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido araquidónico (AA) por sus funciones específicas como son: EPA y AA están involucrados en funciones mediadas por células y precursores de eicosanoides; EPA es conocido por ser un precursor de prostanglandinas de la serie 3, mientras AA es precursor de prostanglandinas de la serie 2 (estimula la producción testicular de testosterona); a su vez EPA y DHA bloquean la función esteroideogénica del AA y la prostanglandina E2. Las prostanglandinas son reconocidas como importantes feromonas en algunos peces teleósteos. El DHA se encuentra presente durante

la embriogénesis siendo muy importante para el desarrollo del embrión y la larva y puede jugar un papel importante con los otros ácidos grasos en la regulación de prostanglandinas, que van a afectar la producción de hormonas esteroideas y desarrollo gonadal, así como la ovulación. Los ovarios de los peces tienen una alta capacidad para generar eicosanoides, entre ellos prostanglandina E y leucotrienos LTB4 y LTB5 los cuales pueden posiblemente tener un efecto sobre la maduración del ovocito (Izquierdo *et al.*, 2001).

Ha sido reportado que altos niveles de n-3 pueden afectar el eje endocrino cerebro-pituitaria-gónada reportándose que EPA y DHA *in vitro* pueden reducir la acción esteroideogénica en el ovario de peces teleósteos (Mercure y Van Der Kraak, 1995).

Se ha observado que excesos de n-3 en dietas para reproductores mayores de 2% causaron hipertrofia del saco vitelino y disminuyeron la tasa de sobrevivencia de larvas de *Sparus aurata*, lo que fue asociado al posible incremento a las necesidades de antioxidantes, por lo que un incremento de 125 a 190 mg de vitamina E /kg previno la mortalidad y la hipertrofia del saco vitelino (Fernández *et al.*, 1998).

En la formulación de dietas para lotes de reproductores se debe tomar especial cuidado con la calidad, cantidad y proporción de ácidos grasos, así como prevenir el enranciamiento de las grasas adicionadas, mediante el uso de productos antioxidantes como tocoferol, BHA, BHT, propilgalato y mezclas de ellos. Adicionalmente, se sugiere tener en cuenta incrementar 3 mg de vitamina E por cada 1% de ácidos grasos poliinsaturados, al valor base formulado de vitamina E de la dieta.

Vitaminas

Aunque existen numerosos estudios sobre los requerimientos de vitaminas en dietas para crecimiento de diferentes especies de peces, la mayoría de estos han sido orientados hacia el uso de vitaminas con funciones antioxidantes como la C, E y menor grado la A. En general existe poca información disponible sobre los requerimientos de las vitaminas para peces en época reproductiva.

De las vitaminas del grupo del complejo B para reproducción, la tiamina (vitamina B1), ha sido reportada por afectar la sobrevivencia embrionaria y de las larvas de peces. En salmón del Bálti-

co *Salmo salar* se ha reportado la presencia de un síndrome (M74) que ocasiona un gran problema reproductivo y mortalidad de larvas con saco vitelino. Las causas de estos problemas se han asociado a problemas de contaminación antropogénica. Se ha reportado respuesta positiva a la utilización de tiamina inyectada a los reproductores o aspersión de las larvas con soluciones de tiamina. Las inyecciones de tiamina revirtieron el problema reproductivo y disminuyeron la mortalidad larvaria (Lundstrom *et al.*, 1999). En el lago Ontario se presentó un problema similar en reproductores de salmón del Atlántico, el cual fue asociado a una alta presencia del pez forrajero *Alosa pseudoharengus* que es rico en tiaminasas. Fue sugerido que inyecciones de tiamina disminuyeron la mortalidad y mejoraron el desempeño reproductivo (Ketola *et al.*, 2000).

El efecto de la vitamina A en reproductores de peces no es muy conocido. Se ha recomendado la realización de trabajos sobre su suplementación para relacionarlos con parámetros reproductivos y viabilidad de larvas (Verakunpiriya, 1996). Furuita *et al.* (2001) utilizando dosis de vitamina A 30 veces superiores a las normalmente utilizadas durante dos meses en reproductores de “flounder” japonés *Paralichthys olivaceus* encontraron mayor número de huevos viables e incurables y menos anomalías en las larvas, además de altos contenidos de vitamina A en las ovas sin afectar su calidad. Las altas concentraciones de vitamina A encontradas en las ovas fueron similares a las normalmente encontradas en ovas salvajes.

La vitamina E tiene un efecto significativo sobre el desarrollo de las gónadas, encontrándose en altas

cantidades al inicio de la vitelogénesis, protegiendo los ácidos grasos esenciales que se encuentran en los oocitos. La composición de vitamina E de las ovas y el semen tiene relación directa con la disponibilidad de esta vitamina en la dieta (Verakunpiriya *et al.*, 1996). El papel de la vitamina E como antioxidante juega un papel importante en la reproducción de los peces porque ayuda a la permeabilidad de la membrana embrionaria y al fortalecimiento de la ova. Ha sido observado que en *Sparus aurata*, 125 mg/kg de vitamina E tiene efecto sobre la fecundidad, aumentó la fertilidad del número total de ovas/hembra y viabilidad de los huevos. Esta vitamina juega un papel importante en la reproducción de salmónidos y tiene un papel importante en esteroidogénesis y vitelogénesis. La función de la vitamina E intercelular e intracelular como antioxidante para mantenimiento de la homeostasis de algunos metabolitos en la célula y en el tejido plasmático es conocido, reduciendo las malformaciones congénitas y embrionarias.

Durante la vitelogénesis en *Salmo salar* los niveles de α -tocoferol en músculo disminuyen a medida que los niveles en el ovario se incrementan (Lie *et al.*, 1994). Un requerimiento de vitamina E (190 vs. 90 mg/kg) fue sugerido para “mollet” *Mugil cephalus* para un óptimo desarrollo ovárico y niveles de α -tocoferol (Fung-Shyu y Sun-Pan, 1993).

Lochmann (2001) sugiere 100 mg/kg adicionales de vitamina E en la dieta de reproductores de cachamas, niveles muy superiores a los recomendados por el NRC (1993) para crecimiento y mantenimiento.

Entre las principales funciones de la vitamina C, están: ser cofactor de biosíntesis de colágeno, biosíntesis de hormonas esteroidales y peptídicas y prevención o reducción de la oxidación de biomoléculas. Altos niveles de vitamina C disminuyen el daño en las células germinales de macho, disminuyendo los embriones anormales. El ácido ascórbico juega un papel importante en la proliferación celular y en la expresión génica (Ciereszko *et al.*, 1999).

Los niveles de ácido ascórbico en las ovas aumentan a medida que se incrementa el nivel de ácido ascórbico en la dieta de 0 a 360 mg/kg, aumentando la fecundidad y sobrevivencia de los embriones de trucha arco iris. La importancia del ascorbato en mantener la integridad del DNA en la ova en peces es relevante, ya que disminuye la calidad de los huevos frecuentemente en hembras adultas. En machos la concentración de ascorbato en el plasma seminal está directamente asociada con los niveles de vitamina C en los reproductores (Fig. 1). Se puede presentar disminución en la concentración de esperma, el total de esperma y motilidad cuando se reduce la vitamina C. El número normal de embriones se aumentó al aumentar la concentración de ascorbato en el plasma seminal. La función antioxidante del ascorbato en la gametogénesis de los peces teleósteos es crítica para la habilidad de fertilizar la esperma y la ova, específicamente para la integridad genética de los gametos. Peces con desove anual o con múltiples desoves tienen diferencias en la deposición, transporte y uso de la vitamina C, por lo cual se hace necesaria la realización de más trabajos evaluando la utilización de vitamina C en dietas para reproductores (Dabrowski y Ciereszko, 2001).

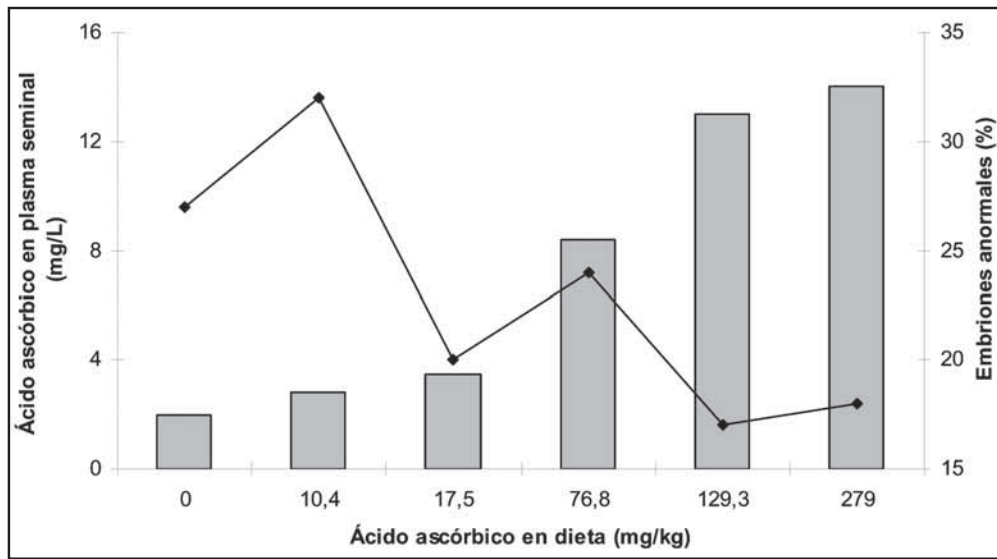


Figura 1. Efecto de la suplementación de ácido ascórbico en concentración de plasma seminal y porcentaje de embriones anormales de trucha arco iris (Ciereszko *et al.*, 1999).

Gabaundan y Verljac (2001) recomiendan niveles de 130 a 270 mg de ácido ascórbico/kg para aumentar la concentración de vitamina C seminal y sus efectos benéficos, siendo estos niveles muy superiores a los 40 mg/kg para crecimiento recomendados por el NRC (1993). Los autores encontraron que la vitamina C aumenta la síntesis hormonal en tejidos endocrinos (17-β-estradiol y vitelogenina) aumentando la masa de la ova, fecundidad y sobrevivencia de los embriones.

En dietas para reproductoras de cachamas, Lochmann (2001) recomienda 500 mg/kg de vitamina C de forma estabilizada (monofosfato de ascorbilo). El contenido de vitamina C en los huevos de trucha arco iris reflejó el contenido del nutriente en la dieta y aumentó la calidad de las ovas, además juega un papel importante en esteroidogénesis y vitelogénesis (Sadnes *et al.*, 1984). La vitamina C es necesaria para la síntesis del colágeno durante el desarrollo embrionario. En trucha arco iris el

requerimiento de vitamina C para reproductores fue 8 veces mayor que para juveniles (Izquierdo *et al.*, 2001).

Reproductores de milkfish, *Chanos chanos*, suplementados con vitamina C durante 3 años (1.000 mg/kg) produjeron mayores desoves con mayor fecundidad, incubabilidad y sobrevivencia de embriones (Emata *et al.*, 2000).

Dependiendo de la forma de la vitamina C, los niveles reportados en la literatura muestran grandes variaciones, desde 250 mg en forma de monofosfato de ascorbilo, hasta 2 kg de vitamina C recubierta con etilcelulosa.

Existe una interacción entre el ácido ascórbico, los carotenoides y vitamina E en la fisiología reproductiva del pez, siendo de gran importancia para aumentar la calidad de los gametos (Dabrowski y Ciereszko, 2001).

Funciones de los carotenoides

En ensayos realizados por Harris (1984) y Coubert *et al.* (1998) sobre el efecto en la fecundidad de los peces, suplementados con carotenoides (astaxantina o cantaxantina), no fueron encontrados efectos significativos sobre la fecundidad de la trucha arco iris (*Onchorhynchus mykiss*) y/o el salmón del Atlántico (*Salmo salar*). Sin embargo Goswami (1988), citado por Torrissen y Christiansen (1995), reportó atrofia de gónadas con daño en el epitelio germinal del pez de agua dulce *Heteropneustes fossilis* alimentado con una dieta libre de carotenoides.

Hartmann *et al.* (1947), citados por Christiansen (1996), reportan que la astaxantina tiene una función de hormona fertilizante por medio de la estimulación y atracción del espermatozoide.

Los salmónidos absorben y depositan astaxantina y cantaxantina en el músculo durante el periodo de crecimiento. Al momento de la maduración sexual, movilizan la reserva de carotenoides y transportan la astaxantina o cantaxantina acumuladas a través de lipoproteínas de muy alta densidad (VHDL) (vitelogenina) o lipoproteínas de alta densidad (HDL) hasta los ovarios y finalmente a la progenie. Esta transferencia activa de los carotenoides desde la hembra hasta sus ovas ha llevado a la hipótesis de que los carotenoides son vitales para el desarrollo de huevos y larvas (Negre-Sadargues *et al.*, 1993). Torrissen y Christiansen (1994) sugieren que hay una creencia generalizada entre los productores de peces, de que ovas altamente pigmentadas son de superior calidad y presentan menos mortalidad durante los estados de huevo y larva comparados con bajos contenidos de carotenoides. Esto es con-

firmado por Longinova (1977), quien reportó una alta sobrevivencia en ovas pigmentadas de trucha arco iris (*Onchorhynchus mykiss*) comparados con huevos pálidos.

Al evaluar el efecto de la astaxantina sobre la calidad de los huevos, suministrando una dieta con 100 mg de astaxantina/kg alimento y otra sin astaxantina, a reproductores del salmón del Atlántico (*Salmo salar* L.), Christiansen y Torrissen (1997) no encontraron ningún efecto sobre la fertilización ni en la sobrevivencia durante las etapas desove-incubación-eclosión-nado libre de larvas.

El nivel óptimo de astaxantina en dietas de yellow tail sugerido por Verakunpiriya *et al.* (1997) fue de 30 mg/kg de dieta, mejorando el número total de huevos, la calidad de los huevos y el número final de larvas normales.

Los efectos positivos de la astaxantina, como un suplemento para dietas comerciales de iniciación del salmón del Atlántico son confirmados por Christiansen y Torrissen (1997) y por Meyers (1994 y 1993). Este último menciona cómo las larvas y alevinos provenientes de reproductores privados del consumo de carotenoides en las dietas han presentado bajas tasas de sobrevivencia, hasta un 15% menos comparadas con progenies de reproductores que recibieron dietas suplementadas.

En la tilapia roja (*Oreochromis niloticus*), un mejoramiento en el crecimiento de alevinos alimentados con dietas que contenían carotenoides provenientes de harina de cabeza de camarón (astaxantina presente en mayor porcentaje) fue observado, respecto a los que fueron alimentados con *Spirulina*, harina de pétalos de caléndula, cúrcuma y control; la

tasa de sobrevivencia fue esencialmente igual para todos los tratamientos y no se encontraron diferencias significativas con respecto a la dieta control (Boonyaratpalin y Unprasert, 1989).

Un estudio sobre los requerimientos de astaxantina en el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) fue realizado con alevinos de 0.23 g, alimentándolos con dietas suplementadas con astaxantina en rangos de 0 a aproximadamente 320 mg/kg. El crecimiento específico (SPG) y la tasa de eficiencia de proteína (PER) expresaron bajos valores para dietas suplementadas con astaxantina entre 0.7 a 5.3 mg/kg. La tasa de sobrevivencia mostró un patrón similar, y se niveló en más de 90% para peces alimentados en dosis mayores de 5.3 mg de astaxantina por kg. La composición de los peces deficientes estuvo caracterizada por un bajo contenido de grasa. El máximo contenido de grasa fue encontrado en peces alimentados con más de 13.9 mg de astaxantina por kg y más. Basados en este estudio se recomendó que todas las dietas para salmones juveniles deben contener un mínimo nivel de 5.1 mg de astaxantina/kg de alimento para cubrir los requerimientos para crecimiento y sobrevivencia (Christiansen *et al.*, 1995).

Otros carotenoides como B-carotenos son importantes para la viabilidad de las ovas y son prevalentes en dietas naturales de las cachamas. Lochmann (2001) sugiere suplementación con carotenoides en dietas de reproductores para mejorar el desove en estos peces.

Minerales y otros nutrientes

Existe otra serie de nutrientes que pueden estar afectando directa o indirectamente el desempe-

ño reproductivo de peces, entre los cuales están, macro y microminerales, L-carnitina, fosfolípidos, triptófano, entre otros. Se requieren estudios adicionales sobre la utilización de estos nutrientes en dietas para reproductores de peces, pues las informaciones encontradas en la literatura no son concluyentes.

Manejo alimenticio

Son escasos los trabajos realizados sobre la influencia que el manejo alimenticio tiene sobre los parámetros reproductivos de los peces. Entre las principales estrategias alimenticias posibles de ser aplicadas están la manipulación de la frecuencia de alimentación, con restricciones diarias o semanales de suministro de alimento, lo cual puede tener importantes resultados al disminuir los costos de alimentación. Estas estrategias de alimentación dependerán de la especie, del ciclo reproductivo específico, del género, de la intensidad y duración del esquema de restricción.

Estudiando la restricción moderada y alterna de alimento sobre el desarrollo gonadal de machos y hembras de matrinxá *Brycon cephalus*, Carvalho (2001) encontró que las estrategias de alimentación evaluadas (a saciedad o 3 días de alimentación y 2 de restricción) no afectaron el desarrollo gonadal, etapas de maduración ni los niveles de testosterona durante el ciclo anual reproductivo. Los resultados sugirieron que la restricción alternada de alimento (40% de restricción) durante el ciclo anual pueden generar beneficios económicos en el cultivo de reproductores de matrinxá.

Arias-Castellanos (2002) encontró que la reducción en 50% en el suministro de alimento para

reproductores de yamú *Brycon siebenthalae*, durante los tres meses anteriores al periodo reproductivo generó mayor efectividad del tratamiento hormonal y producción de ovas de mayor tamaño, sin afectar la tasa de fertilización y de eclosión en los desoves de las hembras con restricción alimenticia, cuando comparadas con el grupo de hembras no restringidas (3% biomasa/día). De manera similar Camargo *et al.* (2002) encontraron mejores crecimientos en larvas de matrinxá *Brycon cephalus* (15 días de cultivo) provenientes de hembras que tuvieron restricción alimenticia antes del periodo de desove.

Es de uso frecuente el suministro de la misma dieta para machos y hembras, pero ha sido demostrado que el desarrollo de la progenie no solamente depende de la calidad de la ova, sino que hay una importante participación de la dieta en la calidad del esperma (Gunasekera *et al.*, 1996) lo que puede sugerir que se debe prestar especial atención en la alimentación diferenciada de machos y hembras.

Estudios realizados con salmón del Atlántico han demostrado que las hembras son más sensibles a las restricciones alimenticias que los machos, lo que ha sido atribuido a la gran demanda energética de la maduración ovárica (Duston y Saunders, 1999). Sanabria (2002) evaluó la restricción alimenticia moderada y alternada (3 días de alimentación y 2 días de restricción) en machos de matrinxá *Brycon cephalus*, durante 3 u 8 meses previos al periodo de reproducción, encontrando que la restricción no perjudicó el desarrollo gonadal, características seminales ni los parámetros reproductivos de los machos, o el crecimiento ini-

cial de la progenie. Fue sugerido que la restricción alimenticia puede ser utilizada en el cultivo de esta especie, con menores costos de producción, sin perjuicios biológicos.

En condiciones de restricción alimenticia algunas especies parecen establecer límites de las reservas energéticas necesarias para mantener el crecimiento y desarrollo gonadal. Carvalho (2001) recomienda que la estrategia alimenticia utilizada debe considerar que el límite energético no sea sobrepasado, preservando la habilidad de recuperación metabólica y hormonal después de la restricción. Según Weatherley y Gill (1987) la habilidad de los peces para utilizar mecanismos compensatorios en época de reproducción parece haber sido desarrollada como respuesta a las oscilaciones en condiciones naturales, incluyendo la abundancia de alimento.

Es importante resaltar que la mayoría de información disponible está en estudios realizados en especies marinas, las cuales tienen hábitos, comportamiento y estacionalidad reproductiva diferentes a las especies de aguas cálidas tropicales, por lo que se requiere generar información en nuestras condiciones.

Gran parte de las mortalidades larvares reportadas en los cultivos comerciales de peces en Colombia pueden estar asociadas a desbalances nutricionales en la alimentación de los reproductores. Al formular dietas para reproductores de peces tropicales se debe tener en cuenta la disponibilidad, estacionalidad y acumulación de nutrientes en el medio natural previa a la época de reproducción.

BIBLIOGRAFÍA

- ARAÚJO-LIMA, C. Y M. GOULDING. 1997. So Fruitful a Fish: Ecology, Conservation and Aquaculture of the Amazon's Tambaqui. Columbia University Press, New York. 191 p.
- ARIAS-CASTELLANOS, J.A. 2002. Biología reproductiva en cautiverio del yamú *Brycon siebenthalae* (Pisces: Characidae). Tesis (Doctorado) - Universidad del Valle. Cali, Colombia.
- ARIAS-CASTELLANOS, J. A. Y W. VÁSQUEZ. 1988. Ampliación del conocimiento biológico de *Colossoma sp.* (Characidae), en ambientes naturales de la cuenca del río Meta. Informe resultados, Unillanos-COLCIENCIAS, Villavivencio (Meta-Colombia), 121p.
- BOONYARATPALIN, M. Y N. UNPRASERT. 1989. Effects of pigments from different sources on colour changes and growth of red *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 79, 375-380.
- BOULEKBACHE, H. 1981. Energy metabolism in fish development. *Amer. Zool.*, 21: 377-399.
- CAMARGO, A.C.S.; J.B.K. FERNÁNDEZ; F.A.S. RIBEIRO Y E. C. URBINATI. 2002. Desempenho de alevinos de matrinxã (*Brycon cephalus*) oriundos de fêmeas submetidas a restrição moderada do alimento. En: Uribinatti, E.C. y J.E.P. Cyrino (Eds). *Anais do Simpósio Brasileiro de Aqüicultura 12*. Goiânia, GO. 339 p.
- CARVALHO, E.G. 2001. Redução na oferta de ração: Efeitos no metabolismo energético e na maturação gonadal do matrinxã (*Brycon cephalus*, TELEOSTEI: Characidae) em cativeiro. Tesis (Doctorado), Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal-SP.
- CHONG, A.S.C.; S.D. ISAAC; Z. OSMAN Y R. HASHIM. 2004. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). *Aquaculture*, 234, 381-392.
- CHRISTIANSEN, R. 1996 The effects of astaxanthin on the early life stages of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Bergen, Dissertation (Doctor Sientiarum). University of Bergen. Department of Fisheries and Marine Biology. 63 p.
- CHRISTIANSEN, R.; O. LIE Y O.J. TORRISSEN. 1995. Growth and survival of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed different dietary levels of astaxanthin: First feeding fry. *Aquaculture Nutrition*, 1: 189-198.
- CHRISTIANSEN, R. Y O.J TORRISSEN. 1997. Effects of dietary astaxanthin supplementation on fertilization and egg survival in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) *Aquaculture*, 153: 51-62.
- CIERESZKO, A.; K. DABROWSKI; F. LI Y L. LU. 1999. Protective role of ascorbic acid against damage to male germ cells in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 56: 178-183.
- COUBERT, G.; J.M. BLANC Y H. POISSAN. 1998. Effects of dietary carotenoids (cantaxanthin and astaxanthin) on the reproductive performance of female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Nutrition*, 4: 249-254.
- DAVIS, D.A. Y M.T. DINOS. 2002. Marine larval fish production: a nutritional perspective. *Aquafeed Internacional*. 34, Julio-Septiembre, p. 7-10.
- DABROWSKI, K. Y A. CIERESZKO. 2001. Ascorbic acid and reproduction in fish: endocrine regulation and gamete quality. *Aquaculture Research*, 32: 623-638.
- DUSTON, J. Y R.L. SAUNDERS. 1999. Effect of winter food deprivation on growth and sexual maturity of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in seawater. *Can. J. Aquac. Sci.*, 56: 201-207.
- EMATA, A.C.; I.G. BORLONGAN Y J.P. DAMÁSÓ. 2000. Dietary vitamin C and E supplementation and reproduction of milkfish *Chanos chanos* Forsskal. *Aquaculture Research*, 31: 557-564.
- FERNÁNDEZ-PALACIOS, H.; M.S. IZQUIERDO; M. GONZÁLEZ; L. ROBAINA Y A. VALENCIA. 1998. Combined effect of dietary a-tocopherol and n-3 HUFA on egg quality

- of gilthead seabream broodstock for Gilthead seabream (*Spaurus aurata*). *Aquaculture*, 161: 475-476.
- FUNG SHYU, F. Y B. SUN PAN. 1993. Influence of dietary vitamin E on the content of vitamin E in blood plasma, ovary tissue and hemolysis of cultured female grey muller (*Mugil cephalus*). *Journal Food Drug Anal*, 1: 155-163.
- FURUITA, H.; H. TANAKA; T. YAMAMOTO; M. SHIRAIISHI Y T. TAKEUCHI. 2001. Effects of high dose of vitamin A on reproduction and egg quality of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fisheries Science*, 67: 606-613.
- GABAUDAN, J. Y V. VERLHAC. 2001. Critical review of the requirements of ascorbic acid in cold and cool water fishes (salmonids, percids, plecoglossids and flatfishes). 33-48 p. En: Dabrowski, K. (Ed.) *Ascorbic Acid in Aquatic Organism: status and perspectives*. CRC Press.
- GUNASEKERA, R.M.; K.F. SHIM Y T.J. LAM. 1996. Influence of dietary protein content of broodstock diets on larval quality and performance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L). *Aquaculture*, 146: 245-259.
- HARRIS, L.E. 1984. Effect of a broodfish diet fortified with canthaxanthin on female fecundity and egg color. *Aquaculture*, 43: 179-183.
- KETOLA, G.H.; P.R. BOWSER; G.A. WOOSTER; L.R. WEDGE; Y S.S. HURST. 2000. Effects of thiamine reproduction of Atlantic Salmon and a new hipotesis for their extirpation in lake Ontario. *Transactions of the American Fisheries Society*, 129: 607-612.
- KHAN, M.A.; A.K. JAFRI Y N.K. CHADHA. 2005. Effects of varying dietary protein levels on growth, reproductive performance, body and egg composition of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquaculture Nutrition*. 11: 11-17.
- IZQUIERDO, M.S.; H. FERNÁNDEZ-PALACIOS Y A.G.J. TACON. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197: 25-42.
- LALL, S.P. 1991. Concepts in the formulation and preparation of a complete fish diet, 1- 12 p. En De Silva S.S. (Edit.) *Fish nutrition research in Asia. Proceedings of the Fourth Asian Fish Nutrition Workshop*. Asian Fish. Soc. Spec. Publ, 5: 205 p.
- LIE,O.; A. SANDIVIN; Y R. WAAGBO. 1994. Transporte f alpha-tochopherol in Atlantic salmon (*Salmo salar*) during vitellogenesis. *Fish Physiology Biochem*, 13: 241-247.
- LOCHMANN, R. 2001. Practical diet development for broodstock of *Colossoma macropomum* and *Piaractus brachypomus*. En: Gupta, K.; K. McElwee; D. Burke; J. Burrignt; X. Cummings y H. Egna, (Eds.), *Eighteenth Annual Technical Report. Pond Dynamics/Aquaculture CRSP*, Oregon State University, Corvallis, Oregon.
- LONGINOVA, T.A. 1997. Carotenoids of rainbow trout diring the growth of gonads and spawns. 530-536 p. En: Karszindin, G.S. *Metabolism and biochemistry of fishes*. Indian Natl. Sci. Docu. Cent., New Delph.
- LUNDSTROM, J.; B. CARNEY; P. AMCOFF ; A. PETERSON; H. BORJESON; L. FORLIN Y L.NORRGREN. 1999. Antioxidative systems, detoxifying enzymes and thiamine levels in Baltic salmon (*Salmo salar*) that develop M74. *Ambio*, 28 (1): 24-29.
- MANISSERY, J.K.; D. KRISHNAMURTHY; B. GANGADHARA Y M.C. NANDEESA. 2001. Effect of varied levels of dietary protein on the breeding performance of common carp *Cyprinus carpio*. *Asian Fish. Sci.*, 14: 317-322.
- MERCURE, F. Y G. VAN DER KRAAK, 1995. Inhibition of gonadotropin-stimulated ovarian steroid production by polyunsaturated fatty acids in teleost fish. *Lipids*, 30: 547-554.
- MEYERS, P.S. 1993. Biological role of cartotenoids in Aquatic Species StudiEdit. En: Report from the International Carotenoid Symposium. Norway, June 1993. *Aqua trends, Intenational Aquaculture Newsletter*. Quali. Tech. Inc. 4 (2).
- MEYERS, P.S. 1994. Developments in world aquaculture, feed formulations and role of carotenoids. *Pure y Appl. Chem.*, 66 (5): 1069-1076.

- MOMMENSEN, T. P. 1998. The physiology of fishes. CRC Press. 2ª. Edición, N.Y.
- MOYANO, F.J. Y F.J. ALARCÓN. 1997. Principios de nutrición en organismos acuicultivados. VII. 114-130 p. En: Producción Animal Acuática. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. Tomo XIII. 376 p.
- NACIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1993. Nutrient requirements of fish. Nacional Academia Press, Washington. D.C., 114 p.
- NEGRE-SARDAGUES, G.; R. CASTILLO; H. PETIT; S. SANCE; R. GOMEZ; J.C. MILIEUS; G. CHOUBERT Y J.P. TRILLES. 1993. Utilization of synthetic carotenoids by the prawn *Penaeus japonicus* Under experimental rearing conditions. Cl 10-13. En: 10th Internacional Symposium on Carotenoids, Trondheim. Book of Abstracts.
- PEREIRA, J.O.B.; M.A. REIS-HENRIQUES; J.L. SANCHEZ Y J.M. COSTA. 1998. Effect of protein source on the reproductive performance of female rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research, 29: 751-760.
- RIDELMAN, J.M.; R.W. HARDI Y E.L. BRANNON. 1984. The effects of short-term starvation on ovarian development and egg viability in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture, 37: 133-140.
- SADNES, K.; Y. ULGENES; O.R. BRAEKKAN Y R. UTNE. 1984. The effect of ascorbic acid supplementation in broodstock feed on reproduction of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture, 43: 167-177.
- SANABRIA, A.I. 2002. Efeito da restrição alimentar no desempenho reprodutivo de machos de matrinxã *Brycon cephalus*. Disertación (Maestría), Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, Jaboticabal-SP. 60 p.
- SIDDIQUI, A.Q.; Y.S. AL-HAFEDH Y S.A. ALI. 1998. Effect of dietary protein level on the reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture Research, 29: 349-358.
- VÁSQUEZ, W.T. Y S.G. ZACARÍAS. 1996A. Aspectos reproductivos de la cachama blanca, *Piaractus brachypomus* (CUVIER 1818). I – Histomorfología de ovocitos durante la ovogénesis. Revista ACOVEZ, 21 (4): 10-16.
- VÁSQUEZ, W.T. Y S.G. ZACARÍAS. 1996B. Aspectos reproductivos de la cachama blanca, *Piaractus brachypomus* (CUVIER 1818). II – Efecto de los niveles de proteína y energía de la dieta sobre el desarrollo del ovario. Revista ACOVEZ, 21 (3): 18-24.
- VERAKUNPIRIYA, V.; T. WATANABE; K. MUSHIAKE; V. KIRON; S. SATOH Y T. TAKEUCHI. 1996. Effect of broodstock diets on the chemical components of milt and eggs produced by yellowtail. Fisheries Science, 62 (4): 610-619.
- VERAKUNPIRIYA, V.; K. MUSHIAKE; K. KAWANO Y T. WATANABE. 1997. Supplemental effect of astaxanthin in broodstock diets on the quality of yellowtail eggs. Fisheries Science, 63 (5): 816-823.
- WEATHERLEY, A.H. Y H.S. GILL. 1987. The biology of fish growth. London: Academia Press.
- ZANIBONI-FILHO, E. Y A.P. NUÑER. 2004. Fisiología da reprodução e propagação artificial dos peixes. En: Cyrino J.E.P.; E.C. Urbinati.; D.M. Fracalossi. y N. Castagnolli. (Eds.). Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. – São Paulo: TecArt, 533 p.

GENERALIDADES SOBRE MANEJO Y SELECCIÓN DE REPRODUCTORES DE PECES REOFÍLICOS

José Augusto Senhorini¹ y Miguel Ángel Landines Parra²

Introducción

La producción de alevinos es sin duda el pilar fundamental para el desarrollo de la piscicultura como una bioindustria, así como también para la implementación de programas de recuperación de ambientes degradados y para la manutención y preservación de las especies, garantizando un seguimiento de las mismas.

El dominio de la propagación artificial de los peces es uno de los factores íntimamente ligados al éxito del proceso. Sin embargo, no siempre es tarea fácil, principalmente debido a la poca disponibilidad de información sobre la biología de las especies de peces neotropicales.

Varios son los factores que pueden afectar la preparación de un reproductor para que alcance el objetivo principal, que es el de responder a la inducción con hormonas, principalmente hipofisiarias, produciendo óvulos y espermatozoides viables y consecuentemente juveniles de buena calidad. Para que esto ocurra se debe conocer el comportamiento reproductivo de la especie en cautiverio, el origen de los reproductores, la cantidad disponible y el manejo y condiciones de cultivo de estos reproductores (periodo de desove, alimentación, requerimientos nutricionales, calidad de agua, densidad de siembra, entre otros).

¹ Biólogo, M. Sc. Ph. D. Responsable Divisão de Pesquisa, Centro de Pesquisa e Gestão de Recursos Pesqueiros Continentais (CEPTA).

jose.senhorini@ibama.gov.br

² Zootecnista, Ph. D. Profesor Universidad Nacional de Colombia. malandinezp@unal.edu.co

El conocimiento de dichos factores es el punto de partida para el adecuado manejo de los reproductores, pues el éxito del proceso reproductivo depende en gran medida de dicho procedimiento. Adicionalmente, la selección de reproductores aptos para ser inducidos es la etapa más importante dentro del proceso de desove en cautiverio (Carosfeld, 1989) y desafortunadamente no siempre se le da la importancia que merece.

A continuación se presentan algunos aspectos que se deben tener en cuenta en la cría, manejo y selección de los reproductores, los cuales tienen como objetivo garantizar el éxito de la reproducción artificial.

Manejo de reproductores

Origen de los reproductores

La cría de reproductores es una precondition para asegurar el éxito en la secuencia de todo el proceso reproductivo, desde la obtención de los gametos hasta la producción de los peces para el mercado.

El primer paso es preocuparse con el origen de los reproductores, los cuales pueden ser obtenidos en el ambiente natural, sean adultos o juveniles. En ese caso, los individuos jóvenes son más fáciles de ser transportados hasta los estanques de cultivo y se pueden domesticar más fácilmente durante el proceso de levante y formación de plantel de reproductores, respondiendo con mayor facilidad a inyecciones de hormonas para la reproducción. No obstante, individuos adultos capturados en el medio natural pueden ser utilizados poco después de su captura, siempre y cuando su manejo haya sido el adecuado.

Otra opción es formar el plantel de reproductores a partir de alevinos adquiridos en diversas pisciculturas, no obstante, se debe conocer el origen de esos peces para evitar consanguinidades y otras situaciones indeseables. En todo caso, individuos que siempre han estado en cautiverio son mucho más fáciles de manejar, situación que favorece el manejo para piscicultores menos expertos. Sin embargo, el vigor híbrido debe ser renovado constantemente para garantizar la calidad de la semilla producida.

Un hecho bastante común es que el piscicultor compre o seleccione de su propia explotación, peces grandes para formación de reproductores y puede caer en un gran error, pues dependiendo de la especie los peces más grandes son las hembras y por consiguiente podrá tener al final un plantel de sólo hembras o con un número reducido de machos.

Características del agua para el manejo de los reproductores

Los estímulos para que ocurra la reproducción de los peces en el ambiente natural tienen dos orígenes, endógeno y exógeno. Los de origen endógeno son la sumatoria del desencadenamiento de acciones hormonales, principalmente de la hipófisis, mientras que los exógenos están dados principalmente por variaciones cíclicas en las condiciones medioambientales, como variación de la temperatura, pH, conductividad, turbidez, entre otros, los cuales son los responsables de que finalmente los peces desoven.

Estos procesos deberían también ocurrir en el ambiente de cautiverio, razón por la cual el agua

de los estanques debe ser de buena calidad, sin contaminantes, pH entre 6.5 y 8,0, alcalinidad y dureza siempre por encima de 30 mg/L, oxígeno disuelto superior a 5 mg/L, siendo que niveles por debajo de 3 mg/L, pueden provocar estrés e inhibir el desarrollo gonadal. La temperatura debe presentar niveles de confort térmico para la especie a ser trabajada.

Estanques para la cría y mantenimiento de reproductores

Las dimensiones de los estanques, como el tamaño y la profundidad adecuados son de fundamental importancia para el bienestar de los peces. Se recomiendan estanques entre 300 y 500 m², y con una profundidad en torno de 1.5 a 2.0 metros.

Estanques muy grandes no son indicados para el mantenimiento de reproductores, pues después de dos o tres capturas de peces para reproducción, el restante de los individuos puede entrar en regresión debido a la manipulación excesiva dentro de ese estanque.

Densidad de siembra

La densidad de siembra afecta el desarrollo gonadal y en general el desempeño reproductivo de los peces, debido principalmente a que al encontrarse en densidades altas tendrán problemas de baja calidad del agua y disponibilidad de alimento, lo cual aumenta el estrés de los animales, puesto que durante la fase de desarrollo gonadal son más sensibles a cambios en dichos parámetros (Zaniboni-Filho y Nuñez, 2004).

Aunque existe un gran vacío sobre la verdadera densidad de siembra que se debe manejar en re-

productores de peces nativos, por regla general se recomienda utilizar entre 250 a 300 g/m², pues densidades mayores causarán un efecto negativo sobre el desarrollo gonadal (Woynarovich y Horváth, 1983). No obstante, una densidad muy baja es pérdida de espacio y consecuentemente de dinero; en ese sentido, Romagosa *et al.* (1988), mencionan que en estudios realizados con *Piaractus mesopotamicus*, la mayor cantidad de óvulos viables fue obtenida al utilizar densidades altas.

Para algunas especies como *Leporinus* sp., *Piaractus* sp. y *Colossoma* sp., lo ideal sería que se mantengan en monocultivo, o sea, apenas una especie en el estanque; ahora bien, para los *Brycon* o especies del género *Salminus* que necesitan de peces forrajeros para servir de alimento a las larvas inclusive en las incubadoras, es recomendable el bicultivo, con el pez del género *Brycon* como especie principal y una especie para ser desovada y que sus larvas sirvan como forrajeras, por ejemplo *Prochilodus* sp. o *Leporinus* sp. El hecho de tener las dos especies juntas minimiza las prácticas de manejo, posibilitando la captura y selección de parentales de las dos especies al mismo tiempo, aunque el objetivo de los desoves sea diferente.

Aspectos nutricionales

La nutrición de los reproductores es considerada como uno de los principales factores que influyen en el éxito de la reproducción en cautiverio (Izquierdo *et al.*, 2001). Una alimentación pobre puede perjudicar la formación de gónadas, el desarrollo de los embriones y la resistencia a la manipulación durante la reproducción, causando gran mortalidad de los reproductores después del desove; adicional a ello, las larvas obtenidas no

son de buena calidad. Inclusive se sabe que si la cantidad y calidad de alimento suministrado a los reproductores no son las adecuadas desde el inicio del cultivo, ni siquiera tiene lugar la vitelogénesis (Harvey y Carosfeld, 1993).

Es de fundamental importancia conocer el comportamiento y hábito alimenticio de la especie a ser cultivada, así como sus requerimientos nutricionales, ya que con estos se podrá determinar el tipo y forma de alimento a utilizar, cómo administrar el alimento, etc.

Como ejemplo de comportamiento alimenticio podemos citar las especies de los géneros *Colossoma* y *Piaractus*, que presentan prácticamente el mismo comportamiento alimenticio, demostrando una preferencia para la captura de alimento de tránsito en la columna de agua. Sin embargo, también se alimentan en la superficie y en el fondo (Cantelmo y Senhorini, 1989).

Por otro lado, los reproductores del género *Brycon* presentan un comportamiento semiagregado, permaneciendo en cardumen por el estanque, demostrando un comportamiento alimenticio altamente agresivo frente al alimento, prefiriendo alimentarse en la superficie cuando cae el pellet, o en tránsito en la columna de agua. Si el alimento llega al fondo, difícilmente el pez lo captura, a no ser en condiciones de privación de alimento o falta de oferta correcta de ración (Cantelmo y Senhorini, 1989).

En el policultivo de *Brycon* y *Colossoma*, cuando el suministro de ración es ofrecido manualmente y se utiliza alimento peletizado, se puede observar que los peces del género *Brycon*, llegan primero

al lugar donde el alimento está siendo ofrecido y solo después de algunos minutos los del género *Colossoma* van ocupando el espacio y lo dominan completamente, quedando para los *Brycon* la periferia del lugar, en donde se quedan esperando una oportunidad para terminar de alimentarse. Sin embargo, al utilizar ración extrudizada, ese dominio de los *Colossoma* no fue observado, colocando a los animales en condiciones iguales, con ligera ventaja para los *Brycon*. Este comportamiento se debe exactamente al hábito alimenticio de las dos especies, donde los *Colossoma* prefieren las aguas medias y a veces el fondo y los *Brycon* la superficie (Cantelmo y Senhorini, 1989).

La información anterior muestra que dependiendo de la forma física de la ración (peletizada o extrudizada) el procedimiento en la alimentación debe ser adecuado al comportamiento de los peces, según su especie y sistema de cultivo.

El conocimiento sobre los requerimientos nutricionales de las especies a ser cultivadas como reproductores es de gran importancia, pues una ración con niveles de proteína y vitaminas adecuadas en las fases de preparación del reproductor para el desove y postdesove es muy importante en el éxito de la propagación artificial de los peces.

La falta de una alimentación adecuada, así como la utilización de una dieta con deficiencias en aminoácidos, vitaminas y minerales van a afectar en la formación de las gónadas y en la ovulación.

Por otro lado, es importante tener en cuenta que la restricción alimenticia es un proceso natural en muchas especies de peces (MacKenzie *et al.*, 1998) y esta tiene lugar que en muchas es-

peces reofilicos suramericanas durante la época de migración reproductiva, hecho que explicaría la presencia de grandes depósitos de grasa al inicio de la maduración gonadal (Zanibonhi-Filho, 1985), los cuales coincidirían con un periodo de restricción natural, durante el cual la ingestión de alimento es reducida y la energía almacenada va siendo utilizada gradualmente en la maduración gonadal, utilizando esos depósitos de grasa para la maduración final (Zaniboni-Filho, 1985).

Las anteriores consideraciones han hecho que algunos autores utilicen estrategias de alimentación basadas en la restricción de alimento, para optimizar el desempeño de sus reproductores. Es así como Carvalho (2001) estudió el efecto de la restricción de alimento sobre el metabolismo energético y la maduración gonadal de *Brycon cephalus*, comprobando que ante situaciones de falta de alimento el animal es capaz de mejorar su desempeño reproductivo por acción indirecta de la insulina. Similares estudios han sido realizados por Sanabria (2002) y Camargo (2003), quienes comprobaron que la restricción de alimento mejoraba el desempeño reproductivo y la supervivencia de las larvas de la misma especie, resultados similares a los encontrados por Arias-Castellanos (2002) para *Brycon siebenthalae*.

Estrés

El estrés es un factor que contribuye principalmente a la aparición de enfermedades, afecta la preparación de los reproductores para el desove, crecimiento deficiente, entre otros factores. Está definido como “la suma de todas las respuestas fisiológicas por las cuales un animal intenta mantener o reestablecer un metabolismo normal en frente de una fuerza física o química”.

Según Wedemeyer (1997), la prevención de enfermedades en peces a través de la manipulación del propio ambiente requiere entender cómo los factores ambientales y los agentes estresantes afectan la fisiología de los peces en el cautiverio. Las condiciones medioambientales y su acondicionamiento a través de mejores técnicas de cultivo de los peces pueden tener un significativo sustento en la interacción hospedero-patógeno-ambiente, motivo por el cual considera importante llevar a cabo los siguientes procedimientos para mejorar las prácticas de manejo:

- Mantener las características de calidad de agua dentro de los requerimientos específicos para cada especie.
- Mantener la densidad de la población regulada en niveles bajos, suficientes para prevenir estrés por hacinamiento y por lo tanto minimizar problemas de enfermedades.
- Aprender a reconocer los factores de estrés ambiental.
- Disminuir o eliminar la manipulación y otras fuentes de estrés y utilizar medicamentos profilácticos para prevenir la activación latente de infestaciones.
- Cuando el estrés es inevitable, dejar un tiempo suficiente para la recuperación, basado en los disturbios fisiológicos envueltos, antes de manejar los reproductores nuevamente.

Adicionalmente, es muy importante para las especies tropicales y subtropicales, que se mantengan dentro del rango de confort térmico propio para

cada una de ellas. Para eso cada especie tiene que ser escogida según su adaptación a las condiciones de cría a que será sometida.

En el caso específico de los reproductores, está comprobado que las prácticas rutinarias de captura, selección y transporte, tienen efectos negativos en el desempeño reproductivo (Pankurst y Van Der Kraak, 1997). El mecanismo más probable para que dicho desempeño sea alterado por el estrés es por la activación del eje hipotálamo-hipófisis-interrenal, pues se han encontrado en varias especies valores inusualmente aumentados de cortisol, cuando su desempeño reproductivo es bajo (Carragher *et al.*, 1989; Carragher y Sumpter, 1990; Foo y Lam, 1993). En la figura 1 se pueden observar los diferentes factores que pueden estresar a los peces y afectar su capacidad reproductiva.

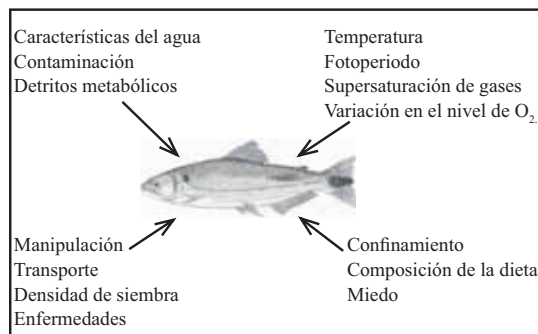


Figura 1. Factores físicos y químicos del agua, biológicos y de manipulación que pueden causar estrés en los reproductores y consecuentemente en su desempeño reproductivo.

Aceleración de la maduración gonadal

Dentro de los factores que pueden acelerar la maduración gonadal se pueden destacar la temperatura, la adecuada nutrición y la eliminación de factores estresantes en el ambiente de cultivo.

Peces que desovan en el ambiente natural apenas en una determinada época y una sola vez por año, como el pintado, *Pseudoplatystoma coruscans*; el bagre, *Pseudoplatystoma fasciatum*; la cachama negra, *Colossoma macropomum*, entre otros, cuando son sometidos a manejo de temperatura (mantenimiento constante de temperatura adecuada), densidad de siembra ideal (250 - 300 g/m²) y alimentación adecuada, llegan a desovar hasta tres veces en un mismo año.

Para ese propósito es deseable el uso de invernaderos (Fig. 2), en los cuales se mantiene la temperatura adecuada para los reproductores, logrando así más de un desove por año. Aunque en países como Colombia esta es una práctica no utilizada, en Brasil por ejemplo su utilización es ampliamente difundida, debido a que en la época de invierno la temperatura decrece drásticamente.

Selección de los reproductores para inducción

Sin lugar a dudas, el éxito del proceso reproductivo depende en gran medida de la adecuada selección de los individuos que serán sometidos a inducción. Sin embargo, en la mayoría de los casos las metodologías utilizadas no son 100% confiables, dependiendo en muchas ocasiones de la experiencia y pericia de quien realiza la práctica. De cualquier manera, al seleccionar peces aptos para desove, se debe procurar encontrar aquellos individuos que tengan mayor posibilidad de responder positivamente a un tratamiento de inducción hormonal, obteniéndose como resultado la ovulación y espermiación (Zaniboni-Filho y Nuñez, 2004). En ese sentido se conocen básicamente dos metodologías, las cuales se resumen a continuación:



Figura 2. Invernaderos utilizados para el mantenimiento constante de temperatura, en estanques para reproductores.

Método no invasivo

La selección de los peces para inducción a la reproducción deberá ser realizada en el propio estanque, con base en las características extragenitales presentes durante el periodo reproductivo. Dentro de dichas características, las más importantes y fáciles de observar son las siguientes:

En los machos maduros, al hacer leve presión en el abdomen dejan fluir su líquido espermático, el cual debe ser de aspecto blanco lechoso y de considerable viscosidad (Figura 3). No obstante,

existen especies en las que por la conformación de las gónadas es literalmente imposible obtener semen al presionar el abdomen, dificultando enormemente el proceso de selección de machos (Zaniboni-Filho y Nuñez, 2004). Dentro de esas especies podemos encontrar a *Callophysus macropterus*, *Pimelodus maculatus*, *Leiarius marmoratus*, entre otros.

Adicional a lo anterior, algunas especies presentan dimorfismo sexual durante el periodo reproductivo, por ejemplo los machos de *Brycon orbignyana*, presentan una marcada aspereza en



Figura 3. Obtención de semen en los machos por presión abdominal.

la aleta anal (espícula), característica similar a la presentada por machos de *Salminus maxillosus* y *Astyanas* sp. Por otro lado, los machos de otras especies emiten sonidos, como *Prochilodus* sp., y por lo general en la mayoría de las especies de los géneros *Piaractus*, *Colossoma*, *Prochilodus*, *Brycon*, *Pseudoplatystoma*, *Salminus*, entre otros, los machos son de tamaño considerablemente menor que las hembras.

Las hembras presentan vientre abultado y flácido y papila genital dilatada y enrojecida (Fig. 4). Sin embargo, en la selección de hembras, lo ideal es que cuando se realice, los reproductores permanezcan sin recibir alimento por lo menos dos días antes, para que el vientre abultado no sea confundido con depósitos de alimento.

En términos generales se puede decir que desde el punto de vista de bienestar animal, el método no invasivo es el más adecuado para la selección de reproductores para inducción. No obstante, quien lo realice debe tener amplia experiencia y suficiente criterio para no cometer errores que a la postre ocasionarían el fracaso en los procesos de ovulación y desove.

Método invasivo

El éxito de la inducción depende de la correcta evaluación del estado de maduración gonadal de los peces. Los tipos y cantidades de hormonas requeridas para provocar la maduración final y ovulación en las hembras varían directamente con el estado de maduración de los oocitos. Aunque la técnica de observación de las características externas explicada anteriormente es en general adecuada y ofrece un indicio de cuáles reproductores

están aptos para ser inducidos, como se mencionó anteriormente, si no se cuenta con personal especializado, se pueden cometer errores, en índices que varían entre 30 a 40%. Por eso una forma bastante recomendada, desde que se conozca la biología de la especie es el uso de la canulación o biopsia ovárica la que va a determinar si el reproductor está apto o no para recibir la inducción, decisión que se puede tomar a través de dos parámetros principales: el diámetro de los oocitos (Fenerich-Verani, *et al.*, 1984 y Romagosa *et al.*, 1990) y la posición del núcleo de los mismos (Rottman *et al.*, 1991 y Pardo-Carrasco, 2001).

Aunque el procedimiento puede ser traumático para la hembra (Freire-Brasil *et al.*, 2003), existen dos métodos de extracción de oocitos; el primero consiste en introducir a través del oviducto una sonda plástica (Fig. 5A), con la cual se extraerá por succión, con ayuda de una jeringa acoplada en la otra extremidad de la sonda, una pequeña muestra de oocitos, teniendo cuidado de inmovilizar completamente al pez, si es el caso utilizando anestesia para evitar movimientos bruscos y causar traumatismos internos. El segundo método, es utilizando una aguja de calibre grueso (14-16), conectada a un tubo plástico flexible con diámetro mínimo de 3 mm, en cuyo otro extremo se ha acoplado una jeringa de inyección para provocar succión. La aguja es introducida considerando el inicio de la aleta ventral y la línea lateral como puntos de referencia, a partir de la línea lateral, dividir la parte inferior ventral en tres partes e introducir la aguja en la segunda de ellas (Fig. 5B), con un leve movimiento realizar la succión y retirar la muestra, preferiblemente con el pez anestesiado.

Después de la colecta de los oocitos, estos deben ser colocados en un recipiente y cubiertos con una



Figura 4. Selección de hembras para inducción a la reproducción inducida.

solución fijadora constituida de 1 L de solución salina (6,5%) y 1 ml de formol. Posteriormente, los oocitos pueden ser colocados en una caja de petri o vidrio de reloj y una vez retirada la solución fijadora se debe proceder a adicionar una solución aclaradora (Líquido de Serra), constituida de 7 partes de etanol, 2 partes de formol y 1 parte de ácido acético glacial, en la cual se dejan aclarar para verificar la posición del núcleo (central, migrando, periférico, ausente), que es un indicador del grado de maduración de los oocitos. Si la mayoría de los oocitos presenta núcleos en migración

y/o periféricos, el individuo es apto para ser inducido de manera aguda, mientras que si la mayoría de los mismos presenta núcleo central es indicativo de que el individuo aún no ha alcanzado el punto óptimo para la inducción, razón por la cual se deberá esperar un tiempo o proceder a realizar una inducción de tipo crónico.

En caso de hembras, cuyos oocitos no presenten núcleo y/o la forma de los oocitos sea irregular, se estará frente a un caso de inicio de la regresión de la gónada, es decir, que dicho individuo ya pasó su fase de maduración y solamente será apto en el



Figura 5. Biopsia ovárica. A. Método de canulación. B. Método de punción abdominal.

próximo periodo reproductivo. Generalmente este caso coincide con un enrojecimiento excesivo de la papila, en ocasiones confundido por personal inexperto con animales en estado óptimo de madurez. En la figura 6 se presenta un resumen del procedimiento descrito para la selección de hembras.

Finalmente, cabe señalar que esta técnica solamente es eficaz si los oocitos de la especie seleccionada se desarrollan al mismo tiempo, no existiendo gran diferencia en el estado de maduración de unos a otros, es decir, debe existir un desarrollo sincrónico en el ovario de la hembra a seleccionar. Otro parámetro importante a la hora

de seleccionar los reproductores es que se debe conocer el diámetro de los oocitos durante toda la fase de maduración del ovario de las diferentes especies en las que se pretenda llevar a cabo la reproducción artificial.

Por otro lado, recientemente se ha venido utilizando otro método de selección de reproductores, basado en el factor de condición relativo de los individuos (Andrade-Talmelli *et al.*, 1999; Arias-Castellanos, 2002 y Kurita *et al.*, 2003), el cual disminuye la manipulación excesiva de los individuos mejorando el bienestar de los mismos.

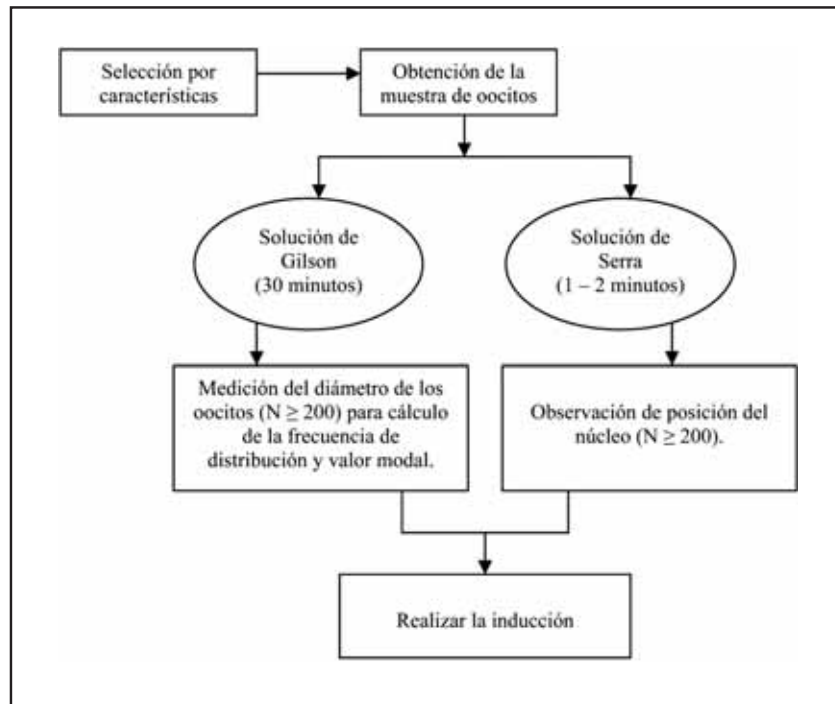


Figura 6. Secuencia de eventos para la selección de hembras por el método invasivo.

BIBLIOGRAFÍA

- ANDRADE-TALMELLI, E.F.; N. FENERICH-VERANI Y J.R. VERANI. 1999. Fator de condição relativo (K_n): um critério para selecionar fêmeas de piabanha, *Brycon insignis* (Steindachner, 1876) (Pisces: Bryconinae), para indução reprodutiva. Boletim do Instituto de Pesca, 25: 95-99.
- ARIAS-CASTELLANOS, J. A. 2002. Biología reproductiva en cautiverio del yamú *Brycon siebenthalae* (Pisces: Characidae) Tesis. Facultad de Biología, Universidad del Valle.
- CAMARGO, A. C. 2003. Efeito da restrição alimentar alternada na maturação sexual de reprodutores e crescimento da prole do matrinxã *Brycon cephalus*. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.
- CANTELMO O. Y J. SENHORINI. 1989. Alimentação artificial de larvas e alevinos de peixes. Bol. Red de Acuicultura, 3(3):3-6.
- CAROLSFELD, J. 1989. Reproductive physiology e induced breeding of fish as related to culture of Colossomas. 37-73p. En: Cultivo de *Colossoma*. Hernández, A. (edit) SUDEPE-Colciencias-CIID. Canadá.
- CARRAGHER, J. Y J.P. SUMPTER. 1990. The effect of cortisol on the secretion of sex steroids from culture ovarian follicles of rainbow trout. General and Comparative Endocrinology, 77:403-407.
- CARRAGHER, J.; J.P. SUMPTER; T.G. POTTINGER Y A.D. PICKERING. 1989. The deleterious effects of cortisol implantation on reproductive function in two species of trout, *Salmo trutta* L. and *Salmo gairdneri* Richardson. General and Comparative Endocrinology, 76: 310-321.
- CARVALHO, E.G. 2001. Redução na oferta de raça: Efeitos no metabolismo energético e na maturação gonadal do matrinxã (*Brycon cephalus* Teleostei: characidae) em cativeiro. Tesis., Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal – SP.
- FENERICH-VERANI, N.; H. M. GODINHO Y M. Y. NARAHARA. 1984. The size composition of the eggs of curimatá, *Prochilodus scrofa* Steindachner 1881, induced to spawn with human chorionic gonadotropin (HCG). Aquaculture, Volume 42 (1): 37-41.
- FOO, J.T.W. Y T.J. LAM. 1993. Serum cortisol response to handling stress and the effect of cortisol implantation on testosterone level of tilapia. *Oreochromis mossambicus*. Aquaculture, 115:145-158.
- FREIRE-BRASIL, D.; I. QUAGIO-GRASSIOTTO; L.S. OKADA-NAKAGHI; H.S. LEME-DOS SANTOS Y F. FORESTI. 2003. Análise morfológica da maturação final do ovócito em Curimatá (*Prochilodus lineatus* Valenciennes, 1836) CIVA 2003 (<http://www.civa2003.org>), 383-398.
- HARVEY, B. Y J. CAROLSFELD. 1993. Induced breeding in tropical fish culture. IDRC, Ottawa.
- IZQUIERDO, M.S.; H. FERNÁNDEZ-PALACIOS Y A. G. J. TACON. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture, 197: 25-42.
- KURITA, Y.; S. MEIER Y O. S. KJESBU. 2003. Oocyte growth and fecundity regulation by atresia of Atlantic herring (*Clupea harengus*) in relation to body condition through out the maturation cycle. Journal of Sea Research, 49: 203-219.
- MACKENZIE, D.; C. VANPUTTE Y K. LEINER. 1998. Nutrient regulation of the endocrine function in fish. Aquaculture, 161:3-25.
- PANKURST, N.W. Y G. VAN DER KRAAK. 1997. Effects of stress on reproduction and growth of fish. 74-93p. En: Iwama, G.K.; A.D. Pickering.; J.P. Sumpter y C.B. Schreck (Eds.). Fish stress and health in aquaculture. Cambridge University press, New York.
- PARDO-CARRASCO, S. 2001. Reprodução induzida do yamú *Brycon siebenthalae* (Pisces: Characidae). Dissertação. Universidade Federal de Santa Catarina.
- PICKERING.; J.P. SUMPTER Y C.B. Schreck. Fish stress and health in aquaculture. Cambridge University press, New York.

- ROMAGOSA, E.; P. PAIVA Y E.M. GODINHO. 1990. Pattern of oocyte diameter frequency distribution in females of de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) (= *Colossoma mitrei* Berg, 1895), induced to spawn. *Aquaculture*, 86: 105-110.
- ROMAGOSA, E.; P. PAIVA; H.M. GODINHO Y M.C.N. STORFER. 1988. Desenvolvimento dos ovócitos de *Piaractus masopotamicus* (Holmberg, 1887) (= *Colossoma mitrei* Berg, 1895) mantidos sub condições de cultivo intensivo. 374p. En: Resumos do Congresso Brasileiro de Zoologia 15. Curitiba, Pr.
- ROTTMANN, R.W.; J.V. SHIREMAN Y F.A. CHAPMAN. 1991. Determining Sexual Maturity of Broodstock for Induced Spawning of Fish. SRAC Publication, 423: 1-4.
- SANABRIA, A. 2002. Efeito da restrição alimentar no desempenho reprodutivo de machos de matrinxã *Brycon cephalus*. Dissertação. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal - SP.
- WEDEMEYER, G.A. 1997. Effects of rearing conditions on the health and physiological quality of fish intensive culture. 35-71 p. En: Fish stress and health in aquaculture, Iwama, G.K.; A.D.
- WOYNAROVICH, E. Y L. HORVÁTH. 1983. A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão. FAO/CODEVASF/CNPq, Brasília.
- ZANIBONI - FILHO, E. 1985. Biologia da reprodução do matrinxã *Brycon cephalus*. (Guntther, 1869) (Teleostei: Characidae). Tesis. INPA Manaus - Brasil.
- ZANIBONI - FILHO, E. Y A. P. NUÑER. 2004. Fisiologia da reprodução e propagação artificial dos peixes. 45-73 p. En: Cyrino. J.E.P.; E.C. Urbinati; D.M. Fracalossi y N. Castagnolli (Eds.). Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática.

MANEJO Y REPRODUCCIÓN DE CARÁCIDOS

Miguel Ángel Landi nes Parra¹ y Hermes Orlando Mojica Benítez²

Introducción

El orden Characiformes agrupa la mayoría de especies de peces de agua dulce que viven en ríos y lagos de África y América, comprende 16 familias y cerca de 1.500 especies, de las cuales alrededor de 1.300 se encuentran en Suramérica e incluyen peces conocidos como pirañas, cachamas, yamú, bocachico, dormilón, entre otros. Las 200 especies restantes se pueden encontrar en el África y pertenecen a tan solo 4 familias. Tienen importancia comercial como alimento de consumo para las comunidades asentadas en las riberas de lagos y ríos, y muchas especies son ornamentales como los cardenales, neones, monedas, entre otros.

Los Characiformes forman grandes cardúmenes para migrar por los caños y ríos en busca de alimento o para reproducirse; presentan especializaciones ecológicas variadas, encontrándose hábitos alimenticios detritívoros como en los Prochilodontidae y Curimatidae, herbívoros como en los Anostomidae y carnívoros predadores como los Serrasalminidae. Algunos carácidos, como los miembros de la familia Eritrynidae presentan adaptaciones morfológicas y fisiológicas que les permiten vivir a bajas concentraciones de oxígeno. Igualmente, algunas cachamas y leporinos pueden sobrevivir en ambientes pobres en oxígeno mediante la modificación de los labios para permitir el intercambio de gases en la capa superficial del cuerpo de agua.

Su origen ha sido establecido hace más de 100 millones de años cuando África y Suramérica aún formaban un solo continente denominado Godwana (Ortí y

¹ Zootecnista, Ph. D. Profesor Universidad Nacional de Colombia. mala.ndinezp@unal.edu.co

² Biólogo marino. Asesor Particular en Acuicultura. hmojicab@yahoo.com

Meyer, 1997). Esta evidencia es indirecta y se ha dado por la distribución filogenética y geográfica de las especies existentes y las distancias que las separan, debido a la poca evidencia fósil que se tiene.

Los Characiformes generalmente tienen escamas, dientes y una aleta adiposa. La aleta pélvica posee entre 5 y 12 radios, mientras que la aleta anal en general es corta. Su línea lateral a menudo es curvada o incompleta y nunca presentan barbas o barbillones. Presentan aparato Weberiano que conecta el oído interno con la vejiga gaseosa, para una eficiente transmisión de sonidos (Nakatani *et al.*, 2001 y Ortí y Meyer, 1997).

Dada la gran diversidad de especies que componen el grupo y la importancia comercial de las mismas, el objetivo del presente capítulo es presentar una pequeña descripción de las principales especies cultivadas en el trópico y un recuento de las prácticas de manejo y reproducción comúnmente utilizadas en su cultivo.

Distribución geográfica

Este grupo de peces es exclusivo de agua dulce, pudiéndose encontrar en caños, ríos, lagos y lagunas en África y América, desde Texas en Norte América hasta Argentina. Su distribución puede ser observada en la figura 1.

Principales especies manejadas en cautiverio

Cachama negra

Colossoma macropomum (Cuvier, 1818)

Es un pez de gran tamaño (Fig. 2), que puede alcanzar 90 cm de longitud total y 30 kg de peso. Se encuentra distribuido en las cuencas de los ríos Orinoco y Amazonas, siendo de gran importancia comercial en la amazonia Brasileña (Araújo-Lima y Goulding, 1997; Gomes *et al.*, 2002). Posee hábitos alimenticios omnívoros, alimentándose principalmente de frutos de arbustos y árboles que crecen cerca de la orilla de los caños donde habita

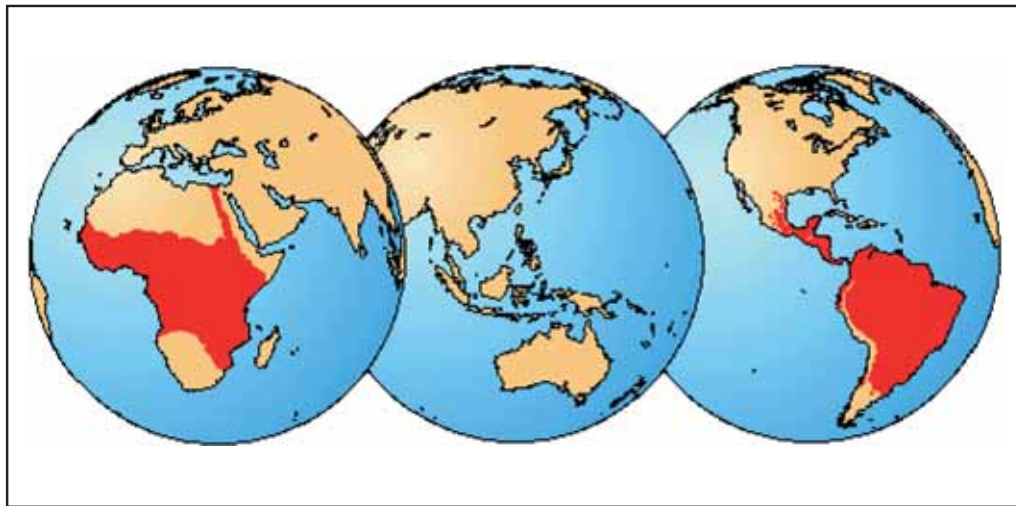


Figura 1. Distribución geográfica (color rojo) de los carácidos (Daget *et al.*, 1984).



Figura 2. Ejemplar juvenil de cachama negra (*Colossoma macropomum*)

(Roubach y Saint-Paul, 1994), los cuales puede triturar y digerir gracias a su dentadura molariforme. No obstante, su alimentación en ambientes naturales es típicamente omnívora, gracias a que posee una combinación de dientes adaptados para triturar todo tipo de estructuras (González y Heredia, 1989). Adicionalmente tiene gran habilidad para filtrar, siendo por estas características una especie con alto potencial productivo (Saint-Paul, 1986 y Camargo *et al.*, 1998).

Cachama blanca

Piaractus brachypomus (Cuvier, 1818)



Figura 3. Ejemplar adulto de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*)

Es una especie distribuida en los canales principales de caños, ríos y lagunas de toda la cuenca de los ríos Orinoco y Amazonas. En Colombia es considerada como la principal especie nativa de cultivo, pudiéndose encontrar en prácticamente todos los lugares del país (González, 2000).

Su cuerpo es comprimido y presenta una coloración parda grisácea en el dorso y en los lados, abdomen con tonalidad clara blanquecina y con visos anaranjados o rojizos en la parte anterior y en las aletas (Novoa y Ramos, 1978 y González, 2001) (Fig. 3). Sus hábitos alimenticios también son omnívoros, pero a diferencia de *Colossoma macropomum*, presenta una baja capacidad de filtración, debida al poco número de branquiespinas con que cuenta. Puede alcanzar longitudes de hasta 85 cm y pesos superiores a los 20 kg (González, 2001).

Yamú

Brycon amazonicus (Spix y Agassiz, 1829)



Figura 3. Ejemplar adulto de yamú (*Brycon amazonicus*).

También conocida como *Brycon siebenthalae* (Eingenmann, 1912), esta especie se ha difundido ampliamente por todo el país, siendo considerada

como una de las más promisorias para la piscicultura comercial.

Su distribución principal es en la cuenca del Orinoco, con alta presencia en el sistema del río Guaviare. Habita en aguas claras de los caños pequeños y zonas de inundación, un poco apartadas de las corrientes principales de los ríos. No obstante, cuando se da la migración para desovar se observan en dichas corrientes (Useche *et al.*, 1993).

Es un pez de cuerpo comprimido, recubierto de escamas ciclóideas e iridiscentes, de cabeza corta y roma y área preventral redondeada (Fig. 4). Su coloración es verde azulado o gris oscuro en la región dorsal con reflejos metálicos (Lugo-Rugeles, 1989). Su hábito alimenticio es omnívoro oportunista, alimentándose de diversos ítemes de acuerdo con la época climática que se esté presentando. No obstante, su tendencia es a preferir alimentos de origen vegetal, siendo caracterizado como un macroherbívoro, dadas las características de su boca terminal y su dentadura tipo masticador-aplastador (Lugo-Rugeles, 1989 y Useche *et al.*, 1993).

A pesar de que el yamú es considerado una especie promisoriosa dentro de la piscicultura colombiana, es importante señalar que dentro del género *Brycon* existen gran cantidad de especies (Howes, 1982 y Zanata, 2000), muchas de las cuales se vislumbran como potenciales candidatas para ser cultivadas como es el caso de la dorada (*Brycon moorei*), la cual ya ha sido estudiada en la región norte del país (Otero, 1989 y Atencio-García, 2003) e inclusive es objeto de investigación en otras latitudes (Baras *et al.*, 2000a; Baras *et al.*, 2000b). Así mismo, se puede destacar la sabaleta

(*Brycon henni*), especie endémica del bajo Cauca y algunos tributarios del río San Jorge (Dahl, 1971), la cual desde hace tiempo ha sido considerada como especie potencial para acuicultura (Perdomo, 1974) y hoy en día es estudiada en el departamento de Antioquia (Tabares, 2005 y Tabares *et al.*, en prensa).

Por otro lado, en el Brasil existen varias especies del género *Brycon* que están siendo cultivadas en forma masiva (Narahara, 1994), dentro de las que se pueden destacar *Brycon orbignyanus*, *Brycon insignis*, *Brycon lundii*, *Brycon hilarii* y principalmente el denominado matrinxã (*Brycon cephalus*), especie perteneciente a la cuenca Amazónica que se ha introducido exitosamente en el resto del país y que hoy en día se ha convertido en una de las más importantes dentro de la acuicultura Brasileña (Urbinati *et al.*, 2004).

Bocachico

Prochilodus magdalenae (Steindachner, 1878)



Figura 5. Ejemplar adulto de bocachico (*Prochilodus magdalenae*)

Sin duda es una de las especies más representativas de la ictiofauna colombiana (Olaya-Nieto

et al., 2003), al punto de ser considerada emblemática en las pesquerías del río Magdalena. Aunque en los últimos años sus volúmenes de captura se han visto drásticamente disminuidos, el promedio anual durante el periodo comprendido entre 1997 y 2002 superó las 1.600 toneladas, generando beneficios económicos y de seguridad alimentaria para un sinnúmero de familias (Valderrama *et al.*, 2003).

Según Mojica y Álvarez-León (2002) se distribuye en todas las zonas bajas de los sistemas del Magdalena, Sinú y Atrato hasta aproximadamente 1.000 msnm, pudiendo llegar a los 1.500 msnm en la cuenca del río Cauca.

Es un pez de talla mediana que alcanza a crecer hasta los 50 cm. Posee una boca pequeña, carnosa y prominente provista de una serie de diminutos dientes y una espina predorsal punzante (Mojica y Álvarez-León, 2002). Su coloración es plateada uniforme, con aletas matizadas de rojo o amarillo (Fig. 5) y presenta la particularidad de poseer sus escamas rugosas al tacto.

Coporo *Prochilodus mariae* (Eigenmann, 1922)



Figura 6. Ejemplar adulto de coporo (*Prochilodus mariae*)

Conocido también como bocachico de los Llanos, es una de las especies más representativas de la ictiofauna orinocense, que posee amplia distribución y presencia en la pesquería durante todo el año, contando con gran aceptación en la región por formar parte de la dieta de las poblaciones ribereñas (Guzmán *et al.*, 1993 y Bustamante *et al.*, 1997).

Se distribuye en sistemas lóticos y lénticos de toda la cuenca del río Orinoco en Colombia y Venezuela desde la parte alta hasta su desembocadura, en todos los tributarios y en el plano inundable (Beltrán-Hostos *et al.*, 2001).

Presenta cuerpo fusiforme, suavemente comprimido lateralmente con coloración azul oscura en la parte dorsal y blanquecina centralmente (Fig. 6), con bandas oscuras verticales a lo largo del cuerpo aunque no son muy evidentes. Aletas con tonalidades rosadas en sus bordes y manchas oscuras en la aleta caudal dispuestas en líneas verticales onduladas. Boca protráctil con dientes labiales redondeados y labios gruesos a manera de ventosas que le permiten succionar el lodo. Su hábito alimenticio es iliófago detritívoro, pudiéndose encontrar en sus estómagos por lo menos 26 géneros distintos de fitoplancton y algunos rotíferos (Beltrán-Hostos *et al.*, 2001).

En términos generales, en Colombia las dos especies de *Prochilodus* descritas, son las más representativas de su familia. No obstante, existen otras importantes como *Prochilodus reticulatus*, distribuido en la cuenca del río Catatumbo y cuya pesquería supera el 40% del total de la cuenca, convirtiéndola en la especie más representativa de la región (Galvis *et al.*, 1997) y *Prochilodus*

nigricans, especie encontrada en lagos y ríos de la cuenca amazónica, específicamente en los ríos Amazonas, Caquetá y Putumayo (Castro, 1994), la cual también es representativa de las pesquerías y el consumo locales, tanto en la región colombiana (Salinas y Agudelo, 2000), como en inmediaciones de Iquitos (Perú), en donde puede superar el 44% de la captura comercial desembarcada (Montreuil *et al.*, 2002). Esta especie también es representativa de la amazonia brasileña (Eckmann, 1980), país en el que además son cultivados, entre otros, *Prochilodus marggravii* (=argenteus), *Prochilodus brevis*, *Prochilodus costatus* y *Prochilodus lineatus* (=scrofa) (Coser *et al.*, 1984; Fenerich-Verani *et al.*, 1984; Nakatani *et al.*, 2001 y Rizzo *et al.*, 2003), siendo esta última especie cultivada también en Argentina (Somoza *et al.*, 1994), en donde se conocía anteriormente con el nombre de *Prochilodus platensis* (Espinaca-Ros *et al.*, 1984 y Fortuny *et al.*, 1988).

Instalaciones necesarias

Los carácidos se comportan muy bien en estanques de tierra con profundidad de 1,20 a 1,50 m y recambio de agua permanente, superior al 15%/día, con lo cual se aseguran buenas condiciones de vida y se facilita su manejo. Una densidad de 250 a 300 g de pez/m² es recomendable para mantener reproductores en cautiverio (Wojnarovich y Horváth, 1983).

Las piletas de reproducción normalmente son circulares para facilitar el movimiento de los peces, pero se pueden usar rectangulares, con paredes lisas y suministro de agua abundante y permanente que genere corriente y ayude a estimular los peces a la maduración final. Una temperatura promedio

de $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ es adecuada para la reproducción de la mayoría de estas especies.

Reproducción

Al ser especies reofílicas, los carácidos no se reproducen espontáneamente en cautiverio, pues no encuentran las condiciones medioambientales propicias para hacerlo. Por esta razón es indispensable inducir el proceso aplicando las técnicas convencionales de inducción hormonal (Zaniboni y Nuñez, 2004). Para este propósito es indispensable que los reproductores estén maduros, siendo requisito obligatorio para el productor el conocimiento de los parámetros que indican dicho estado.

Maduración

En condiciones naturales la maduración de los carácidos que actualmente se están utilizando en piscicultura ocurre generalmente en caños y lagunas en época previa al inicio del período de lluvias, terminando el proceso de vitelogénesis. Cuando se comienza la temporada lluviosa, el caudal de los ríos se incrementa y las condiciones ambientales y limnológicas se alteran, las especies realizan grandes migraciones reproductivas en grupo, tiempo durante el cual tiene lugar la maduración final, el apareamiento y el desove en el cauce principal de los ríos.

La primera madurez gonadal depende de la especie y el sexo de los individuos, no pudiéndose generalizar para todos los miembros del grupo (Tabla 1). Generalmente, la maduración ocurre una vez por año, aunque en cautiverio por manejo y domesticación, especies como la cachama y el

Tabla 1. Edad de primera maduración y número promedio de óvulos maduros por kg de ovario en algunas especies de carácidos cultivados comercialmente.

Especie	Machos (años)	Hembras (años)	Óvulos/kg ovario
Cachama blanca	3	4	1.200.000
Cachama negra	3-4	4-5	1.338.000
Yamú	1,5-2	2-3	1.200.000
Dorada	2	2-3	1.200.000
Bocachico	1	1,5-2	1.150.000

bocachico del Magdalena puedan presentar madurez gonadal varias veces al año.

En especies como la cachama, normalmente se pueden observar hembras maduras a lo largo del año, pero no ocurre lo mismo con los machos. Para solucionar este inconveniente se puede criopreservar semen de la época normal de maduración y utilizarlo posteriormente (Cruz-Casallas *et al.*, 2004). Para reproducción en seco también es posible coleccionar semen y almacenarlo unas pocas horas refrigerado a 4°C.

Selección de reproductores

En la mayoría de los carácidos no se observa dimorfismo sexual, exceptuando la época de madurez gonadal, cuando son evidentes algunas características que permiten identificar el sexo de los individuos. Por ejemplo, los machos de bocachico usualmente roncan y algunos *Brycon* alteran la aleta anal volviéndose áspera al tacto cuando están maduros, de igual manera, en ocasiones los machos de cachama blanca también roncan mientras se aparean. Duran-

te la época reproductiva, en todas las especies, las hembras presentan características sexuales secundarias como abdomen abultado y blando, papila agrandada y enrojecida y los machos liberan semen por leve presión abdominal (Woynarovich y Horváth, 1983 y Bezzerra da Silva, 1989).

Los peces deben ser manejados con redes sin nudos, transportados individualmente a las piletas de reproducción en recipientes adecuados, de manera que se evite estrés y no se afecte el proceso de reproducción en cautiverio.

Es posible hacer muestreo de huevos mediante biopsia ovárica, empleando para ello sondas plásticas o punción en el abdomen (Ciasullo, 2003), con el propósito de obtener muestras de oocitos, los cuales al ser sumergidos en una solución denominada líquido de Serra, aclararán su citoplasma pudiendo ser verificada la posición del núcleo (Fig. 7), siendo este el parámetro el más utilizado para seleccionar las hembras para la inducción.

Los machos presentan vientre comprimido y dejan fluir el semen cuando se les presiona el ab-

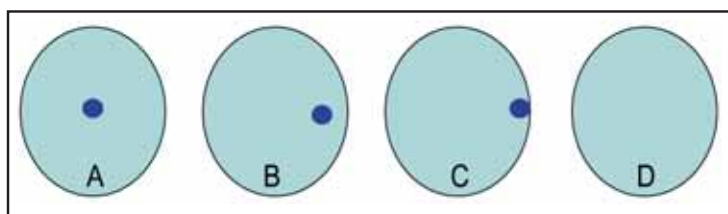


Figura 7. Representación esquemática de la posición del núcleo en los oocitos. A. central; B. en migración; C. periférico; D. ausente.

domen. Se debe tener en cuenta que los machos aptos para el desove presentan semen viscoso y de color lechoso. Individuos con semen muy fluido y transparente deben evitarse.

Inducción a la reproducción

En caso de encontrar hembras con oocitos maduros se procede a desarrollar los protocolos hormonales establecidos para la inducción a la maduración final y el desove, mediante el uso de hormonas liberadoras o gonadotrópicas según la especie y el protocolo a utilizar.

Aunque se ha obtenido éxito en la reproducción de carácidos utilizando gonadotropina coriónica humana (hCG), LH-RH y Ovaprim®, entre otros (Amutio *et al.*, 1986; Carosfeld *et al.*, 1988; Harvey y Carosfeld, 1993 y Atencio-García, 2003), el agente inductor más utilizado para inducir con éxito la maduración final y el desove en cautiverio de carácidos es el extracto de pituitaria (hipófisis) de carpa (EPC) (Godinho y Godinho, 1986 y Sato *et al.*, 2000), el cual se puede adquirir con relativa facilidad en el comercio. Las dosis varían entre 5.5 y 8 mg de EPC por kilogramo de peso vivo de la hembra, generalmente suministrado en dos inyecciones que se aplican con intervalos de entre 10 y 18 horas. En los machos se puede realizar o no inducción. En caso de llevarla a cabo se debe realizar simultáneamente con la segunda inyec-

ción de la hembra y siempre en dosis menores. La tabla 2 presenta un resumen de los principales tratamientos hormonales utilizados para la inducción a la reproducción en peces colombianos.

Cualquiera que sea el inductor a utilizar, debe ser disuelto en solución salina (suero fisiológico) o en agua destilada tratando de utilizar la menor cantidad de líquido que sea posible. Cuando se utilizan hipófisis enteras es recomendable agregar una gota de glicerina antes de adicionar la solución salina, con el propósito de facilitar la maceración de la hipófisis, proceso que por lo general se debe realizar en un mortero de porcelana.

La administración de las hormonas puede ser intramuscular o intraperitoneal (Fig. 8), siendo preferible la segunda opción. Sin embargo, cualquier vía es válida y su utilización va a depender de la habilidad y experiencia del personal encargado de la reproducción.

Debido a que el período de latencia de los óvulos es muy corto, es importante monitorear la temperatura del agua para determinar el momento exacto de la ovulación, utilizándose para ello una unidad denominada horas grado que consiste en medir cada hora la temperatura del agua después de la última inyección y hasta la completa ovulación. Las temperaturas se van sumando para obtener las horas grado, cuyo valor es propio para cada especie (Tabla 3).

Tabla 2. Tratamientos hormonales utilizados en la reproducción inducida de los principales peces migratorios continentales cultivados en Colombia.

Especie	Sustancia inductora	1ª dosis	Intervalo	2ª dosis
	EPC	0.5 mg/kg	12 h	5.0 mg/kg
	EPC	0.4-0.6 mg/kg	6-14 h	4.0-6.0 mg/kg
Bocachico*	hCG (Primogonyl®)	2.000 UI/kg	12 h	3.000 UI/kg
	LH-RH (D-Ala ⁶ desGly)	10 µ/kg	única	
	Ovaprim®	0.3-0.7 ml/kg	única	
Brycon*	EPC	0.5-0.4 mg/kg	12h	4.0-5.0 mg/kg
	hCG (Primogonyl®)	400 mg/kg	12h	600 UI/kg
	EPC	0.5 mg/kg	12h	5.0 mg/kg
	EPC	0.6 mg/kg	12h	6.0 mg/kg
Cachamas*	LH-RH (D-Ala ⁶ desGly)	10 µg/kg	única	
	LH-RH (D-Ala ⁶ desGly)	1.5 mg/kg	12h	15 µg/kg
Leporinos	EPC	0.5 mg/kg	12h	5.0 mg/kg
	EPC	0.3-0.7 mg/kg	12h	3.0-5.0 mg/kg

* Los machos de estas especies reciben una dosis entre el 50-80% de la dosificación total de las hembras.
Fuente: Atencio-García (2003).

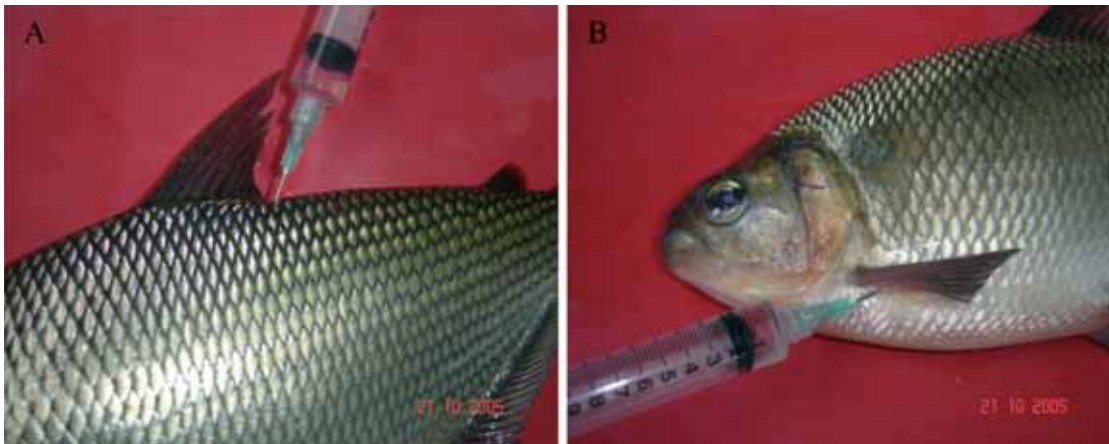


Figura 8. Vías de administración de los agentes inductores. A. intramuscular; B. intraperitoneal

Desove seminatural

Transcurridas las horas grado correspondientes para cada especie tiene lugar el desove, el cual puede ser de tipo seminatural o en seco.

La fertilización puede realizarse en forma seminatural dejando que ocurra el cortejo y apareamiento.

Tabla 3. Dosificación, intervalos entre aplicaciones, horas grado para el desove y tipos de desove para algunos carácidos inducidos con EPC.

Especie	Dosis mg/kg (EPC)	Intervalo	Horas grado	Tipo de desove
Cachama negra	0.5-5	12-18	240-270	Seco
Cachama blanca	0.5-5	12-18	240-270	Seco o Seminatural
Yamú	0.5-5	12	120-150	Seco
Dorada	0.5-5	12	120-150	Seco
Bocachico	2-6	12	240-270	Seco o Seminatural

miento para luego recoger los huevos hidratados e incubarlos. Para ello se deben tener trampas adecuadas para la colecta y cuantificación de huevos. Especies como la cachama y el bocachico se aparean con facilidad en las piletas de manejo.

Desove en seco o por extrusión

Consiste en la “extracción” de los productos sexuales en hembras y machos, proceso que se puede realizar con todos los carácidos que se manejan en piscicultura, incluidas las cachamas y el bocachico. Para el desove en seco se debe tener a la mano elementos adecuados como toallas, recipientes plásticos, plumas y en ocasiones anestésicos que facilitan el manejo de los animales, siendo el más utilizado el metasulfonato de tricaina, comúnmente conocido como MS-222 (Roubach *et al.*, 2000).

Cuantificadas las horas grado correspondientes para cada especie y observando el comportamiento que algunas de ellas tienen, como ronquido en machos de bocachico, natación más rápida en cachama y yamú, aletargamiento de

las hembras cuando están ovulando, entre otros, se procede a capturar las hembras, anestesiárlas, secarlas completamente y extraerles los óvulos, los cuales deben fluir libremente al hacer una leve presión abdominal (Fig. 9). Inmediatamente se procede de igual manera con los machos, dejando caer el semen sobre los óvulos para luego mezclarlos con ayuda de una pluma. Posteriormente se adiciona un poco de agua limpia, se homogeneiza la mezcla y se agrega más agua para que los huevos se hidraten, antes de colocarlos en las incubadoras, cuya agua debe estar a la misma temperatura que la del recipiente que contiene los huevos.

**Figura 9.** Desove en seco de *Piaractus brachyomus*

Incubación

Debido a que la mayoría de las especies de carácidos utilizadas en acuicultura presentan huevos pelágicos, la incubación se realiza en incubadoras cónicas de flujo ascendente, conocidas popularmente como Agrover-Woynarovich (Fig. 10). En dichas estructuras tiene lugar el desarrollo embrionario, el cual determina el tiempo de incubación, que por lo general varía entre 12 y 18 horas de acuerdo con la especie, siendo más acelerado en las especies del género *Brycon* y más lento en las cachamas. Otro parámetro importante que determina la duración de la incubación es la temperatura del agua, la cual debe estar en torno de 27°C, siendo que el proceso será más lento cuanto menor sea la temperatura. La cantidad de huevos que se debe colocar por cada incubadora de 200 litros es máximo de 3 a 4 litros de huevos hidratados, los cuales permanecerán en las incubadoras hasta la eclosión de las larvas y en ocasiones hasta la reabsorción del saco vitelino (2-5 días después).



Figura 10. Incubadoras cónicas de flujo ascendente de agua.

Es importante señalar que en las incubadoras se debe realizar la medición del porcentaje de fertilización, la cual se debe determinar aproximadamente 6 a 7 horas después de iniciada la incubación, tiempo en el cual se espera que los embriones estén en la fase de cierre del blastoporo, pues para entonces la cuantificación de la fertilización es más confiable. De igual manera se debe calcular el porcentaje de eclosión de las larvas.

BIBLIOGRAFÍA

- AMUTIO, V.G.; A.E. ROS Y A. FORTUNY. 1986. Field-induced breeding of the dorado, *Salminus maxillosus* Valenciennes. *Aquaculture*, 59 (1): 15-21
- ARAÚJO-LIMA, C. Y M. GOULDING. 1997. *So Fruitful a Fish: Ecology, Conservation, and Aquaculture of the Amazons Tambaqui*. Columbia University Press. New York, USA.
- ATENCIO-GARCÍA, V.J. 2003. Producción de alevinos de peces migratorios continentales en Colombia. CIVA 2003 (<http://www.civa2003.org>), 263-270.
- BARAS, E.; M. MAXY; M. NDAO Y C. MÉLARD. 2000a. Sibling cannibalism in dorada under experimental conditions. II. Effect of initial size heterogeneity, diet and light regime on early cannibalism. *Journal of Fish Biology*, 57: 1021-1036.
- BARAS, E.; M. NDAO; M. MAXI; D. JEANDRAIN; P. THOME; P. VANDEWALLE Y C. MÉLARD. 2000b. Sibling cannibalism in dorada under experimental condition. I. Ontogeny, dynamics, bioenergetics of cannibalism and prey size selectivity. *Journal of Fish Biology*, 57: 1001-1020.
- BELTRÁN-HOSTOS, D.P.; R.E. AJIACO-MARTÍNEZ Y H. RAMÍREZ-GIL. 2001. *Prochilodus mariae*. 96-99p. En: Ramírez-Gil, H y R.E. Ajiaco-Martínez (Eds). *La pesca en la baja orinoquia: Una visión integral*. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura, INPA Bogotá, D.C., Colombia. 255p.

- BEZZERRA DA SILVA, A. 1989. Reproducción de colossomas. En: Juárez-Palacios, J.R. (Editor). Avances en el cultivo de peces del género *Colossoma*. FAO-ITALIA. GCP/RLA/102/ITA PROYECTO AQUILA II. Documento de campo No.5. 242p.
- BUSTAMANTE, L.F.; L.G. QUINTERO Y N. MARTÍNEZ. 1997. Desarrollo larval del coporo, *Prochilodus mariae*, en estanques abonados y con suplemento alimenticio. *Dahlia*, 2: 65-69.
- CAMARGO, A.C.S.; M.V. VIDAL; J.L. DONZELE; D.R. ANDRADE Y L.C. SANTOS. 1998. Níveis de energia metabolizável para tambaqui (*Colossoma macropomum*) dos 30 aos 180 gramas de peso vivo. 1. Composição das carcaças. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 27 (3): 409-415.
- CAROLSFELD, J.; S.M. RAMOS; R. ORMANEZI; J.H. GOMES; J.M. BARBOSA Y B. HARVEY. 1988. Analysis of protocols for application of an LHRH analog for induced final maturation and ovulation of female pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887). *Aquaculture*, 74, (1-2): 49-55.
- CASTRO, E. D. M. 1994. Peces del río Putumayo, sector de Puerto Leguizamo, Corporación Autónoma del Putumayo, 174 p.
- CIASULLO, G.M. 2003. Contribución al diagnóstico del desarrollo gonadal para la inducción de Cachama (*Colossoma macropomum*). *CIVA* (<http://www.civa2003.org>), 217-222.
- COSER, A.M.; H. GODINHO Y D. RIBEIRO. 1984. Cryogenic preservation of spermatozoa from *Prochilodus scrofa* and *Salminus maxillosus*. *Aquaculture*, 37 (4): 387-390.
- CRUZ-CASALLAS, P.E.; S.P. PARDO-CARRASCO; J.A. ARIAS-CASTELLANOS; P.E. LOMBO-CASTELLANOS; D.A. LOMBO-RODRÍGUEZ Y J.E. PARDO-MARIÑO. 2004. Cryopreservation of Yamú *Brycon siebenthalae* Milt. *Journal of the World Aquaculture Society*, 35 (4): 529-535.
- DAGET, J.J.-P. GOSSE, Y D.F.E. THYS VAN DEN AUDENAERDE. 1984. Check-list of the freshwater fishes of Africa (Cloffa). Volume I, pp. 138-216. ORSTOM and MRAC, Paris and Tervuren.
- DAHL, G. 1971. Los peces del Norte de Colombia. INDERENA, Bogotá, D. E. (Colombia), 391p.
- ECKMANN, R. 1980. Induced reproduction in *Prochilodus nigricans* (Agassiz 1829) from the upper Amazon. *Aquaculture*, 20 (4): 381-383.
- ECKMANN, R. 1984. Induced reproduction in *Brycon cf. erythropterus*. *Aquaculture*, 38 (4): 379-382.
- ESPINACH ROS, A.; A. FORTUNY Y V.G. AMUTIO. 1984. Induced breeding of the sabalo, *Prochilodus platensis* Holmberg. *Aquaculture*, 41 (4): 385-388.
- FENERICH-VERANI, N.; H.M. GODINHO Y M.Y. NARAHARA. 1984. The size composition of the eggs of curimbatá, *Prochilodus scrofa* Steindachner 1881, induced to spawn with human chorionic gonadotropin (HCG). *Aquaculture*, 42 (1): 37-41.
- FORTUNY, A.; A.E. ROS Y V.G. AMUTIO. 1988. Hormonal induction of final maturation and ovulation in the sábalo, *Prochilodus platensis* Holmberg: Treatments, latency and incubation times and viability of ovules retained in the ovary after ovulation. *Aquaculture*, 73 (1-4): 373-381.
- GALVIS, G.; J.I. MOJICA Y M. CAMARGO. 1997. Peces del Catatumbo. Asociación Cravo Norte. Bogotá, D. C., Colombia. 118p.
- GODINHO, H.P. Y A.L. GODINHO. 1986. Induced spawning of the pacu, *Colossoma mitrei* (Berg 1895), by hypophysation with crude carp pituitary extract. *Aquaculture*, 55 (1): 69-73.
- GOMES, L.C.; R. ROUBACH Y C. ARAUJO-LIMA. 2002. Transportation of tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*) in Amazon: Main problems. *World Aquaculture*, 33: 51-53.
- GONZÁLEZ, R. 2000. La cachama blanca. *Revista ACUIORIENTE*, 8: 8-10.
- GONZÁLEZ, R. 2001. El cultivo de la cachama. 329-346p. En: Rodríguez, H.; P. Victoria y M. Carrillo (Eds). *Fundamentos de Acuicultura Continental*. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura, INPA, Bogotá, D. C. (Colombia). Segunda edición, 423p.
- GONZÁLEZ, Y. J. A. Y B. HEREDIA. 1989. El cultivo de la cachama (*Colossoma macropomum*), Maracay, Ven. FONAIAP, Estación Experimental Guárico, Sub-Estación Guanapito. 124p.
- GUZMÁN, R.; A. REYES; M. BARRETO Y G. GÓMEZ. 1993. Contenido de cobre en el coporo (*Prochilodus mariae*) y en el caribe (*Serrasalmus*

- rhombeus*) da laguna grande, Estado Monagas. Nota Técnica. Zootecnia Tropical, 11(1): 59-69.
- HARVEY, B. Y J. CARLOSFELD. 1993. Induced breeding in tropical fish culture, Ottawa, Ont., IDRC, 144p.
- HOWES, G. 1982. Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei). Bull. Br. Mus. Nat. Hist (Zool), 43 (1): 1-17.
- LUGO-RUGELES, M. 1989. Determinación de hábitos alimenticios, madurez sexual y desove en tres especies ícticas de la cuenca del río Tomo (Vichada) y consideraciones para el mantenimiento de padrotes. Informe final. Unillanos, Villavicencio, 125p.
- MOJICA, J.I. Y R. ÁLVAREZ-LEÓN. 2002. *Prochilodus magdalenae*. 91-96p. En: Mojica, J.I.; C. Castellanos.; S. Usma. y R. Álvarez-León (Eds.). Libro rojo de especies dulceacuícolas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente, Bogotá, Colombia.
- MONTREUIL, V.; A. GARCÍA Y R. RODRÍGUEZ. 2002. Biología reproductiva del boquichico, *Prochilodus nigricans* Agassiz, 1829 en la amazonia peruana. Boletín Científico INPA, 7: 227-238.
- NAKATANI, K.; A. AGOSTINHO; G. BAUMGARTNER; A. BIALETZKI; P. VANDERLEI; M. CAVICCHIOLI Y C. SIMONE. 2001. Ovos e larvas de peixes de água doce. Universidade Estadual de Maringá. Brasil.
- NARAHARA, M. 1994. Pesquisas sobre a criação de espécies do gênero *Brycon* no Instituto de Pesca. 5-8p. En: Anais I Seminario sobre criação de espécies do gênero *BRYCON*. Pirassununga-SP Brasil. 79p.
- NOVOAD Y F. RAMOS. 1978. Las pesquerías comerciales del río Orinoco, Corporación venezolana de Guyana, 161p.
- OLAYA-NIETO, C.W.; F.F. SEGURA-GUEVARA; S.B. BRÚ-CORDERO Y H.M. BLANCO-VIELLAR. Biología reproductiva del Bocachico (*Prochilodus magdalenae* Steindachner, 1878) en el río Sinú (Colombia). *CIVA 2003* (<http://www.civa2003.org>), 727-734.
- ORTÍ, G. Y A. MEYER. 1997. Molecular evolution of ependymin and the phylogenetic resolution of early divergences among teleost fishes. *Molecular Biology and Evolution*, 13 (4): 556-573.
- OTERO, R. 1989. Reproducción y técnicas de propagación de la dorada *Brycon moorei sinuensis*. Memorias Segunda reunión Red Nacional de Acuicultura. COLCIENCIAS. Bogotá, D.C., Colombia. 157-168p.
- PERDOMO, J.M. 1974. La sabaleta (*Brycon henni*, Eingenmann 1913); Observaciones bioecológicas y su importancia como especie de cultivo. *Revista Divulgación pesquera*, 11 (1): 1-32.
- RIZZO, E.; H. GODINHO E Y. SATO. 2003. Short-term storage of oocytes from the neotropical teleost fish *Prochilodus marggravii*. *Theriogenology*, 60: 1059-1070
- ROUBACH, R Y U. SAINT-PAUL. 1994. Use of fruits and seeds from Amazonian inundated forest in feeding trials with *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Pisces: Characidae). *Journal of Applied Ichthyology*, 10: 134-140.
- ROUBACH; R.; L.C. GOMES; A.R.CHIPPARI-GOMES; A.M.OLIVEIRA; N.A.SARAIVA Y A.L.VAL. 2000. Induction and recovery from anesthesia in juveniles of matrinxã, *Brycon cephalus*, exposed to tricaine methane sulfonate (MS-222). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 126: S1-S108
- SAINTE-PAUL, U. 1986. Potential for aquaculture of South American freshwater fishes: A review. *Aquaculture*, 54 (3): 205-240
- SALINAS, Y. Y E. AGUDELO. 2000. Peces de importancia económica en la cuenca amazónica colombiana. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas. Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá, D.C., Colombia. 140p.
- SATO, Y.; N. FENERICH-VERANI; J.R. VERANI; L.J.S. VIEIRA Y H.P. GODINHO. 2000. Induced reproductive responses of the neotropical anostomid fish *Leporinus elongates*. Val. under captive breeding. *Aquaculture Research*, 31: 189-193.
- SOMOZA, G.M.; A. STÉFANO; J.L. D'ERAMO; L.F. CANOSA Y O. FRIDMAN. 1994. Immunoreactive GnRH Suggesting a Third Form of GnRH in Addition to cIIGnRH and sGnRH in the Brain and Pituitary Gland of *Prochilodus lineatus* (Characiformes). *General and Comparative Endocrinology*, 94 (1):44-52.

- TABARES, C.J. 2005. Evaluación del efecto de algunos iones sobre la activación de la movilidad espermática y el potencial de membrana en *Brycon henni* (Eigenmann 1913). Tesis de maestría, Grupo: Reproducción, Fisiología y Biotecnología, Corporación BIOGÉNESIS, Corporación Ciencias Básicas Biomédicas, Universidad de Antioquia. Medellín-Colombia. 66p.
- TABARES, C.J.; L. ARBOLEDA Y M. OLIVERA-ÁNGEL. En prensa. Evaluación del efecto de algunos iones sobre la activación de la movilidad espermática y el potencial de membrana en *Brycon henni* (Eigenmann 1913).
- URBINATI, E.C.; J.S. ABREU; A.C. CAMARGO Y M.A. LANDÍNEZ. 2004. Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*, Characidae) at various densities. *Aquaculture*, 229: 389-400.
- USECHE, C.; P. CALA Y H. HURTADO. 1993. Sobre la ecología de *Brycon siebenthalae* y *Mylossoma duriventris* (Piscis: Characidae), en el río Cafre, Orinoquia. *Revista Caldasia*, 17 (2): 341-352.
- VALDERRAMA, M.; D. SOLANO; O. RUÍZ; S. VEJARANO; M. MOGOLLÓN Y L. ÁLVAREZ. 2003. Evaluación de la captura y esfuerzo pesquero en el río Sinú. 57 p. En: Olaya-Nieto, C.W. y V.J. Atencio (Eds.). *Memorias VII Simposio colombiano de ictiología*, Montería, Colombia.
- WOYNAROVICH, E. Y L. HORVÁTH, 1983. A propagação artificial de peixes de águas tropicais. *Brasilia: FAO/CODEVASF/CNPq*. 220p.
- ZANATA, A. 2000. Estudo das relações filogenéticas do gênero *Brycon* Müller y Troschel, 1844 (Characidae; Characiformes). Tesis de doctorado. Instituto de Biociências de la Universidad de São Paulo Brasil. 358 p.
- ZANIBONI-FILHO, E. Y A. P. NUÑER. 2004. Fisiologia da reprodução e propagação artificial dos peixes. 45-73 p. En: Cyrino. J.E.P.; E.C. Urbinati.; D.M. Fracalossi. y N. Castagnolli (Eds.) *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*. Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática.

PREPRODUCCIÓN Y MANEJO DE SILÚRIDOS EN CAUTIVERIO

José Ariel Rodríguez Pulido¹ y Hermes Orlando Mojica Benítez²

Introducción

Los Siluriformes son un orden de peces de gran importancia neotropical, su distribución es muy amplia al igual que una gran diversidad de formas; después de los Carácidos es el grupo con mayor número de especies de agua dulce en América (Galvis *et al.*, 1997).

Actualmente se conocen más de 2.400 especies con más adaptaciones morfológicas y fisiológicas que los otros grupos y algunas especies se distribuyen ampliamente en aguas estuarinas y marinas en todos los continentes.

En las cuencas de Amazonas y Orinoco, los Silúridos son especies de gran importancia comercial y se agrupan en grandes, medianos y pequeños bagres que son el soporte de la pesquería de estas regiones. Como consecuencia de la pesca y el deterioro ambiental de las cuencas, las poblaciones naturales se han venido disminuyendo y se ha mirado a la acuicultura como una alternativa, no solo para producción de peces en cautiverio, sino como una vía para la producción de semilla destinada al repoblamiento del medio natural que de alguna manera contribuya a la permanencia de las especies y sostén de la pesca comercial y artesanal.

Acciones continuas en desarrollo tecnológico de la acuicultura en Colombia se han venido implementando y ajustando en la última década con las ca-

¹ Biólogo, M. Sc. Profesor Universidad de los Llanos. Asesor Aquiprimavera. jarodriguez@unillanos.edu.co

² Biólogo marino. Asesor Particular en Acuicultura. hmojicab@yahoo.com

chamas *Piaractus brachypomus*, *Colossoma macropomum*, los bocachicos *Prochilodus mariae*, *Prochilodus reticulatus*, el yamú *Brycon siebenthalae* y la dorada *Brycon moorei*; de igual manera se han ajustado tecnologías en manejo de especies exóticas como Salmónidos, Ciprínidos y Cíclidos que han permitido desarrollar la piscicultura continental en el país.

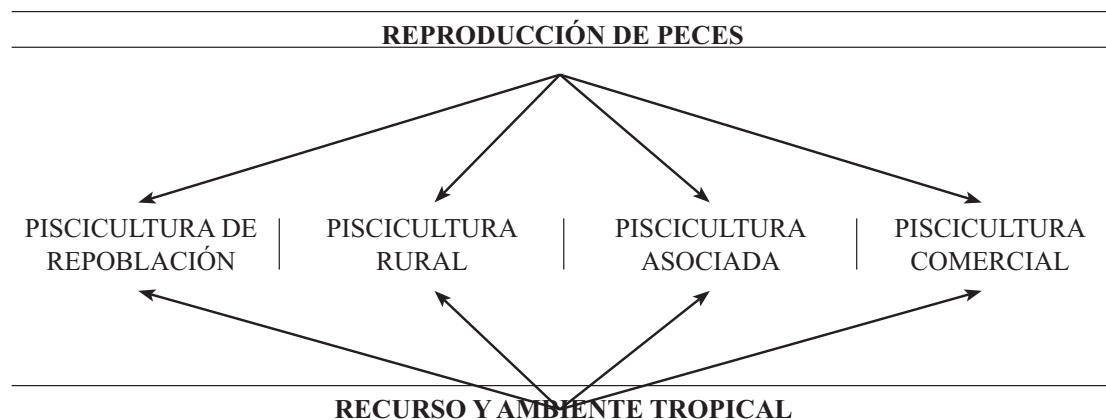
Con los bagres a pesar de su importancia comercial, el desarrollo piscícola ha sido más lento y mientras que en Norteamérica, Europa y Asia se han desarrollado industrias piscícolas con bagres nativos de esas latitudes como el *Ictalurus punctatus* y los *Clarias* africanos, en países como Brasil, Argentina, Venezuela y Colombia, entre otros, se han venido desarrollando tecnologías de producción en cautiverio de algunos bagres sudamericanos como el rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*), sorubim (*Pseudoplatystoma corruscans*), cajaro (*Phractocephalus hemioliopus*), blanquillo (*Surubim lima*), mapurito (*Callophrys macropterus*), yaque (*Leiarius marmoratus*),

amarillo (*Paulicea luetkeni*), tigrillo (*Pimelodus pictus*), nicuro (*Pimelodus blochii*), capitán de la sabana (*Eremophylus mustisii*), jundiai (*Rhamdia quellen*) y la barbilla (*Rhamdia sebae*) (Fig. 1).



Figura 1. Diferentes especies de bagres de la Orinoquia y la Amazonia (Foto H. Ramírez)

Con una diversidad ictica tan grande y un deterioro creciente del medio acuático, la reproducción de bagres potencializa el abanico de posibilidades para la producción acuícola enfocada en diferentes vías, así:



En este grupo se han trabajado con diferente grado de éxito algunas de las especies de consumo ya mencionadas como el rayado, *Pseudoplatystoma fasciatum*; el yaque, *Leiarius marmoratus* y

el blanquillo, *Surubim lima*, entre otros. Algunos aspectos sobre el manejo en cautiverio y la reproducción inducida, larvicultura, alevinaje y cría de bagres serán tratados en el presente capítulo, des-

cribiendo algunas de las experiencias y resultados obtenidos por los autores durante los últimos años en desarrollo de programas de investigación.

Generalidades

Los Siluriformes representan el cuarto orden dentro de los vertebrados y dentro de los *Ostariophysi*, son el grupo de peces más diversificados y extensamente distribuidos a nivel mundial, sobre todo en las aguas continentales, con más de 30 familias, 412 géneros y cerca de 2.400 especies (Pinna, 1998). En Sur América se encuentran en todas las cuencas hidrográficas y ocupan el segundo lugar después de los Caraciformes (Escobar, 2001), en Colombia Cala *et al.* (1996) reportan 12 familias.

Morfológicamente el grupo se caracteriza por carecer de escamas, cuerpo desnudo o con placas o escudos óseos, cuerpo cilíndrico, algunos son muy alargados y otros anguiliformes. Con barbillas en la región oral, nasal y/o mentoniana, cuando están presentes las aletas pélvicas se ubican en posición abdominal, pueden tener o no aleta adiposa (Provenzano, 1980 y Galvis *et al.*, 1997). Los dientes dispuestos en forma de parches o almohadillas, cintura escapular bien desarrollada y unida al cráneo, aletas pectorales y dorsal con el primer radio modificado en una espina, que en algunas especies es aserrada, punzante y venenosa. Vejiga natatoria de gran variedad de formas y conectada al tubo digestivo (Galvis *et al.*, 1997).

Dentro de los Siluriformes, unas de las familias más representativas es la Pimelodidae que vive exclusivamente en aguas dulces. Después la familia Loricariidae es ecológicamente la más rica

en especies y al mismo tiempo la más importante como recurso pesquero (Escobar, 2001). Se conocen más de 60 géneros que abarcan alrededor de 300 especies distribuidas desde México hasta Argentina (Tallarico, 1997 y Galvis *et al.*, 1997) y a esta pertenecen los bagres más grandes conocidos.

La mayoría de los Pimelodidae frecuentan los fondos de ríos y quebradas de aguas turbias y muy pocos son habitantes permanentes de ambientes pantanosos o lacustres, suelen realizar migraciones alimenticias o reproductivas y son de hábitos nocturnos o crepusculares. Son los bagres de mayor valor económico en las pesquerías del Orinoco y Amazonas, generalmente representados por especies de gran tamaño pertenecientes a los géneros *Brachyplatystoma*, *Goslinia*, *Phractocephalus*, *Pseudoplatystoma*, *Paulicea*, *etc.*, todos ellos con hábitos predominantemente carnívoros y especies de menor tamaño o “medianos bagres”, de hábitos omnívoros, de los géneros *Callophysus*, *Leiaris*, *Pimelodus*, *Pinirampus*, *Sorubim*. El género *Hipophthalmus* está conformado por bagres filtradores. (Winemiller y Taphorn, 1989 y Agudelo *et al.*, 2000).

Por efectos de sobrepesca y principalmente por el deterioro ambiental de las cuencas hidrográficas, los volúmenes de captura han venido disminuyendo en los últimos años, observándose que algunas especies como el valentón (*Brachyplatystoma filamentosum*), ya casi no se reportan en las capturas en el río Meta.

Como aporte a la protección de los bagres, la acuicultura desde hace algunos años ha enfocado parte de la investigación estatal y privada a la re-

producción en cautiverio de algunas especies de bagres, como el rayado (*P. fasciatum*), cajaro (*P. hemiliopterus*), blanquillo (*Surubim lima*), mapurito (*C. macropterus*), yaque (*L. marmoratus*), amarillo (*P. luetkeni*), nicuro (*P. blochii*) y se han obtenido resultados positivos en dosis hormonales, desarrollo embriológico, larvicultura, alevinaje y algunas experiencias en levante y engorde de estos bagres, al igual que repoblamiento en cuerpos de agua en pro de la recuperación de las poblaciones naturales.

Especies de bagres manejadas en cautiverio

Rayado
Pseudoplatystoma fasciatum (Linnaeus, 1766)

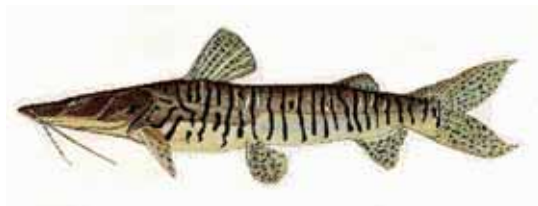


Figura 2. Bagre rayado, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Dibujo Archivo INCODER)

Bagre de amplia distribución en la mayor parte de América tropical y subtropical, de alto valor comercial por la calidad de su carne, alcanza tallas de más de 126 cm de longitud estándar, realiza migraciones y se reproduce en el canal principal del río (Ramírez y Ajiaco, 1995 y Castro, 1994).

Es un pez de piel desnuda, cuerpo fusiforme, cabeza deprimida con bordes laterales casi rectos, fontanela relativamente corta y superficial

en la parte dorsal de la cabeza. Posee tres pares de barbillones, un par maxilar negro y dos pares mentonianos blancos, las aletas pectorales y dorsal poseen una espina dura, aserrada y punzante que contiene ictiotoxina. (Campos, 2002; Ramírez y Ajiaco, 1995 y Ajiaco *et al.*, 2002).

Presenta diferentes coloraciones, pero generalmente son grises en el dorso y blancos ventralmente, con bandas claras y oscuras transversales perpendiculares al cuerpo y separadas entre sí. Hábitos nocturnos con dieta piscívora. En la Orinoquia las mayores capturas se registran durante la época reproductiva que se inicia con el comienzo del período lluvioso en abril-mayo de cada año (Ramírez y Ajiaco, 1995).

Cajaro
Phractocephalus hemiliopterus (Bloch y Schneider, 1801)

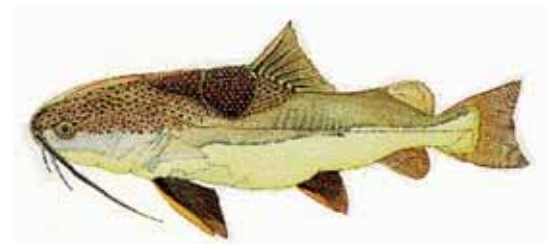


Figura 3. Cajaro, *Phractocephalus hemiliopterus* (Dibujo Archivo INCODER)

Coloración de las aletas rojiza, cuerpo amarillo con una franja lateral amarilla de borde rojo y negro, cabeza tan ancha como larga con un proceso occipital más ancho que la cabeza, placa dorsal igualmente ancha pero sin fusionarse. Los barbicelos maxilares no sobrepasan la aleta dorsal, aleta adiposa distalmente radiada, alcanza tallas hasta de 1.2 m y un peso de 80 kg.

Se encuentra ampliamente distribuido en la Orinoquia y la Amazonia, habitando el canal principal del río y las zonas inundables, hábitos carnívoros, carroñero, pero se alimenta ocasionalmente de frutos y crustáceos. Se adapta fácilmente al consumo de concentrados artificiales y se ha logrado con éxito su reproducción en cautiverio (Rodríguez, 1994).

Blanquillo o cucharo

Sorubim lima (Bloch y Schneider, 1801)



Figura 4. Blanquillo o cucharo, *Sorubim lima* (Dibujo Archivo INCODER)

Bagre de tamaño moderado que alcanza 80 cm, predador, migratorio de distribución en las cuencas Amazonas, Orinoco y La Plata (Castro, 1994). Cabeza plana, mandíbula superior más larga que la inferior, ojos en posición lateral, los barbicelos maxilares no sobrepasan la aleta dorsal, aleta adiposa más corta que la anal. Presenta una banda lateral oscura desde el hocico hasta la aleta caudal (Galvis *et al.*, 1997).

Pez de actividad nocturna, se alimenta de pequeños crustáceos, lombrices y de otros animales de fondo.

Desde 1993 se ha logrado su manejo y reproducción en cautiverio e inclusive se han comercializado híbridos con *P. fasciatus* con fines de cultivo. (Yepes *et al.*, 1993).

Mapurito o Simí

Calophysus macropterus (Lichtenstein, 1819)

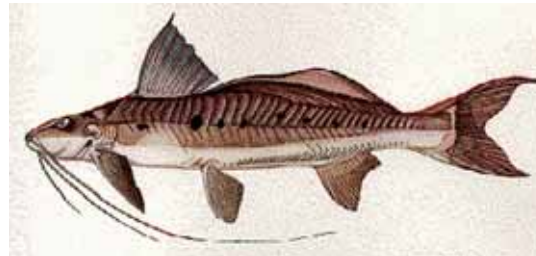


Figura 5. Mapurito, *Calophysus macropterus* (Dibujo Archivo INCODER)

Migratorio, carroñero y predador (Castro, 1994), tamaño moderado, alcanzando hasta 60 cm y peso de 5 lb, cuerpo cubierto por piel lisa de color gris verdoso con visos azulados hacia el dorso y manchas redondeadas de color negro y tamaño variable distribuidas en forma irregular en los flancos, seis barbillones cilíndricos, dos maxilares y cuatro mentonianos, sin espinas aserradas en las aletas y con una aleta adiposa muy larga (Martínez, 1981).

Se ha manejado en cautiverio y muestra grandes dificultades en la maduración de los machos (Alonso e Ibarra, 1991 y Acevedo y Barbosa, 1993).

Yaque

Leiarius marmoratus (Gill, 1870)



Figura 6. Yaque, *Leiarius marmoratus* (Dibujo Archivo INCODER)

Especie migratoria distribuida en los ríos de aguas blancas de las cuencas Orinoco y Amazonas, de hábitos omnívoros con amplio espectro trófico de origen vegetal y animal. Tamaño mediano con rangos de 29 a 58 cm y reproducción al comienzo del período de lluvias (Escobar y Mojica, 1997 y Beltrán-Hostos *et al.*, 2001).

Amarillo
Zungaro zungaro (Humbolt, 1821)



Figura 7. Bagre amarillo o toruno, *Zungaro zungaro* (Foto Ariel Rodríguez)

Especie de gran tamaño, migratorio y predador (Castro, 1994). Presente en la cuenca Amazonas y de amplia distribución en la cuenca del río Meta, hábitat de fondo en palizadas, ríos fangosos y estuarios. En el alto Meta alcanzan la talla media de madurez sexual después de los 7 años, cuando la hembra llega a 1.27 m de longitud estándar y el macho 1.07 metros. La mayor presión pesquera se realiza durante la época reproductiva y principalmente sobre las hembras que son de mayor tamaño, dado que son migratorias lo cual las hace más susceptibles a la captura.

Es considerada una de las cinco especies de bagres más importantes en la pesquería de la cuenca del

Meta; sin embargo, las capturas han disminuido más de 94% en los últimos 15 años.

Se ha logrado manejar y reproducir en cautiverio, sus alevinos se acostumbran rápidamente a los alimentos concentrados comerciales.

Nicuro
Pimelodus blochii (Valenciennes, 1840)



Figura 8. Nicuro, *Pimelodus blochii* (Foto Ariel Rodríguez)

Cuerpo cilíndrico ligeramente comprimido con cabeza cónica y hocico corto, boca pequeña y terminal con el maxilar más grande que la mandíbula, barbillones maxilares cilíndricos tan largos como el cuerpo, ojos grandes ubicados lateralmente, aletas dorsal y pectorales con el primer radio duro aserrado y punzante.

El color del cuerpo es gris amarillento oscuro en el dorso y claro centralmente, dejando una franja más clara a lo largo de la línea lateral y con una mancha oscura en la base de la aleta dorsal, se distribuye por toda la Orinoquia y es de gran aceptación comercial. Es de hábitos omnívoros y acepta bien los concentrados artificiales, la reproducción en cautiverio está en fase de experimentación (Rodríguez, 2004).

Capaz

Pimelodus grosskopfii (Steindachner, 1879)

Figura 9. Capaz, *Pimelodus grosskopfii*

Distribuido en la cuenca Magdalena, alcanza 35 cm de longitud esquelética (Dhal, 1971 y Cala *et al.*, 1996), de gran importancia económica y excelente calidad de carne, presenta en el dorso manchas oscuras irregulares y una aleta adiposa larga, seis pares de barbillones sensitivos alrededor de la boca. Hábito alimenticio omnívoro.

Durante los últimos años en la estación piscícola del INCODER localizada en el municipio de Gigante (Huila) se ha manejado y reproducido exitosamente estos ejemplares que ofrecen gran potencial para los cultivos comerciales.

Capitán de la sabana

Eremophylus mutisii (Humboldt, 1805)

Figura 10. Capitán de la sabana, *Eremophylus mutisii*

Es la especie más grande de la familia *Trichomycteridae*, se distribuye en la Sabana de Bogotá y en los valles de Ubaté, Chiquinquirá y Tundaza, entre los 2.500 y los 3.100 msnm, alcanza 50 cm de longitud, carne de excelente calidad, no tiene aletas pélvicas (Dhal, 1971). Su cuerpo es cilíndrico, con un patrón de pigmentación variable, con manchas verdes en forma vermicular (Alvarez-León *et al.*, 2002).

Es una especie territorialista de hábitos bentónicos, con dieta carnívora compuesta principalmente por crustáceos, moluscos, insectos y anélidos. Se reproduce durante todo el año con picos durante el período de lluvias (Mojica *et al.*, 2002).

Varios ensayos sobre reproducción inducida y cultivo en estanques se han adelantado con poco éxito, sin embargo durante el 2004 se alcanzaron altos porcentajes de fertilización, (González y Rosado, 2005).

Tigrito

Pimelodus pictus (Steindachner, 18796)



Figura 11. Tigrito, *Pimelodus pictus* (foto de Sanabria, 2004)

Distribuido en los ríos Meta y Guaviare principalmente, aunque se ha registrado en el río Amazonas. Bagre ornamental de cuerpo alargado color

gris plateado con brillo azulado en la parte dorsal y blancuzco en el vientre; numerosas manchas negras distribuidas irregularmente sobre el cuerpo. Espina de la aleta dorsal fuerte, puntiaguda y ase-rada, alcanza longitud total hasta de 15 cm (Pérez-Chaparro *et al.*, 2001).

De hábitos crepusculares y nocturnos con reproducción entre abril y mayo presentando desoves asincrónicos y fecundidad total con un promedio de 1.494 ± 627 huevos, omnívora con preferencia sobre restos de peces y material orgánico en des-composición (Pérez-Chaparro *et al.*, 2001 y Junca *et al.*, 2002).

Selección y manejo de parentales

Gran parte de la población de parentales de bagres proviene del medio natural donde son capturados como juveniles o adultos. Las especies son con-finadas en estanques en tierra con condiciones controladas y allí se presentan dos situaciones con respecto a la reproducción:

- A. La especie no se reproduce en cautiverio.
- B. La especie se reproduce en cautiverio.

Para muchos peces cuando se introducen en un ambiente, donde las características son muy dife-rentes a las del hábitat natural y/o en la que las condiciones naturales inducen la reproducción (Conductividad, salinidad, temperatura, pH, foto-período, presión hidrostática, velocidad de la co-rriente, lluvias, etc.), la madurez gonadal se ve afectada y los peces deben ser domesticados y acondicionados al manejo en cautiverio para al-canzar el éxito en la reproducción inducida.

Los bagres en cautiverio al igual que las demás especies nativas, inician su desarrollo gonadal ge-neralmente a una edad más temprana que en el medio natural y terminan el proceso de vitelogé-nesis coincidiendo con la época de migración y reproducción de la cuenca; sin embargo, el cam-bio en las condiciones ambientales que provoca la migración a la parte alta de la cuenca y la ovoposi-ción no se presenta en estanques y debe ser indu-cida mediante el uso de estímulos hormonales.

Ejemplares de *P. fasciatum*, *P. hemioliopterus*, *C. macropterus*, *L. marmoratus*, *P. luetkeni* y *P. blochii* se obtienen de las pescas comerciales en los ríos, en áreas de pesca cercanas a las granjas o estaciones piscícolas, hasta donde son transpor-tados en tanques plásticos con suficiente agua y suplemento de oxígeno. La relación máxima en transporte de 3.5 kg/20 litros de agua (Experien-cias de los autores).

Los peces transportados son colocados en cuaren-tena y se siembran en estanques de tierra donde se les suministra alimentos concentrados de alto nivel proteico. Durante la época de reproducción cada año, se procede a evaluar su desarrollo go-nadal y se manipulan mediante hormonas a fin de lograr la maduración final y el desove.

En el caso de *P. hemioliopterus* y de *P. luetkeni*, las hembras con talla superior a 83 cm y los machos con talla superior a 60 cm de longitud estándar ya han alcanzado la primera madurez sexual y pue-den ser usados como reproductores. Generalmen-te estos peces por su hábito carnívoro deben ser alimentados con peces vivos y/o camarones, por lo tanto se recomienda cultivarlos con peces de alta reproducción natural como la tilapia, la gua-rupaya, etc. Eventualmente aceptan concentrados

que deben tener un nivel proteico superior al 40% (Experiencia de los autores).

Instalaciones

Los bagres adultos debido a su hábito bentónico y nocturno se comportan muy bien en estanques en tierra con profundidad superior a 1.50 m, recambio permanente superior al 15%, con lo cual se aseguran buenas condiciones de vida y se facilita su manejo. Una densidad de 200 g de pez /m³ es recomendable para mantener bagres en cautiverio.

Las piletas de reproducción pueden ser circulares o rectangulares, las paredes lisas y suministro de agua abundante y permanente que genere corriente y ayude a estimular los peces a la maduración final. Una temperatura promedio de $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ es adecuada para la reproducción de estas especies, además es recomendable manejarlo bajo techo con poca luz.

En las piletas de reproducción se pueden realizar tratamientos profilácticos con dosis de 50 ppm de formol y/o 0.07 ppm de verde de malaquita que son toleradas por las diferentes especies de bagre.

Cuando permanecen por más de dos semanas en las piletas de cemento se presentan pérdidas de los barbicelos y lesiones en la piel. En las especies carnívoras es normal que algunos adultos regurgiten alimento o peces en proceso de digestión después de capturados en los estanques y trasladados a las salas de manejo.

Reproducción inducida

En la mayoría de bagres manejados en cautiverio generalmente son las hembras las de mayor tama-

ño y se observa dimorfismo sexual en la papila genital de macho presentándose una prolongación en forma de embudo que asemeja un pseudo-pene. En todas las especies, las hembras presentan características sexuales secundarias como abdomen abultado y blando, papila agrandada y enrojecida (Contreras y Contreras, 1989a y Escobar y Mojica, 1997) y deben ser seleccionados directamente en los estanques. Los machos de algunas especies liberan semen por leve presión abdominal o por el contrario se debe realizar extirpación parcial y maceración de testículos mediante cirugía para obtener semen.

Los peces deben ser capturados con redes sin nudos, transportados individualmente a las piletas de reproducción en recipientes adecuados, para disminuir estrés y que no se afecte el proceso de reproducción en cautiverio.

En todas las especies es posible hacer muestreo de huevos mediante biopsia ovárica, empleando para ello sondas plásticas. A las muestras de oocitos obtenidas se adiciona líquido de Serra como aclarante, a fin de verificar el tamaño del oocito y la posición del núcleo. En caso de encontrar oocitos maduros se procede a desarrollar los protocolos hormonales establecidos para la inducción a la maduración final y desove mediante el uso de hormonas liberadoras o gonadotrópicas según la especie y el protocolo a utilizar.

La hormona más utilizada para inducir con éxito la maduración final y el desove en cautiverio de los bagres es el Extracto de Hipófisis o Pituitaria de carpa (EPC) que se adquiere con relativa facilidad en el comercio. Las dosis hormonales varían entre 5.5 y 6.6 miligramos de hormona por kilogramo de peso vivo o biomasa en dos inyecciones que se

aplican con intervalos de 12 horas; sin embargo, se ha obtenido éxito en la reproducción de *P. fasciatus* utilizando Primogonyl, LHRH, Acetato de busarelina combinadas con EPC de acuerdo con lo descrito por Contreras y Contreras (1989b).

Harvey y Carlosfeld (1993) reportan resultados aceptables en la reproducción en cautiverio de cuatro especies de *Clarias* y dos de *Pangasius* en el sureste de Asia y la India, utilizando hipofisación y Gonadotropina Coriónica Humana con un GnRHa preferiblemente combinado con Dopamina; además los bagres pueden ser estimulados por manipulación de temperatura para acelerar la maduración ovárica.

Las hormonas se deben disolver en solución salina al 0.09% (suero fisiológico) o en agua destilada tratando de utilizar la menor cantidad de líquido que sea posible y su aplicación puede ser intramuscular o intraperitoneal dependiendo de la habilidad y experiencia del personal encargado de la reproducción. A los machos generalmente se les aplica una dosis de 1- 2 mg/kg de biomasa con la segunda dosis de la hembra.

Debido a que el período latencia de los oocitos ovulados es muy corto y quizá no sobrepase los 15 minutos, con lo que se disminuye considerablemente la tasa de fertilización, es muy importante que después de la segunda dosis hormonal, la temperatura del agua sea monitoreada para determinar el momento de la ovulación que en el caso del bagre rayado y el yaque debe ocurrir entre 180 y 220^oH; sin embargo, es aconsejable el seguimiento a la hembra después de los 180^oH, dado que no se presenta cortejo u otro comportamiento reproductivo que permita determinar el momento de ovulación y se pueden perder los huevos.

Maduración

Uno de los grandes inconvenientes que se presentan en la reproducción en cautiverio de la mayoría de los bagres es que los machos no liberan semen espontáneamente salvo algunas especies como el bagre rayado, debido a que todos ellos presentan una gónada digitiforme con maduración antero-posterior que hace muy difícil su extrusión y por la forma cilíndrica que presenta el cuerpo de los silúridos. En estos casos mediante cirugía se extirpan parcial o totalmente los testículos y se maceran para la obtención del semen necesario para la fecundación de los oocitos (Fig. 12).

La colecta de semen de bagres que no lo liberan por simple presión abdominal como el *P. fascia-*



Figura 12. Forma típica de un testículo de bagre (Foto Ariel Rodríguez)

tum, se puede hacer de acuerdo con el siguiente procedimiento propuesto por Viveen (1978), utilizado con éxito en *Clarias gariepinus*. Sacrificando los machos y disectando los testículos, así:

- ◇ Coloque el macho con el vientre hacia arriba y con unas tijeras abra la cavidad abdominal evitando romper los órganos internos.

- ◇ Coloque a un lado el intestino y ubique al fondo los testículos de color amarillo blanquecino con visos rosados. Entre la papila urogenital y los testículos se observan varios lóbulos aplanados que no contienen semen y deben ser descartados.
- ◇ Retire totalmente los testículos sin hacerles presión e inmediatamente séquelos con un paño suave o papel de filtro, evitando cualquier contacto con el agua que active el esperma. Generalmente los espermatozoides maduros se encuentran en los lóbulos color crema.
- ◇ Con las tijeras haga pequeñas incisiones sobre los lóbulos de los testículos y presione para obtener el semen, cuidando de tener las manos completamente secas.

El semen puede ser colectado en un tubo de ensayo o un frasco y se logra almacenar por unas horas y hasta dos días adicionándole 5 ml de solución salina, sellado y colocado a 4°C en un refrigerador. Si no se dispone de este equipo la colecta de semen se realiza antes de la extrusión de huevos a la hembra, en cuyo caso las gotas de esperma se

adicionan directamente sobre los huevos para su fertilización, por presión sobre los lóbulos testiculares. La motilidad del semen puede ser probada colocando, en un portaobjetos, una gota de la solución de esperma colectado y una gota de agua y observar el movimiento activo por lo menos 30 segundos.

Para la extirpación parcial o total de los testículos se procede de forma similar, pero utilizando un anestésico. En este caso la incisión se hace lateral, se extirpa parcialmente grupos de lóbulos maduros o totalmente el testículo sin dañar otros órganos, se sutura y se coloca el pez en observación. En este caso se deben tener todos los cuidados profilácticos necesarios y contar con desinfectantes, drogas y material esterilizado para el procedimiento quirúrgico.

Se han realizado ensayos para obtener semen de buena calidad, aplicando dosis combinadas de 0.5 mg/kg de extracto crudo de hipófisis EPC con 5×10^{-5} mg/kg Acetato de buserelina y 0-5 ml/kg de metoclopramida. Los resultados obtenidos en los experimentos con algunas de las especies de bagres de la Orinoquia, se presentan en la tabla 1.

Tabla 1: Resultados de la espermiación en machos

Especie	Peso (gr)	Resultado
<i>P. fasciatum</i>	750 - 300	Semen 2 días
<i>P. hemioliopterus</i>	1.500 - 4.000	Semen 2 días
<i>S. planiceps</i>	2.000	No mostró semen
<i>C. macropterus</i>	1.500 - 2.500	Semen 2 días
<i>L. marmoratus</i>	1.500 - 2.000	Mostró semen

Se ha probado también en machos de *L. marmoratus* y *C. macropterus*, el uso de un activador hormonal con testosterona 24 horas antes de las dosis combinadas, obteniéndose semen por extrusión, evitando así la cirugía para extraer una gónada y macerarla.

En hembras de diferentes especies se ha logrado la maduración final y ovoposición con la combinación de EPC y Buserelina, entre 200-240 grados hora después de la última dosis (Tabla 2).

Durante las biopsias se observó aumento del diámetro más o menos 700 a 950 micras y de oocitos

en posición migrando pasaron a periféricos. En algunos casos se llegó rápidamente a condición atrésica (*L. marmoratus*). No se observó cambio alguno en los oocitos de *S. planiceps*.

Desove

La fertilización debe realizarse totalmente en seco para lo cual se necesita contar con los elementos adecuados como toallas, platos plásticos y plumas. Los peces deben ser anestesiados utilizando Tricaina (MS222) en dosis de 50-100 ppm, Benzocaína disuelta en alcohol (100g/l) en dosis de 50 a 100 ppm, Eugenol 20 ppm ó 5-30 ppm de Quinaldina.

Tabla 2: Resultados de la maduración y ovulación en hembras tratadas

Especie	Peso (gr)	Hovulación
<i>P. fasciatum</i>	2.000 - 6.000	208
<i>P. hemiliopterus</i>	8.000	240
<i>S. planiceps</i>	1.500	No
<i>C. macropterus</i>	1.600	230
<i>L. marmoratus</i>	3.700	235

Los huevos ovulados extruidos se reciben en un recipiente totalmente seco (plátón plástico) y posteriormente se mezclan con el semen obtenido del macho usando las plumas. Inmediatamente se adiciona un poco de agua para la activación del esperma, pasados dos o tres minutos se hidratan con abundante agua y se lavan para eliminar impurezas como restos de sangre o semen.

Incubación

Para la incubación se utilizan incubadoras tipo Agrover o Woynarovich de flujo ascendente. Durante esta fase la densidad de huevos por litro debe ser baja con el objeto de alcanzar mejores tasas de eclosión. Densidades de 300-500 ml de huevos hidratados por incubadora de 60 lt permiten obtener



Figura 13. Huevos fertilizados de *P. fasciatum* (Foto Ariel Rodríguez)

de 60 a 100.000 larvas después de la eclosión. La eclosión ocurre entre 15 y 17 horas a 26 °C.

Los oocitos en el momento de desove son esféricos, de color amarillo, ligeramente adhesivos, con diámetros entre 850 y 1.200 mm. La adherencia que presenta la doble membrana se puede disminuir con un rápido baño con leche, o en taninos, antes de colocarlos a la incubadora.

Después de la fecundación de *P. fasciatum*, *P. hemioliopterus* y *C. macropterus*, los oocitos se hidratan mostrando una doble membrana, un espacio perivitelínico y corion denso. La presencia de la doble membrana en los huevos de los Silúridos los convierte en pelágicos, facilitando así su distribución aguas abajo, por cuanto la doble membrana se llena de pequeñas burbujas de aire, las cuales aumentan la flotación de los mismos.

Pasadas dos horas se observa la tercera división en el polo animal y una gran tendencia a agruparse; a las tres horas, mórula; a las 5 horas, blástula; a las 9 horas, nérula. Entre las 15 y 18 horas, ocurre la eclosión con la participación activa de la larva. En algunos casos *P. fasciatum*, *P. he-*

mioliopterus, las envolturas coriónicas dificultan el proceso siendo necesaria la aplicación de enzimas papaverina o el tratamiento previo a los huevos con taninos o ácido láctico. De las 30 a 35 horas aparecen las barbas maxilares. El desarrollo embrionario del bagre rayado se presenta en la figura 14 y tabla 3.

Los barbillones mentonianos ya están formados a las 50 horas; a las 72 horas se observan proyecciones en los maxilares a manera de dientes y son capaces de comer aun sin haber absorbido el saco vitelino. Presentan coloraciones oscuras y su alimento principal es el zooplancton.

El porcentaje de fertilización se puede determinar seis horas después de iniciada la incubación cuando se forma el blastoporo e igualmente el porcentaje de eclosión se puede determinar antes de que esta se inicie.

Después del cuarto día el saco vitelino es absorbido totalmente y se ha formado la aleta adiposa.

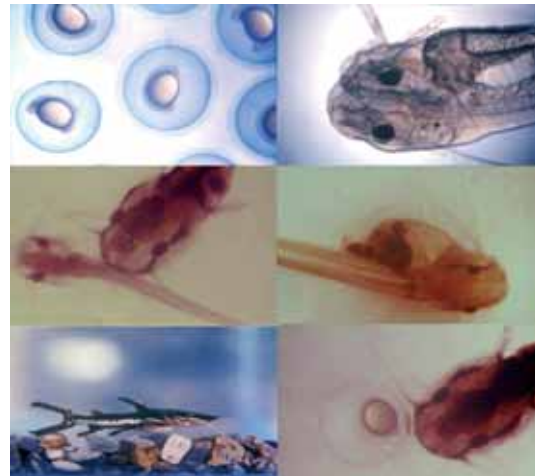


Figura 14. Diferentes fases del desarrollo embrionario y larval de bagres

Tabla 3: Desarrollo embrionario del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum*

ESTADIO DE DESARROLLO	TIEMPO
Primer clivaje, 2 células	30 minutos
Segundo clivaje, 4 células	45 minutos
Tercer clivaje, 8 células	50 minutos
Cuarto clivaje, 16 células	90 minutos
Quinto clivaje, 32 células	110 minutos
Mórula	135 minutos
Blástula	240 minutos
Gástrula	5 horas
Embrión temprano, diferenciación parte cefálica de la parte caudal y cordón neural	7 horas
Región cefálica bien diferenciada	8 horas
Formación, vesículas ópticas y primeros miómeros	10 horas
Separación regional caudal del vitelo, esbozos de tubo digestivo	14 horas
Eclosión	15 horas
Formación de barbillones	39 horas

Larvicultura y alevinaje

P. fasciatum y *P. hemiolepis*, mayores de 2 cm, se alimentan de insectos (*Noctonectidae*, *Chaoborus*, *Culicidae*); aceptan una papilla obtenida de moler y licuar peces grandes, preferencialmente huevos, larvas y pececillos de menor talla (canibalismo). En *C. macropterus* se acepta concentrados molidos (de alto nivel proteico) (Tabla 4).

En especies de bagres con hábitos carnívoros, el proceso de larvicultura y alevinaje se realiza en piletas rectangulares con larvas que están iniciando alimentación y termina varias semanas después con alevinos de más de 10 cm de longitud total, acostumbrados a ingerir raciones comerciales pelletizadas o extrudizadas con alto contenido de proteína. Durante estas etapas es muy importante el manejo profiláctico que se adelante y la limpieza

Tabla 4: Resultados del crecimiento de rayado *P. fasciatum*, cajaro *P. hemiolepterus* y mapuro *C. macropterus* en estanques

Días de cultivo	RAYADO (<i>P. fasciatum</i>)		CAJARO (<i>P. hemiolepterus</i>)		MAPURO (<i>C. macropterus</i>)	
	Peso (g)	cm	Peso (g)	cm	Peso (g)	cm
0	7.5	8.7	12.1	7.3	15.4	9.5
15	60.3	13.7	49.2	12.7	23.8	11.7
30	77.1	16.1	53.7	15.0	35.9	12.3
45	130.6	23.2	64.0	17.1	93.9	14.6
60	268.9	37.0	245.0	25.5	139.3	23.3
75	428.0	49.2	660.0	37.6	297.0	38.0
90	848.0	61.1	830.0	52.0	416.0	47.6

permanente al medio de cultivo. El siguiente proceso está enfocado al bagre rayado; sin embargo puede ser adaptable al manejo de otras especies de bagres carnívoros. Algunos de los bagres omnívoros se pueden manejar directamente en estanques para la etapa de alevinaje (Mojica *et al.*, 2003).

Larvicultura (Con alimento vivo)

La larva se mantiene en oscuridad en las incubadoras hasta que adquiera pigmentación, luego debe trasladarse a ambientes cerrados con total oscuridad y sembrarlas en piletas rectangulares con recambio permanente, aireación y una temperatura promedio de 27 °C que no debe ser inferior a 25 °C ni superior a 29 °C para evitar la presencia de patologías y principalmente el ataque de ectoparásitos. El oxígeno disuelto debe estar por encima de 5 ppm y el amonio inferior a los niveles críticos. Cuando se utiliza un sistema de recircu-

lación se debe monitorear el amonio que puede volverse tóxico, por lo cual se debe hacer limpieza por lo menos dos veces por día y renovar el 50% del sistema. Un período de cuatro semanas es recomendable para esta fase.

Se da inicio a la alimentación con nauplios recién eclosionados de *Artemia salina* que deben ser suministrados los primeros tres días en la mañana y al anochecer (7 a.m. y 5 p.m.) a una ración de 1 ml de quistes para cada 100.000 larvas.

Pasados los tres primeros días de alimentación, la *Artemia* se puede enriquecer por lo menos durante 12 horas impregnándola con *Spirulina* o vitamina C en cantidad proporcional a la *Artemia* eclosionada. La frecuencia de alimentación debe ser mantenida la primera semana e incrementada a partir de la segunda semana tres veces por día (7 a. m., 3 p. m. y 9 p. m.) (Tabla 5).

Tabla 5: Frecuencia de alimentación para bagre rayado *P. fasciatum* durante las primeras 4 semanas con *Artemia* (A), Plancton (PL)

Semana	HORA				
	7:00	9:00	15:00	17:00	21:00
1	A	*	*	A	*
2	A	*	A	*	A
3	A	*	PL	*	A
4	A	*	PL	*	A

La cantidad de *Artemia* debe ser ajustada durante las primeras tres semanas de acuerdo con la sobrevivencia y el crecimiento así: Primera semana 1 ml, segunda semana 1.5 ml, tercera semana 2 ml, cuarta semana 2.5 ml, por cada 100.000 larvas de bagre.

A partir de la tercera semana se complementa el uso de *Artemia* con suministro de plancton colectado de los estanques, el cual debe ser tamizado evitando los copépodos ciclopoideos que son predadores de larvas. Los Cladóceros son muy importantes en esta etapa de alimentación.

La *Artemia salina* debe ser eclosionada entre 30 y 32‰ de salinidad y a temperatura de 27 °C, aireación elevada, luz permanente y a una densidad de 2 a 2.5 g/l. El enriquecimiento debe hacerse diariamente con las cantidades adecuadas.

Las poslarvas de mayor tamaño deben ser retiradas todos los días para evitar predación sobre las demás; igualmente es importante la limpieza de las piletas que se puede hacer por sifoneo de fondo con una manguera de diámetro pequeño, por lo menos cada 48 horas.

BIBLIOGRAFÍA

- ACEVEDO, J.R. Y L.S., BARBOSA. 1993. Empleo de hormonas en la maduración gonadal de los machos de Mapurito *Callophysus macropterus*, (Linchtenstein, 1819) (Pisces: Pimelodidae). Tesis de grado Universidad Jorge Tadeo Lozano. Facultad de Biología Marina. Santa Fe de Bogotá. 102 p.
- AGUDELO, E.C., Y. SALINAS; C. L. SÁNCHEZ; D. L. MUÑOZ; J. C. ALONSO; M. E. ARTEAGA; O. J. RODRÍGUEZ; N. R. ANZOLA; L. E. ACOSTA; M. NÚÑEZ Y H. VALDÉS. 2000. Bagres de la Amazonia Colombiana: un recurso sin fronteras. Instituto Amazónico de investigaciones científicas SINCHI.
- AJIACO-MARTÍNEZ, R.E.; H. RAMÍREZ-GIL Y RICARDO ARLVAREZ-LEÓN. 2002. *Pseudo-platystoma fasciatum*. 97 - 101 p. En: Mojica, J.I.; C. Castellanos; S. Usma y R. Alvarez (Eds.). Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia. La serie Libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. Ministerio del Medio Ambiente, Bogotá, D. C., Colombia. 288 p.

- ALONSO, J.C. Y S. IBARRA. 1991. Ensayos de reproducción inducida en el Mapurito *Callophysus macropterus*. (Linchtenstein, 1819) (Pisces: Pimelodidae). Tesis de grado Universidad Jorge Tadeo Lozano. Facultad de Biología Marina. Santa Fe de Bogotá.
- ALVAREZ-LEÓN, R.; G.A. PINILLA; J.A. GONZÁLEZ; P. LEHMANN; J.E. FORERO Y R. ROSADO. 2002. *Eremophilus mutissi*. 196 - 199 p. En: Mojica, J.I.; C. Castellanos; S. Usma y R. Álvarez (Eds.). Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia. La serie Libros rojos de especies amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. Ministerio del Medio Ambiente, Bogotá, D. C., Colombia. 288 p.
- BELTRÁN-HOSTOS, D.P.; R.E. AJIACO-MARTÍNEZ Y H. RAMÍREZ-GIL. 2001. *Leiarius marmoratus* Gill, 1870. 111 - 113 p. En: Ramírez, H. y R. E. Ajiaco (Eds.). La pesca en la baja Orinoquia colombiana: una visión integral. Minagricultura, Pronatta, Conciencias, INPA. Bogotá, D. C., Colombia. 255 p.
- CALA, P., C. PÉREZ, E I. RODRÍGUEZ. 1996. Aspectos bioecológicos de la población del Capaz, *Pimelodus grosskopffi* (Pices: Pimelodidae), en el embalse de Betania y parte alta del río Magdalena, Colombia. Rev. Acad. Colomb. Cienc, 20 (77): 319-330.
- CAMPOS, P. H. 2002. Ontogénesis del tracto digestivo, excluidas glándulas anexas, durante el desarrollo larval del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus,1776), Tesis de grado MVZ, Universidad Nacional, Bogotá, D. C., 101 p.
- CONTRERAS, C. P. Y J. C., CONTRERAS. 1989a. Resultados preliminares de la reproducción inducida del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus,1776), INDERENA, Movilización Verde: 13-21.
- CONTRERAS, C. P. Y J. C. CONTRERAS. 1989b. Desarrollo embrionario y larval del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1776) (pisces: Pimelodidae, INDERENA, Movilización Verde: 23-35.
- CASTRO, E. D. M. 1994. Peces del río Putumayo, sector de Puerto Leguizamó, Corporación Autónoma del Putumayo, 174 p. il.
- DHAL, G. 1971. Los peces del Norte de Colombia, INDERENA, Bogotá, 388 p.
- ESCOBAR, M. D. 2001. Variabilidad genética de los bagres *Pseudoplatystoma fasciatum* y *Pseudoplatystoma tigrinum* en la Orinoquia Venezolana. Universidad Nacional experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora, UNELLEZ. 90 p.
- ESCOBAR, M. D. Y H. O. MOJICA. 1997. Ensayos preliminares de reproducción inducida del yaque *Leiarius marmoratus* (Gill, 1870) (Pisces: Siluriformes: Pimelodidae), en la Orinoquia Colombiana, Bol Cient INPA, 5:75-78.
- GALVIS, G., J. I. MOJICA Y M. CAMARGO. 1997. Peces del Catatumbo. ECOPETROL: OXY:SHELL-Asociación Cravo Norte. D'Vinni Edi. Ltda., Santa Fe de Bogotá. 118p.
- GONZÁLEZ, J.A. Y R. ROSADO, 2005. Reproducción en cautiverio y manejo de larvas y alevinos del pez capitán de la Sabana *Eremophilus mutisii*, Humboldt, 1805. Departamento de Investigaciones, Universidad de la Salle. Bogotá, D.C., Colombia.
- HARVEY, B. Y J. CARLOSFELD. 1993. Induced breeding in tropical fish culture, Ottawa, Ont., IDRC, x+ 144p. Ill.
- JUNCA, R. V.; E. VALLEJO, M. MOLANO Y G. PINILLA. 2002. Fecundidad en el tigrilo *Pimelodus pictus* (Stendaichner, 1876) (Pisces: Siluriformes: Pimelodidae), Bol. Cient. INPA, 7:33-48.
- MARTÍNEZ, M. A. 1981. Peces deportivos de Colombia, agua dulce, Ediciones Fondo Cultural Cafetero, 334 p.
- MOJICA, H. O., J. A. RODRÍGUEZ, Y Z. C. OROZCO. 2003. Manual de Reproducción y cultivo El Bagre Rayado (*Pseudoptatystoma fasciatum*). Cartilla PRONATA - INPA.
- NELSON, J.S. 1994. Fishes of the world. John Wiley & Sons. New York. Tercera edición. 600 p.
- PÉREZ-CHAPARRO, L.B.; R.E. AJIACO-MARTÍNEZ. Y H. RAMÍREZ-GIL. 2001. *Pimelodus pictus* Steindachner, 1876. 203-205 p. En: Ramírez, H. y R. E. Ajiaco (Eds.). La pesca en la baja Orinoquia colombiana: una visión integral. Minagricultura, Pronatta, Conciencias, INPA. Bogotá, D. C., Colombia. 255 p.

- PINNA, M.C. 1998. Phylogenetic relationships of neotropical Siluriformes (Teleostei: Ostariophysi): Historical overview and synthesis of hypotheses. 279-330 p. En: Malabarba, L.R.; R.R Reis; R.P. Vari; Z.M.S. Lucena, y C.A. Lucena. 1998. Phylogeny and clasification of neotropical fishes.
- PROVENZANO, F. 1980. Biología de *Pimelodus blochii* Valenciennes, 1840 (Teleostei, Siluriformes, Pimelodidae) en los Llanos de Venezuela. Trabajo de grado, Facultad de Ciencias, Escuela de Biología, Universidad Central de Venezuela, Caracas. 54 p.
- RAMÍREZ, G. H. Y R. H. AJIACO, 1995. El bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus) y *Pseudoplatystoma tigrinum* (Valenciennes), Aspectos biológico-pesqueros en el alto río Meta. Bol. Cient. INPA, 3: 156-167.
- RODRÍGUEZ, J.A. 1994. Reproducción inducida del cajaro *Phratocephalus hemiiopterus* (Bloch y Schneider, 1801) 229-232 p. En: Memorias 8º Congreso Latinoamericano de Acuicultura y 5º Seminario Nacional de Acuicultura. COLCIENCIAS. Bogotá, D.C. - Colombia, 562 p.
- RODRÍGUEZ, J. A. 2004. Aspectos reproductivos del Nicuro *Pimelodus blochii* en cautiverio en la estación piscícola “la terraza”, INPA Villavicencio, Meta, Trabajo de Maestría Pontificia Universidad Javeriana.
- SANABRIA, A.I. 2004. Catálogo de las principales especies de peces ornamentales de Colombia: especies de interés comercial. Instituto Colombiano de Desarrollo Rural-INCODER-. Bogotá, D. C. Colombia. CD Room.
- TALLARICO, M. 1997. *Surubim*. Ministerio de Medio Ambiente, dos Recursos Hídricos da Amazonia Legal. Instituto Brasileiro do medio ambiente e dos recursos naturais renováveis. Brasil. 156 p.
- VIVEEN, W. J. A. R. 1978. Practical manual for the culture of African catfish (*Clarias gariepinus*), Directorate General International Cooperation of the Ministry of Foreign Affairs, The Hague, University of Wageningen , University of Utrecht, The Netherlands, 121 p.
- YEPES, J; J. M. SOLANO Y A. CORDERO. 1993. Reproducción inducida en laboratorio del Blanquillo *Sorubim lima* (Bloch, 1801). Red de Acuicultura, 7 (2): p.3-5.
- WINEMILLER, K. Y D. TAPHORN. 1989. La evolución de las estrategias de vida en los peces de los llanos occidentales de Venezuela. UNELLEZ. Guanare. Venezuela. BIOLLANIA, No. 6.

MANEJO REPRODUCTIVO EN CAUTIVERIO DE LA TRUCHA ARCO IRIS *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)

Rafael Rosado Puccini¹

Introducción

La introducción de la trucha arco iris en Colombia a finales de la década de los 30 marcó el comienzo de la actividad acuícola nacional. Aún hoy, la especie es la única opción de producción comercial que se tiene para aguas de baja temperatura y aunque los datos estadísticos disponibles no son precisos, estimaciones indirectas hacen suponer entre 5.000 y 7.000 toneladas/año el volumen de producción actual en el país, así se ubicaría en el tercer renglón de producción piscícola, detrás de especies como la mojarra o tilapia roja y cachamas (INPA, 2000).

Salvo ensayos experimentales efectuados con otros salmones, hoy suspendidos, y las posibilidades todavía inferidas sobre el real potencial del capitán de la sabana, *Eremophilus mutisii* (Alvarez-León *et al*, 2002), se puede asumir que la trucha arco iris continuará siendo el soporte productivo de la piscicultura en las zonas frías colombianas.

El comportamiento de la producción anual de truchas en los últimos años no ha sido consistente, lo que unido al hecho de que tampoco se hayan implementado nuevos proyectos de alta escala productiva sugiere la influencia de factores y problemas estructurales para el desarrollo de la actividad truchícola nacional. Si bien el diagnóstico sobre la interacción de estos factores ha sido ampliamente analizado, estos se aglutinan de forma concluyente en una disminución constante del margen de rentabilidad para el productor, lo que explica

¹ Biólogo Marino, Esp., M. Sc. Ambiental. Truchas de La Sierra. truchasdelasierra@yahoo.com

la variabilidad observada y la ausencia de un crecimiento sostenido en los volúmenes anuales de producción. La solución inmediata parece estar ligada a la exploración de mercados externos.

En lo que se refiere a la participación relativa de la semilla dentro de los costos totales de producción esta puede representar alrededor de un 10%. Se caracteriza la realidad actual en una total dependencia de ovas que se importan regularmente, en cuanto el empleo de alevinos producidos directamente en el país es prácticamente inexistente, sin relevancia alguna en un aporte real al volumen de truchas de consumo producido. De alguna manera esta situación explica el escaso desarrollo investigativo que sobre tópicos de reproducción y genética en truchas se registra; en términos relativos tal participación es inferior al 3% del total de trabajos de investigación reportados (Gómez y Ruge, 2004).

El que este componente particular de la explotación de truchas haya decaído en desarrollo técnico y operativo se interpreta por la resistencia del productor al uso de alevinos nacionales; en pocos sitios se tiene aún alguna producción basada en el manejo completo de reproductores y gran parte de las estaciones oficiales que en su momento cimentaron el desarrollo de la actividad están hoy día por fuera de operación o su aporte es irrelevante. Las características que definen la aparente menor calidad de los alevinos nacionales se puntualizan en: a) proporción de sexos (presencia de machos), b) crecimiento, c) elevada aparición de colas y d) características del filete (Rosado, 2001).

Se debe anotar, no obstante, que sobre parte de estas deficiencias se ha dado algún nivel de trabajo técnico y con los datos disponibles y el desarrollo

experimental alcanzado se puede suponer que es factible superar las limitantes asociadas a las características desfavorables citadas, por lo que el establecimiento de programas sistemáticos dirigidos a la producción nacional de ovas y alevinos con calidad competitiva es actualmente factible. En el transcurso del texto se analizarán algunos de los resultados más relevantes que al respecto se han logrado determinar en el país.

Impulsar el desarrollo de esta etapa productiva de la actividad truchícola es imperativo si se considera mejorar los estándares globales, asumiendo que es posible reducir el nivel de dependencia actual del material que se importa, lo que en suma traerá beneficios relevantes dentro de los costos de producción.

El objetivo del presente documento es entonces describir los procedimientos implicados en el manejo de esquemas de reproducción para la especie en cautiverio, aportando datos sobre técnicas de mejoramiento de calidad, basadas en trabajos experimentales nacionales que han abordado cada una de las limitantes que fueron anteriormente anotadas. Asumiendo que a futuro es factible esperar un repunte en la utilización de semilla nacional se pretende abordar, en una descripción principalmente técnica, los procedimientos destinados a reproducción y las labores técnicas implicadas en el manejo y mantenimiento de ovas, desde su obtención e incubación, hasta que culminan los procesos de larvicultura y alevinaje.

Aspectos reproductivos de la especie

Todo proceso productivo implica determinar las oportunidades y disponer los medios para que

cada etapa implicada sea progresivamente más eficiente. Bajo esta premisa de trabajo se puede explicar una de las circunstancias determinantes en el enorme desarrollo técnico que ha tenido la explotación de truchas a nivel mundial.

La viabilidad práctica del transporte de ovas de trucha en fase de ova embrionada ha sido un factor de expansión global de la actividad y de que buena parte de la producción para el consumo tenga un alto sustento en el material que se moviliza desde zonas especializadas, altamente desarrolladas y con mejores condiciones, hacia otras de crecimiento incipiente o una menor trayectoria.

Producciones locales o regionales evolucionan, en consecuencia, de forma diferencial, aunque la tendencia a implementar tecnologías que acompañan elevadas producciones se da hacia el autosostenimiento, cuando los volúmenes de producción llegan a niveles de alguna magnitud. Para que se den estas circunstancias también influye la estacionalidad de la producción, que limita la obtención de ovas durante todo el año.

Particularmente en Colombia, esta dependencia de ovas externas puede constituir más de un 95% de la semilla que se produce, lo que trae aparejado un natural desinterés por los alevinos nacionales que, tradicionalmente y en una gran proporción, estuvieron en cabeza de centros oficiales.

Dada su localización sobre la línea ecuatorial, Colombia tiene condiciones para generar una oferta relativamente sostenida de ovas a lo largo del año; esta favorabilidad tiene también como resultante el que una serie de aspectos deban ser considerados para el manejo y mantenimiento de reproductores,

además de los que involucra la estabilización de programas sistemáticos de producción con altos estándares de calidad, con los que se logre revertir la situación actual.

Tanto el ciclo reproductivo gonadal como la época de desove natural son eventos modulados principalmente por las variaciones del ciclo fotoperiódico anual. El patrón general es: la recrudescencia y el crecimiento comienzan a final del invierno y principios de la primavera, estimulados por el fotoperíodo creciente en esa época del año. Los estadios finales de la gametogénesis, como la maduración de los ovocitos y la ovulación, ocurren durante los meses que corresponden de otoño a primavera, activados por los días cortos y los fotoperíodos decrecientes (Estay *et al.*, 1995). La eficiencia reproductiva es un proceso ligado íntimamente al conocimiento y explotación de los ciclos de reproducción que manifiesta la especie.

Los peces captan las variaciones fotoperiódicas (asociadas a las temperaturas del agua) a través de ojos y glándula pineal (información fótica y térmica) y la transforman en información química, pulsos de secreción y síntesis de neurotransmisores y de hormonas. Estos patrones hormonales que actúan en cascada a través del eje hipotálamo-hipófisis-gónada regulan la recrudescencia y, al final, la maduración gonadal.

La reproducción en cautiverio de truchas supone el adecuado manejo de los procesos que van desde el manejo y mantenimiento de los reproductores hasta su correcta manipulación, con miras a obtener la mejor calidad posible en los gametos. Los esquemas de trabajo en la etapa de producción deben considerar que los más importantes limitantes

se relacionan con las transformaciones reproductivas, particularmente aquellas relacionadas con la maduración sexual de los peces.

Al igual que en otras especies, en truchas se define una época particular de reproducción que tiene coincidencia con aquella en la que realizan el desove de manera natural; tal concordancia es evidente en las zonas de origen de la especie pero es poco marcada en condiciones tropicales, como la del país. El periodo particular de la puesta es corto, aun cuando la preparación del individuo implica procesos internos que tienen una mayor duración, los que son responsables del desarrollo gonadal (Gordon *et al.*, 1987). Surge entonces una diferenciación entre áreas en las que existen épocas de producción masiva y otras en las que la disponibilidad se ajusta a un régimen relativamente estable y constante a lo largo del año.

La respuesta individual tiene una temporalidad en la que los eventos reproductivos se encuentran influenciados por varios factores ambientales, entre los que particularmente destaca el fotoperíodo o ciclos de luz - oscuridad. En general se puede describir la secuencia de las fases intermedias en la madurez sexual de las truchas como pubertad, recrudescencia gonadal y maduración sexual.

La pubertad se define como la primera recrudescencia gonadal y en esta ocurre la activación de la gametogénesis y la producción de hormonas sexuales; estos procesos finalizarán posteriormente cuando se dé la maduración propiamente dicha; es, en esencia, la activación de los mecanismos que finalizan con la maduración sexual del individuo. El inicio de la pubertad está relacionado principalmente con la edad y el tamaño de los pe-

ces, aunque bajo programas de selección se pueden estar modificando estas variables.

En zonas con estacionalidad marcada, las truchas se reproducen una vez al año, especialmente durante los meses de otoño a primavera. En países localizados sobre la línea ecuatorial como Colombia, se han registrado hasta dos desoves por año, aunque en promedio el ciclo de maduración y desove se da cada ocho meses. De forma muy general y asumiendo que los reproductores se mantienen en aguas con una temperatura cercana a los 10°C la maduración en las hembras atraviesa las siguientes etapas (Bromage y Cumaranatunga, 1988):

Comienzo de la madurez gonadal: Tiene lugar entre seis y ocho meses antes del desove; se caracteriza porque los elementos celulares de los ovarios comienzan a formar los ovocitos y se presenta el crecimiento de las gónadas. Cada uno de los ovocitos se sitúa en un folículo compuesto por dos estructuras definidas: capa granulosa y capa tecal.

Vitelogénesis endógena: La vitelogenina es producida por el ovocito mismo y se incorpora al vitelo.

Vitelogénesis exógena: En este proceso las lipofosfoproteínas que son sintetizadas en el hígado se incorporan al vitelo de los ovocitos. Tal incorporación inicia poco tiempo después de que la maduración comienza y termina alrededor de los dos meses previos al momento del desove.

Aparición de caracteres sexuales secundarios: Entre uno y tres meses antes del desove es observable el oscurecimiento general y la aparición de manchas en la piel, además de un ligero crecimiento de la mandíbula superior en los peces. La

papila urogenital aparece proyectada y adquiere una tonalidad rojo intensa (hiperemia) unas semanas antes del desove. Aunque en menor nivel que en los machos, algún grado de agresividad se manifiesta.

Maduración final del ovocito: Durante esta fase hay migración de la vesícula germinativa desde el centro del ovocito hacia la periferia. Durante ese traslado se produce la primera división meiótica (haploidización) y se funden las gotas de lípidos. Alrededor de dos a cuatro semanas antes del desove hay maduración final, previa hidratación del folículo.

Ovulación: Ocurre la ruptura de los microvellos que sostienen al ovocito dentro del folículo; aparece una fisura a través de la cual saldrá el ovocito y, poco antes del desove, ocurre la expulsión del ovocito hacia la cavidad abdominal.

En el medio natural, la puesta es la etapa final de este proceso. En términos de producción, la intervención artificial deriva en los procedimientos de extrusión.

La secuencia de fases en el caso de los machos se puede describir como:

Espermatogénesis: Fase en la que se producen los espermatoцитos, con un incremento en el tamaño del testículo. Aproximadamente ocurre unos seis meses antes del desove.

Espermiogénesis: Ocurre la haploidización de los espermatoцитos, por lo que pasan a ser denominados espermátidas; al desarrollar el flagelo se convierten en espermatozoides, aunque en este

periodo (unos tres meses antes del desove) no tienen aún poder fecundante. En esta etapa se pasa desde células germinales hasta la conformación de los elementos celulares del esperma.

Espermiación: Esta etapa de desarrollo comprende la maduración funcional del semen contenido en los testículos; se hidrata y confiere a los espermatozoides poder fecundante.

Manifestación caracteres sexuales secundarios: La piel se oscurece y se hace evidente el alargamiento y encurvamiento de las mandíbulas típico de los machos, además de un notorio comportamiento agresivo. Estas características se acentúan unos dos a tres meses antes de la época de desove.

Selección y manejo de reproductores

El número de reproductores a mantener dependerá obviamente de las expectativas de producción. Para efectos de cálculo, la fecundidad de la especie está definida en unos 1.500 huevos por cada kilogramo de peso; esta relación tiende a ser superior, en términos relativos, en ejemplares de menor peso. En términos absolutos, la biomasa existente de reproductores dará origen a una mayor cantidad de huevos cuando la composición del plantel corresponda a animales más jóvenes, entendiendo que bajo condiciones normales estos presentan un menor peso que individuos de mayor edad (Chaparro, 1994).

A partir de los 14 a 18 meses, en los que se da la primera ovulación en las condiciones nacionales, un adecuado criterio para definir y mantener la composición del plantel se fundamenta en grupos de edad similar. Conjuntos de hembras con

2 y 3 años de edad son ideales. Esto permite que una misma hembra pueda ser utilizada entre 2 y 4 veces antes de que sea retirada del proceso y reconfigurado y renovado el plantel con lotes de reemplazo ya seleccionados y en crecimiento. Normalmente, con una distribución por edades, aproximadamente el 70% de la biomasa está compuesta por reproductores activos.

Para el manejo de reproductores en estanques se deben asumir densidades considerablemente inferiores a las que se tienen cuando se trabaja en producción de carne. Es conveniente realizar los cálculos con cargas máximas de 10 - 15 kg de biomasa por m³ de agua, aunque por regla general las densidades de mantenimiento deben ser las más bajas posibles, entendiendo que debe existir un compromiso entre la capacidad instalada y las necesidades de producción.

Del plantel completo se puede estimar que un 80% es productivamente viable pues ejemplares infértiles, con problemas reproductivos o que no se pueden utilizar por pérdidas asociadas a sobremaduración, pueden llegar a constituir hasta un 20% de la población efectiva; los cálculos de producción esperada deben contemplar esta fracción. La proporción de machos alcanza un 25 a 30% del total presente.

Granjas especializadas en producción de ovas y alevinos deben ser establecidas en zonas cuya temperatura de agua se conserve en un rango de 8 a 12 °C; valores mayores requieren una intervención más frecuente en revisión y desove, la que eventualmente se vuelve inviable técnicamente por los excesos de manipulación que implica. Temperaturas superiores también causan problemas ovula-

torios, con la retención de las ovas en el estroma ovárico, lo que puede derivar en un bloqueo de la ovulación y traducirse en el incremento de la mortalidad (Estay *et al.*, 1994). Es por esta razón que es frecuente observar la presencia de paquetes gonadales completos en hembras muertas.

Por causa del bajo desarrollo que actualmente tiene el manejo reproductivo en el país, no se dispone de alimentos especialmente diseñados y balanceados para el manejo nutricional de un plantel por lo que, cuando se tienen reproductores, es necesario utilizar referencias formuladas para la producción de carne; entre estas, la de uso más frecuente es la que se utiliza para la fase final de engorde, es decir, el alimento con pigmento. El refuerzo vitamínico (especialmente vitaminas C y E) debe ser considerado en programas nutricionales dirigidos particularmente a este tipo de ejemplares.

Tanto la cantidad como la calidad de la dieta son fundamentales para garantizar el éxito reproductivo. Los resultados deseables de una nutrición apropiada serán:

a) Producción de grandes ejemplares. Hasta unos 4 a 5 años de edad estos tienden a producir mayor cantidad de esperma y huevos más grandes, de los que nacen larvas de mayor talla inicial, en una relación que ha sido demostrada repetidamente (Nery, 1994). Aunque el tamaño general está parcialmente influenciado por efectos genéticos, está también limitado por la calidad nutricional de los alimentos utilizados para su desarrollo y mantenimiento. En el grupo de reproductores, una alimentación adecuada está ligada a un mejor crecimiento en los meses previos al desove, con lo que se maximiza la talla de las gónadas y la calidad de los gametos.

b) Se reduce la mortalidad predesove en los reproductores, problema que es frecuente en fincas de producción.

c) Se obtienen mayores registros de fertilización y una composición más homogénea de los lotes de ovas. Se asegura una supervivencia más elevada durante la incubación y alevinaje; las larvas de primera alimentación son también más vigorosas.

La tasa diaria puede variar entre el 0.6 y 1.1% de la biomasa, dependiendo de la temperatura del agua y de los niveles de energía de la dieta. La frecuencia de alimentación puede ser 1 a 2 veces por día y el suministro será manual para facilitar una observación permanente del comportamiento. Con el fin de evitar obesidad, la calibración de las dietas debe regirse por un patrón estricto de registros, para lo cual se pueden utilizar los desoves mismos para la obtención de los datos correspondientes.

En las últimas fases de la ovogénesis los reproductores disminuyen sus requerimientos de proteína utilizando una mayor cantidad de carbohidratos. Si se causa una restricción alimentaria en ejemplares jóvenes, habrá un retardo en la primera maduración; en consecuencia, ejemplares bien alimentados madurarán más temprano.

Además de la calidad nutricional del alimento, la práctica misma de alimentación constituye en sí misma un problema, dada la disponibilidad constante de hembras ovuladas en una unidad de cultivo determinada. Se verá posteriormente que, después de que la hembra ovula y a una temperatura de 10 °C, se tiene un máximo de 10 días para proceder con la extrusión de los huevos antes

de que la sobremaduración implique una disminución importante en las tasas de fertilización. De aquí se deriva el que la revisión de los peces deba programarse con una periodicidad de 10 a 15 días, dependiendo de la época del año; tendrá una mayor intensidad en aquellos meses en los que se observa un relativo incremento en el número de hembras que ovulan.

Como los peces deben someterse a ayuno al menos 48 horas antes del manejo y estos se recuperan completamente unas 24 horas después de la manipulación, se tiene que en el mejor de los casos los reproductores no consumen alimento aproximadamente un 25 a 30% del tiempo, lo que naturalmente tiene efectos negativos sobre su desarrollo y en la calidad del material obtenido. La maduración extendida que se da en condiciones tropicales, requiere entonces disponer de infraestructura suficiente para manejar grupos de reproductores de forma tal que la manipulación se realice exclusivamente sobre los peces en los que se supone que la ovulación ha ocurrido. Hembras próximas y aquellas desovadas deberán ser, por lo tanto, separadas y mantenidas en estanques diferentes y su revisión se programará tomando en consideración los tiempos de maduración que, aproximadamente, se darán entre 6 y 8 meses después de la última extrusión.

Prácticas de desove

Uno de los procedimientos más laboriosos en una granja destinada a la reproducción es la continua revisión y manejo que se debe efectuar sobre los reproductores, con miras a identificar y seleccionar aquellos en plena madurez. Las hembras que han ovulado ya han liberado espontáneamente sus

huevos dentro de la cavidad abdominal y el paso siguiente corresponde a la extracción manual.

El tiempo que transcurre desde que la hembra ovula hasta que es extruida es una variable crítica dentro del manejo exitoso de un programa de reproducción. La calidad de los huevos, en términos de su posibilidad de ser fertilizados, disminuye conforme avanza el tiempo desde el momento en que se da la ovulación.

A unos 10 °C el periodo aceptable se aproxima a unos 10 días, pero los mejores resultados en fecundación se obtienen alrededor del 3° - 6° día postovulación. Si bien este periodo puede considerarse relativamente extenso, ofrece una limitante práctica, particularmente acentuada en el ambiente de trópico en el que se encuentra Colombia. La relativa regularidad climática y la prácticamente inexistente estacionalidad ofrecen unas condiciones que favorecen también una condición reproductiva permanente en las truchas. Así y a diferencia de lo que ocurre en latitudes altas, en las que los eventos de maduración se encuentran bien determinados a lo largo del año y se concentra la actividad ovulatoria en periodos de 2 a 4 meses, en el país la producción de huevos puede considerarse constante durante el ciclo anual. Se debe anotar que ciertos picos reproductivos son observables y estos se relacionan con las épocas de invierno hemisférico.

Estas condiciones de producción relativamente permanentes que en principio pueden considerarse una ventaja comparativa dada la opción de disponer de manera constante y a lo largo del año de ovas de trucha, significan no obstante la necesidad de adoptar técnicas y procedimientos especiales

en lo que se refiere al mantenimiento y manejo de los grupos de reproductores.

Como se anotó, la obligada extracción de los huevos en periodos cortos de tiempo requiere establecer un riguroso esquema de revisión permanente, particularmente sobre las hembras. Como estas revisiones son procesos intensivos en lo que concierne a los niveles de estrés que se promueven, la especialización de una granja en particular en programas de reproducción genera la necesidad de disponer de infraestructura suficiente para mantener grupos de diferentes edades y, dentro de estos, conjuntos de peces que han sido revisados, aquellos que se encuentran próximos a desovar y las fracciones todavía en diferentes etapas de maduración.

El propósito de la revisión de los animales consiste básicamente en la separación de machos y hembras maduros de los no maduros y su selección final para proceder con el ordeño y la extrusión.

Si la revisión no se hace a intervalos regulares se corre el riesgo de perder puestas por efectos de sobremaduración. La utilización de huevos con algún grado de sobremaduración tiene efecto sobre las tasas de fertilización globales, las que disminuyen conforme se avanza en el tiempo postovulación. Con este tipo de ovas, efectos negativos también se han demostrado sobre la mortalidad en etapas posteriores de embrionamiento, incubación y primeros estadios de alevinaje (Springate y Bromage, 1984). En temperaturas superiores a los 10 °C el tiempo ideal de 3 - 6 días postovulación se reduce puesto que la sobremaduración ocurre más rápido.

En una rutina obligada, los registros de operación y control consideran datos sobre el número inicial

de ovas que ingresan, los resultados de la prueba de fertilización, el porcentaje de viabilidad desde fertilización hasta el estado de embrionamiento y, finalmente, el porcentaje desde embrionamiento hasta eclosión. En definitiva, la consolidación de tales registros se resume en un valor único que corresponde al Índice de Eficiencia en Incubación, dato que expresará tanto el éxito del proceso para cada lote en particular como, en promedio, para todo el sistema de manejo establecido en cada granja. Una descripción pormenorizada de las fórmulas con las que se define este índice se encuentra en Rosado (1992) y Rosado y Eraso (2001).

Aun cuando las revisiones sean efectuadas de la forma más estricta posible y bajo los mejores procedimientos de manejo, obtener fertilizaciones del 100% es un evento de baja probabilidad. Por lo general, para un lote dado, obtener una fertilización superior al 75% se puede considerar aceptable. Las pérdidas durante el proceso deberán ser registradas y es especialmente en la fase de ova verde donde se concentra la mayor mortalidad.

La revisión y selección de los peces maduros es un procedimiento que culmina con la extrusión de las hembras y el ordeño de los machos, como pasos previos a la fertilización. Para proceder con esta selección, los peces son agrupados en una sección del estanque de mantenimiento, recogidos individualmente y ubicados en pequeños grupos en un recipiente que facilite su revisión final.

Este tipo de recipientes debe contener una solución anestésica que permita la manipulación segura de los peces. Un anestésico de común utilización es el MS 222 (Metano Sulfonato de Tricaína) en concentraciones de 50 - 100 ppm. Otros

anestésicos que la especie tolera son Benzocaína (25 a 45 ppm; debe ser disuelta previamente en alcohol o acetona) y Quinaldine. Inmersos en la solución anestésica los peces se tranquilizan en un corto periodo de tiempo (entre 2 y 5 minutos), lo que permite proceder a las labores finales de revisión y desove. Sal común puede ser adicionada (0.3%) para ayudar a mitigar los efectos de estrés que la actividad ocasiona. Bajo este procedimiento el desove puede ser realizado por un único operario; si no se emplea anestésico o si el tamaño de los peces lo amerita, puede ser necesario que cada pez sea manipulado por dos personas, una encargada de sostenerlo y la otra que realiza los masajes abdominales.

Las hembras son sujetadas firmemente por la aleta caudal y en una posición en la que la cabeza quede en un nivel superior al de la aleta caudal. Se procede entonces con un secado completo y se realizan los masajes abdominales que, cuando las hembras han ovulado, hacen que los huevos fluyan fácilmente hasta el recipiente de recolección. Si con estos masajes no se obtienen los huevos de manera fluida, lo más conveniente es separar el reproductor para una revisión posterior (Fig. 1).



Figura 1. Masaje abdominal para la recolección de los huevos de la trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss*

Como las hembras tienen tiempos variables postovulación, los huevos disponibles presentan igualmente grados diferentes de maduración, aun cuando las revisiones hayan sido programadas regularmente. Por esta razón resulta conveniente que la puesta de cada hembra sea recibida individualmente, evaluada y se decida finalmente sobre su utilización o eliminación. La evidencia de algún grado de sobremaduración (gotas de lípidos concentradas, aspecto cristalino o una evidente hidratación) en la puesta es un factor de decisión para su extracción del proceso. La baja o nula tasa de fertilización que se obtiene con este material (conocido como “ovas picadas”), implica la introducción a las incubadoras de mayores riesgos de aparición y proliferación de hongos, lo que trae como consecuencia el tener que incrementar la intensidad de las limpiezas o tratamientos y, sobre todo, se aumenta la posibilidad de pérdida de lotes simultáneos que presentan una superior calidad.

Al haber establecido la viabilidad de una puesta dada se puede proceder con la mezcla del producto de varios animales, por lo general hasta un máximo de cinco hembras por grupo.

Se procede a continuación con un manejo similar para el ordeño de los machos previamente seleccionados. El esperma es recibido directamente sobre la masa de huevos e inmediatamente se sigue con la mezcla de ambos, utilizando para el efecto una pluma, un accesorio plástico o la mano. Algunos operadores prefieren recibir primero el esperma de uno o dos machos y posteriormente y sobre este los huevos; con esta variación se corre el riesgo de activar prematuramente las células espermáticas por la adición involuntaria de agua, lo que lo hace un método de manejo más complicado (Ingram, 1985).

A simple vista la calidad del esperma puede ser evaluada por sus características externas; eyaculados grumosos o demasiado acuosos no deben ser utilizados, aunque la determinación precisa de la calidad se puede determinar utilizando un microscopio, definiendo la motilidad como el parámetro de mayor importancia, en cuanto es el criterio más comúnmente utilizado en la selección del semen para inseminación inmediata.

Cuando se dispone de un número de machos suficiente, la razón de uso es de por lo menos un macho cada dos o tres hembras; el proceso de adición de esperma debe ser rápido, tratando de utilizar el mayor número de ejemplares posible, pues dada la concentración de células espermáticas en los testículos (hasta 15×10^9 espermatozoides/ml) es alta la posibilidad de que con un único individuo se pueda fertilizar una gran cantidad de huevos, lo que puede disminuir la variabilidad genética en la progenie; una proporción razonable de fertilización está en unos 200.000 espermatozoides por huevo a fecundar. Este dato es importante cuando se trabajan esquemas de producción de semilla monosexo o cuando la cantidad de machos disponible es una limitante. Para este último caso el diluyente de Billard es una opción práctica para incrementar el volumen del eyaculado y mejorar la relación espermatozoides/huevo (Estay *et al.*, 1994).

La revisión individual debe complementarse con la obtención y registro de datos sobre cada animal (marcaje, longitud, peso, número y estado de huevos, épocas de desove, entre otros), lo que es base fundamental para el establecimiento y manejo de sistemáticos programas de reproducción.

La recolección de huevos en recipientes que contienen agua ha sido descrita desde hace años y se

le conoce como método húmedo, pero la inconsistencia en los resultados de fertilización que se obtienen hace que hoy día se encuentre en desuso. El empleo de accesorios completamente secos para la recepción del material –método seco– es el que mejores resultados ofrece en términos de fecundación; esto se explica tanto por el mayor tiempo de motilidad que mantienen las células espermáticas cuando están en contacto con los fluidos ováricos (2 a 3 minutos, en comparación con menos de 1.5 minutos en contacto con agua) como por la no hidratación inmediata ni cierre del micrópilo de la ova. Así, el secado de los reproductores durante la actividad es igualmente fundamental para evitar la adición de agua en el proceso (Ingram, 1985).

Con la mezcla realizada, la fertilización es un evento inmediato por lo que tiempos de reposo de cinco minutos son suficientes antes de continuar con la hidratación y lavado. La adición de agua después de este tiempo tiene como objetivo permitir la hidratación de las ovas, lo que les dará turgencia y la resistencia suficiente para proceder con los lavados finales y los correspondientes conteos. Esta se completa casi totalmente en pocos minutos, lo que se comprueba al observar la reducción en la fertilización por causa de la obliteración del micrópilo, incluso en tiempos menores a los 5 minutos de encontrarse estos en contacto con agua (Gómez, 1995); para lograr la completa finalización del procedimiento es conveniente manejar un tiempo de hasta una hora. Esta primera etapa del proceso de manejo de huevos finaliza aplicando sucesivos lavados, con los que se eliminan completamente residuos espermáticos, sangre o heces que hayan ingresado a los recipientes durante la actividad. Cuando el lote de ovas se encuentra totalmente limpio se procede con el conteo del vo-

lumen obtenido y su ubicación en las estructuras de incubación.

Incubación

La incubación puede ser adelantada en diferentes tipos de recipientes, entre los que se pueden mencionar las de tipo vertical o las horizontales, según el flujo del agua que se maneja en su interior.

Es frecuente la utilización de canastillas suspendidas en canaletas, en las que se localizan directamente las ovas. Son comunes, cuando el espacio físico o el agua son limitados, el empleo de incubadoras verticales tipo Heath (Fig. 2). Los dos sistemas son en esencia similares y en ambos los grupos de huevos permanecen localizados dentro de estructuras cerradas, sobre malla de ojo pequeño y con flujo constante de agua, hasta eclosión.



Figura 2. Incubadoras verticales tipo Heath

El periodo de incubación tiene una duración aproximada de 280 a 320 grados/día, lo que a una temperatura ideal de 10 - 12 °C para esta etapa significa que en promedio la eclosión se da alre-

dedor de los 30 días después de fertilización. Es la temperatura el factor que rige el periodo de desarrollo de las ovas y en ese sentido debe ser monitoreada permanentemente para disponer de un estimativo del tiempo en el que los diferentes estadios de desarrollo serán alcanzados.

Los límites de la temperatura para la fase de incubación están en los 5 °C y los 14 °C; estos valores definen los límites en donde se tienen pérdidas del 50% de los lotes (Gordon *et al*, 1987).

Durante este periodo la ova atraviesa dos estados cuya frontera práctica se establece cuando a través del corion se observan los ojos del embrión. Desde que el huevo es fertilizado hasta que dicha característica aparece el periodo se denomina Ova Verde y tiene una duración aproximada de las 2/3 partes del periodo total de incubación (unos 180 grados/día). A partir de aquí, las ovas entran a la fase de embrionamiento, última etapa que finaliza con la eclosión de las larvas.

El periodo inicial resulta ser el de mayor complejidad práctica durante el proceso incubatorio, dada la naturaleza de los procesos de formación embrionaria que ocurren durante la fase. Se puede considerar que buena parte del éxito en un programa reproductivo de trucha depende del conocimiento profundo que se tenga de la etapa de ova verde.

Los procedimientos de manejo implicados desde el momento mismo en que se ha dado curso al desove, la fertilización, el lavado y la hidratación del material obtenido son:

Conteo y ubicación en incubadoras: Los registros de la producción inicial son fundamentales

para estimar las cantidades finales de las larvas a obtener, para la planificación y uso de canaletas y tanques, para la programación de ventas y la distribución de las siembras.

La estimación del número de ovas obtenido se puede hacer por volumetría, método en el que se mide el desplazamiento de agua que se tiene con una muestra de las ovas; con el volumen desplazado por el total del material se realiza el cálculo correspondiente de ingreso. Otro método sencillo consiste en la utilización de un recipiente previamente aforado con una cantidad conocida de ovas; el número de veces que tal recipiente sea llenado permite totalizar el total de ovas obtenido (Fig. 3). Como la composición de cada desove varía en relación con las características de las hembras utilizadas, igualmente cambia el diámetro promedio de las ovas, lo que obliga a recalcular los aforos para cada caso. Con datos suficientes se puede establecer una relación matemática entre el tamaño promedio de las ovas y el nivel del aforo utilizado (Fig. 4).



Figura 3. Determinación del número de ovas de la trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss*, obtenido utilizando un recipiente aforado

Con base en el peso de una muestra, método gravimétrico, y el peso del total de las ovas se puede

estimar también el número obtenido, de forma similar al método volumétrico.

Fue mencionado que entre las características desfavorables que describen los productores al respecto del uso de alevinos nacionales se tienen la percepción de un menor crecimiento y una elevada aparición de individuos pequeños (colas) dentro de los lotes. Sobre el crecimiento es evidente que aún hace falta disponer de mayor cantidad de datos comparativos, pues con los disponibles tal desventaja no ha sido aún demostrada y, por el contrario, parece ser que alevinos nacionales e importados muestran desarrollos similares (Torres, 1995; Guerrero y Ruiz, 2004). Se debe anotar que la influencia de los machos en la biomasa en las etapas posteriores de cultivo (cuando maduran sexualmente) es una limitante de los resultados mostrados en este tipo de trabajos, por los que las evaluaciones serán concluyentes cuando se implementen técnicas de producción de semilla monosexo.



Figura 4. Determinación del tamaño promedio de las ovas de la trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss*

Ahora bien, en lo que se refiere a la proporción de “colas”, se ha implementado una serie de trabajos secuenciales que han demostrado que, si bien la

observación puede tener algún fundamento, elevadas proporciones de pequeños peces dentro de los lotes pueden deberse más a deficientes aspectos de manejo en el tratamiento de las ovas postdesove que a deficiencias asociadas a la naturaleza misma de la semilla nacional. Estos trabajos reportan resultados en los que la homogeneidad de los lotes de ovas se logra mediante selecciones tempranas antes de ingreso a incubación o, más tardías, ya en embrionamiento. Mejorar la uniformidad mediante este tipo de procedimientos incrementa igualmente la homogeneidad de los alevinos producidos y, en consecuencia, se equilibra la competencia interna de los lotes, disminuyendo hasta límites razonables la proporción de individuos que podrían ser considerados realmente como “colas”.

Los métodos de selección son sencillos y solo requieren como equipamiento pequeños bastidores con orificios circulares con los diámetros que se precisa separar, por lo que en apariencia constituye un mecanismo eficiente en los programas de mejoramiento de semilla nacional que deben ser diseñados e implementados. Información completa sobre la metodología aplicada y los resultados obtenidos se registra en Nery (1994), Lara y Prieto (1999) y Garcés y Lora (1999).

Limpiezas iniciales: Al disponer el material en las correspondientes bandejas, el paso siguiente consiste en el retiro de aquellos huevos que por cualquier razón no fueron fertilizados o murieron durante esta primera etapa. Para el caso de truchas, a 10 °C, se dispone de alrededor de 24 a 36 horas para realizar esta primera manipulación con relativa confianza; después de este tiempo y en la medida de lo posible se debe reducir al máximo

los manejos que impliquen movimiento sobre las ovas en incubación.

No obstante, esta posibilidad depende de los niveles de fertilización logrados para cada lote en particular, existiendo una relación inversa entre la intensidad de este manejo y el porcentaje de fertilización calculado. La estimación del nivel de fertilización es entonces una definición fundamental dentro de los procesos de producción de semilla.

Evaluación de fertilización: Medir la fertilización en un lote puede realizarse en dos momentos. A las 24 horas de la recepción en incubación es posible estimar el nivel de fecundación alcanzado, sobre una muestra de las ovas. Estas se sumergen en una solución aclaradora que, por contraste, permite observar el estadio de mórula en aquellas que presentan desarrollo normal. La proporción entre ovas viables y no viables, aplicada al total incubado corresponde al resultado de ovas en desarrollo. Observar este estadio requiere equipo óptico en la granja, lo que puede ser una limitante práctica en algunos casos.

Más fácilmente, cuando se han cumplido 70 grados/día (unos 7 - 8 días, a 10 °C), esta medición puede ser realizada a simple vista y permite mejorar la estimación de los resultados. Una muestra de las ovas es aclarada en una solución de ácido acético, agua y alcohol (proporción de 1:1:1), con lo que se hace evidente el cordón neural del embrión, que aparece como una pequeña línea blanca de 2 a 3 mm de longitud (Fig. 5). La relación de ovas fértiles con el número de la muestra da un valor que, al ser multiplicado por la cantidad que ingresó al proceso, permite estimar con precisión la cantidad real de ovas con las que se cuenta.



Figura 5. Cordón neural de embriones de truchas arco iris, *Oncorhynchus mykiss*

Aun cuando la revisión individual de las puestas de cada hembra es un filtro importante para evitar el ingreso de ovas con características evidentes de baja calidad, en los procesos de desove, fecundación y manipulación concurren factores que pueden hacer variar los resultados finales de la actividad. Así, la prueba ofrece un dato importante para efectos de manejo, pues mientras menor sea el factor de fertilización obtenido, los requerimientos de manejo y riesgos en incubación se verán incrementados. Lotes con una fertilización inferior al 75% deben considerarse con cuidado y para aquellos con niveles iguales o menores al 50% es conveniente proceder con su eliminación del proceso.

Rutina de limpiezas y choque mecánico: El retiro, conteo y registro de la mortalidad son fundamentales en el proceso, pues los huevos no viables contaminan rápidamente al material restante y una

programación inadecuada puede originar pérdida de lotes completos.

Cuando se manejan cantidades importantes, tratamientos antifúngicos deben ser realizados para evitar la proliferación de hongos dentro de las incubadoras. El Verde de Malaquita, si bien es un producto efectivo, tiene el problema de ser cancerígeno por lo que su empleo debe ser evitado. Controles eficientes se logran adicionando Formalina (1.600 ppm ó 250 ml por 10 litros de agua/minuto, durante 15 minutos, cada dos días) o, incluso, sal común (NaCl y CaCl (proporción 26:1), en una concentración de 20 g/l, por 15 minutos, cada dos días).

Es una regla, sin embargo, que la limpieza deberá ser realizada estrictamente y de forma ideal solo cuando sea necesario. En un comportamiento que se puede describir como promedio, para un grupo que presenta una fertilización adecuada se pueden programar limpiezas cada dos días, las que se inician desde el día 8 - 12 (ya retirada la mortalidad inicial y habiendo realizado la prueba de fertilización), hasta que se alcanzan los 20 a 22 días de desarrollo (aproximadamente 180 a 220 grados/día), momento en el que ingresan a la etapa de ova embrionada. Fertilizaciones menores o mortalidades asociadas a agentes externos (p.e. exceso de material suspendido por lluvias) exigen requerir la reprogramación de la rutina. Así mismo, si la cantidad de huevos muertos no lo justifica, se puede disminuir la intensidad de la manipulación.

Cuando se ha dado el paso a estado de ova embrionada se puede proceder con la aplicación de un procedimiento denominado choqueo, el cual consiste en someter a los lotes a un maltrato in-

ducido con el que se busca principalmente eliminar aquella fracción del grupo de ovas con menor capacidad o fortaleza para resistir presiones del medio y para identificar aquellos huevos que, sin haber sido fertilizados, permanecen como viables y se encuentran aún en las bandejas.

Las ovas son sifoneadas directamente a un recipiente externo y se dejan caer libremente desde una altura de unos 50 cm, golpe con el que se induce la eliminación del material con deficiencias. El lote se ubica posteriormente en salmuera (60 - 70 g de sal común por litro de agua) durante unos 10 minutos. Además del tratamiento terapéutico que implica este baño, con tal concentración se facilita la limpieza del material que ha sido manejado, pues por diferencia de densidades los huevos perdidos tienden a flotar permitiendo su fácil extracción. A la estructura de incubación también se le somete a una limpieza profunda antes de recibir el lote manipulado, entendiendo que aún resta 1/3 parte del periodo incubatorio.

Como fue anotado, es posible proceder también con una selección por diámetro de las ovas en este momento de desarrollo, con el fin de promover lotes más uniformes en diámetro. Naturalmente, grupos de tamaño diferente deberán ser incubados separadamente.

Después de 24 horas, tiempo en el que se evidencia el total de muertes, el lote restante debe ser contado nuevamente con alguno de los métodos descritos, pues es en este momento cuando se pueden establecer con mejor aproximación la cantidad de larvas que es posible esperar de cada lote en particular. La fracción que se obtiene entre el número de ovas que se obtuvo inicialmente y la

cantidad que es viable en embrionamiento es un buen indicador de la calidad de los procesos de manejo aplicados en la incubación durante la fase de ova verde (Ingram, 1985).

Cuando se hace comercialización de ovas, este es el momento de realizar los conteos, empaques y distribución correspondientes.

Manejo en ova embrionada: El ingreso a fase de embrionamiento marca una etapa de gran importancia práctica. Las ovas manifiestan una mayor fortaleza, por lo que el proceso incubatorio pasa a ser más estable y las pérdidas en estos últimos días deben ser sustancialmente menores que las que se presentan normalmente durante la ova verde. Puesto que la estabilidad de la etapa permite esperar menores pérdidas, el manejo de las limpiezas durante estos últimos días puede ser realizado con seguridad y más frecuentemente en caso de ser requerido. Cualquier tratamiento antifúngico se suspende durante los días previos a la eclosión.

Esta mayor resistencia a la manipulación es la razón que ha permitido el transporte de lotes completos entre diferentes sitios que, en condiciones de baja temperatura y adecuado empaque, puede llegar a superar incluso las 72 horas. Es en la etapa de ova embrionada como llega al país el material que es regularmente importado.

Los procedimientos anteriormente descritos corresponden a los que se realizan cuando se trabaja la reproducción de la especie de forma integral. En la situación que caracteriza la producción de semilla de truchas actualmente en Colombia (altamente dependiente de la importación) los procedimientos de manejo del material comienzan desde este momento.

En el caso específico de las ovas que son importadas, el manejo parte desde la recepción de los recipientes en los que estas son transportadas. Los grupos de ovas llegan ubicados en bandejas superpuestas dentro de recipientes que por su diseño permiten el mantenimiento de bajas temperaturas durante el transporte (Fig. 6).

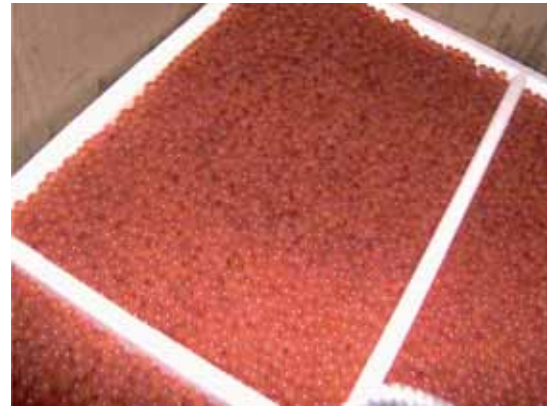


Figura 6. Recipientes utilizados para el transporte de ovas de trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss*

En el interior de las bandejas las ovas deben mantenerse a temperaturas entre 2 y 4 °C. Si estos valores se superan, particularmente en viajes de larga duración, es posible observar que la eclosión comienza inmediatamente, causando importantes pérdidas en los primeros días posteriores a la localización de las ovas en las incubadoras.

Una vez recibidas las ovas, el procedimiento a seguir consiste en aclimatar el material, desde la temperatura de transporte hasta aquella en la que van a ser incubadas. Este incremento debe ser logrado de forma leve y continua, en un diferencial de unos 2 a 4 °C por hora.

Con el hielo de los recipientes se prepara agua a la temperatura en la que se encuentran las ovas y

se procede a realizar baños continuos, cada 15 minutos, calculando un incremento aproximado de 0.5 a 1 °C en este lapso. Con este método las ovas permanecen en el empaque original y son retiradas solamente cuando su temperatura sea equivalente a la del agua en la sala de incubación.

También se pueden retirar e introducir en recipientes con agua a baja temperatura la que se incrementa paulatinamente mediante la adición de agua ligeramente más cálida. Para este caso es necesario proveer aireación complementaria.

En los dos casos el aumento debe ser monitoreado permanentemente con un termómetro; debe tenerse en cuenta que conforme la temperatura sube, el metabolismo de los embriones incrementa, por lo que las fases finales de la aclimatación deben ser realizadas más rápidamente para evitar una eclosión anticipada. Esto es particularmente notorio cuando la temperatura final a alcanzar es superior a los 10 °C.

Eclosión y larvicultura

Al completarse el periodo de 280 - 320 grados/día requerido por los embriones para su formación, comienza la eclosión; desde el momento en el que inicia hasta su finalización completa puede haber una diferencia de unos 50 grados/día (3 - 5 días). Enzimas proteolíticas generadas por el embrión facilitan la ruptura del corion y el nacimiento de la larva.

Es frecuente observar que algún grado de eclosión es incompleto, lo que puede llegar a originar pérdidas de alguna magnitud. En general, la mortalidad tiene un ligero incremento en este periodo,

pues se trata de un proceso traumático en sí mismo, aun cuando en condiciones normales tiende a estabilizarse rápidamente.

El manejo en esta etapa depende del sistema de incubación empleado. Cuando se utilizan canastillas o bastidores suspendidos en canales, las larvas recién nacidas caen directamente sobre estos y allí continúa la reabsorción. En botellas McDonald el flujo y el movimiento de las larvas permite también el que estas abandonen por sí mismas la incubadora y se localicen en el canal.

En las incubadoras verticales es posible mantener las larvas durante buena parte del tiempo de reabsorción siempre que los componentes de los bastidores (canastilla y tapa) tengan un ajuste mecánico adecuado; los requerimientos en oxígeno disuelto suben, por lo que se debe aumentar el flujo de agua que ingresa. Si el ajuste es deficiente, las fugas pueden ser grandes por lo que, de ser el caso, al finalizar la eclosión se deben trasladar las larvas a los canales para reabsorción. Al igual que en incubación, la etapa debe adelantarse en estructuras alejadas de la incidencia de luz directa, pues esta tiene efectos nocivos sobre organismos que mantienen una elevada tasa de reproducción celular.

La reabsorción de la vesícula vitelina es un proceso relativamente estable en términos de mortalidad y tiene una duración de unos 150 - 180 grados/día, hasta que finaliza completamente. En cuanto los lotes de ovas presentan cierta variabilidad en lo referente a su diámetro, el tamaño de las larvas recién nacidas es igualmente variable; dentro del rango de 3 - 6 mm en el que se encuentra la distribución del diámetro de los huevos en trucha,

la relación entre el tamaño de la ova y la larva que nace es directa, registrándose larvas más grandes provenientes de ovas con mayor diámetro y viceversa. Normalmente las larvas presentan unos 1.5 a 2 cm de longitud total cuando nacen.

Las larvas deben permanecer preferiblemente en sistemas en los que se dispone de agua filtrada o alejadas del fondo para evitar contacto directo con el sedimento que ingresa. Las pérdidas están principalmente representadas por aquellos individuos cuyas deformidades indican su falta de viabilidad posterior. Una descripción de este tipo de malformaciones se puede encontrar en González y Rosado (2001) y no debe superar un 2% del total presente.

Conforme se reduce el tamaño de la vesícula, la actividad de las larvas se incrementa y se observan los primeros movimientos natatorios; cuando la proporción de peces nadando se acerca a un 10% del lote es tiempo de iniciar el suministro de alimento, aspecto crítico de cuya adecuada identificación depende la viabilidad de estos primeros grupos de larvas. Particularmente en aguas con mayor temperatura la demora en el suministro de esta primera alimentación, incluso en el orden de 24 a 48 horas, puede generar pérdidas sustanciales pues los alevinos alcanzan rápidamente lo que se denomina punto de no retorno; significa que aún restableciendo la frecuencia de raciones, el deterioro nutricional causado no permite la recuperación de los animales. En temperaturas más bajas (< 10 °C), el riesgo es igualmente más bajo si bien el tiempo de respuesta sigue siendo reducido.

Para el caso nacional y con las referencias de alimento actualmente disponibles es necesario pro-

ceder con la molienda de los granos hasta obtener una harina que debe también ser cernida. Esta harina fina se suministra en raciones a saciedad, a todo lo largo de la unidad de cultivo y con una elevada periodicidad. Aunque un número de 10 a 12 raciones/día se consideran aceptables, la tendencia actual es la de ofrecer hasta dos y tres raciones por hora, con las que se han demostrado buenos resultados de desempeño de los alevinos y, especialmente, en la uniformidad que presentan los lotes en cultivo.

La rutina de manejo durante la reabsorción implica la evacuación regular de restos de alimento no consumido, excesos de sedimento y el retiro, registro y tabulación de la mortalidad que se presenta. Aunque la periodicidad de estas actividades está ligada a las condiciones particulares de agua, infraestructura y manejo de cada granja, la degradación de este tipo de material puede causar detrimientos importantes en las condiciones sanitarias y, en consecuencia, promover mayores pérdidas.

Alevinaje

Cuando la alimentación está siendo aceptada por la totalidad del lote se tiene el comienzo práctico de la etapa de alevinaje, fase que consiste básicamente en disponer de los medios técnicos para que el desarrollo de los peces ocurra en las mejores condiciones de manejo y, por consiguiente, se logren los resultados operativos esperados.

Por lo general tamaños de 8 a 12 cm marcan el final de la etapa y la diferencia real tiene más que ver con el destino de la semilla (comercialización o cultivo) y con la infraestructura que se utiliza que con una diferenciación basada en estrictos tér-

minos biológicos; por lo general, a partir de esta talla se comienzan a considerar las fases de juveniles o de levante.

Conforme el tamaño de los peces se incrementa, mayores serán sus necesidades de espacio y caudal. Los requerimientos nutricionales se caracterizan también por elevados tenores de proteína, por los que las referencias de iniciación actualmente disponibles en el mercado son adecuadas para la fase.

Tablas clásicas para definir las densidades de manejo son reportadas por numerosos autores (Eraso, 2001), si bien la incorporación de oxígeno o el simple incremento de los recambios dentro de las unidades mediante el aumento de los caudales de ingreso, permiten elevar estas cargas hasta niveles que superan sustancialmente los que caracterizaron cultivos tradicionales.

Producción de semilla monosexo

La principal característica que desvirtúa el empleo intensivo de alevinos nacionales se puntualiza en la presencia de machos dentro de los lotes, lo que ciertamente coloca a este tipo de producción convencional en una situación de clara desventaja frente a su contraparte importada.

Es claro que la investigación en el país, dirigida a superar esta condición es aún incipiente y aunque los resultados preliminares son promisorios, hasta el momento se pueden considerar experimentales. No obstante, la literatura y desarrollo existentes son lo suficientemente amplios y consistentes como para asegurar que la implementación de las metodologías sea una meta potencialmente alcanzable en el corto plazo.

La producción de ovas en las que se pueda garantizar elevadas proporciones de hembras se logra mediante la aplicación de dos tipos de procedimiento: a) técnicas de ginogénesis y b) producción de neomachos.

Estas opciones, en complemento con la implementación de algunos de los mecanismos que fueron anotados, ofrecen una base sólida para suponer un mejoramiento de ciertos parámetros de calidad de la semilla producida actualmente en Colombia, con miras a reactivar y consolidar un programa nacional dirigido a la producción de ovas y alevinos de trucha con características competitivas.

Técnicas de ginogénesis

Talvez la más evidente desventaja que se asocia a la utilización de semilla nacional con respecto a la importada corresponde precisamente a la presencia de machos dentro de los lotes. El menor desarrollo de estos cuando alcanzan la madurez sexual dentro del ciclo de cultivo, la menor coloración tipo salmón, en cuanto los pigmentos migran a la piel en vez de al músculo, y una menor calidad de la carne por estas mismas razones son las causas por las cuales los machos en cultivo sean un elemento desfavorable en términos de producción.

Las técnicas de ginogénesis comprenden una serie de pasos destinados a incrementar la proporción de hembras que normalmente se pueden presentar en un lote que ha sido obtenido y manejado bajo los criterios convencionales. El porcentaje final de hembras dependerá naturalmente de la eficacia en la aplicación de los tratamientos.

Sobre este tipo de procedimiento han sido descritas varias alternativas metodológicas (Chourrou,

1986); en términos generales, el fundamento básico consiste en lograr la eliminación del material genético que aporta el macho a través de su espermatozoide (con el cual se determina el sexo del futuro alevín) y la duplicación del que corresponde al óvulo, con lo que se consigue que la carga genética de las ovas obtenidas sea la misma que la de la reproductora de la cual provienen.

Se trata de una técnica de mejoramiento genético, cuya base consiste en la aplicación de radiación ultravioleta al espermatozoide, una dosis lo suficientemente alta para inactivarlo pero que simultáneamente no lo inutilice para realizar la fecundación y se inicie el proceso de desarrollo embrionario después de la penetración por el micropilo. El manejo se completa con un choque térmico, de presión o químico al grupo de ovas recién fecundadas con lo que se retiene el segundo cuerpo polar y se restaura la condición diploide, produciéndose entonces individuos con la información genética materna, lo que significa en este caso poblaciones de solo hembras.

Esta supresión del aporte genético del macho mediante radiación por un corto tiempo, sin que los espermatozoides pierdan funcionalidad, es tal vez la parte del procedimiento que genera mayores problemas de manejo, en cuanto se debe garantizar una correcta extracción del espermatozoide sin que, por acción del contacto con el agua, este se active antes de ser sometido a la radiación. La radiación se aplica en cámaras especiales en las que el material se somete a la acción de luz ultravioleta, en una dosis que depende tanto del tiempo de contacto como de la intensidad (cantidad de energía por unidad de área). La dosis generalmente se expresa en microwatts-segundos por centímetro cuadrado ($\mu\text{wseg}/\text{cm}^2$) (Neira, 2004).

Una vez el espermatozoide ha sido irradiado, se procede a efectuar la fertilización de las ovas disponibles, las cuales han sido obtenidas de manera normal. Posterior a la fecundación, las ovas se someten a un choque (puede ser térmico, químico o de presión), con el que se busca evitar que se complete la meiosis y así la carga genética final de la ova sea la de una célula normal. Se debe recordar que tanto huevos como espermatozoides son células sexuales que contienen la mitad de la carga genética que tienen las demás células somáticas del individuo. Al terminar el choque sobre las ovas el resultado es una célula capaz de dar origen a un individuo con un número normal de cromosomas.

Si bien la información disponible sobre estas técnicas es abundante y su aplicación es común, en el país los resultados experimentales son pocos y nulas aquellas experiencias registradas para la producción masiva de ovas solo hembra. En los escasos reportes registrados con base en información nacional se ha logrado determinar que con tiempos de irradiación entre 4.5 y 5.5 minutos y choques térmicos (aplicados mediante la inmersión de las ovas en acuarios con termostato a temperatura constante), entre 26 y 28 °C, unos 15 minutos después de la fertilización, se han conseguido porcentajes de hembras que superan el 90%. No se trata de procedimientos que revistan una alta complejidad y su posible implementación tampoco requiere de mayores inversiones, por lo cual su aplicación práctica es factible en el corto plazo en las condiciones nacionales.

Como se mencionó, de la estandarización de la técnica dependerá el éxito en la producción, referida esta a la proporción final de hembras presentes, por lo que un aspecto adicional de manejo consiste en

la obvia validación de los resultados, la que deberá efectuarse sobre los lotes de alevinos obtenidos. Esta básicamente consiste en la determinación del porcentaje de hembras logrado; si bien hay técnicas complejas de laboratorio, con equipos de relativa fácil consecución para una explotación se puede realizar observando el tejido gonadal de una muestra de los peces. Cuando los alevinos alcanzan al menos 5 cm de longitud total, es posible extraer porciones de gónada que, bajo el microscopio, se diferencian en tejido ovárico o testicular. En los trabajos realizados en el país la forma en la que tales análisis se realizan se encuentra ampliamente descrita en Salinas (1991) y Amaya y Amaya (2000).

Producción de neomachos

Estos procedimientos se basan en la masculinización hormonal de hembras de la especie, lo que se logra actuando sobre la etapa de diferenciación sexual de alevinos en sus primeros estadios, a través de la adición de 17 - A- Metil Testosterona (principalmente), bien a través del alimento o aplicando la hormona por inmersión (Piferrer, 2001).

En estos primeros estadios se cambia la proporción relativa de las hormonas en los alevinos que empiezan a comer, lo que permite que, en vez de ovarios, las hembras revertidas desarrollen testículos en su madurez sexual. El sexo genético es determinado a partir de la fusión del material por el espermatozoide y por el óvulo; de los cromosomas que aporta el espermatozoide, uno hace referencia al sexo (X o Y), y forma pareja con el otro cromosoma sexual (X o X) de aportados por el óvulo. Así, el sexo del individuo resultante de esta fusión será macho con la combinación XY o hembra, con XX. De aquí se deduce que la carga en los

espermatozoides de las hembras revertidas será de carácter X y explica el que su unión con el aporte del huevo (siempre X) dé origen a individuos solo hembra (Neira, 2004).

Aunque hay una relación entre la cantidad de hormona y el tiempo en el que esta es suministrada, con dosis de alrededor de 3 mg por kilogramo de alimento se logran elevados porcentajes de reversión. Desde el momento en que se da inicio a la alimentación de los alevinos el tiempo de tratamiento hormonal se localiza entre los 750 y 1.000 grados/día (Díaz, 1993). Después, el manejo alimenticio de los peces se continúa normalmente con concentrado comercial para cada etapa de desarrollo posterior.

Si bien los machos resultantes del proceso de reversión son funcionales, no presentan desarrollo en sus vasos deferentes y el esperma no puede ser extraído normalmente, obligando al sacrificio del reproductor, lo que es una limitante de manejo; los testículos son de forma globosa y, a diferencia de los normales, se localizan en la parte media-anterior de la cavidad celómica; toda la masa testicular debe ser macerada sobre los huevos durante el proceso de fertilización. La carga genética de las células espermáticas así obtenidas permite que al ser utilizadas en la fertilización de huevos obtenidos de forma convencional, la progenie resultante presente una proporción de hembras del 100%, lo que lo hace un procedimiento particularmente práctico, efectivo y susceptible de ser aplicado bajo condiciones normales de operación.

Las principales limitantes de esta posibilidad de producción están dadas por el tiempo que transcurre desde la reversión en alevinaje hasta que el reproductor madure y pueda ser utilizado funcio-

nalmente, y por la necesidad de mantener grupos permanentes en crecimiento por el empleo único de cada individuo. Igualmente, en la primera generación se deben diferenciar y separar las hembras revertidas (neomachos) de aquellos machos genotípicos, lo cual se logra retirando los ejemplares que presentan emisión de esperma mediante presión y las hembras en las que el efecto de la hormona no fue suficiente para alcanzar la reversión. Los individuos restantes serán neomachos.

Esta dificultad inicial en el manejo desaparece en la segunda generación, pues los alevinos obtenidos a partir del esperma de los animales tratados serán hembras y la aplicación del proceso de reversión originará un 100% de neomachos.

De la misma forma, al aplicar choques térmicos (técnicas de ginogénesis) sobre ovas fertilizadas con el esperma de hembras revertidas, se tiene como resultado una progenie de triploides hembra que, por su condición de esterilidad, se constituyen en poblaciones ideales para sistemas de producción de carne, especialmente si se trabaja con mercados que exigen grandes tamaños de producto final.

La refrigeración o criopreservación de este tipo de esperma permite su traslado e intercambio con explotaciones que se centren en el manejo exclusivo de reproductoras, lo que abre renglones comerciales alternativos para fincas especializadas en la producción y manejo de neomachos.

BIBLIOGRAFÍA

- AMAYA, O. Y A. AMAYA. 2000. Aspectos prácticos en la aplicación de técnicas de ginogénesis para la producción masiva de semilla de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Trabajo de grado. Facultad de Zootecnia, Universidad de La Salle. Bogotá.
- ÁLVAREZ-LEÓN, R., G. PINILLA; J. GONZÁLEZ; P. LEHMANN; J.E. FORERO Y R. ROSADO. 2002. *Eremophilus mutisii*. 196 - 199 p. En: Mojica, J.I.; C. Castellanos; S. Usma y R. Álvarez (Eds.). Libro Rojo de especies dulceacuícolas de Colombia. La Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá, Colombia. 288 p.
- BROMAGE, N. Y R. CUMARANATUNGA. 1988. Egg Production in the rainbow trout. En: Muir, J. y R. Roberts, (Edit). Recent Advances in Aquaculture. Portland, USA, Vol. 3: 63 - 138.
- CHAPARRO, J. 1994. Relación del tamaño y peso de los reproductores en el número de ovas producidas y su influencia en los procesos de incubación y reabsorción en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), en el Lago de Tota. Bogotá. Trabajo de grado. Facultad de Zootecnia, Universidad de La Salle. Bogotá. 45 p.
- CHOURROUT, D. 1986. Genetic manipulation in fish: Review of methods. EIFAC/FAO Symposium.
- DÍAZ, L. A. 1993. Tratamiento hormonal con 17-A-Metil Testosterona para la obtención de neomachos y con 17-Beta-Estradiol para la obtención de hembras en alevinos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Trabajo de grado. Facultad de Biología Marina, Universidad Jorge Tadeo Lozano. Bogotá.
- ERASO, A. 2001. Aspectos básicos para el cultivo de la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* (Richardson, 1836). 19p. En: Rodríguez, H. y G. Polo (Eds.). Fundamentos de Acuicultura Continental - INPA. Bogotá.
- ESTAY, F.; H. CERISOLA Y V. TÉLLEZ. 1994. Biología del desarrollo y reproducción artificial en la trucha arco iris. Chile. CONICYT - FONDEF. 30 p.
- ESTAY, F.; N. DÍAZ; L. VALLADARES Y G. DAZAROLA. 1995. Manejo reproductivo de Salmóni-

- dos. Serie Publicaciones para Acuicultura N° 2. Chile. CONICYT - FONDEF. 63 p.
- GARCÉS, A. Y P. LORA. 1999. Efecto de la selección por diámetro de ovas embrionadas en la distribución por tallas de alevinos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Trabajo de grado. Facultad de Zootecnia, Universidad de La Salle. Bogotá.
- GÓMEZ, A. 1995. Influencia de la preservación en frío y la hidratación previa en el potencial de fertilización de huevos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Trabajo de grado. Facultad de Ciencias, Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Los Andes. Bogotá. 69 p.
- GÓMEZ, M. Y M. RUGE, 2004. Diagnóstico y planificación de la investigación sobre trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en Colombia a partir de la recopilación y evaluación de la literatura disponible (1970 - 2002). Volumen I - Recopilación y Diagnóstico. Trabajo de grado. Facultad de Administración de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle. Bogotá. 325 p.
- GONZÁLEZ, J. Y R. ROSADO. 2001. Descripción de algunas deformidades fenotípicas presentes en larvas y alevinos de trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss*, con anotaciones respecto al manejo de parentales. Dahlia - Rev. Asoc. Colomb. Ictiol, 4: 37-45 p.
- GORDON, M. R.; K. C. KLOTINS; V. M. CAMPBELL Y M. M. COOPER. 1987. Farmed Salmon Broodstock Management. Canadá. Research – Vancouver, B.C. 137 p.
- Guerrero, E. y G. Ruiz. 2004. Comparación del desarrollo entre alevinos nacionales e importados de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Trabajo de grado. Facultad de La Salle, Universidad de La Salle. Bogotá. 31 p.
- INGRAM, M. 1985. Clearwater guide to investment in ova & milt – High Technology Broodstock Management. Clearwater Publishing Limited, Isle Of Man. British Isles. 111 p.
- INPA. 2000. Boletín Estadístico pesquero 1999. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. Bogotá, D.C.
- LARA, C. Y O. PRIETO. 1999. Determinación de parámetros de crecimiento en alevinos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) a partir de la clasificación de las ovas. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Fundación Universitaria Agraria de Colombia. Bogotá.
- NEIRA, A. 2004. Efecto de la radiación ultravioleta sobre las células espermáticas de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Trabajo de grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 85 p.
- NERY, K. 1994. Influencia del tamaño de la ova en la calidad del alevino producido en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Trabajo de grado. Facultad de Zootecnia, Universidad de La Salle. Bogotá. 47 p.
- Piferrer, F. 2001. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. Aquaculture, 197: 229 - 281 p.
- ROSADO, R. 1992. El Índice de Eficiencia en Incubación. Documento Técnico C.A.R. Bogotá. 22 p.
- ROSADO, R. 2001. Elementos de análisis sobre la producción de semilla de trucha arco iris en Colombia a partir de matrices nacionales. Memorias III Seminario Internacional de Acuicultura. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D.C.
- ROSADO, R. Y A. ERASO. 2001. Aspectos básicos para el cultivo de trucha arco iris. 301 - 328 p. En: Rodríguez, H.; P. Victoria y M. Carrillo (Eds.). Fundamentos de Acuicultura Continental (2ª Edición) - INPA. Bogotá, D.C.
- SALINAS, J. 1991. Aplicación y optimización de técnicas de ginogénesis en trucha arco iris (*Salmo gairdneri* Richardson, 1836). Trabajo de grado. Facultad de Biología Marina, Universidad Jorge Tadeo Lozano. Bogotá.
- SPRINGATE, J. Y N. BROMAGE. 1984. Broodstock management husbandry and the ripening of eggs. Fish Farmer, 7 (3): 22-23.
- TORRES, M. 1995. Evaluación comparativa del crecimiento de lotes de diferente procedencia de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Trabajo de grado. Facultad de Biología Marina, Universidad Jorge Tadeo Lozano. Bogotá.

REPRODUCCIÓN DE TILAPIAS*

Sergio Zimmermann¹

Introducción

El término tilapia es utilizado como nombre común para un gran número de especies dentro de la tribu Tilapiini de los Cichlideos. Una de las características más típicas de las tilapias es la facilidad con que se reproducen naturalmente (en cultivos sin inducción hormonal y en grandes cantidades), tal vez porque en la naturaleza están constantemente expuestas a cambios de su ambiente natural. La mayoría de los autores agrupan las tilapias en tres géneros: *Tilapia*, *Sarotherodon* y *Oreochromis* (McAndrew, 2000). Casi el 100% de las 1.500.000 toneladas de tilapia cultivadas en 2003 pertenecen al género *Oreochromis*.

Las tilapias son hoy el segundo grupo de peces más producido por la acuicultura mundial, siendo la tilapia nilótica (*O. niloticus*) la responsable por más del 85% de la producción total y el 15% restante corresponde a las demás especies, entre las que se destacan la tilapia Mossambica *O. mossambicus*, la tilapia Aurea *O. aureus* y la tilapia Hornorum *O. hornorum* y sus híbridos de colores rojo, naranja, azul, rosado, blanco, gris o negro.

Las tilapias han sido introducidas en los cultivos comerciales de forma muy acelerada, especialmente en los países tropicales y subtropicales de todo el mundo (Asia y América Latina), durante los años 90.

¹ Universidade Luterana do Brasil (ULBRA) y GenoMar ASA (Norway). sergio@genomar.com

* Traducido por: Miguel A. Landínez, Profesor Universidad Nacional de Colombia. malandinezp@unal.edu.co

Las tilapias recibieron el nombre popular de “pollitos acuáticos”, por las características de su filete (sabor muy suave) y la facilidad de su cultivo, soportando errores de manejo, dada su rusticidad, alta adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales, fácil reproducción, alta resistencia a las enfermedades, alta productividad y por poseer hábitos omnívoros con tendencia a herbívoros, entre otros. Es curioso que de los 4 países más poblados del mundo, tres de ellos son los mayores productores de tilapia (China, Indonesia y Brasil) y el otro es el más grande importador de Tilapia en el mundo (Estados Unidos).

Las tilapias son peces originarios de África, Israel y Jordania, pero durante la primera mitad del siglo XX fueron dispersadas por el mundo, llegando al Sureste Asiático (Indonesia, Malasia, Filipinas y Tailandia), en donde se intensificó su cultivo y su progresivo éxito en el ámbito mundial. Ya en la segunda mitad del siglo pasado, estos peces fueron introducidos de forma acelerada en otros 80 a 100 países tropicales y subtropicales.

Existe una enorme variedad de patrones reproductivos en las tilapias. La mayoría de las especies poseen el sexo masculino y femenino, pero al igual que en otros peces ya fue registrado en la literatura el hermafroditismo, la bisexualidad, la ginogénesis (desarrollo de óvulos estimulados a dividirse por un esperma que no aporta material genético) y la partenogénesis (desarrollo de un nuevo individuo a partir de un óvulo no-fertilizado). La reversión sexual de las larvas de varias especies de tilapias ocurre en la naturaleza por influencias ambientales y también es una práctica de manejo muy común en los cultivos de estas especies.

El número de huevos producidos por una determinada especie de tilapia está generalmente definido por la presencia o no del cuidado parental, así las especies que producen un gran número de huevos generalmente no los protegen y están libres o adheridos a sustratos, mientras que las hembras del género *Oreochromis* protegen las crías y ponen un número más reducidos de huevos.

Los métodos de fertilización también varían de acuerdo con el cuidado parental proporcionado a los huevos y a la progenie. En general las tilapias simplemente liberan los huevos y el espermatozoos en el agua, como también puede ocurrir la cópula con la posterior liberación de los huevos (ya fecundados), y raramente puede haber una incubación interna seguida de la liberación de las larvas eclosionadas.

Como casi todas las tilapias utilizadas en los cultivos comerciales pertenecen al género *Oreochromis*, en este capítulo se hará énfasis en la reproducción de las tilapias de este grupo, estudiando principalmente la especie *O. niloticus* (tilapia nilótica o tilapia del Nilo).

Biología reproductiva

El objetivo de este tópico es ofrecer una visión general de las estrategias reproductivas de los ciclidos tilapiinos, principalmente en los aspectos etológicos, de evolución y ecológicos. La fisiología de la reproducción será tratada al final del capítulo.

El comportamiento reproductivo de las tilapias es influenciado por el sistema reproductivo de la especie en cuestión. Todas las tilapias del género

Oreochromis aparentemente presentan cuidado parental, o sea, incubación y protección en la boca de la madre, durante los primeros días de vida de los huevos y larvas. Según Trewavas (1983), el cuidado parental bucal es parte de la definición de este género. De acuerdo con Turner y Robinson (2000), los machos de *Oreochromis* muestran características de una fuerte selección por el sexo: estos son más grandes, más brillantes, coloridos, dominantes, territorialitas y más agresivos que las hembras; construyen nidos, y desarrollan estructuras sexuales secundarias como largas extensiones de aletas dorsales y anales. El género *Tilapia* se caracteriza por presentar cuidado biparental y desove en substratos, pero la selección por sexo es mucho más reducida y probablemente solo en machos (un poco más grande que las hembras). En *Sarotherodon* el cuidado parental es como el de *Oreochromis*, en el interior de la boca, pero tanto en las madres como de los padres, dependiendo de la especie.

Selección y diferenciación sexual de los reproductores

Las tilapias son conocidas como peces muy fértiles y de fácil emparejamiento. En el género *Oreochromis*, el dimorfismo sexual es más acentuado y aparentemente es la hembra la que selecciona el macho durante el cortejo, mientras que en los géneros *Tilapia* y *Sarotherodon* el dimorfismo sexual es menos evidente y los cruces se dan de forma más al azar. La selección de la pareja se basa en características individuales (como la talla, forma, color, brillo, estatus jerárquico) y del medio ambiente o del nido (localización, tamaño, forma), como también hay una serie de factores involucrados en la selección de la pare-

ja como las feromonas y la estructura social del grupo.

Los machos de *Oreochromis* son altamente polígamos, fecundan varias hembras en cortos periodo de tiempo, mientras que las hembras normalmente desovan solamente con un macho. Sin embargo, en la literatura hay registros de desoves fecundados por varios machos (Turner y Robinson, 2000). La territorialidad, la agresividad y el desgaste corporal de los machos son muy evidentes cuando se construyen los nidos, pero la estrategia del cortejo y selección de pareja por parte de la hembra está mucho más relacionada con el nido que la disputa entre machos.

En cuanto a la diferenciación sexual, el desarrollo de los gametos y la determinación externa del sexo, se puede realizar cuando las tilapias tienen un peso entre 20 a 30 gramos. Los animales sacrificados pueden ser fácilmente sexados a través del examen directo de sus gónadas. No obstante, existe un gran interés por el desarrollo de métodos confiables, rápidos y prácticos para sexar tilapias vivas. Estos métodos llevarán a mejorar la estimación del potencial reproductivo del lote de parentales y a aumentar la eficiencia de la alimentación y comercialización. Los juveniles de reducida talla son difíciles de identificar en términos de sexo, porque no poseen las características externas asociadas a la maduración sexual, como pigmentos, rugosidades y poro urogenital visible. Las determinaciones de sexo en estas condiciones deben ser basadas en el examen directo de las gónadas o a través de exámenes sanguíneos o de la mucosa.

Curiosamente aún no se ha identificado cuál de los 44 cromosomas que poseen las tilapias es el

responsable de la determinación del sexo, probablemente sean varios genes en distintos cromosomas los que influyan en esta determinación; por ejemplo, una misma pareja de tilapias nilóticas puede producir proporciones diferentes de machos-hembras dependiendo de la temperatura del agua de la fertilización y la incubación, así: 20-23°C, 50%:50%; 25-29°C, 60-70:30-40; 32-35°C, 80-95:5-20. Como la temperatura, el pH del agua también parece influenciar la proporción de machos y hembras provenientes de una misma pareja, o sea, aparentemente las condiciones ambientales activan o desactivan la acción de algunos genes que influyen en la determinación de sexo (fenotípico). De esta forma, las características sexuales

secundarias en tilapias están relacionadas con una serie de aspectos ambientales y su interacción genética, en especial la calidad del agua donde se encuentran las tilapias desde las primeras semanas de vida. Por otro lado, la temperatura óptima para la reproducción de las tilapias está entre 24 y 29°C.

El mecanismo genético tradicional para la determinación del sexo genotípico puede ser aplicado en la mayoría de las situaciones donde el ambiente es normal (proporción de machos y hembras próximos a 50%) y en *Oreochromis* es caracterizado por dos mecanismos sexuales distintos como se observa en la tabla 1.

Tabla 1. Mecanismos genéticos para la determinación del sexo en tilapias del género *Oreochromis*

ESPECIE	Homogaméticos	Heterogamético
<i>Oreochromis aureus</i>	ZZ macho	WZ hembra
<i>Oreochromis hornorum</i>	ZZ macho	WZ hembra
<i>Oreochromis mossambicus</i>	XX hembra	XY macho
<i>Oreochromis niloticus</i>	XX hembra	XY macho

En cuanto a la determinación fenotípica del sexo, los machos se caracterizan por poseer una papila genital con un solo orificio, mientras que las hembras poseen por lo general una papila genital pequeña y dos orificios (Fig. 1). El sexado visual no es un proceso fácil o preciso, normalmente los errores de esta selección llegan al 10% para los operadores entrenados.

Producción de alevinos monosexo

En las tilapias cultivadas comercialmente, la utilización de poblaciones monosexo (en gene-

rales 100% masculinas) es muy importante para optimizar los resultados económicos, debido a que la maduración sexual es muy temprana, de 30 a 50 gramos o a los 3 meses de edad. Cuando se utilizan poblaciones mixtas a bajas densidades, la maduración sexual es estimulada por la presencia de feromonas (comunicación química) disminuyendo el crecimiento, utilizando la energía (que sería dedicada al crecimiento corporal) en la maduración gonadal y en el proceso de reproducción (construcción de nido, peleas por dominación territorial y cortejo, entre otros).



Figura 1. Papilas genitales de tilapias del género *Oreochromis*.

Hay una serie de estrategias para obtener progenes 100% masculinas como:

- Sexado manual o visual (técnica muy laboriosa e imprecisa – cerca de 85-95% de efectividad).
- Cultivos con elevadas densidades (retrasa la madurez sexual y algunas veces no permite la fertilización física de los óvulos, como en las jaulas flotantes).
- Cruces entre distintas especies de tilapias (algunas combinaciones comerciales, como padres honorum y madres nilóticas, pero con resultados muy imprecisos y variables de acuerdo con la pareja).
- Producción de poblaciones triploides estériles (está en la fase experimental, normalmente por

choques térmicos o por cruces de tetraploides –recientemente obtenidos en Europa– con diploides normales).

- Por producción de machos y hembras YY (sea por pruebas de progenie –tecnología GMT de Fisguen o por la identificación de los cromosomas por DNA– en fase experimental).
- O por reversión sexual con hormonas (es la técnica más utilizada hoy en día, la hormona en cantidades pequeñas –indetectables– antes de la diferenciación sexual de los alevinos).

El sexado manual es relativamente sencillo aunque resulta muy laborioso, demorado y requiere cierta destreza del personal que lo realiza. En muchas de las especies de Tilapia, la identificación de machos y hembras se puede realizar a simple vista gracias al desarrollo diferencial de la papila genital que presentan al alcanzar pesos entre los 25 a 50 gramos. En la práctica es posible lograr que la población de peces a engordar esté compuesta hasta por un 95% de machos. Sin embargo, los inconvenientes de este método radican en la posibilidad del error humano y en el desperdicio de las hembras.

En los cultivos con altas densidades normalmente se retrasa la maduración sexual de los peces y algunas veces no se permite que la fertilización física de los óvulos se complete por exceso de animales en el medio como se ha observado en los “raceways” o sistemas de recirculación intensivos con más de 30 animales por m³, o por ejemplo en las jaulas flotantes, donde no hay una superficie para que las hembras pongan sus óvulos para la posterior fecundación.

En los Cichlidos los cruces entre especies son comunes en la naturaleza, no obstante los cruces entre diferentes especies de tilapias del género *Oreochromis* ocasionan en algunas parejas la obtención de progenies monosexo (100% machos, todos XZ), lo que algunos piscicultores denominan hibridación, como por ejemplo los cruces entre machos ZZ de *O. hornorum* o de *O. aureus* con hembras XX de *O. niloticus* o *O. mossambicus*. En los cruces de *O. hornorum* macho (ZZ) x *O. niloticus* hembra (XX), la progenie es prácticamente 100% machos, pero en los cruces de *O. aureus* macho (ZZ) x *O. niloticus* hembra (XX), se obtiene 80 a 90% de machos, tal vez por el efecto autosómico o por utilizar líneas no puras.

La técnica de producción de reproductores YY (una empresa privada la llama comercialmente como GMT – Genetically Male Tilapias) ha sido desarrollada por algunos grupos de investigación (públicos y privados) y también es conocida como producción de “supermachos” (YY), utiliza *O. niloticus* y *O. mossambicus* en líneas puras de: nilótica roja GMT, nilótica “pearl” GMT y mozambica GMT (www.fishgen.com). Los reproductores supermachos (YY) pueden ser obtenidos a partir de la feminización (hormonal) de una progenie normal y posteriormente, las hembras más grandes de esta progenie (probablemente XY) deberán ser cruzadas con machos normales (XY), para obtener una segunda generación (F2) donde el 25% de la progenie es YY (confirmado por exámenes de progenie). El problema es que el cruce de un animal YY con otro XX o XY no produce el 100% de machos como sería lo esperado, pero sí cerca del 95% (el medio ambiente influye en la porción de hembras de la progenie). Por lo tanto, no se puede afirmar que esta técnica de producción de

supermachos (YY) en sistemas más extensivos de cultivo (bajas densidades) genere resultados adecuados a los productores, especialmente si el mercado final es de animales con pesos superiores a los 200 gramos. Adicionalmente, se sospecha que los alevinos que recibieron la hormona en la fase inicial de su desarrollo, presentan mejores tasas de crecimiento debido al efecto anabolizante de la hormona utilizada.

En la producción comercial de tilapias el proceso más utilizado para la obtención de progenies monosexo, es la inducción sexual (también llamado popularmente reversión sexual). Este procedimiento consiste en la aplicación de hormonas a las dietas de las larvas y alevinos antes de su diferenciación sexual (a nivel de gónada). La hormona androgénica más utilizada es la 17-alfa-metil-testosterona; también son utilizados análogos como etiniltestosterona (60 mg/kg), fluoximesterona (5-25 mg/kg) y Trenbolona Acetato (50-100 mg/kg), que actúan modificando el fenotipo de los peces (características sexuales secundarias), y adicionalmente tienen una serie de efectos sobre el crecimiento, la deposición muscular, las grasas y las gónadas. La reversión sexual combinada con la incubación artificial produce progenies con una proporción de machos superior al 99.8%.

Competición y territorialidad

En general, el comportamiento agresivo de los cíclidos está dedicado al cuidado parental y al establecimiento de territorios para la reproducción. Sin embargo, es muy común observar el establecimiento de jerarquías de dominancia en acuarios y sistemas de cultivo intensivos con alta densidad (como jaulas y raceways), pero no hay indicios

de que esto ocurra en estanques excavados o en la naturaleza.

En condiciones naturales, los cichlidos no presentan comportamientos de territorialidad fuera de la época reproductiva. Por otro lado, en la naturaleza, las tilapias pequeñas y sexualmente inmaduras forman grupos de defensa, mientras que los juveniles poseen una alimentación comprobadamente territorial. En las tilapias nilóticas, la territorialidad del emparejamiento es establecida por los machos, a través de la construcción de nidos que pueden ser defendidos por varias semanas; en otras especies de *Oreochromis*, los machos permanecen en el territorio durante el día y la noche y otras especies solamente permanecen durante el día. Las áreas preferidas para la construcción de los nidos presentan características particulares como por ejemplo la proximidad de piedras, raíces y áreas más profundas con un borde lateral, especialmente en los estanques. Por otro lado el comportamiento agresivo de las hembras se presenta cuando una de ellas es atraída por un nido, esta se comunica químicamente con el macho a través de la secreción de feromonas durante el cortejo, las feromonas también son percibidas por otras hembras adyacentes que permanecen irritadas y procuran atacar, siendo combatidas por el macho. En cuanto a los machos dominados (no territoriales y de coloración normal) presentan un comportamiento de periferia, es decir, que generalmente transitan por el medio y se involucran en peleas ocasionales de corta duración.

En las luchas territoriales se establecen las fronteras del área de cada pez, a través de peleas cabeza con cabeza. Los machos desarrollan patrón de coloración (rosado o blanco) antes del establecimien-

to de territorio. La coloración normal de la corte es roja o rosada, pero también se ve el blanco con las extremidades de las aletas en rojo. Igualmente las hembras de tilapia cuando protegen sus crías se comportan de forma agresiva y territorial, desarrollan características y patrones de vigilancia y protección de los alevinos modificando también la superficie corporal con colores más oscuros, y después que los alevinos están sueltos, la hembra rápidamente retorna a la coloración normal.

Cortejo y desove

Todos los machos de *Oreochromis* construyen nidos con el objetivo de atraer las hembras. Se cree que el cortejo se inicia antes del establecimiento del territorio (la construcción del nido), pero en cultivos con altas densidades, en los estanques excavados, la cantidad de nidos puede ser tan grande que toda la superficie de suelo disponible es ocupada.

Los nidos en general poseen forma de cráter de arena o lama. El tamaño del cráter aumenta de acuerdo con la talla del macho y la profundidad del estanque, por esto se cree que en las zonas más profundas del estanque se encuentran los machos dominantes (más grandes y más claros o rojos - atractivos).

Los patrones de cortejo son muy semejantes entre las tilapias: los machos nadan alrededor de sus nidos con patrones de color atractivos, procurando llamar la atención de las hembras circulantes. Los machos adoptan una postura de cabeza abajo y cierran las aletas pélvicas moviendo la aleta caudal (alta frecuencia y baja amplitud). Cuando una hembra muestra interés es conducida por el macho

que hace movimientos exagerados hasta el nido. Otras hembras alrededor pueden quedar “celosas” (feromonas de la hembra) y el macho las aleja con movimientos bruscos. La hembra se coloca generalmente sobre el nido y el macho nada alrededor con la posición de cabeza para abajo un poco antes de la deposición de los óvulos. Después de la cual, la hembra rápidamente los recoge con la boca, por eso es muy importante que el macho esté listo para la fertilización. Algunas veces los óvulos no fertilizados son incubados, pero no serán viables. También se ha observado que algunas hembras nilóticas llegan con los óvulos en la boca hasta el poro genital del macho para promover una mayor fertilización dentro de su boca. En general el macho durante la fertilización cambia a una posición horizontal y después nada con la hembra por algunos momentos alrededor del nido. Algunos momentos después, las hembras salen del nido en busca de otras hembras con huevos incubando para nadar en grupo por protección, mientras que el macho inicia una vez más los movimientos de cortejo para atraer una próxima hembra.

Cuidado materno

Todas las hembras de *Oreochromis* presentan cuidado parental protegiendo a los huevos y a las larvas en la boca durante los primeros días de vida hasta cuando los alevines nadan libremente.

A pesar de que el cuidado de las crías es nominalmente biparental en tilapias, normalmente es la hembra la que únicamente asume esta responsabilidad. Después de la fertilización, las hembras de tilapias nilóticas incuban los huevos con movimientos lentos y circulares dentro de la boca, saliendo del territorio del macho. Tal vez esta

salida temprana sea simplemente para evitar enfrentamientos con otros machos y las hembras de la periferia.

Cuando una hembra está en el proceso de incubación de huevos y de protección de larvas, normalmente permanece junto a pequeños grupos de hembras en las mismas condiciones y son normalmente inactivas y no se alimentan (aparte de algunos pocos huevos y larvas sacrificadas para su mantenimiento). Después que las larvas absorben su saco vitelino y necesitan alimento externo, las hembras empiezan a buscar zonas poco profundas para liberar los cardumes de alevinos para que se alimenten en los substratos y al mismo tiempo permanezcan protegidos de los predadores de forma más efectiva.

Al finalizar esta etapa, la hembra está muy desgastada físicamente por lo que debe iniciar su alimentación nuevamente sin dejar desprotegida su prole, es así como en esta fase las hembras presentan claras características territoriales y las larvas nadan alrededor de la cabeza de la madre y cuando se sienten amenazadas retornan para dentro de su boca.

Estacionalidad del apareamiento

Es increíble la capacidad reproductiva de las tilapias. En la mayoría de las áreas tropicales, los Cichlidos parecen reproducirse durante todo el año o varias veces. Los picos de reproducción parecen estar concentrados en la época de lluvia y seca.

En la mayoría de las tilapias las hembras se reproducen varias veces en un mismo año. En modernos cultivos de larvas se estima que cada hembra

se reproduce de 12-16 veces por año. En climas subtropicales las bajas temperaturas disminuyen o paran totalmente el proceso reproductivo, especialmente durante el invierno o durante un verano excesivamente caliente. Algunas especies de Cichlidos se reproducen periódicamente de acuerdo con los ciclos lunares, y esto debe ayudar a reducir la predación de los alevinos por sincronizar la reproducción e incrementar la efectividad de la protección contra predadores nocturnos.

Aspectos de dinámica de población

Las tilapias están siendo cultivadas prácticamente en todas las regiones tropicales en varias subtropicales del mundo. Poseen una gran habilidad reproductiva y de adaptación prácticamente en todos los ambientes desde lagos hasta estanques estáticos o dinámicos, como también en acuarios. Esta habilidad combinada con una gran plasticidad reproductiva es la principal razón para la colonización de varias regiones del mundo. Por otro lado, se puede tornar como una fuente de problemas en regiones donde su maduración temprana y gran prolificidad reproductiva provocan el desarrollo de poblaciones densas de pequeños individuos de tallas por debajo del tamaño comercial (“stunting effect”). En términos de dinámica de poblaciones, este aspecto de las tilapias es muy importante, pues en casi todos los sistemas de cultivo estas se pueden reproducir en exceso; esta característica proporciona una oportunidad única para investigar los problemas fundamentales de la biología de esta especie. En el proceso del desarrollo poblacional se toma en cuenta la plasticidad del crecimiento, el dimorfismo sexual, la variabilidad individual y genética, la mortalidad y la reproducción (Lorenzen, 2000).

De forma general las tilapias son caracterizadas por una elevada fertilidad: 10 adultos pueden producir 15 mil larvas cada 3 semanas. A pesar de este hecho interesante y comparadas con otras especies de Cichlidos o Teleósteos, las tilapias presentan un peso gonadal relativo bajo. Hembras de *Oreochromis* raramente exceden los 6 gramos del peso corporal en término de gónadas, y por lo tanto, está próxima al límite mínimo observado para peces teleósteos. El hecho es que son muy eficientes en términos reproductivos. La fecundidad de las tilapias (número de huevos fértiles producidos) es aproximadamente proporcional al peso o al cuadrado de la longitud de la hembra.

Selección y mejoramiento

Uno de los grandes limitantes del desarrollo pleno del cultivo de tilapia es la falta de programas serios y estructurados de selección y mejoramiento de reproductores. La mayoría de los larvicultivos se limitan a cosechar alevinos a partir de reproductores seleccionados de forma masiva, oriundos en general de una plataforma genética limitada, perjudicando la disponibilidad y la calidad de las semillas.

La gran mayoría de las hatcheries (o larvicultivos) de tilapias se limita a mantener sus reproductores generación tras generación, solamente empleando una selección masiva muy básica. Hay solamente dos programas estructurados de selección y mejoramiento disponibles en el mundo (con base en cerca de 200 familias), y los dos presentan la misma base, el proyecto GIFT (Genetically Improved Farmed Tilapia) realizado por el ICLARM en Filipinas entre los años 1988 y 1997. El proyecto GIFT tuvo como finalidad incrementar el cre-

cimiento de la tilapia nilótica (*O. niloticus*) por selección; trabajó con 8 líneas, 4 locales (Sureste Asiático e Israel) y 4 importadas desde África (Egipto, Ghana, Senegal y Kenia). Fue conducido un programa de selección familiar por crecimiento y maduración sexual tardía, se seleccionaron 20.000 peces de 183 familias y de 50 a 100 de medios hermanos y fueron sometidos a diferentes sistemas de cultivo. Durante el proyecto se realizó una selección por año por un periodo de 5 generaciones, el promedio de respuesta a la selección fue del 13% y una respuesta acumulada del 85%. Cuando el porcentaje de crecimiento se duplicó, los peces lograron una talla para el mercado en 6 meses comparados con los 8 meses de la base de la población y cuando el porcentaje de crecimiento se triplicó se logró la talla del mercado en 4 meses. Hoy en día la ONG World Fish y la empresa privada GenoMar continúan en paralelo el programa GIFT original.

Producción de alevinos

En el presente resumen se presentará una lista de la infraestructura general (estanques e instalaciones), del equipo básico (químicos del laboratorio y misceláneos, hapas y aireadores) y del personal requerido en un criadero modular de tilapia con fines comerciales, incluyendo procedimientos como la recolección de huevos, la incubación artificial y las unidades de reversión sexual.

Infraestructura general

El diseño aquí descrito es una mezcla de tecnologías del cultivo de tilapia en el área subtropical de Brasil, México y Ecuador, así como las recientes experiencias del autor en diferentes criaderos en

Asia del sureste, especialmente en las Filipinas y China.

Los estanques son la principal inversión de esas instalaciones y deben ser optimizados para disminuir los costos de operación. Hay dos tipos principales de estanques: de reversión sexual (unidades de alrededor de 2.000 m²) y de recolección de huevos (estanques de 2.500- 3.000 m²). Dependiendo de la ubicación del criadero, algunos estanques pueden estar cubiertos como un invernadero si hay una época particularmente fría.

Estanques de reversión. Usualmente la primera área que se construye es la de reversión sexual (SR), y una parte del estanque puede ser usada para criar a los futuros reproductores, mientras se terminan de construir el resto de las instalaciones del proyecto (estanques para la maduración y eclosión de los huevos). Cada estanque SR tendrá un área de 2.520 m² (24 metros x 105 metros); y ya sea que esté cubierto o no, contará con muros y suelo compactos y tendrá dos senderos superficiales en los costados, con capacidad para instalar 132 jaulas de anejo fino (hapas) generalmente con dimensiones de 2 x 3 x 1,2 metros que deben ser ubicadas a lo largo de los dos senderos. Las jaulas dentro del agua serán de 0.6 a 0.8 metros, con un volumen interno total desde 3.6 hasta 4.8 m³. Entre el fondo del estanque y las jaulas deberá haber una separación de 3 metros para una circulación apropiada. Se puede lograr el mismo efecto con un corredor central de 4 metros de ancho. Todos los estanques deben tener la misma estructura, tamaño y capacidad para alojar los alevinos. Los estanques cubiertos tendrán una red para producir sombra durante el verano y plástico durante el invierno. El diseño propuesto se puede observar en las figuras 2 y 3.



Figura 2. Estanque descubierto



Figura 3. Estanque cubierto

Reproductores: producción y manejo. Los reproductores serán criados en los estanques de reversión sexual por un periodo de 4 a 5 meses. En general se usan estanques que son construidos antes que los senderos laterales, y las estructuras en madera se ubican en el fondo del estanque, esto facilitará la posterior recolección de los reproductores. En cada estanque de 2.520 m² se pueden alojar hasta 22.000 futuros reproductores (de 0.5 a 150 gramos). Por ejemplo, si se usan dos estanques con un total de 44.000 alevinos de reproductores, estos deben producir después de la selección 16.000 hembras y 2.050 machos.

Cada uno de los 24 módulos de recolección de huevos (que serán descritos más adelante) contendrá 660 hembras y 85 machos. El crecimiento de los reproductores debe ser optimizado, no deben existir limitaciones ambientales o de alimentos para que no se presenten problemas que se reflejen en el futuro desempeño del reproductor.

Estaques de recolección de huevos. Los estanques de recolección de huevos son un poco diferentes de los estaques de reversión sexual. Tienen casi la misma área (2.464 m²). Pero son más anchos y pandos (28 x 88 metros). Al igual que los estanques de reversión sexual, la profundidad promedio es 1,0 metro (0,9 metros de profundidad en el lado de la entrada y 1.2 metros en el lado de la salida). Esas diferencias se deben a la optimización del estanque en relación con los tamaños y las formas de las hapas. El diseño escogido es una mezcla de tecnologías del cultivo de tilapia en Brasil subtropical y el sureste de Asia. Los estanques de recolección de huevos son los últimos en ser construidos.

Cada estanque (cubierto o no) tendrá muros y fondo compactos y tendrá tres senderos laterales. Dos de esos senderos cruzarán la hapa de cría (cada uno cruzará tres) para poder suministrar la comida a los animales (Fig. 4). El tercer sendero cruzará exactamente por la mitad del estanque, cerca de conjunto de hapas acondicionadoras internas; este sendero permitirá alimentar a los criadores sin tener que entrar al agua. El otro grupo de hapas estará ubicado cerca del fondo del tanque. Cada tanque tendrá capacidad para contener 6 módulos de cría (220 hembras y 85 machos en cada hapa de cría, y dos grupos de hapas acondicionadoras de 220 hembras cada una). Las dimensiones y otros



Figura 4. Hapas de cría y sendero lateral para suministrar el alimento.



Figura 5. Sombra para los trabajadores

detalles de estos módulos de hapas de cría (o de recolección de huevos) serán descritos más adelante.

Instalaciones y construcciones adicionales. Las instalaciones y otras construcciones adicionales en una explotación de tilapia están clasificadas en cuatro categorías principales: 1. Construcciones de apoyo de los estanques, 2. Criadero, 3. Área de purga y empaque (en general son techos con protección lateral contra el viento, ubicados cerca pero no directamente integrados al área de cría) y 4. Instalaciones de apoyo, las cuales se describen a continuación:

Construcciones de apoyo de los estanques. Las construcciones que apoyan las actividades de los estanques son muy simples: sombra para los trabajadores (Fig. 5), suelo de concreto-estructura colgante para la limpieza de las hapas (Fig. 6) y un cuarto seco para almacenar el alimento cerca del área del estanque (Fig. 7).

Criadero. El edificio de cría (vista general en Fig. 8 y 9) está compuesto de varios cuartos, tales



Figura 6. Limpieza de las hapas



Figura 7. Lugar para el almacenamiento del alimento

como cuartos de desinfección de los huevos (Fig. 10), cuarto de incubación artificial (Fig. 11), cuarto de análisis del agua (Fig. 12) y baños.



Figura 8. Edificio de cría



Figura 9. Edificio de cría



Figura 10. Desinfección de huevos



Figura 11. Incubación artificial.



Figura 12. Laboratorio de análisis de agua.

Áreas de purga y empaque. Los alevinos a los 28 días de la reversión sexual son recolectados cuidadosamente (Fig. 13), contados por volumen (conteo inicial simple de 2 a 3 muestras) y se determina la supervivencia de la hapa.

El conteo inicial es simple (solo para asegurar que los animales serán correctamente almacenados en los tanques de purga), ya que los animales serán contados nuevamente después del acondicionamiento y antes de ser empacados.

Los tanques de acondicionamiento o de purga son tanques en concreto construidos en un área cubierta (Fig. 14).



Figura 13. Recolección de alevinos



Figura 14. Tanques de acondicionamiento

Por ejemplo, para una producción de 4 millones de alevinos por mes (promedio de embarque de 100 a 400.000 alevinos), será necesario al menos 4 tanques de concreto de 4 m³ cada uno (4.0 x 1.0 x 1.2 metros), con una capacidad de hasta 200.000 animales dependiendo de la temperatura y la calidad del agua (Fig. 15). Tales tanques estarán equipados con un sistema simple de aireación de 2 HP (se recomienda tener uno de reserva “listo para usar” en caso de que haya una falla en el motor), tubos plásticos y piedras aireadoras. Todos los tanques deben estar equipados con salidas y entradas independientes de agua.

Antes de almacenar en el tanque de purga, los alevinos serán clasificados en tres tamaños como se muestra en la figura 16 (dentro del tanque vacío). Entonces los tres grupos serán almacenados en diferentes tanques de purga por un periodo de 12 a 24 horas.



Figura 15. Tanque para la purga



Figura 16. Clasificador de alevinos según el tamaño

Los alevinos no serán alimentados durante la purga para que sus intestinos se limpien. Para el empaque el agua deberá estar limpia y a una temperatura promedio de 29°C. Los alevinos se volverán a contar por volumen (Fig. 17) y serán empacados en bolsas plásticas y puestos en cajas



Figura 17. Conteo de alevinos (sistema volumétrico)

de cartón o en tanques de transporte con una capacidad de 800 o más litros. La calidad del agua será monitoreada regularmente y se harán ajustes a las concentraciones de nutrientes y minerales para asegurar la buena salud de los alevinos en todas las fases.

El edificio cubierto para la purga, el área de empaque y las oficinas básicas pueden ser construidos a la entrada de las instalaciones, estas deben tener una cerca y luz 24 horas al día por razones de seguridad (Fig. 18). También se debe construir lavapiés e incluso lavacarros a la entrada de las instalaciones por razones de bioseguridad.

El transporte de los alevinos con reversión sexual usualmente es hecho en camiones como el de la figura 19, pero se recomienda usar los camiones cerrados especialmente en áreas tropicales para evitar cambios drásticos de la temperatura y realizar el transporte durante el día.

Otras instalaciones de apoyo. Las instalaciones de apoyo son los cuartos de almacenamiento (Fig. 20 y 21); el cuarto de almacenamiento seco, el cual también puede ser usado para el análisis



Figura 18. Área de purga y empaque



Figura 19. Transporte de alevinos



Figura 20. Mezcladora de alimento y cuarto de almacenamiento

de la calidad del agua (Fig. 22), el cuarto de almacenamiento húmedo (Fig. 23), baños, cocina y oficinas básicas de administración (Fig. 24). En general, esas instalaciones son construidas próximas al edificio de cría, pero con entradas ubicadas en lugares opuestos.



Figura 21. Cuarto de almacenamiento seco



Figura 22. Cuarto seco para análisis de agua

Los edificios y cuartos de apoyo comprenderán:

Un cuarto seco de almacenamiento (6-8 m²): el lugar de almacenamiento del alimento para los alevinos debe tener suficientes reservas para ali-

mentar a los peces por un periodo de dos semanas. El cuarto debe contar con aire acondicionado si no hay suficiente aislamiento para mantener la temperatura interna por debajo de 30°C durante los meses de verano. Lo mejor es mantener la temperatura por debajo de 25°C y reducir la humedad hasta que sea de un 20%. La comida tratada con hormonas será preparada en un lugar cubierto y ventilado localizado enfrente del cuarto de almacenamiento, y se requerirá una mezcladora de cemento y tal vez un secador (calefacción casera y una minicobertura) para acelerar el proceso durante el periodo húmedo y seco.



Figura 23. Cuarto de almacenamiento húmedo



Figura 24. Oficina para la administración

Los cuartos de almacenamiento húmedos: utilizados para guardar elementos como redes, baldes y otros elementos de agricultura como niveladoras, Piedras aireadoras y redes de mano. El suelo tendrá una inclinación para permitir que el agua escurra completamente (2-4 m²).

Almacenamiento en seco: para alojar equipos de repuesto, artículos de consumo requeridos durante la producción tales como detergentes, desinfectantes, sales, etc. El lugar de almacenamiento tendrá repisas para el fácil acceso a los materiales y a las partes de ferretería en general (2-4m²).

Baños (1-2): instalaciones básicas para hombres y mujeres con lavamanos (1-2 m²).

Oficina básica: de 4-6 m² para el almacenamiento de los datos de producción y aparatos de comunicación; esta oficina no será necesaria si se cuenta con un laboratorio como el que se describe a continuación.

Laboratorio: para mantener los equipos de control de la calidad del agua y puede tener un computador con conexión a internet o un teléfono para almacenar los datos y los equipos de comunicación (4-6 m²); también se realizarán monitoreos de peso y longitud de los peces y exámenes microscópicos de larvas, de calidad básica del agua y diagnóstico de enfermedades.

Equipos básicos

- Hapas

Hay tres tipos de hapas divididas en tres grupos principales, módulos de recolección de huevos (dos tipos de hapas) y la unidad de reversión. Por ejemplo, el número necesario de sets para producir cuatro millones de alevinos al mes es:

24 módulos de recolección (se recomienda comprar dos sets extra para la limpieza), así que se necesitará un total de 26 módulos.

500 unidades de hapas de reversión sexual (incluyendo hapas de repuesto).

La unidad de reversión sexual está diseñada para alojar tilapias de la misma edad durante el proceso de reversión sexual (Fig. 25 y 26). Ellas están hechas con una malla de 2 ó 3 mm y con medidas de 2 x 3 1,2 metros y tienen capacidad de 10.000 a 17.000 alevinos de 0,0012 hasta 1 gramo.



Figura 25. Unidad de reversión sexual



Figura 26. Estanque con hapas para la reversión sexual

El módulo de recolección de huevos está compuesto por dos tipos de hapas: de cría una unidad por módulo, medidas 4 x 30 1,2 m con una malla de 3 mm y que aloje 220 hembras y 83 machos reproductores en apareamiento y de acondicionamiento: dos unidades por módulo, con medidas de 2 x 4 x 1.2 m con una malla de 3 mm que aloje 220 hembras en descanso.

- Aireadores

Tanques de reversión sexual. Todos los estanques deberán tener dos aireadores de paleta de 2 HP (Fig 27).

Levante de reproductores. Se requiere tener dos aireadores por estanque para preparar a

los futuros reproductores, que son los mismos ya mencionados en los estanques de reversión.



Figura 27. Aireador de paleta

BIBLIOGRAFÍA

- EKNATH, A.E.; REYES, R.A.; BOLÍVAR, H.L.; PALADA-DE VERA, M.S.; DANTING, J.B.; DIONÍSIO, E.E. Y F.M. LONGALONG. 1995. Genetic improvement of farmed tilapias: estimation of genetic variation and heritability for age and size at first spawning in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 137: 279-280.
- LITTLE, D.C.; HULATA, G. 2000. Strategies for tilapia seed production. In: Beveridge, M.C.M. and , B.J. McAndrew (Eds.). *Tilapias: biology and Exploitation*. London, Kluwer Academic Publishers. P. 267-326.
- LORENZEN, K. 2000. Population dynamics and management. 163-226 p. En: Beveridge, M.C.M. y B.J. McAndrew (Eds.). *Tilapias: Biology and Exploitation*. London, Kluwer Academic Publishers.
- MCANDREW, B.J. 2000. Evolution, phylogenetic relationships and biogeography. In: Beveridge, M.C.M. y B.J. McAndrew. (Eds.). *Tilapias: Biology and Exploitation*. London, Kluwer Academic Publishers. 1-32 p.
- TREWAVAS, E. 1983. *Tilapiine Fishes of the Genera Sarotherodon, Oreochromis and Danakilia*. British Museum (Natural History), London, Publication Number 878.
- TURNER, G.F. Y R.L. ROBINSON. 2000. Reproductive biology, mating systems and parental care. En: Beveridge, M.C.M. y B.J. McAndrew(Eds.). *Tilapias: Biology and Exploitation*. London, Kluwer Academic Publishers. 33-58 p.

ASPECTOS FUNDAMENTALES DEL MANEJO REPRODUCTIVO DE LA CARPA COMÚN (CYPRINUS CARPIO LINNAEUS, 1758) EN CAUTIVERIO

Miguel Ángel Landínes Parra¹

Introducción

Sin lugar a dudas la carpa común, *Cyprinus carpio* L., es la especie más conocida y cultivada del mundo. Para 1990 su producción se estimó en 2.5 millones de toneladas, cifra que pasó en 1999 a 15.6 millones de toneladas (FAO, 2001 y Mikolajczyk *et al.*, 2003). La mayor producción se encuentra en los países asiáticos, aunque hoy en día el volumen de producción ha aumentado en Europa, al punto de llegar a superar las 70.000 toneladas en el 2003, en países como Polonia, Hungría, República Checa, Ucrania, entre otros (Mikolajczyk *et al.*, 2003). En América el mayor productor es Brasil, país que superó en 1999 las 20.000 toneladas (FAO, 1999).

Este panorama, difícilmente alcanzable por otra especie íctica mantenida en cautiverio, hace que la carpa haya sido objeto de infinidad de estudios, siendo quizá la especie más estudiada del planeta. Es así como se han realizado estudios de genética, mejoramiento, nutrición, manejo, fisiología, entre otros, los cuales han garantizado el éxito de su cultivo, convirtiéndola en una de las responsables de la seguridad alimentaria de la humanidad. Por otro lado, sus prácticas de manejo van desde el tradicional monocultivo hasta la práctica de policultivos y cultivos asociados a otras actividades agropecuarias (Mohanty *et al.*, 2004), características que también la han convertido en candidata ideal para cultivo.

¹ Zootecnista, Ph. D. Profesor Universidad Nacional de Colombia. malandinezp@unal.edu.co

No obstante lo anterior, en Colombia la producción de carpa es mínima, llegando en el 2000 a menos de 900 toneladas. Este fenómeno probablemente se deba a la tradición cultural del país y/o a falsas creencias en cuanto a la supuesta mala calidad de su carne. Sin embargo, el comportamiento productivo de la carpa en los últimos años, siempre ha mostrado una tendencia ascendente, indicando que a futuro se puede convertir en una especie de interés comercial para los acuicultores (INPA, 2001).

A pesar de lo anterior, el presente capítulo pretende presentar los aspectos fundamentales para el manejo reproductivo de la especie en cautiverio, para aquellos acuicultores que vean en esta especie una opción de producción viable.

Generalidades de la especie

La carpa común, *Cyprinus carpio*, representante de la familia Cyprinidae, ha sido considerada como la única especie íctica completamente domesticada (Horváth *et al.*, 1984). Es un excelente pez para el cultivo debido a su rusticidad, pudiendo soportar diferentes temperaturas, alta manipulación y bajos niveles de oxígeno en el agua. Su cultivo es milenario, remontándose a 2000 años a. c. (Bardach *et al.*, 1986) y ha sido exitoso gracias a la relativa facilidad con que se reproduce, así como también a su hábito alimenticio que le permite aprovechar subproductos agropecuarios (Tamassia *et al.*, 2004)

Descripción de la especie

Sus características principales son poseer aparato de Weber y dientes faríngeos, no poseen dientes

en las mandíbulas. Adicionalmente presenta barbillones y una espina dura y aserrada en el primer radio de las aletas dorsal y anal. Aunque en general presentan escamas cicloideas en todo el cuerpo, es común encontrar algunas variedades con pocas escamas o sin ellas, como la denominada carpa espejo (Fig.1).

Su coloración natural es verde-metálica. No obstante, existe gran diversidad de colores destacándose los tonos rojizos en las variedades de cultivo, siendo utilizadas algunas de ellas como pez ornamental (Fig. 2). Todas estas variaciones han sido desarrolladas como nuevas líneas o variedades, producto de la selección que los investigadores han llevado a cabo (Hulata, 1995).



Figura 1. Ejemplar de *Cyprinus carpio* variedad specularis



Figura 2. Ejemplar de *Cyprinus carpio* variedad koi

Sus hábitos alimenticios son omnívoros, prefiriendo alimentarse en el fondo de los estanques, en donde captura pequeños organismos que son la base de su dieta. Desde el punto de vista reproductivo, se puede anotar que es una especie con elevada fecundidad, siendo considerada por varios autores como símbolo de la fertilidad, pues puede producir entre 100.000 y 200.000 huevos/kg (Chaparro, 1994 y Mikolajczyk *et al.*, 2003). Dicha característica ha sido asociada a la no presencia de cuidado parental (Tamassia *et al.*, 2004).

Reproducción natural

Como en la mayoría de los peces, la reproducción natural de la carpa está relacionada con cambios medioambientales, ocurriendo reproducción al final del invierno en países con estaciones. En el trópico se reproduce prácticamente durante todo el año, siendo la mejor época cuando el régimen de lluvias aumenta. Aunque la carpa tolera rangos de temperatura muy amplios (Horváth *et al.*, 1992), para que la reproducción tenga lugar es necesaria una temperatura superior a los 18°C, explicando la periodicidad con que se reproduce en el trópico, en donde dicho valor es generalmente superior.

En su hábitat natural, la reproducción tiene lugar en llanuras anegadas y tierras inundadas, donde las condiciones son propicias para el desove. En ese hábitat tiene pocos enemigos y los alevinos pueden encontrar alimentos en abundancia lo cual eleva los índices de sobrevivencia. Un hecho interesante es que la carpa común no desova en estanques en los que se encuentran otros tipos de peces, especialmente carnívoros. Sin embargo, en los estanques de reproductores algunas hembras desovan sin estímulo alguno e incluso sin que

haya machos presentes, especialmente durante la segunda mitad de la temporada de desove (Woy-narovich y Horváth, 1981).

Según Horváth *et al.*, (1984), son necesarias tres condiciones fundamentales para que la carpa se reproduzca: 1) temperatura constante del agua entre 16-18°C, durante toda la estación reproductiva, siendo también importante un aumento gradual en la misma; 2) el área de reproducción debe contar con abundante material vegetal, pues los huevos fertilizados son adheridos a dicho material garantizando alta sobrevivencia de larvas. Así mismo en estos lugares generalmente hay abundancia de pequeños organismos que servirán de alimento a las larvas y 3) ambos sexos deben estar en contacto en sitios cercanos al área de desove, la cual debe contar con características de agua ideales. Si cualquiera de las condiciones necesarias para el desove falla, los peces no se reproducirán; pero si todas las condiciones son adecuadas, el desove tendrá lugar en plantas que crecen en las orillas del cuerpo de agua, proceso que por lo general es realizado en horas de la mañana (Chaparro, 1994). Los huevos presentan una capa adhesiva que les permite fijarse a las plantas, en donde tendrá lugar el desarrollo embrionario y posterior eclosión de las larvas.

Reproducción en cautiverio

Como se ha mencionado, la carpa se reproduce con relativa facilidad en cautiverio, gracias a su condición de pez sedentario, la cual le permite desovar en ambientes lénticos. No obstante, el éxito de los programas intensivos de producción depende en gran medida de la disponibilidad permanente y masiva de alevinos, lo cual ha hecho

que se mejoren las técnicas de reproducción en cautiverio. A continuación se presentan los principales métodos de reproducción de la especie en cautiverio:

Desove natural. Sin duda es el método más simple de reproducción de carpas en cautiverio y consiste simplemente en la colocación de los reproductores de ambos sexos en estanques acondicionados para que realicen su desove. En dichos estanques, generalmente llamados “estanques Dubisch”, se pretende inducir la reproducción simulando las condiciones ambientales en las que se produce naturalmente el desove (Woynarovich y Horváth, 1981; Bardach *et al.*, 1986 y FAO, 1986).

Según Woynarovich y Horváth (1981), los estanques Dubisch deben garantizar que los animales encuentren las siguientes características: temperatura del agua adecuada (18-22°C), zona de desove cubierta de hierba, agua saturada de oxígeno disuelto, lento aumento del nivel del agua, presencia del otro sexo y ausencia de otros peces, en particular carnívoros. Por lo general los estanques tienen un área de alrededor de 100 m² y en uno de sus extremos se debe cavar una fosa, con una profundidad mayor a la del resto del estanque. Sobre el fondo del estanque debe estar sembrado pasto o alguna hierba semejante, la cual permanecerá seca antes del desove, dada la menor profundidad en el sitio donde fue plantada. En la figura 3 se observa un esquema de los mencionados estanques.

Cuando la temperatura del agua y las condiciones meteorológicas son adecuadas, se llena la fosa y se introducen en ella los reproductores en una proporción que por lo general es de 2 hembras y 3 machos. En dicho lugar permanecen algunos días,

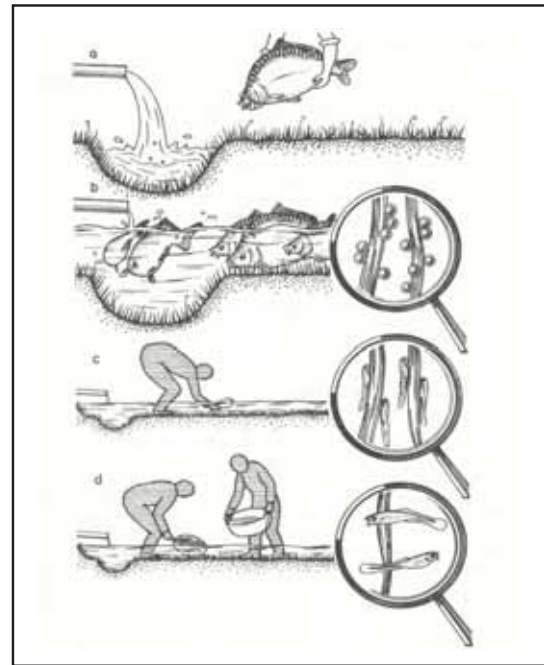


Figura 3. Representación esquemática de los estanques para reproducción de carpas; a. Siembra de reproductores en el área profunda del estanque; b. Desove en las plantas inundadas; c. Monitoreo de huevos y larvas; d. Colecta de larvas. Tomado de Horváth *et al.* (1984).

mientras el nivel del agua va aumentando lentamente, comenzando a inundar la zona plantada de material vegetal (Woynarovich y Horváth, 1981; Horváth *et al.*, 1984; Bardach *et al.*, 1986 y FAO, 1986). Cuando todas las plantas se encuentran sumergidas se espera que los ejemplares realicen el desove, dejando todos los huevos fertilizados adheridos fuertemente a la vegetación.

Posterior al desove, los reproductores son retirados del estanque, dejando allí los huevos fertilizados en pleno proceso de incubación. No obstante, para evitar excesiva manipulación en el estanque, con la consiguiente pérdida de huevos y/o embriones, es posible utilizar plantas flotantes, en cuyas raíces tendrá lugar el desove, pudiendo ser extraídas y transferidas a un “estanque de incubación”,

en donde las condiciones del agua sean óptimas y no exista riesgo de manipulación excesiva ni de presencia de predadores. Esta modificación al método Dubisch, hoy en día es muy utilizada, pues facilita las prácticas de manejo y principalmente aumenta el porcentaje de eclosión y la sobrevivencia de las larvas; inclusive se puede colocar material flotante artificial, que semeje las raíces de las plantas y que sea más fácil de retirar, una vez tenga los huevos adheridos a él.

Desove seminatural. A pesar de que la reproducción puede llevarse a cabo en los estanques de manera natural, los porcentajes de sobrevivencia de larvas y alevinos al utilizar dicho sistema son extremadamente bajos, llegando en ocasiones a ser de tan solo el 5% (Tamassia *et al.*, 2004). Por este motivo se hace necesaria la implementación de otras técnicas que incrementen esa sobrevivencia, tales como el desove seminatural, en el cual se inducen los animales previamente seleccionados y se procede a realizar el desove de manera más controlada.

El procedimiento comienza con la selección de los reproductores, los cuales en el trópico pueden estar aptos en casi todas las épocas del año, contrario a lo que sucede en los países de estaciones en donde su ciclo reproductivo por lo general es anual. Del mismo modo, en dichos países son necesarios 3 ó 4 años para alcanzar la primera madurez (Horváth *et al.*, 1984), mientras que en los países tropicales este hecho puede ocurrir aun dentro del primer año de vida, situación que aunque es ventajosa puede acarrear problemas en los cultivos, motivando a algunos investigadores a crear metodologías que impidan la maduración precoz de los animales, como por ejemplo la producción de individuos triploides (Basavaraju *et al.*, 2002).

Para la selección de los reproductores se deben tener en cuenta las características secundarias de madurez gonadal, las cuales en las hembras son la dilatación y enrojecimiento de la papila genital y la presencia de un abdomen abultado y flácido; en el caso de los machos deben liberar esperma al hacer una leve presión en el abdomen. Finalmente, puede ser verificado el estado de madurez de los oocitos utilizando el método de biopsia ovárica, cuyo procedimiento fue descrito en el capítulo 3. Por otro lado, también es factible seleccionar los reproductores valiéndose del método del factor de condición múltiple descrito por Rodríguez-Gutiérrez y Marañón-Herrera (1993).

Algunos autores reportan la existencia de dimorfismo sexual a nivel de la papila genital, siendo evidente en las hembras una forma acorazonada que no está presente en los machos. Sin embargo, esta apreciación no deja de ser subjetiva, pudiéndose encontrar errores en el sexaje de los individuos. Lo que sí parece ser claro es que por lo general los machos son de menores tamaños y menos robustos que las hembras (Fig. 4).

Una vez seleccionados los reproductores se procede a realizar una inducción hormonal, la cual generalmente se realiza con extracto de hipófisis de carpa (EPC) en 2 dosis para la hembra, la primera de las cuales es de 0,3 mg/kg, mientras que la segunda es de 3,5 mg/kg. A los machos, en caso de ser inducidos se les puede aplicar entre 1 y 2 mg/kg, simultáneamente con la segunda aplicación de las hembras (FAO, 1986). No obstante lo anterior, en muchas pisciculturas se utiliza la tradicional dosis de 5,5 mg/kg, repartida en dos aplicaciones, la primera de las cuales generalmente corresponde al 10% del total, dejando el 90% restante para la



Figura 4. Ejemplares hembra (izquierda) y macho (derecha) de *Cyprinus carpio* L.

segunda aplicación, la que casi siempre se realiza 12 horas después de la primera.

Después de la inducción, los animales son trasladados a estanques o tanques de reproducción, los cuales son de tamaño pequeño y deben contener material vegetal o algún tipo de sustrato para la fijación de los huevos al momento del desove. Otra posibilidad es la utilización de hapas (Bardach *et al.*, 1986 y FAO, 1986) en las que se dejan los reproductores hasta que desovan, para posteriormente ser retirados, dejando en la tela de la hapa los huevos fertilizados. Sin embargo, lo más usual es realizar los desoves en pequeños tanques metálicos o de concreto en donde se han ubicado los denominados “kakabanes”, que son esteras elaboradas de fibras vegetales o sintéticas que se colocan en los tanques para que los reproductores adhieran los huevos (FAO, 1986 y Tamassia, 1996). Posterior al desove los kakabanes llenos de huevos fertilizados son llevados a tanques de incubación, en donde las larvas eclosionarán aproximadamente 2 a 3 días después. Cabe anotar que se requiere aproximadamente 1.5 m² de kakaban por cada hembra desovada.

Desove artificial. Comparativamente, el sistema de desove artificial supera a los dos anteriores en muchos aspectos dentro de los cuales se pueden destacar los siguientes: reducción en el número de machos utilizados en hasta 6 veces; protección de los huevos y larvas durante la fase de incubación; y principalmente aumento significativo en la sobrevivencia de las larvas gracias al control de la primera alimentación. Todas estas características han hecho que muchos productores implementen en sus pisciculturas esta metodología, la cual se fundamenta en 4 aspectos básicos: 1. Selección de reproductores y aplicación de hormonas, 2. Obtención de productos sexuales por extrusión, 3. Fertilización artificial y eliminación de la adhesividad de los huevos, con incubación y eclosión en condiciones controladas y 4. Cría inicial de larvas recién eclosionadas (FAO, 1986), los cuales serán tratados a continuación.

Selección de reproductores y aplicación de hormonas. La selección de los reproductores sigue los mismos parámetros presentados en el sistema anterior, mientras que la aplicación de hormonas (inducción) comprende variadas posibilidades, dentro de las que se destacan algunos trabajos recientes

que prueban el efecto de los últimos análogos de GnRH y sus combinaciones con bloqueadores de la dopamina (Mikolajczyk *et al.*, 2003; Mikolajczyk *et al.*, 2004) o la influencia de la melatonina sobre la maduración final de los oocitos (Chattoraj *et al.*, 2005). Sin embargo, el método de inducción más comúnmente utilizado para la reproducción de la carpa común, sigue siendo el uso de extracto de pituitaria de la misma especie (homoplástico), el cual adicionalmente se ha convertido en el “inductor universal” para un sinnúmero de especies de peces, convirtiendo a la extracción de la hipófisis de la carpa (Fig. 5) en un negocio altamente rentable, al punto de existir producciones dedicadas exclusivamente a la obtención del extracto pituitario. Sin embargo, a pesar de ser capaz de “donar” sus hipófisis a casi todos los peces de cultivo, la carpa no admite para su inducción extractos diferentes a los de su propia especie (Bardach *et al.*, 1986), explicando la masiva utilización del EPC para su reproducción artificial.

Las dosis utilizadas para inducir la reproducción son las mismas mencionadas para el desove seminatural, siendo aplicadas de preferencia vía intraperitoneal en la base de las aletas pectorales. La diferencia fundamental con el método anterior es que el desove se realizará en seco, siendo necesaria la sutura de la papila genital de la hembra para

evitar salida de los óvulos con la consiguiente pérdida de los mismos. Dicho procedimiento se realiza al momento de aplicar la segunda inyección a la hembra, momento en el cual es anestesiada en solución acuosa de metano sulfonato de Tricaina (MS-222) en concentración de 50 a 100 ppm. Posterior a la sutura se deja en el tanque de desove junto con el macho, pudiéndose utilizar en este sistema una proporción de 1:1. En dicho tanque la temperatura ideal debe ser entre 22 y 24°C.

Obtención de productos sexuales por extrusión.

Transcurridas 10 a 12 horas (240-260 horas grado), se puede observar que el macho persigue a la hembra intentando “aparearse” con ella, comportamiento que indica que la ovulación está cerca y que es el momento adecuado para retirar la hembra del tanque y proceder a realizar la extrusión de sus productos sexuales. Para dicho propósito es necesario anestesarla nuevamente, secarla por completo con una toalla limpia, retirar la sutura y proceder a extraer los óvulos mediante un masaje en el abdomen. Los óvulos deben fluir libremente y serán recolectados en un recipiente plástico limpio y seco. Una vez finalizada la recolección de los óvulos, se realiza el mismo procedimiento con el macho, haciendo la extracción del semen directamente sobre los óvulos secos, asegurándose que se ha adicionado semen a todos los óvulos obtenidos.



Figura 5. Proceso de extracción de la hipófisis de carpa, materia prima para la elaboración del EPC.

Fertilización artificial y eliminación de la adhesividad de los huevos. Inmediatamente después de la adición del semen se hace necesario activar los espermatozoides, utilizando para ello una solución denominada fertilizante, la cual está constituida de 40 g de sal (NaCl), 30 g de urea o carbamida ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y 10 L de agua (Horváth *et al.*, 1984 y FAO, 1986). Aunque la mayoría de los autores coincide en que posterior a este procedimiento los huevos pueden pasar a una solución de tanino y habrán perdido su adhesividad, en la práctica se ha identificado que es mejor continuar lavando los productos sexuales con la solución fertilizadora por un espacio mínimo de 30 minutos, tiempo en el cual se sumergen en una segunda solución que contiene 40 g de sal (NaCl), 160 g de urea o carbamida ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y 10 L de agua, en donde serán lavados por otros 30 minutos, para posteriormente sí pasarlos a una solución constituida de 5 g de ácido tánico y 10 L de agua, en donde perderán definitivamente su material adhesivo. En la práctica también se ha observado que el ácido tánico puede ser substituido por un poco de arcilla, la cual terminará de retirar la adhesividad de los huevos al tiempo que los endurecerá.

Incubación. Cuando los huevos han perdido su carácter adhesivo se pueden considerar como de tipo pelágico, siendo posible para entonces su incubación en incubadoras cónicas de flujo ascendente de agua (Fig. 6), en las que se debe contar con agua de excelente calidad, priorizando el nivel de oxígeno (> 5 ppm) y la temperatura (22-24°C).

Algunos autores recomiendan la utilización de los denominados recipientes Zuger, los cuales son embudos de vidrio o fibra con capacidad para 7 L de agua y en los que se incubarán los huevos me-

dante el mismo principio que en las incubadoras grandes (Horváth *et al.*, 1984 y FAO, 1986). Sin embargo, en la práctica se utilizan estas últimas con óptimos resultados.

Sea cual sea el recipiente de incubación utilizado, lo importante es mantener las condiciones del agua constantes y recordar que el flujo de agua debe ser del orden de 0.6 a 0.8 L/min., siendo aumentado paulatinamente a medida que el desarrollo embrionario avanza. Así, es necesario manejar el flujo mencionado hasta aproximadamente la fase de blástula, momento en el cual el flujo debe ser aumentado a 1-1.2 L/min. y mantenido hasta cuando el embrión esté completo, tiempo en el que se aumenta a 1.5-2 L/min. (FAO, 1986). En la práctica el flujo de agua se puede manejar observando los huevos y/o embriones dentro del embudo, sin permitir que suban más allá de la tercera parte del mismo.

El tiempo de incubación depende de la temperatura del agua, pudiendo oscilar entre 46 y 144 horas (Bardach *et al.*, 1986), siendo menor cuanto mayor sea la temperatura. Como fue mencionado, la temperatura ideal de incubación está en torno de los 22 a 24°C, la cual garantiza una producción de larvas de buena calidad en corto tiempo. No obstante en el



Figura 6. Incubadoras cónicas con flujo ascendente de agua.

trópico frecuentemente las temperaturas de incubación son superiores a las mencionadas.

En la figura 7 se puede observar el esquema ilustrativo de la reproducción artificial de la carpa.

Larvicultura y alevinaje. Cuando las larvas eclosionan, pueden permanecer en las incubadoras hasta cuando reabsorben el vitelo, proceso también determinado por la temperatura del agua, pero que en general varía entre 3 y 5 días. El proceso también puede llevarse a cabo en piletas o tanques pequeños teniendo especial cuidado con las características de calidad de agua y el flujo utilizado que varía de 4 a 5 L/min. en las incubadoras y 10 a 12 L/min. en los tanques (Tamassia *et al.*, 2004).



Figura 7. Representación esquemática del proceso de reproducción artificial de carpas; a) Sutura de la papila genital; b) Inducción con EPC; c) Extrusión de los gametos; d) fertilización; e) Retirada del material adhesivo de los huevos; f) Incubación en recipientes Zuger; g) Inicio de la alimentación en tanques cónicos. Tomado de Horváth *et al.*, (1984).

La reabsorción del vitelo va acompañada de las aberturas bucal y anal y del llenado de la vejiga gaseosa, cambios morfológicos que capacitan a la ahora postlarva para recibir alimentación exógena, la cual preferiblemente debe ser alimento vivo (artemia; plancton), aunque algunos productores acostumbran ofrecer “papillas de huevo” durante esta fase. En todo caso se debe garantizar que las postlarvas ingieran algún tipo de alimento antes de ser transferidas a los estanques de alevinaje, so pena de conocer grandes mortalidades.

Una vez se han alimentado, las postlarvas están listas para pasar a los estanques externos de alevinaje, en los cuales se debe garantizar abundancia de alimento vivo (zooplancton) y protección contra predadores (insectos y otros). Para ello es indispensable que el estanque haya sido preparado con anterioridad, siendo secado por completo, expuesto al sol, encalado y abonado de preferencia con abonos orgánicos dentro de los que se destaca la gallinaza. El monitoreo del plancton y ausencia de predadores debe ser continuo y los correctivos necesarios estar permanentemente disponibles (reabonamiento, eliminación de larvas de insectos), pudiendo garantizar de esta manera que en aproximadamente 25 días se tengan alevinos de buena calidad (Fig. 8).



Figura 8. Alevinos de *Cyprinus carpio* de 25 días de edad.

BIBLIOGRAFÍA

- BARDACH J.E.; J.H. RYTHER Y W.O. MCLARNEY. 1986. Acuicultura. Crianza y Cultivo de Organismos Marinos y de Agua Dulce. México, D. F.-México. 741 p.
- BASAVARAJU, Y.; G.C. MAIR; H.M. MOHAN-KUMAR; S.P. KUMAR; G.Y. KESHAVAPPA Y D.J. PENMAN. 2002. An evaluation of triploidy as a potential solution to the problem of precocious sexual maturation in common carp, *Cyprinus carpio*, in Karnataka, India. *Aquaculture*, 204:407-418.
- CHAPARRO, N. 1994. Reproducción Artificial y Manipulación Genética en Peces. Barranquilla-Colombia, 208 p.
- CHATTORAJ, A.; S. BHATTACHARYA; D. BASU; S. BHATTACHARYA; S. BHATTACHARYA; S.K. MAITRA. 2005. Melatonin accelerates maturation inducing hormone (MIH) induced oocyte maturation in carps. *General and Comparative Endocrinology*, 140: 145-155.
- HORVÁTH, L.; G. TAMÁS. Y C. SEAGRAVE. 1992. *Carp and Pond Fish Culture*. Fishing News Books, Oxford. 158 p.
- HORVÁTH, L.; G. TAMAS. E I. TÖLG. 1984. Special methods in pond fish husbandry. Washington-USA, 148 p.
- HULATA, G. 1995. A review of genetic improvement of the common carp (*Cyprinus carpio* L.) and other cyprinids by crossbreeding, hybridization and selection. *Aquaculture*, 129: 143-155.
- INPA. 2001. Boletín Estadístico Pesquero Colombiano 1999-2000. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura, INPA. Bogotá, D. C. Colombia. 139 p.
- MIKOLAJCZYK, T.; J. CHYB; M. SOKOLOWSKA-MIKOLAJCZYK; W.J. ENRIGHT; P. EPLER; M. FILIPIAK Y B. BRETON. 2003. Attempts to induce an LH surge and ovulation in common carp (*Cyprinus carpio* L.) by differential application of a potent GnRH analogue, azagly-nafarelin, under laboratory, commercial hatchery, and natural conditions. *Aquaculture*, 223: 141-157.
- MIKOLAJCZYK, T.; J. CHYB; P. SZCZERBIK; M. SOKOLOWSKA-MIKOLAJCZYK; P. EPLER; W.J. ENRIGHT; M. FILIPIAK Y B. BRETON. 2004. Evaluation of the potency of azagly-nafarelin (GnRH analogue), administered in combination with different formulations of pimozone, on LH secretion, ovulation and egg quality in common carp (*Cyprinus carpio* L.) under laboratory, commercial hatchery and natural conditions. *Aquaculture*, 234: 447-460.
- MOHANTY, R.K.; H.N. VERMA. Y P.S. BRAHMANNAND. 2004. Performance evaluation of rice-fish integration system in rainfed medium land ecosystem. *Aquaculture*, 230: 125-135.
- FAO, 1986. La Carpa Común. Parte 1. Producción Masiva de Huevos y Prealevinos. 87 p.
- FAO, 1999. Estadísticas de la Producción de la Acuicultura, Roma-Italia.
- FAO, 2001. FAOSTAT Database Results. <http://apps.fao.org/>.
- RODRÍGUEZ-GUTIÉRREZ, M. Y S. MARAÑÓN-HERRERA. 1993. Relación del Factor de Condición Múltiple con la Reproducción de Machos en la Carpa *Cyprinus carpio*. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*, 1-19 p.
- TAMASSIA, S.T.J. 1996 Carpa comum (*Cyprinus carpio*): produção de alevinos. EPAAGRI Boletim Técnico 76. EPAGRI, Florianópolis, SC.
- TAMASSIA, S.T.; A. GRAEFF; C.L. SHAPPO; H.B. APPEL; H. AMARAL; J. CASACA; V. KNISS Y O. TOMAZELLI. 2004. Cíprinicultura – o modelo de Santa Catarina. 267-305p. En: Cyrino, J.E.; E. Urbinati.; D. Fracalossi. Y N. Castagnolli (Eds.) *Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva*. Sociedade brasileira de aquicultura e biologia aquática. São Paulo-Brasil. 533 p.
- WOYNAROVICH, E. Y L. HORVÁTH. 1981. Propagación Artificial de Peces de Aguas Templadas: Manual para Extensionistas. FAO. 187 p.

DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS SEMINALES Y SEMINACIÓN ARTIFICIAL EN PECES

Pablo Emilio Cruz-Casallas¹ y Yohana María Velasco Santamaría²

Introducción

El rendimiento de cualquier sistema de producción depende, en gran medida, de la eficiencia reproductiva de la especie, siendo ampliamente reconocido que esta última obedece fundamentalmente a la calidad de los gametos utilizados. Por lo tanto, el conocimiento de los procedimientos básicos para determinar la calidad seminal es de especial interés y utilidad para los técnicos y profesionales dedicados a la reproducción de peces.

En las especies ícticas, así como en mamíferos, se observa con frecuencia que algunos individuos son más fértiles que otros, lo cual permite inferir la existencia de variabilidad individual en las características que determinan la calidad de sus gametos. Por esta razón, el propósito de la evaluación de la calidad seminal es identificar a aquellos ejemplares con el mejor potencial reproductivo o determinar la utilidad inmediata de un eyaculado o muestra de semen, particularmente cuando esta ha sido manipulada o sometida a procesos tales como dilución, almacenamiento por cortos periodos de tiempo o criopreservación.

Por otra parte, la seminación artificial (SA) es la técnica más importante creada para el mejoramiento genético de los animales, debido a que con un número reducido de machos, altamente seleccionados, pueden producirse suficientes espermatozoides para seminar a cientos de hembras por año. Actualmente

¹ Médico Veterinario Zootecnista, M.Sc., Ph.D. Profesor Instituto de Acuicultura - Universidad de los Llanos

² Médico Veterinaria. Asistente de Investigación. Instituto de Acuicultura - Profesora Universidad de los Llanos.

han sido desarrollados métodos para SA de bovinos, ovinos, cabras, cerdos, caballos, perros, gatos, aves y una gran variedad de animales de laboratorio e insectos. En los peces la SA es un proceso rutinario, especialmente en aquellas especies cuyo desove no ocurre espontáneamente en cautiverio.

El propósito de este capítulo es describir de una manera sencilla los procedimientos empleados para determinar las diferentes variables del cuadro espermático en peces y hacer algunas consideraciones sobre la seminación artificial. Aunque el tema es de especial interés en todas las especies ícticas se hace referencia particularmente a las experiencias llevadas a cabo en el Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos con yamú (*Brycon siebenthalae*) y cachama blanca (*Piaractus brachyomus*), dos especies nativas de los Llanos Orientales de Colombia.

Generalidades

La evaluación de la calidad seminal ha sido objeto de numerosos estudios y comprende las siguientes etapas: a) obtención de la muestra de semen; b) determinación de las características macroscópicas; c) evaluación de las características microscópicas; d) pruebas bioquímicas y e) pruebas de fertilidad.

Tanto las variables evaluadas como los procedimientos utilizados para determinar la calidad seminal en los peces, han sido adaptados de aquellos empleados en animales de granja como bovinos, ovinos y equinos. En términos generales, la calidad seminal es determinada calculando el porcentaje de espermatozoides móviles, la concentración

espermática por unidad de volumen, la tasa de fertilización de oocitos viables o midiendo algunos parámetros del metabolismo celular (Honeyfield y Krise, 2000). Sin embargo, en los peces, aún no han sido establecidos parámetros que permitan clasificar el potencial reproductivo de un individuo en particular, debido principalmente a que las características seminales difieren considerablemente entre las especies; luego la información disponible constituye apenas una referencia de las características seminales consideradas propias de la especie.

Finalmente, es necesario tener en cuenta que el espermatozoide de la mayoría de los peces teleósteos difiere del de mamíferos en cuatro aspectos importantes: a) es inmóvil al momento de la eyaculación; b) la movilidad es adquirida únicamente después de entrar en contacto con el agua; c) los espermatozoides permanecen móviles por un corto periodo de tiempo, raras veces superior a 50 s y d) los espermatozoides carecen de acrosoma (Kime *et al.*, 2001). Estas diferencias determinan también variaciones en los protocolos utilizados para establecer la calidad seminal.

Obtención del Semen

El semen puede obtenerse de animales que han alcanzado la madurez gonadal espontáneamente o de ejemplares cuya espermiación ha sido inducida hormonalmente. En yamú (*B. siebenthalae*) y cachama blanca (*P. brachyomus*), una dosis de 4.0 mg.kg⁻¹ de peso corporal de extracto de hipófisis de carpa (EHC), administrada vía intramuscular 18 a 24 h antes de la extracción del semen, ha mostrado ser efectiva para inducir la espermiación en estas especies (Cruz-Casallas *et al.*, 2004a).

Es necesario anotar que el tratamiento hormonal puede modificar algunas de las características del semen, tales como el volumen y la concentración espermática (Tabla 1).

En la mayoría de los peces la recolección del semen es un procedimiento sencillo, ya que una simple presión sobre la cavidad abdominal (estrujamiento) puede hacer fluir el semen a través de la papila urogenital. Sin embargo, en algunas especies este procedimiento es infructuoso, siendo necesaria la extracción y posterior maceración del testículo para obtener los gametos (Mongkonpunya *et al.*, 2000). En este último caso, el testículo extraído es cortado en pequeños trozos y colocado dentro de una bolsa plástica con una cantidad de diluyente equivalente al peso del tejido testicular; posteriormente es macerado con un objeto romo y finalmente filtrado. Como diluyente puede utilizarse solución salina fisiológica (0.9% NaCl) cuya osmolaridad debe ajustarse a la del plasma seminal de la especie correspondiente. La figura 1 ilustra el proceso de

obtención del semen en yamú (*B. siebenthalae*) y cachama blanca (*P. brachypomus*).

En animales criados en cautiverio y sometidos a frecuente manipulación, el semen puede extraerse sin tranquilizante o sedante. Sin embargo, en individuos procedentes del ambiente o sometidos a poco manejo es aconsejable un sedante leve, inducido por inmersión en una solución anestésica, como por ejemplo 300 ppm de 2 - fenoxietanol (0.3 mL/L de agua). Una vez el animal haya perdido el eje de nado se retira inmediatamente de la solución anestésica y se seca cuidadosamente, con especial énfasis en las aletas y abdomen para evitar la contaminación con agua durante la obtención del semen, ya que esta activa la movilidad espermática. Debe realizarse también una suave presión sobre la papila urogenital, con el propósito de evacuar restos de agua, orina o heces acumuladas en esta región corporal. El semen es recolectado en un tubo de vidrio o de plástico aforado, estéril y seco. La figura 2 presenta una muestra

Tabla 1. Efecto de la inducción hormonal (EHC 4.0 mg.kg⁻¹ de peso corporal IM) sobre algunas características seminales de barbilla (*Rhamdia sebae* c.f.) y yamú (*Brycon siebenthalae*). Los valores corresponden a la media \pm error estándar de la media (SEM).

Variable	<i>Rhamdia sebae</i> c.f.		<i>Brycon siebenthalae</i>	
	Sin EHC	Con EHC	Sin EHC	Con EHC
n	13	15	31	75
Volumen (mL)	3.2 \pm 0.7 ^a	6.3 \pm 1.0 ^b	1.8 \pm 0.2 ^a	9.6 \pm 0.7 ^b
Movilidad (%)	89 \pm 3.5 ^a	93 \pm 2.8 ^a	88 \pm 1.6 ^a	88 \pm 0.5 ^a
Tiempo de activación (s)	29.1 \pm 0.8 ^a	30.9 \pm 0.8 ^a	41 \pm 1.3 ^a	38.2 \pm 0.9 ^a
Concentración ($\times 10^6$ spz/ μ L)	64.5 \pm 3.3 ^a	54.2 \pm 3.0 ^b	13.9 \pm 0.7 ^a	8.4 \pm 0.3 ^b
Espermatocrito (%)	75.0 \pm 3.9 ^a	62.0 \pm 4.3 ^b	41.5 \pm 1.9 ^a	12.6 \pm 0.5 ^b

spz= espermatozoides. ^{a,b} Para la misma especie, entre columnas, medias con sobre índices comunes son estadísticamente iguales ($p > 0.05$).

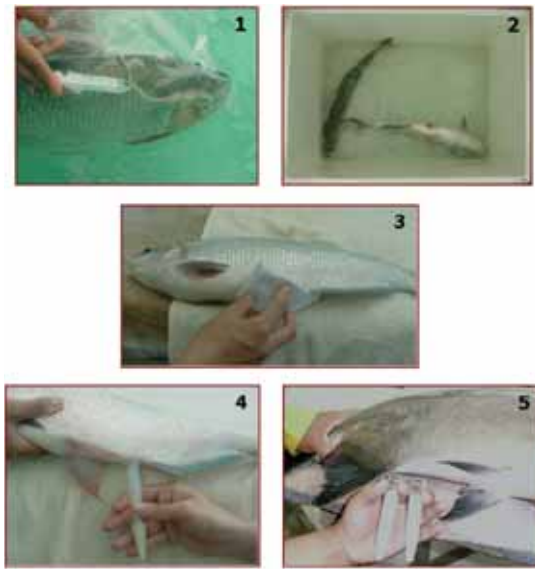


Figura 1. Secuencia del proceso de extracción de semen de yamú (*Brycon siebenthalae*) y cachama blanca (*Piaractus brachypomus*): 1. Administración IM de la hormona (EHC); 2. Aplicación de tranquilizante (inmersión en solución de 300 ppm de 2-fenoxietanol); 3. Secado de la zona genital; 4 y 5. Estrujamiento y obtención del semen.



Figura 2. Muestra de semen de barbilla, *Rhambdia sebae* c.f.

de semen de barbilla (*Rhambdia sebae* c.f.), libre de contaminantes y apta para ser utilizada en el proceso de seminación artificial de la especie.

Como alternativa para ayudar a evitar la contaminación durante la extracción del material seminal,

esta puede hacerse instalando una cánula de polipropileno o de látex, de diámetro acorde con el tamaño del reproductor, en el conducto espermiático a través de la papila urogenital (David *et al.*, 2000). En este caso, después de instalada la cánula se procede a realizar el masaje cráneo-caudal sobre el abdomen del pez, con el fin de producir la salida del semen a través de la cánula. El masaje debe ser suspendido cuando haya evidencia de contaminantes en la muestra, tales como sangre, bilis, orina, moco de la piel, heces o agua. La utilización de la cánula es especialmente recomendada en aquellos animales sometidos a tratamiento hormonal para la inducción de la espermiación, debido al relajamiento de los tejidos de la papila urogenital producida por la acción de las hormonas administradas.

Pequeñas cantidades de contaminantes pueden afectar seriamente la calidad seminal, siendo la orina el contaminante más común, la cual es difícil de detectar debido a que no confiere coloración especial a la muestra de semen (Ciereszko *et al.*, 2000), aunque su presencia puede sospecharse por una disminución en la concentración de potasio y de la osmolaridad (Rana, 1995). Por su baja osmolaridad, la orina al entrar en contacto con el semen puede causar activación parcial de la movilidad espermática, lo cual conduce a una disminución en la concentración de ATP en el espermatozoide y por consiguiente a una disminución en la movilidad (Rana, 1995). La contaminación con heces puede ocurrir con frecuencia, pero puede ser determinada visualmente. Aun muy pequeñas cantidades de heces producen un incremento en la actividad de la fosfatasa alcalina en el plasma seminal, por lo que el nivel de actividad de esta enzima puede servir como indicador del grado de contaminación fecal de la muestra (Ciereszko *et al.*, 2000).

La evaluación del semen debe realizarse inmediatamente después de recolectado, ya que su movilidad disminuye rápidamente a medida que transcurre el tiempo. El semen puede ser conservado a temperatura ambiente; sin embargo, varios investigadores han recomendado mantenerlo bajo temperatura de refrigeración o colocarlo en hielo molido; pero experiencias realizadas en el laboratorio con semen de yamú (*B. siebenthalae*), mostraron que las bajas temperaturas disminuyen rápidamente la movilidad espermática en esta especie (Fig. 3).

Observaciones similares han sido reportadas durante el almacenamiento de oocitos de yamú (*B. siebenthalae*), los cuales pierden rápidamente su fertilidad cuando son sometidos a bajas temperaturas (Velasco-Santamaría *et al.*, 2003a). La figura 4 ilustra las tasas de fertilidad observadas en oocitos de esta especie, conservados *in situ*, a temperatura ambiente (28° C) o bajo condiciones de refrigeración (4° C). La fertilidad de los oocitos conservados a baja temperatura disminuyó rápidamente, siendo inferior al 10% tan solo una hora después de ovulados.

Como se discutirá más adelante es necesario tener en cuenta las observaciones anteriores, particularmente cuando se decide realizar pruebas de fertilidad para evaluar la calidad seminal de los reproductores.

Evaluación del semen

La evaluación de la calidad seminal comprende tanto la determinación de características macroscópicas, observables a simple vista, como la medición de variables que requieren la ayuda de

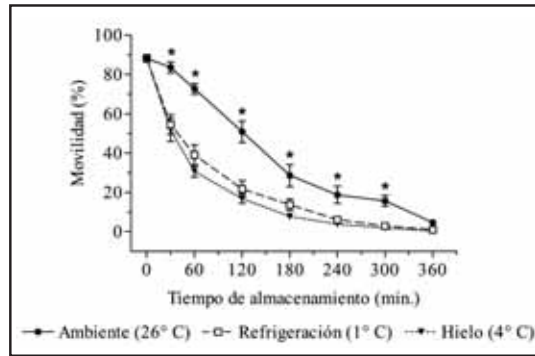


Figura 3. Variación de la movilidad espermática de semen de yamú (*Brycon siebenthalae*) mantenido bajo tres condiciones de almacenamiento. El semen fue colocado en tubos de vidrio, tapados y protegidos de la luz directa. Los asteriscos indican que durante las primeras cinco horas, la movilidad del semen conservado a temperatura ambiente fue superior ($p < 0.05$) a aquella observada en el semen bajo los otros dos sistemas de almacenamiento.

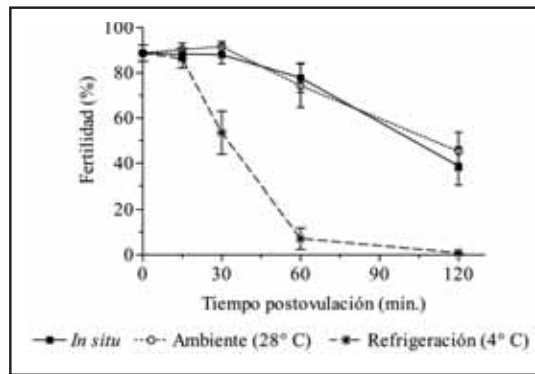


Figura 4. Variación de la fertilidad de oocitos de yamú (*Brycon siebenthalae*) mantenidos bajo tres condiciones de almacenamiento. La condición *in situ* hace referencia a conservar los oocitos dentro de la cavidad ovárica después de la ovulación. Nótese la disminución dramática de la fertilidad de oocitos conservados bajo condiciones de refrigeración ($n = 8$).

instrumentos como el microscopio óptico (características microscópicas). Aunque actualmente han sido desarrollados instrumentos y equipos para cuantificar o evaluar prácticamente todas las variables del cuadro espermático, por razones prácticas y económicas algunas variables, tales como la viscosidad y la movilidad masal, aún se

evalúan con base en escalas subjetivas, por lo que la precisión de su medida depende de la habilidad y experiencia del técnico o profesional que la realice. La tabla 2 resume las características seminales de las más importantes especies de peces de agua dulce cultivadas en Colombia. Aunque los procedimientos para su determinación no siempre fueron estandarizados, esta información puede ser utilizada como referencia para evaluar reproductores en los sistemas de cultivo.

Características macroscópicas

Inmediatamente después de recolectada la muestra deben registrarse las siguientes variables: volumen, color y consistencia o viscosidad, lo cual debe hacerse directamente en el tubo empleado para la recolección del material seminal.

Volumen. Se mide directamente dentro del recipiente de recolección, por lo cual se recomienda siempre utilizar un tubo aforado para recibir el semen. Esta característica se expresa en mL y su valor puede utilizarse posteriormente para calcular el número total de espermatozoides presentes en la muestra, así como la cantidad de espermatozoides obtenidos por kilogramo de reproductor.

La cantidad de semen producida por un reproductor depende de muchos factores, incluyendo desde la especie hasta la habilidad del técnico que realiza su extracción. Como puede observarse en la tabla 1, en yamú (*B siebenthalae*) y *Rhamdia sebae* c.f. el tratamiento hormonal con EHC aumentó significativamente el volumen de semen obtenido, pero disminuyó su concentración espermática.

Color. Esta característica sirve como referencia indirecta de la concentración espermática. Nor-

malmente el semen debe presentar una coloración blanco marfil, cuya intensidad guarda relación directa con el número de espermatozoides por unidad de volumen. Sin embargo, la coloración del semen permite conocer principalmente la presencia de contaminantes, tales como materia fecal, bilis o sangre, los cuales afectan negativamente la calidad espermática. Es necesario anotar que carotenoides sintéticos presentes en algunas dietas comerciales, pueden producir una coloración rosada del semen, simulando contaminación con sangre.

Viscosidad. Es una medida subjetiva de la consistencia o densidad del material seminal, basada en el aspecto visual que presenta la muestra y que puede ir desde líquido hasta viscoso (Suquet *et al.*, 1992). Se califica en una escala de 0 a 4, siendo 0 el menor grado de viscosidad. Esta característica cualitativa está relacionada con la concentración espermática y el espermatocrito y es útil para decidir el grado de dilución a que debe someterse el semen para determinar su concentración.

Características microscópicas

Las características microscópicas del semen deben determinarse dentro de la media hora siguiente a su recolección, ya que como se mencionó anteriormente, a medida que pasa el tiempo su calidad disminuye considerablemente, especialmente la movilidad (Fig. 3).

Concentración Espermática. Consiste en el número de células espermáticas por unidad de volumen y se expresa en millones de espermatozoides por μL o por mL. Para su determinación se utiliza el método del hemocitómetro o cualquier cámara contadora de partículas como la de *Neubauer*, la

Tabla 2. Características seminales de algunas especies acuícolas de agua dulce cultivadas en Colombia. La información corresponde a la media \pm SEM.

Especie	Variable						Referencia
	Volumen (mL)	Concentración (sptz x 10 ⁶ μ l ⁻¹)	Espermatocrito (%)	Movilidad (%)	Tiempo de activación (s)		
<i>Brycon siebenthalae</i>	9.6 \pm 0.7	8.4 \pm 0.3	12.6 \pm 0.5	88 \pm 0.5	38.2 \pm 0.9	Cruz-Casallas <i>et al.</i> , 2004b	
<i>Piaractus brachyomus</i>	13.4 \pm 1.5	17.7 \pm 1.8	37.2 \pm 4.7	92 \pm 1	79.4 \pm 4.5	Navarro <i>et al.</i> , 2004	
<i>Rhamdia sebae</i> c.f.	4.3 \pm 0.7	58.7 \pm 2.4	69.2 \pm 3.0	91 \pm 2.3	29.9 \pm 0.6	Velasco-Santamaría <i>et al.</i> , 2004a	
<i>Rhamdia quelen</i>	0.4 \pm 0.1	69.9 \pm 1.6	NR	80 \pm 1	121.3 \pm 31 ¹	Ferreira <i>et al.</i> , 2001	
<i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	3.7 \pm 0.3	23.4 \pm 1.7	NR	95	56.7 \pm 2.1	Mojica y Pinzón, 2002	
<i>Sorubim cuspicaudus</i>	1.9 \pm 1.0 ¹	22 \pm 1.2 ¹	NR	87 \pm 9.6 ¹	118.6 \pm 34.2 ¹	Araújo <i>et al.</i> , 2003	
<i>Brycon henni</i>	0.1 \pm 0.2 ¹	30 \pm 1.92 ¹	NR	44 \pm 29.1 ¹	58 \pm 15.7 ¹	Mira <i>et al.</i> , 2003	
<i>Oreochromis sp.</i>	NR	9.9 \pm 0.85	NR	48 \pm 5.3	480	Linhart <i>et al.</i> , 1999	
<i>Cyprinus carpio</i>	NR	15 \pm 5.4 ¹	NR	90 \pm 3	90	Lubzens <i>et al.</i> , 1997; Perchec <i>et al.</i> , 1998; Billard <i>et al.</i> , 1995	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	4.2 \pm 0.4	9.5 \pm 0.6	27.9 \pm 10 ¹	69 - 94	216	Piñeros, 1990; Billard <i>et al.</i> , 1982; Lahnsteiner <i>et al.</i> , 1998a; Ciereszko y Dabrowski, 1994.	

NR: no reportado. ¹ Media \pm SD.

cual ha sido empleada con éxito en muchas especies de animales domésticos (Sorensen, 1992) y en varias especies de peces (Kavamoto *et al.*, 1985; Fogli da Silveira *et al.*, 1985; Neira *et al.*, 1992 y Cruz-Casallas *et al.*, 2005).

El método consiste en diluir la muestra de semen empleando pipetas de precisión (micropipetas), para luego colocar una gota en la cámara de *Neubauer* y hacer el recuento individual de los espermatozoides localizados en cinco (0.2 mm²) de los 25 subcuadros del cuadro central (1.0 mm²), el cual es utilizado tradicionalmente en hematología para el recuento de glóbulos rojos. Se recomienda realizar el conteo en las dos cuadrículas de la cámara y utilizar el promedio para los cálculos posteriores. Como diluyente puede utilizarse solución salina fisiológica (0.9% NaCl) o cualquier otro medio isosmótico con el plasma seminal, que conserve la integridad de las células espermáticas. El grado de dilución al cual debe someterse el semen dependerá de la concentración de la muestra; en reproductores de yamú (*B. siebenthalae*) inducidos con EHC, una dilución 1:1200 ha mostrado ser adecuada (Cruz-Casallas *et al.*, 2005). En todo caso, cuando no se tenga referencia de la concentración espermática de la especie en estudio, se recomienda ensayar varias diluciones con el propósito de determinar la más adecuada, la cual será aquella que permita contar entre 30 y 40 espermatozoides en cada subcuadro (0.04 mm²) de la cámara de *Neubauer*. Antes de contar las células, la cámara debe mantenerse en una atmósfera húmeda durante al menos 10 min. para permitir que los espermatozoides se ubiquen por decantación en un mismo plano focal del microscopio. La cámara húmeda puede hacerse fácilmente con una caja de Petri con algodón o papel húmedo en su interior, sobre el cual se coloca la cámara contadora de partículas, teniendo cuidado

que se mantenga completamente horizontal. La observación y conteo se realizan en las dos cuadrículas con un aumento de 40X, evitando tocar con el objetivo la laminilla de la cámara.

Una vez contados los espermatozoides, la concentración espermática es calculada aplicando la siguiente fórmula:

$$CE = n / (A \times P \times D)$$

Donde, CE = concentración espermática (número de espermatozoides.µL⁻¹)

n = número promedio de espermatozoides contados en los cinco subcuadros de las dos cuadrículas

A = área de la cámara de *Neubauer* contada (generalmente 0.2 mm²)

P = profundidad de la cámara (0.1 mm)

D = dilución del semen (por ejemplo 1/1200, en yamú)

Una alternativa para estimar la concentración espermática consiste en estandarizar una curva de su relación con el espermatocrito, definido como la relación entre el volumen de las células empaçadas y el volumen total de la columna de semen sometida a centrifugación, multiplicada por 100 (Cruz-Casallas *et al.*, 2005). La figura 5 muestra un detalle de la cámara de *Neubauer* y de tubos microcapilares luego de la centrifugación para obtener espermatocritos de yamú (*B. siebenthalae*).

El método para calcular el espermatocrito se basa en el mismo principio del hematocrito estimado en hematología (Hickman, 1958), pero es nece-

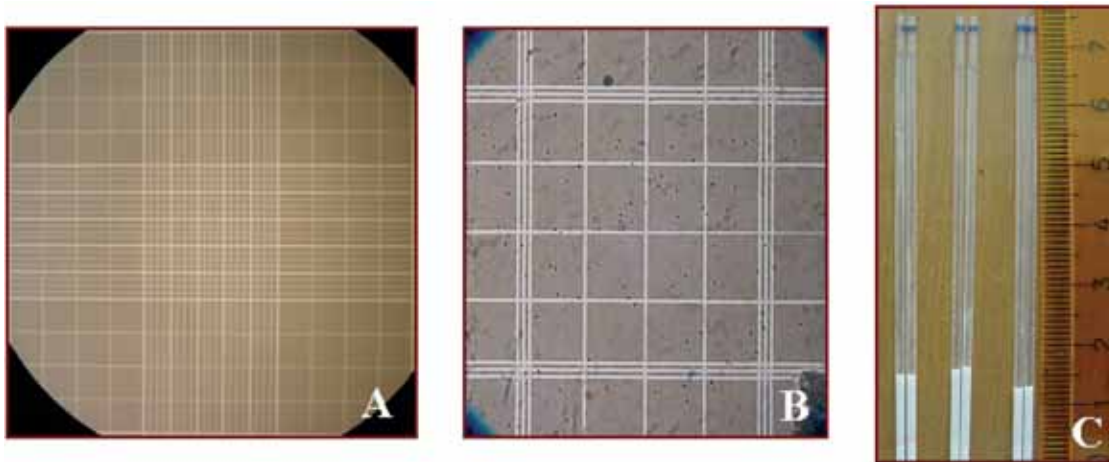


Figura 5. Cámara de *Neubauer* (A y B) y tubos microcapilares (C) luego de la centrifugación para obtener espermatocritos de yamú (*B. siebenthalae*).

sario estandarizar para cada especie tanto el tiempo como la fuerza centrífuga. La figura 6 ilustra los valores de espermatocrito observados en 23 machos de yamú (*B. siebenthalae*), calculados utilizando la misma fuerza centrífuga (14000 g microcentrífuga EBBA 12, Alemania) pero diferentes tiempos de centrifugación. Nótese que después de 3 min. de centrifugación la lectura del espermatocrito no se modifica significativamente. Se utilizan tubos microcapilares, sin anticoagu-

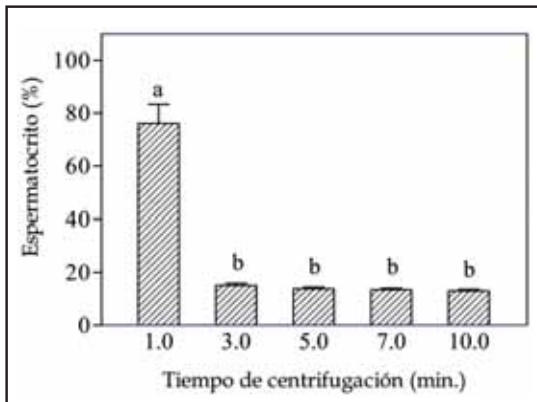


Figura 6. Efecto del tiempo de centrifugación sobre el valor del espermatocrito en yamú (*Brycon siebenthalae*), calculado a 14000 g de fuerza centrífuga. Barras con letras diferentes difieren estadísticamente ($p < 0.05$). Los valores corresponden a la media \pm SEM ($n = 23$).

lante, de 75 mm de longitud y 1.1 mm de diámetro interno, los cuales se llenan aproximadamente al 90% con el semen a ser analizado (Velasco-Santamaría y Cruz-Casallas, 2003b).

Los valores de espermatocrito son altamente correlacionados con la concentración espermática medida en la cámara de *Neubauer* (Rakitin *et al.*, 1999), lo cual facilita la construcción de una ecuación de regresión que permite calcular la concentración espermática de una manera rápida y segura. La figura 7 muestra la relación entre el

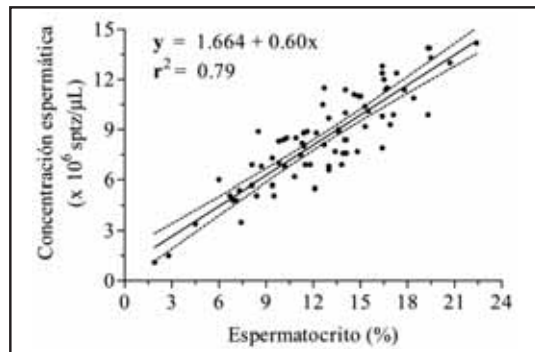


Figura 7. Relación entre el espermatocrito y la concentración espermática (número de espermatozoides por μL) determinada mediante la cámara de *Neubauer* en yamú (*Brycon siebenthalae*). $n = 75$, $r^2 = 0.79$, $p < 0.0001$.

espermatocrito y la concentración espermática de 75 reproductores de yamú (*B. siebenthalae*), la cual permitió establecer la siguiente ecuación de regresión (Cruz-Casallas *et al.*, 2004b):

$$y = 1.664 + 0.6 x$$

Donde, y = concentración espermática ($\times 10^6$ espermatozoides. μL^{-1})

x = valor del espermatocrito

Varios factores pueden afectar la concentración espermática de los peces, entre ellos los factores ambientales. En la tabla 3 se presentan las características seminales observadas en reproductores de yamú (*B. siebenthalae*) durante las estaciones reproductivas de los años 2003 y 2004. Obsérvese que tanto la concentración espermática, como el tiempo de activación, fueron inferiores en el año 2004 (Cruz-Casallas *et al.*, 2004b).

La época de la estación reproductiva también afecta las características seminales de los peces. La figura 8 ilustra la variación mensual de la concentración espermática y del espermatocrito observados en reproductores de yamú (*B. sieben-*

thalae) a lo largo de su estación reproductiva, la cual comprende el periodo entre febrero y mayo, coincidiendo con la época lluviosa de los Llanos Orientales de Colombia. Obsérvese la menor concentración espermática durante el inicio de la estación reproductiva (mes de febrero).

Movilidad espermática

Los espermatozoides de los peces son inmóviles en los testículos y, en la mayoría de las especies estudiadas, también en el plasma seminal, el cual posee factores que inhiben la movilidad, inclusive durante la extracción del semen. Por consiguiente, cambios en las características del plasma seminal, tales como en la concentración de iones, en el pH y en la osmolaridad, pueden despolarizar la membrana celular e inducir la movilidad o activación espermática. Durante la reproducción natural, en las especies con fecundación externa, la movilidad es inducida por el simple contacto del semen con el medio acuoso. Por lo tanto, para evaluar la movilidad espermática es necesario adicionar a la muestra de semen agua o una solución hiposmótica que active el movimiento de los espermatozoides.

Tabla 3. Características seminales de yamú (*Brycon siebenthalae*) durante la época reproductiva (febrero - mayo) de los años 2003 y 2004. Se presenta la media \pm SEM.

Característica seminal	AÑOS		Consolidado
	2003	2004	
Volumen (mL)	8.9 \pm 0.5	10.3 \pm 1.0	9.6 \pm 0.7
Movilidad (%)	90 \pm 0.0	85 \pm 1.2	88 \pm 0.5
Tiempo de activación (s)	41.4 \pm 1.1 *	35 \pm 0.7 *	38.2 \pm 0.9
Espermatocrito (%)	13.6 \pm 0.6 *	11.1 \pm 0.8 *	12.6 \pm 0.5
Concentración (sptz $\times 10^6$. μL^{-1})	9.5 \pm 0.4 *	6.7 \pm 0.5 *	8.4 \pm 0.3

sptz = espermatozoides. *Medias diferentes estadísticamente entre años ($p < 0.05$).

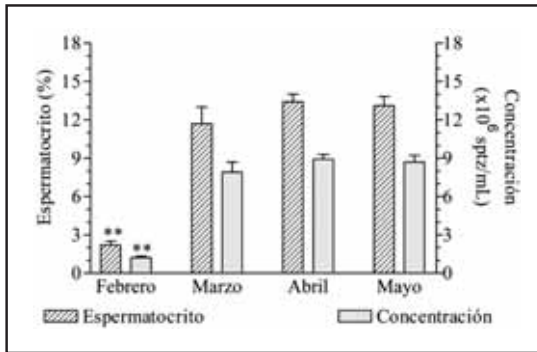


Figura 8. Variación mensual del espermatozocito y de la concentración espermática de reproductores de yamú (*Brycon siebenthalae*) durante la época reproductiva (febrero - mayo) de los años 2003 y 2004. Los machos fueron sometidos previamente a inducción hormonal (4.0 mg.kg⁻¹ de EHC) 18 - 24 h antes de la extracción del semen. Los valores corresponden a la media \pm SEM. Dentro de cada variable, barras con asteriscos difieren estadísticamente ($p < 0.05$).

Inicialmente puede estimarse el porcentaje de movilidad global o en masa, el cual consiste en observar una gota de semen inmediatamente después de adicionarle agua u otra solución activadora, la cual debe tener una osmolaridad inferior a la del plasma seminal, como por ejemplo bicarbonato de sodio (NaHCO₃) al 1%, en proporción 1:10 a 1:100 (v:v, semen: solución activadora). La solución de NaHCO₃ es especialmente útil para activar la movilidad espermática de semen crioconservado (Cruz-Casallas *et al.*, 2004a). La muestra así diluida debe observarse con objetivo de bajo aumento (máximo 10X) y la movilidad masal se califica subjetivamente con base en la amplitud de las ondas o remolinos que despliegan las células en movimiento. Su valor puede expresarse directamente en porcentaje o en una escala de 1 a 4, donde 1 \approx 0 - 25 %; 2 \approx 25 - 50 %; 3 \approx 50 - 75 % y, 4 \approx 75 - 100 % de espermatozoides móviles (Suquet *et al.*, 1992).

Una evaluación más detallada implica evaluar la movilidad individual, la cual requiere un sistema

asistido por computador (Computer - Assisted Sperm Analysis, CASA), cuya técnica ya ha sido validada en varias especies de peces (Ravinder *et al.*, 1997 y Kime *et al.*, 2001). La figura 9 ilustra los componentes principales de este sistema, integrado básicamente por un microscopio equipado con objetivos y condensador de contraste de fase, cámara contadora de partículas, cámara digital, ordenador y el *software* correspondiente. Se recomienda utilizar una cámara contadora de partículas delgada, tal como la cámara de Makler, ya que una lámina gruesa puede interferir con la iluminación del contraste de fase del microscopio.

Para la utilización del CASA es necesario diluir (1:100) previamente el semen, utilizando plasma seminal de la misma especie o una solución isosmótica que no active la movilidad espermática. De esta solución son tomados 3.0 μ L y colocados en la cámara contadora de partículas. Posteriormente se adicionan 12 μ L de la solución activadora e inmediatamente después se activa el programa y la grabación se mantendrá hasta que el movimiento de las células espermáticas cese totalmente. Tanto la suspensión de espermatozoides, como la cámara contadora de partículas y la solución activadora deben mantenerse a la misma temperatura, para evitar choques térmicos que afecten la movilidad de los espermatozoides. El programa permite establecer la siguiente clasificación:



Figura 9. Computer - Assisted Sperm Analysis, CASA.

1. Porcentaje de espermatozoides con movilidad progresiva rápida
2. Porcentaje de espermatozoides con velocidad progresiva lenta no lineal
3. Porcentaje de espermatozoides con movimientos no progresivos, y
4. Porcentaje de espermatozoides inmóviles.

De las células con movimiento, el programa también puede calcular las siguientes variables:

1. Velocidad curvilínea (VCL) en $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$.
2. Velocidad en línea recta (VSL) en $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$.
3. Amplitud lateral del desplazamiento de la cabeza (ALH) en $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$.
4. Linealidad del movimiento (LIN).
5. Grado de oscilación (WOB)

Aunque la metodología es relativamente fácil de adaptar, el costo de los equipos y del *software*, constituyen un limitante para su uso rutinario en las granjas productoras de alevinos.

Tiempo de Activación

La duración e intensidad de la movilidad espermática permite inferir sobre la capacidad fecundante del semen estudiado. Esta variable es evaluada junto con la movilidad, cronometrando el tiempo transcurrido desde el momento en que se adiciona al semen la solución activadora, hasta la verificación de ausencia de movilidad espermática en la muestra.

La duración de la movilidad espermática varía ampliamente entre las especies de peces y coincide en general con el periodo fértil del espermatozoide (Tabla 2). Las características químicas,

así como el volumen de la solución activadora utilizada determinan la duración de la movilidad del espermatozoide. Por ejemplo, una solución de NaHCO_3 al 1% aumenta el tiempo de activación de espermatozoides de yamú (*B. siebenthalae*) y cachama (*P. brachypomus*) (Navarro-Poveda *et al.*, 2000). Por su parte, la temperatura también afecta la duración de la movilidad; por ejemplo, en *Mugil capito* bajas temperaturas resultan en prolongada movilidad, pero con menor velocidad de las células (Hines y Yashouv, 1971).

Morfología

El semen es diluido según su concentración y de cada muestra son preparados tres frotis en láminas portaobjetos. Después de secos, son coloreados con Giemsa o hematoxilina - eosina y observados con microscopio óptico (100X) para estudiar 200 células por lámina. Inicialmente se realiza una descripción anatómica del espermatozoide “normal”, la cual sirve de referencia para identificar posibles alteraciones morfológicas. Estas se clasifican de acuerdo con la parte afectada (cabeza, pieza intermedia y flagelo) y se expresa en porcentaje sobre el total de células estudiadas. El valor para cada muestra es el promedio de los tres micropreparados. Un factor limitante para la evaluación de esta característica, lo constituye el reducido tamaño de la célula espermática de la mayoría de especies de peces. La figura 10 presenta comparativamente espermatozoides de yamú con una célula espermática de bovino.

Viabilidad

Determina el porcentaje de células espermáticas muertas o con graves daños en la integridad de su



Figura 10. Presenta comparativamente espermatozoides de yamú con una célula espermática de bovino.

membrana celular. Para el cálculo se utiliza el método de la coloración diferencial, empleando una solución de eosina y como colorante de contraste nigrosina (Swanson y Bearden, 1951), basada en que los espermatozoides muertos son permeables a los colorantes y por lo tanto aparecen coloreados en el micropreparado.

La técnica consiste en mezclar cuidadosamente una pequeña gota de semen (2 - 5 μ L) con la solución de los dos colorantes mencionados anteriormente (50 μ L), sobre una lámina portaobjetos limpia y seca. Posteriormente se realiza un extendido, se deja secar al ambiente y luego es analizada al microscopio óptico (40X) para estudiar 200 espermatozoides por lámina y realizar la diferenciación correspondiente. La figura 11 ilustra un frotis de semen de bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*) coloreado con eosina-nigrosina.



Figura 11. Frotis de semen de bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*) coloreado con eosina-nigrosina.

Prueba de fertilidad

Para las pruebas de fertilidad deben seleccionarse hembras sexualmente maduras, que presenten oocitos con predominancia de sus núcleos o vesículas germinativas en posición excéntrica (Bruzka, 1979). En la mayoría de las especies tropicales de agua dulce, la ovulación puede inducirse hormonalmente con EHC, administrado según los protocolos establecidos para cada especie. Inmediatamente después de la ovulación, los oocitos son extraídos por estrujamiento y recibidos en un recipiente limpio y completamente seco, para evitar que la humedad ocasione su hidratación prematura. Posteriormente se preparan baches de oocitos (de 2 - 4 g cada uno) para ser seminados con el material que se quiere evaluar. Como fue mencionado anteriormente, es necesario tener en cuenta que los oocitos pierden su fertilidad poco tiempo después de ovulados (30 min.). La activación espermática se induce con agua o NaHCO_3 al 1% para semen fresco o criopreservado, respectivamente. El volumen de solución activadora a ser adicionado, dependerá de la cantidad de oocitos utilizada, pero debe mantenerse una proporción 1:3 (p:v, oocitos : solución activadora).

Debido a que muchos factores influyen sobre la fertilidad, es necesario obtener varias observa-

ciones o repeticiones, empleando diferentes incubadoras experimentales simultáneamente, cuyo diseño y construcción deben corresponder con las utilizadas en la producción comercial de alevinos. La figura 12 muestra el prototipo de incubadora experimental de 2 L utilizada en el Laboratorio de Reproducción de peces tropicales del Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos.



Figura 12. Prototipo de incubadora experimental de 2 L.

La medición de la fertilidad debe efectuarse después de 6 y 9 horas de incubación para yamú (*B. siebenthalae*) y cachama blanca (*P. brachyomus*), respectivamente. Este momento coincide con el cierre del blastoporo en estas especies. El resultado se expresa en porcentaje, el cual se determina a partir del cálculo de la proporción de óvulos fertilizados sobre el total de oocitos observados en muestras tomadas aleatoriamente de cada una de las incubadoras utilizadas. Un oocito fertilizado de yamú (*B. siebenthalae*) se caracteriza por ser esférico, translúcido y por contener en su interior un embrión en estado de cierre del blastoporo (Cruz-Casallas *et al.*, 2005); mientras que oocitos no fertilizados, se muestran opacos,

blanquecinos y con un contenido irregular en su interior. La figura 13 muestra oocitos de yamú (*B. siebenthalae*) fertilizados y no fertilizados.

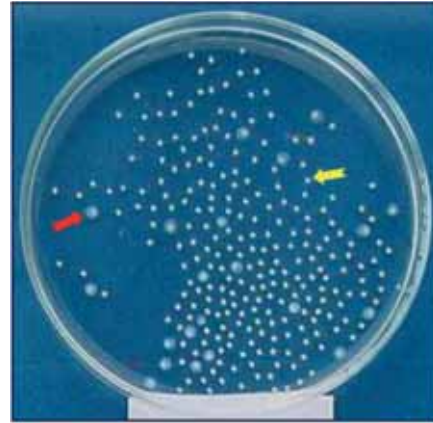


Figura 13. Oocitos de yamú (*B. siebenthalae*) fertilizados y no fertilizados.

Cuando el propósito de la prueba es evaluar los efectos sobre la fertilidad de diferentes tratamientos, manipulaciones realizadas sobre los reproductores o compararlos con los resultados de otros laboratorios, es necesario estandarizar las condiciones de la seminación, entre ellas la dosis inseminante (número de espermatozoides por oocito a ser fertilizado). Se ha observado que una leve disminución en la capacidad fecundante del semen puede enmascarse al utilizarse una mayor dosis inseminante (Rurangwa *et al.*, 1998). La tabla 4 muestra las proporciones mínimas de espermatozoides por oocito para obtener máximos porcentajes de fertilidad en algunas especies de importancia económica. La información disponible sobre las especies nativas colombianas es actualmente muy limitada.

Pruebas bioquímicas

Varios trabajos han sido realizados en animales domésticos para reemplazar las pruebas micros-

Tabla 4. Proporción de espermatozoides/oocito, utilizando semen fresco y crioconservado de algunas especies acuícolas de importancia económica.

Especie	Número de espermatozoides móviles/oocito	Referencia	
	Semen Fresco	Semen Crioconservado	Referencia
Brycon siebenthalae	50.000	75.000	Velasco-Santamaría et al., 2004b
Oncorhynchus mykiss	20.000	NR	Billard y Carpentier, 1973
	300.000		Billard, 1975
Ictalurus punctatus	40.000	-	Billard, 1966
		230.000	Tiersch et al., 1994
Cyprinus Carpio	13.000	NR	Suquet et al., 1995
	300.000		Koldras y Mejza, 1983 y Billard, 1975
Poecilia reticulata	50.000 – 100.000	NR	Billard, 1966

cópicas de evaluación del semen por pruebas bioquímicas. Entre ellas, la prueba de reducción del azul de metileno es utilizada ampliamente en los centros de inseminación artificial, como método auxiliar para la evaluación del semen bovino. La prueba se basa en que el azul de metileno es reducido por la adición de hidrogeniones, gracias a la acción de una enzima espermática (deshidrogenasa) que los transforma en una leucobase, perdiendo así su coloración azul característica. Esta reacción ocurre únicamente en presencia de espermatozoides móviles, como resultado de su actividad metabólica. Por lo tanto, entre menor sea el tiempo requerido para la reducción de la muestra, puede inferirse una mayor concentración y movilidad espermática (Flogli da Silveira *et al.*, 1986).

El método consiste básicamente en diluir en partes iguales la muestra de semen con una solución de azul de metileno (0.01 g de azul de metileno en 100 mL de solución salina al 0.7%).

Después de homogenizar adecuadamente la muestra, se registra el inicio de la reacción e inmediatamente después la mezcla así constituida se aspira en un tubo microcapilar para lograr una mejor observación del proceso de decoloración del azul de metileno. El fin de la reacción se determina cuando por lo menos las dos terceras partes del tubo microcapilar se decoloren completamente.

Otras determinaciones bioquímicas han sido enfocadas a determinar la concentración de algunos componentes orgánicos e inorgánicos del plasma seminal, los cuales podrían estar asociados con la capacidad fecundante del semen. La tabla 5 muestra la osmolaridad, la concentración de algunos iones, así como los niveles de colesterol y glucosa en algunas especies de importancia para la acuicultura nacional. Su relación con la capacidad fecundante del semen es aún tema de investigación en diferentes centros del mundo.

Tabla 5. Características bioquímicas seminales de algunas especies ícticas de importancia en Colombia. Datos expresados como media \pm SEM.

Especie	Variable						Referencia
	Osmoralidad (mOsm.L ⁻¹)	K ⁺ (mM)	Na ⁺ (mM)	Mg ⁺⁺ (mM)	Glucosa (mg.dL ⁻¹)	Colesterol (mg.dL ⁻¹)	
<i>Brycon siebenthalae</i>	314.1 \pm 5.6	21.8 \pm 0.7	85.5 \pm 2.1	8.4 \pm 0.4	5.7 \pm 0.7	11.7 \pm 1.2	Cruz-Casallas <i>et al.</i> , 2004b
<i>Oreochromis sp.</i>	336.6 \pm 3.9	0.6 - 2.8*	4.9 - 125.6*	NR	NR	NR	Linhart <i>et al.</i> , 1999 y Kruger <i>et al.</i> , 1984
<i>Cyprinus carpio</i>	286 \pm 10 ¹	82.4 \pm 3.3 ¹	75 \pm 3.2 ¹	0.8 \pm 0.04 ¹	0.9 - 10	0 - 0.4; 2.6 - 26.4	Morisawa <i>et al.</i> , 1983; Kruger <i>et al.</i> , 1984 y Belova, 1982
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	313.3 \pm 22.3 ¹	15 - 25	100 - 150	NR	117.7 \pm 136 ^{1**}	140.1 \pm 97.4 ^{1**}	Lahnsteiner <i>et al.</i> , 1998 a, b y Morisawa <i>et al.</i> , 1983

¹ Media \pm SD. * mg.mL⁻¹. ** μ mol.L⁻¹

Seminación artificial

El desarrollo de la seminación artificial (SA) ha permitido cambios dramáticos en la industria pecuaria. Semen y embriones frescos o crioconservados son usados mundialmente como una herramienta esencial en los programas de mejoramiento animal. En principio, beneficios similares pueden ser esperados de su aplicación en la industria piscícola, ya que el uso de semen crioconservado es un medio práctico para aumentar el tamaño genéticamente efectivo de las poblaciones y mantener su diversidad genética, especialmente de aquellas comunidades mantenidas en cautiverio. Por otra parte, la SA aumenta la posibilidad de reproducción por fuera de la estación reproductiva, facilita el movimiento e intercambio de material genético entre productores, mejora la eficiencia en la utilización de los parentales y contribuye a disminuir la presión sobre las poblaciones silvestres, ejercida por los piscicultores en procura de padrotes.

La SA es un proceso necesario para lograr la reproducción de aquellas especies de peces que no desovan espontáneamente, tales como el yamú (*B. siebenthalae*), los bocachicos (*Prochilodus mariae* o *P. magdalenae*) y bagre rayado (*P. fasciatum*), entre otros, o cuando se utiliza semen crioconservado. Esta última tecnología está siendo adaptada rápidamente para las especies nativas colombianas (Cruz-Casallas *et al.*, 2004a). El éxito del procedimiento depende de la fertilidad de los gametos utilizados y del manejo que de ellos se haga durante todo el proceso de fertilización e incubación. Un cuidado importante es evitar que tanto oocitos como espermatozoides se pongan en contacto con agua antes de la adición de la solución activadora.

Es conocido que varios factores pueden influir sobre el resultado de la SA; sin embargo, aquí sólo se resaltaré la importancia de la dosis inseminante, ya sea utilizando semen fresco o semen crioconservado. En este último caso, la práctica de la SA implica mayor eficiencia en la utilización de los recursos disponibles, entre los cuales los gametos son los más importantes.

La figura 14 muestra los efectos de la proporción de espermatozoides por oocito sobre el porcentaje de fertilidad con semen fresco en yamú (*B. siebenthalae*), mientras que la figura 15, utilizando semen crioconservado. Obsérvese que existe una relación directamente proporcional entre la fertilidad y la proporción de gametos utilizada (Velasco-Santamaría *et al.*, 2004b)

Conclusión

Los procedimientos y técnicas empleadas para la evaluación de la calidad seminal en peces, man-

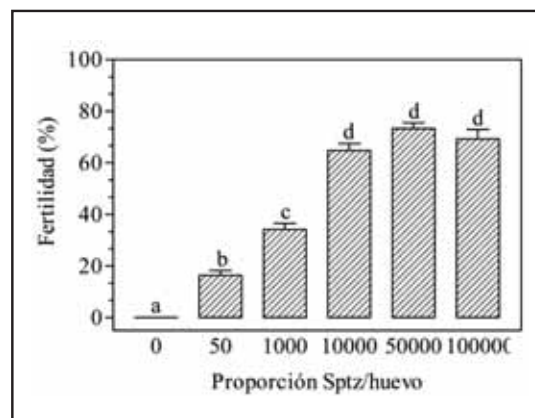


Figura 14. Efecto de la proporción de espermatozoides por oocito sobre el porcentaje de fertilidad con semen fresco en yamú (*Brycon siebenthalae*). Fueron evaluadas las proporciones 0/1, 50/1, 1.000/1, 10.000/1 y 100.000/1 de espermatozoides/oocito. Los valores corresponden a la media \pm SEM. Barras con letras no en común son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

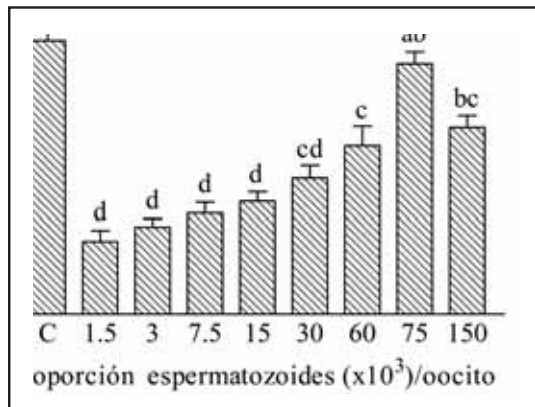


Figura 15. Porcentaje de fertilidad con semen criopreservado para las proporciones 1.500/1, 3.000/1, 7.500/1, 15.000/1, 30.000/1, 60.000/1, 75.000/1 y 150.000/1 espermatozoides/oocito. Las barras representan la media \pm SEM. C = Control (semen fresco: 50.000 espermatozoides/oocito). Barras con letras comunes son iguales ($p > 0.05$).

tienen estrecha similitud con aquellas utilizadas en animales domésticos e incluyen tanto la eva-

luación macroscópica y microscópica del semen, así como pruebas bioquímicas. La variable que mejor se correlaciona con la fertilidad es la movilidad espermática; sin embargo, la prueba definitiva consiste en la evaluación de la fertilidad, empleando oocitos de conocida viabilidad. Esta prueba tiene especial importancia cuando se trata de evaluar semen que haya sido sometido a procesos como la criopreservación.

Finalmente, aunque existe abundante información sobre las características seminales de las especies más importantes, aún no se dispone de los valores mínimos necesarios para considerar apto a un determinado reproductor. Este asunto será tarea inmediata de los teriogenólogos dedicados al estudio de los peces.

BIBLIOGRAFÍA

- ARAÚJO, H.; W. CORDERO; C. RUGELES Y V. ATENCIO. 2003. Evaluación de las Características Seminales del Blanquillo. *Sorubim cuspicaudus* inducido con ovaprim®. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 16 (Suplemento): 78.
- BELOVA, N. V., 1982. Ecological and physiological properties of semen of pond cyprinids. III. Physiological - biochemical parameters of the semen of some cyprinid species. *Journal of Ichthyology*, 22(3): 63-80.
- BILLARD, R. 1975. L'insémination artificielle de la truite, *Salmo gairdneri* Richardson. V. Effects de la dilution et définition du rapport optimum gamètes/dilueur. *Bulletin Francaise de Pisciculture*, 257: 121-135.
- BILLARD, R. 1966. Contribution à l'étude de la reproduction chez le poisson téléostéen, *Lebistes reticulatus*, au moyen de l'insémination artificielle. Thèse 3ème cycle. Faculté des Sciences, Lyon, 83 p.
- BILLARD, R. Y H. CARPENTIER. 1973. Détermination du nombre optimum de spermatozoides nécessaires à la fécondation d'un ovule au cours de l'insémination artificielle de la truite. *Bulletin Francaise de Pisciculture*, 251: 73-76.
- BILLARD, R.; J. COSSON; G. PERCHEC Y O. LINHART. 1995. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture*, 129: 95-112.
- BILLARD, R.; A. FOSTIER; C. WEIL Y B. BRETON. 1982. Endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 39: 65-79.
- BRUZCA, E. 1979. The in vivo method of estimating the stages of maturation in carp (*Cyprinus carpio*). *Acta Hydrobiology*, 21: 423-433.
- CIERESZKO, A. Y K. DABROWSKI. 1994. Relationship between biochemical constituents of fish semen and fertility: the effect of short-term storage. *Fish Physiology and Biochemistry*, 12, (5): 357-367.
- CIERESZKO, A.; J. GLOGOWSKI Y K. DABROWSKI. 2000. Biochemical characteristics of

- seminal plasma and spermatozoa of freshwater fishes 20-48 p. En: Tiersch, T. R. y P. M. Mazik, (Edt). *Cryopreservation in Aquatic Species*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana.
- CRUZ-CASALLAS, P. E.; S. P. PARDO-CARRASCO; J. A. ARIAS-CASTELLANOS; P. E. LOMBO-CASTELLANOS; D. A. LOMBO-RODRÍGUEZ Y J. E. PARDO-MARIÑO. 2004a. Cryopreservation of Yamú *Brycon siebenthalae* Milt. World Aquaculture Society, 35 (4): 529-535.
- CRUZ-CASALLAS, P. E.; Y. M. VELASCO-SANTAMARÍA; V. M. MEDINA-ROBLES Y J. A. MORALES-BELTRÁN. 2004b. Relación entre espermatozoides y concentración espermática y variación de la calidad seminal durante la estación reproductiva del yamú (*Brycon siebenthalae*). 111 - 113 p. En: Memorias II Congreso Colombiano de Acuicultura, X Jornada de Acuicultura IALL.
- CRUZ-CASALLAS, P. E.; Y. M. VELASCO-SANTAMARÍA; M. P. RAMÍREZ; V. M. MEDINA-ROBLES Y M. OLIVERA-ÁNGEL, 2004c. Determinación de algunas características bioquímicas del plasma seminal de yamú (*Brycon siebenthalae*). 114-115 p. En: Memorias II Congreso Colombiano de Acuicultura, X Jornada de Acuicultura IALL.
- CRUZ-CASALLAS, P. E.; D. A. LOMBO-RODRÍGUEZ E Y. M. VELASCO-SANTAMARÍA 2005. Milt quality and spermatozoa morphology of captive (*Brycon siebenthalae* Eigenmann) broodstock. Aquaculture Research, doi: 10.1111/j.1365-2109.01273.x
- DAVID, R. E.; L. J. WIRTANEN Y M. A. TERNES. 2000. Cryopreservation of sperm of the endangered apache trout. 104 - 107 p. En: Tiersch, T. R. y P. M. Mazik, (Edt). *Cryopreservation in Aquatic Species*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana.
- FERREIRA, A. A.; A. P. NUÑER DE OLIVEIRA; R. K. LUZ; R. D. A. TATAJE; J. R. ESQUIVEL Y J. B. RESTREPO. 2001. Avaliação qualitativa e quantitativa do sêmen do jundiá, *Rhamdia quelen*. Boletim do Instituto de Pesca, 27 (1): 57-60.
- FOGLI DA SILVEIRA, W.; E. T. KAVAMOTO; M. M. ISHIZUKA Y L. A. PENTEADO, 1986. O azul de metileno como indicador da qualidade do semen da truta Arco Iris, *Salmo irideus* Gibbons. Boletim do Instituto de Pesca, 13 (1): 89 - 94.
- FOGLI DA SILVEIRA, W.; E. T. KAVAMOTO Y M. Y. NARAHARA. 1985. Avaliação da qualidade e criopreservação em forma de "pellets" do sêmen do bagre, *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840). Boletim do Instituto de Pesca, 12 (4): 7-11.
- HICKMAN, C. G. 1958. Spermocrit values in facilitating the estimation of spermatozoa concentrations. Journal of Dairy Science, 41: 318-319.
- HINES, R. Y A. YASHOUV. 1971. Some environmental factors influencing the activity of spermatozoa of *Mugil capito* Cuvier, a grey mullet. Journal of Fish Biology, 3: 123-127.
- HONEYFIELD, D. C. Y W. F. KRIZE. 2000. Measurement of milt quality and factors affecting viability of fish spermatozoa. 49 - 58 p. En: Tiersch, T. R. y P. M. Mazik. (Eds.). *Cryopreservation in Aquatic Species*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana.
- KAVAMOTO, E. T.; W. FOGLI DA SILVEIRA; M. G. RIGOLINO Y A. C. CARVALHO FIDLO. 1985. Avaliação macro e microscópica do sêmen da truta Arco-Iris, *Salmo irideus* Gibbons. Boletim do Instituto de Pesca, 12 (3): 73-81.
- KIME D. E.; K. J. W. VAN LOOK; B. G. MCALLISTER; G. HUYSKENS; E. RURANGWA Y F. OLLEVIER. 2001. Computer-assisted sperm analysis CASA as a tool for monitoring sperm quality in fish. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, 130: 425-433.
- KOLDRAS M. Y T. MEJZA 1983. Effects of quantity and quality of carp sperm on egg fertilization success. Acta Ichthyologica et Piscatoria, 13: 83-92.
- KRUGER, J. C. W.; G. L. SMITH; J. H. J. VAN VUREN Y J. T. FERREIRA. 1984. Some chemical and physical characteristics of the semen of *Cyprinus carpio* L. and *Oreochromis mossambicus* (Peters). Journal of Fish Biology, 24: 263-272.
- LAHNSTEINER, F.; B. BERGER; T. WEISMANN Y R. A. PATZNER. 1998a. Determination of semen quality of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by sperm motility, seminal plasma parameters, and spermatozoal metabolism. Aquaculture, 163: 163-181.

- LAHNSTEINER, F.; B. BERGER; T. WEISMANN Y R. A. PATZNER, 1998b. Physiological and biochemical determination of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, semen quality for cryopreservation. *Journal of Applied Aquaculture*, 6 (4): 47-73.
- LINHART, O.; J. WALFORD; B. SIVALOGANATHAN Y T. J. LAM. 1999. Effects of osmolality and ions on the motility of stripped and testicular sperm of freshwater - and seawater - acclimated tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Fish Biology*, 55: 1344-1358.
- LUBZENS, E.; N. DAUBE; Y. I. PEKARSK; Y. MAGNUS; A. COHEN; F. YUSEFOVICH Y P. FEIGIN. 1997. Carp (*Cyprinus carpio* L.) spermatozoa cryobanks - strategies in research and application. *Aquaculture*, 155: 13-30.
- MIRA, T.; F. MONTOYA; C. TABARES; A. TARAZONA; S. JARA Y M. OLIVERA. 2003. Parámetros fisicoquímicos y descripción morfológica en semen de sabaleta *Brycon henni* (Pisces: Characidae). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 16 (Suplemento): 80.
- MOJICA, R. J. E. Y A. S. PINZÓN. 2002. Ensayos preliminares de crioconservación de semen de bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum* Linnaeus 1766). Trabajo de Grado Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia. p. 60.
- MONGKONPUNYA, K.; T. PUPIPAT Y T. R. TIERSCH. 2000. Cryopreservation of sperm of the Mekong Giant Catfish. 290-291 p. En: Tiersch, T. R. y P. M. Mazik, (Eds.). *Cryopreservation in Aquatic species*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana.
- MORISAWA, M.; K. SUZUKI; H. SHIMIZU; S. MORISAWA Y K. YASUDA, 1983. Effects of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. *Journal of Experimental Biology*, 107: 95-103.
- NAVARRO-POVEDA, O. J.; P. E. LOMBO-CASTELLANOS Y P. E. CRUZ-CASALLAS. 2000. Calidad y fertilidad de semen de cachama blanca, *Piaractus brachyomus* crioconservado con etilenglicol. En: *Memorias XI Simpósio Brasileiro de Aqüicultura - SIMBRAQ*, 2000. Florianópolis (SC), Brasil.
- NAVARRO-POVEDA, O. J.; Y. M. VELASCO-SANTAMARÍA Y P. E. CRUZ-CASALLAS. 2004. Evaluación de cinco protectores para la crioconservación de semen de cachama blanca (*Piaractus brachyomus*). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 17: 53-59.
- NEIRA, J.; P. E. CRUZ-CASALLAS; J. JIMÉNEZ. Y D. MUÑOZ. 1992. Caracterización y congelación de semen de cachama blanca (*Piaractus brachyomus*). 141-145 p. En: Programa Nacional de Ciencia y Tecnología del Mar - Investigación y Desarrollo Tecnológico en Acuicultura.
- PERCHEC, P. G.; C. PAXION; J. COSSON; C. JEULIN; F. FIERVILLE Y R. BILLARD 1998. Initiation of carp spermatozoa motility and early ATP reduction after milt contamination by urine. *Aquaculture*, 160: 317 - 328.
- PIÑEROS, P. R. E. 1990. Evaluación de esperma de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* en la selección de machos reproductores. Trabajo de Grado Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. p. 69.
- RAKITIN, A.; M. M. FERGUSON Y E. A. TRIPPEL. 1999. Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic cod (*Gadus morhua*): correlation and variation during the spawning season. *Aquaculture*, 170: 349-358.
- RANA, K. J. 1995. Cryopreservation of aquatic gametes and embryos: Recent advances and applications. 85 - 89 p. En: Goetz F. W. y P. Thomas. (Eds.). *Proceedings of Fifth International Symposium on Reproductive Physiology of fish*. Austin, Texas.
- RAVINDER, K.; K. NASARUDDIN; K. C. MAJUMDAR Y S. SHIVAJI. 1997. Computerized analysis of motility, motility patterns and motility parameters of spermatozoa of carp following short-term storage of semen. *Journal of Fish Biology*, 50: 1309-1328.
- RURANGWA, E.; I. ROELANTS; G. HUYSKENS; M. EBRAHIMI; D. E. KIME Y F. OLLEVIER. 1998. The minimum effective spermatozoa: egg ratio for artificial insemination and the effects of mercury on sperm motility and fertilization ability in *Clarias gariepinus*. *Journal of Fish Biology*, 53: 402-413.

- SORENSEN, JR., A. M. 1992. Reproducción Animal, Principios y Prácticas. México. McGraw-Hill. 539 p.
- SUQUET, M.; R. BILLARD; J. COSSON; Y. NORMANT Y C. FAUVEL. 1995. Artificial insemination in turbot (*Scophthalmus maximus*): determination of the optimal sperm/egg ratio and time of gamete contact. *Aquaculture*, 133: 83-90.
- SUQUET, M.; M. H. OMNES; Y. NORMANT Y C. FAUVEL. 1992. Assessment of sperm concentration and motility in turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 101: 177-185.
- SWANSON, E. W. Y H. J. BEARDEN. 1951. An eosin-nigrosin stain for differentiating live and dead bovine spermatozoa. *Journal of Animal Science*, 10: 981-987.
- TIERSCH, T. R.; C. A. GOUDIE Y G. J. CARMICHAEL. 1994. Cryopreservation of channel catfish sperm: storage in cryoprotectants, fertilization trials and growth of channel catfish produced with cryopreserved sperm. *Transactions American Fisheries Society*, 123: 580-586.
- VELASCO-SANTAMARÍA, Y. M.; W. CORREDOR-SANTAMARÍA Y P. E. CRUZ-CASALLAS. 2003a. Variation of eggs fertility of yamú *Brycon siebenthalae* during short-term storage. En *Proceedings of the World Aquaculture 2003*. Bahia Convention Center - Salvador, Brazil.
- VELASCO-SANTAMARÍA, Y. M. Y P. E. CRUZ-CASALLAS. 2003b. Inseminación artificial en yamú (*Brycon siebenthalae*): Efecto de la proporción de espermatozoides/huevo y volumen de la dosis inseminante sobre la fertilidad. En: VI Encuentro Nacional de Semilleros de Investigación. Universidad Santiago de Cali (USC). Cali-Valle, Colombia.
- VELASCO-SANTAMARÍA, Y. M.; J. A. ARIAS-CASTELLANOS Y P. E. CRUZ-CASALLAS. 2004a. Efecto de la inducción hormonal con extracto de hipófisis de carpa (EHC) sobre algunas características seminales de *Rhamdia sebae* c.f. 116-117 p. En: *Memorias II Congreso Colombiano de Acuicultura, X Jornada de Acuicultura IALL*.
- VELASCO-SANTAMARÍA, Y. M.; P. E. CRUZ-CASALLAS Y Á. H. CALDERÓN-FONSECA 2004b. Inseminación artificial en yamú (*Brycon siebenthalae*): Determinación de la dosis inseminante con semen fresco y crioconservado. 105-107 p. En: *Memorias II Congreso Colombiano de Acuicultura, X Jornada de Acuicultura IALL*.

REPRODUCCIÓN ARTIFICIAL DE PECES MARINOS

Julián Botero Arango¹

Introducción

La masificación y diversificación de la acuicultura han demostrado ser estrategias eficaces para abastecer la creciente demanda mundial de peces y mariscos. Revisando las estadísticas más recientes sobre el “Estado mundial de la pesca y la acuicultura 2002” (FAO, 2002), puede verse que: a) mientras que a partir de los años 90 la pesca de especies convencionales para consumo humano directo (excluidas las plantas acuáticas) se ha estabilizado alrededor de 93 millones de toneladas, el cultivo mundial de este tipo de productos en el año 2000 alcanzó 35.6 millones de toneladas, para un crecimiento anual del 10.4% en peso durante el período 1991-2000. Esto supera los valores tradicionales de 2% y 3% para la mayor parte de actividades agrícolas y pecuarias respectivamente (FAO, 1998); b) aunque más de la mitad de la producción de la acuicultura mundial corresponde al cultivo de carpas (Familia Cyprinidae) en la China, existe una tendencia hacia la diversificación mediante el cultivo de nuevas especies para aprovechar la biodiversidad existente. El trabajo de Garibaldi (1996) presenta un listado actualizado donde se incluyen 262 especies de importancia en la acuicultura mundial, junto con sus producciones y países de origen.

Debido a su mayor complejidad, la tecnología para la reproducción y cultivo de los peces marinos está menos adelantada que la de los peces de agua dulce. Las mayores producciones de peces a escala global se han basado his-

¹ Biólogo Marino, M.Sc., Ph.D. (c) Universidad de Stirling. Subgerente de Pesca y Acuicultura. INCODER, jbotero@incoder.gov.co ASPECTOS BÁSICOS PARA REPRODUCCIÓN INDUCIDA DEL PARGO LUNAREJO *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869)
Jesús Hernando Gamboa¹ y Juan Valverde Pretelt (q.e.p.d.)²

tóricamente en especies de agua dulce como las carpas y las tilapias y en peces diádromos como los salmónidos, todas ellas más fáciles de reproducir en laboratorio que las marinas. La mayoría de las especies marinas que se han venido cultivando han dependido básicamente de la captura de juveniles y alevinos en el medio natural (ej. anguilas, milkfish, yellowtail, etc.). Sin embargo, la producción de alevinos de estas y de nuevas especies en el laboratorio se viene incrementando; algunos ejemplos para los cuales existe tecnología de laboratorio bien establecida son el milkfish (*Chanos chanos*) y el barramundi (*Lates calcarifer*) en el sudeste asiático, la red sea bream (*Pagrus major*) en Japón, la lubina (*Dicentrarchus labrax*) y la dorada (*Sparus aurata*) en el Mediterráneo y la red drum (*Sciaenops ocellatus*) en Estados Unidos (Nash y Novotny, 1995). En la Tabla 1 se presenta la producción global de las principales especies de peces marinos cultivadas durante 1996.

Durante los últimos 15 años los peces marinos han recibido especial atención a nivel mundial y en el Caribe por su gran potencial (Fushs *et al.*, 1990; Thouard *et al.*, 1990; Wu, 1990 y Tucker y Jory, 1991). Sin embargo, el cultivo de estas especies se abastece principalmente con juveniles capturados en el medio natural, práctica que atenta contra la estabilidad de las poblaciones y que no ofrece garantías desde el punto de vista económico (Doi y Singhagraiwan, 1993 y Duray *et al.*, 1996).

Benetti *et al.* (1994, 1995) presentan como en Ecuador, país donde más del 95% de la acuicultura se concentraba en el camarón marino, el gobierno dio prioridad a un programa de diversificación financiado por la Corporación Andina de Fomento – CAF -, la Agencia Japonesa de Coope-

ración Internacional – JICA -, el Centro Nacional de Investigaciones Marinas – CENAIM - y la Escuela Superior Politécnica del Litoral – ESPOL - El programa, iniciado en 1993, obtuvo resultados importantes con la seriola (*Seriola mazatlanensis*), de la cual se han hecho ventas en Estados Unidos a precios de US \$ 8.80/kg, así como con el lenguado (*Paralichthys adspesus*), el pez rojo (*Sciaenops ocellatus*), el pámpano (*Trachinotus paitensis*), el róbalo (*Centropomus nigrescens*) y la corvina (*Cynoscion stolzmanni*). Otro caso que se puede mencionar es el de Chile, país que ha multiplicado su producción durante los últimos años concentrándose en salmón, mejillón y plantas acuáticas (principalmente algas rojas) y que es hoy el primer productor en la acuicultura marina latinoamericana (Buschman *et al.*, 1996).

En Colombia sólo hasta hace poco se empezaron a desarrollar los primeros proyectos de investigación para la diversificación de la acuicultura marina, dándosele una importancia principal a los peces marinos: - La Corporación Centro de Investigación de la Acuicultura de Colombia – CENIACUA - y el Instituto Colombiano de Desarrollo Rural – INCODER - iniciaron desde 1999 y 2003, respectivamente, un programa para la reproducción en cautiverio y cultivo del pargo palmero, *Lutjanus analis* (Botero y Ospina, 2003a; Botero y Ospina, 2003b; Romero *et al.*, 2004; Botero y Castaño, en prensa y Castaño y Botero, en prensa) y del pargo de la mancha (*Lutjanus guttatus*) en las costas del Caribe y el Pacífico respectivamente. El Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura – INPA - adelantó también a finales de los años 90 un proyecto para lograr la reproducción en cautiverio del róbalo (*Centropomus undecimalis*) en el área de la bahía de Cispatá, Caribe colombiano.

Tabla 1. Producción mundial de las principales especies de peces marinos cultivadas durante 1996 (tomado y modificado de FAO, 1998).

Nombre científico	Nombre vulgar	Producción (tm)
<i>Seriola quinqueradiata</i>	Yellowtail (cola amarilla)	145.889
<i>Pagrus major</i>	Red sea bream (dorada roja)	77.319
<i>Sparus auratus</i>	Gilthead sea bream (dorada)	23.832
<i>Dicentrarchus labrax</i>	European sea bass (lubina)	19.231
<i>Paralichthys olivaceus</i>	Hirame (lenguado)	16.553
Tetraodontidae	(puffers) (peces globo)	5.552
<i>Dicentrarchus spp.</i>	(sea basses) (lubinas)	5.382
<i>Trachurus japonicus</i>	Japanese horse mackerel (macarela japonesa)	3.869
<i>Scophthalmus maximus</i>	Turbot (lenguado)	2.588
<i>Trachurus spp.</i>	jack & horse mackerels (macarelas)	2.343
Scorpaenidae	Scorpionfishes (peces escorpión)	2.036
<i>Thunnus maccoyii</i>	Southern bluefin tuna (atún aleta azul)	2.013
<i>Epinephelus areolatus</i>	Squartetail grouper (mero)	750
<i>Lutjanus argentimaculatus</i>	Asian red snapper (pargo manglero)	690
<i>Epinephelus spp.</i>	Groupers (meros)	407
Sparidae	sea breams, porgies (doradas)	368
<i>Epinephelus tauvina</i>	Greasy grouper (mero)	360
<i>Trachinotus blochii</i>	Snubnose pompano (pámpano)	325
<i>Lutjanus russellii</i>	Russell's snapper (pargo)	300
<i>Lateolabrax japonicus</i>	Japanese sea bass (lubina japonesa)	266
<i>Rhabdosargus sarba</i>	Silver sea bream (dorada plateada)	240
Mugilidae	Mulletts (lisas)	225
Pleuronectiformes	Flatfishes (lenguados)	218
<i>Gadus morhua</i>	Atlantic cod (bacalao del Atlántico)	198
Cantherines spp.	Filefishes (NN)	148
<i>Pagrus pagrus</i>	Red porgy (perca roja)	130
<i>Diplodus sargus</i>	White sea bream (dorada blanca)	122
<i>Acanthopagrus berda</i>	River bream (dorada de río)	90
<i>Mugil cephalus</i>	Striped mullet (lisa plateada)	82
<i>Lutjanus spp.</i>	Snappers (pargos)	80
<i>Thunnus thynnus</i>	Northern bluefin tuna (atún aleta azul)	77
<i>Evynnis japonica</i>	Crimson sea bream (dorada de Crimson)	52
Serranidae	groupers, sea basses (meros)	36
<i>Epinephelus akaara</i>	Redspotted grouper (mero punteado)	30
<i>Solea solea</i>	Common sole (solea)	29
<i>Decapterus spp.</i>	Scads (NN)	20
<i>Pleurogrammus azonus</i>	Atka mackerel (macarela de Atka)	19
<i>Acanthopagrus schlegeli</i>	Black sea bream (dorada negra)	18
<i>Diplodus spp.</i>	sea breams (doradas)	15
<i>Rachycentron canadum</i>	Cobia (cobia)	13
<i>Sciaenops ocellatus</i>	Red drum (pez rojo)	10
Otros Osteichthyes	Otros peces óseos marinos	189.356
Total peces marinos en 1996		500.596

Sin pretender constituirse en un manual, el presente capítulo resume las principales características, requerimientos, procedimientos y cuidados que se deben tener en cuenta en la reproducción de los peces marinos, en especial de aquellas especies demersales carnívoras con huevos y larvas pelágicas como los pargos, corvinas, meros, etc., las cuales presentan un gran interés por su excelente calidad, elevado precio y gran demanda en mercados locales y de exportación. Para lograr este objetivo se presentan aspectos básicos relevantes existentes en la literatura universal sobre el tema, complementándolos con las experiencias y resultados personales obtenidos por el autor del capítulo en los diferentes proyectos de investigación realizados.

Generalidades

Para que una especie íctica sea “buena candidata” para la acuicultura debe tener un crecimiento rápido y eficiente, alto valor y aceptación en los mercados, huevos y alevinos fáciles de obtener, ser dócil y fácil de criar, recibir con facilidad el alimento concentrado, dejarse agrupar en altas densidades y sobrevivir bien a pesar de las condiciones estresantes que provoca el cautiverio. Si bien estas condiciones se dan en un gran número de especies dulceacuícolas, sólo un número relativamente bajo de especies marinas ha podido ser introducido a las estadísticas comerciales por la mayor dificultad que presenta su reproducción y cultivo.

Desde el punto de vista biológico existen cuatro principales áreas con poca información y conocimiento que limitan actualmente el potencial del cultivo de los peces marinos: a) la obtención de huevos y larvas, b) el mantenimiento de un ambiente adecuado, c) el aseguramiento de una bue-

na nutrición y d) el control de las enfermedades. El cuello de botella más frecuente es el de una baja sobrevivencia de las larvas hasta el estado de juveniles, lo cual resulta de un inadecuado manejo de la calidad de agua, de la nutrición y de las enfermedades. Para los huevos y larvas de muchas especies se requiere agua oceánica, así como para los estados mayores de muchas especies. Las altas densidades de cultivo con frecuencia promueven la aparición o proliferación de virus, bacterias y parásitos. Descripciones completas y compendios del conocimiento existente sobre el tema pueden consultarse en Bromage y Roberts (1995), Lavens y Sorgeloos (1996), Tucker (1998) y Alvarez-Lajonchère y Hernandez (2001).

La supervivencia de los juveniles hasta su estado final de mercado generalmente no tiene problemas, pero es necesario que los costos de producción dejen margen para una utilidad razonable. Las instalaciones para este tipo de cultivos son costosas. Los suministros de energía y agua deben tener “backups” o sistemas dobles de emergencias. Las granjas o laboratorios ubicados en sitios lejanos tienen problemas para abastecerse de suministros, mantener el producto final fresco y hacerlo llegar a los mercados. En muchos sitios es necesario instalar cercas, alarmas y perros para garantizar la ausencia de robos, así como mallas sobre el espejo de agua de los tanques y estanques. Aspectos económicos de importancia en la acuicultura puede consultarse en Allen *et al.* (1984), Meade (1989) y Shang (1990).

Se debe seleccionar un sitio donde se puedan minimizar los problemas de polución, aspecto que es de importancia tanto para los peces como para los consumidores. Aunque lejos de las bahías contaminadas la calidad del agua es muy buena, las distancias y lo inaccesible de estos lugares hace

a veces imposible realizar en ellos los cultivos. Las zonas estuarinas son particularmente afectadas por la polución y el desarrollo urbano. El continuo uso de nutrientes naturales o artificiales puede incrementar la biomasa de las plantas acuáticas y la productividad en general, resultando en problemas como los “blooms” de fitoplancton o los estanques saturados de algas. Los excesos de nutrientes y sedimentos de los estanques deben ser removidos de las aguas de desecho antes de ser vertidos como efluentes para lo cual, las lagunas de sedimentación y oxidación parecen ser las mejores alternativas. Se deben usar en lo posible los sistemas de agua recirculados con el fin de minimizar el efecto nocivo de los efluentes. Se ha documentado muchas veces resistencia de la flora bacteriana a los antibióticos en muchas granjas de cultivos marinos. Aspectos sobre la polución y salud pública pueden ser consultados en Aiken (1991), Edwards (1991) y Chen *et al.* (1997).

Las actividades de maricultura tienen que competir con otros intereses por los recursos costeros y generalmente se deben establecer en terrenos no deseables para urbanización o vivienda humana y aguas que no sean necesarias para otros propósitos. A veces algunos cuerpos de agua naturales se rellenan, se cercan o se alteran con diques. Tuberías, jaulas, corrales, encierros, etc., no deben interferir con la navegación. Se debe evitar a toda costa el establecimiento de objetos o construcciones ofensivos a la vista o que atenten contra el paisaje. Amplias discusiones sobre los obstáculos geográficos y sociales para la maricultura en la región del Caribe pueden ser consultadas en Ferlin y Noriega-Curtis (1989) y Stephenson (1990).

En muchos casos el número de especies nativas consideradas como buenas candidatas es muy limi-

tado, lo cual promueve la importación de especies exóticas, que no es siempre la mejor alternativa. Si no se tienen las debidas precauciones, por medio de la acuicultura se pueden introducir especies exóticas dañinas. A veces se presentan escapes de especies que han prosperado y acabado o desplazado especies nativas más deseables. El cultivo de especies exóticas debería hacerse solamente en sistemas recirculados o en sistemas donde las aguas de los efluentes no puedan llevar peces ni agentes patógenos exóticos a los hábitats locales donde estos puedan sobrevivir. También se pueden presentar introducciones de enfermedades y parásitos exóticos, así como proliferaciones de patógenos raros preexistentes. Para consulta detallada sobre estos aspectos se recomiendan los trabajos de Thompson (1990), Aiken (1991) y Edwards (1991).

En el cultivo de peces marinos se practica la selección artificial. Debido a que la supervivencia en cultivo es mayor que en la naturaleza, la proporción de hijos contra padres es mucho más alta. Adicionalmente se utilizan relativamente pocos reproductores. Si se liberan grandes números de peces reproducidos artificialmente, la diversidad genética de las poblaciones naturales puede verse reducida. El impacto de la maricultura sobre la biodiversidad costera ha sido documentado por Herke (1977), Bartley *et al.* (1992), Lam (1990) y Pillay (1992).

Sobre la biología reproductiva de los peces marinos

Hábitos reproductivos

La mayoría de los peces marinos producen entre miles y millones de pequeños huevos planctónicos

individuales que eclosionan en larvas muy débiles comparadas con las de especies de aguas dulces. Este gran número de huevos y larvas ayuda a mitigar el efecto de la predación sobre los mismos, lo que caracteriza a las especies con estrategia de reproducción tipo *r*, opuesta a las de estrategia tipo *K* que producen huevos de mayor tamaño y juveniles más precoces y con mayor supervivencia (Shirota, 1970). La época natural de desove varía según la especie entre 1 y 360 días al año y generalmente está sincronizada con “gatillos” o eventos ambientales que ayudan a que los huevos y las larvas encuentren temperaturas, corrientes, y condiciones de alimentación favorables para su supervivencia en el medio natural. La mayoría de los huevos de los peces marinos tropicales aptos para acuicultura son pequeños (entre 0.6 y 2.0 mm de diámetro) y planctónicos. De muchas de las especies se pueden obtener en el laboratorio entre 100 mil y 300 mil huevos por kilogramo de hembra reproductora. Entre las características más típicas de estos huevos se encuentra la “gota de aceite” que es una fuente concentrada de energía y de ácidos grasos esenciales. Los huevos eclosionan generalmente en un tiempo de 10-48 horas después de la fertilización (HAF). El éxito en la eclosión depende especialmente del contenido de hormonas tiroideas, temperatura, salinidad, pH interno y de la producción de las enzimas de la eclosión (Brown y Bern, 1989).

Las larvas de las especies marinas con huevos planctónicos usualmente son pequeñas y delicadas y requieren alimento vivo durante 3 a 5 semanas (para algunas hasta 8 semanas). La tendencia generalizada es que son de una alta fragilidad, con rangos de tolerancias muy estrechos a las variaciones en los parámetros biológicos y ambienta-

les. Estas dificultades se hacen mayores mientras más pequeños sean los huevos y las larvas al eclosionar. Las larvas en estado de “preflexión” presentan una notocorda recta. En “flexión” la notocorda se dobla moderadamente hacia arriba y se empieza a formar el esqueleto caudal. En “postflexión” la notocorda ha alcanzado su posición final y el esqueleto caudal está casi completamente formado. Para evaluar los diferentes estadios de las larvas se utiliza la longitud corporal (BL), que es equivalente a la longitud notocordal (NL, desde la punta del hocico hasta la punta de la notocorda) para larvas entre la eclosión y la postflexión, y a la longitud estándar (SL, desde la punta del hocico hasta el margen posterior de los huesos hypurales en la base de la aleta caudal) para larvas mayores a la postflexión.

En el momento de la eclosión las larvas de la gran mayoría de los peces marinos se encuentran en una talla entre de 1-5 mm de longitud total (LT). Son frágiles y no pueden ver ni nadar bien ni capturar alimento vivo hasta 1-7 días después de la eclosión (DAH). La pigmentación de los ojos (PE) marca el momento en que estos se vuelven funcionales y ocurre justamente antes de la alimentación inicial (FF) (Blaxter, 1986). Los sentidos del gusto y el olfato se desarrollan temprano entre la eclosión y 16 DAH (Blaxter, 1986). En las larvas que eclosionan con una talla pequeña (la mayoría), el intercambio de gases ocurre a través de la piel por un tiempo, pero al cabo de unas semanas después de la eclosión se forman los filamentos branquiales funcionales. Esto ocurre generalmente en los estadios tardíos del desarrollo larval o en la transformación. Con excepción de algunos casos de especies de aguas frías, al cabo de algunas horas y pocos días de que las larvas

han desarrollado la habilidad de capturar y digerir zooplancton, han acabado con las reservas de su saco vitelino y de la gota de aceite y se vuelven totalmente dependientes de la ingestión de alimento exógeno. El “final de la gota de aceite” (EOG) se presenta usualmente 1 a 2 días después del “final del saco vitelino” (EYS).

El “punto de no retorno” (PNR) se define como el punto por encima del cual una larva en inanición no se puede recuperar y sobrevivir, aún si encontrara e ingeriera suficiente alimento (Blaxter y Ehrlich, 1974). El PNR usualmente ocurre después del EYS, pero en algunas especies ocurre antes y en otras después del EOG. El sistema digestivo toma su tiempo en desarrollarse y al principio no tiene todas las enzimas necesarias para una buena digestión. Mientras que la mayoría de las larvas de los peces de agua dulce tienen desde temprano un páncreas, hígado y estómago con glándulas gástricas funcionales, lo cual les permite ingerir alimentos compuestos desde el FF, en la mayoría de las larvas de los peces marinos el estómago y las glándulas gástricas funcionales solo aparecen después de la transformación.

La mayoría de las especies de peces marinos, incluyendo muchas que cuando adultas son de hábitos herbívoros, presentan larvas estrictamente carnívoras. Estas consumen ciliados, rotíferos, copépodos, etc. También consumen huevos de bivalvos, cladóceros, copépodos, quetognatos y peces, así como larvas de poliquetos, lamelibranquios, bivalvos, gastrópodos, cirripedios, cladóceros, copépodos, decápodos y peces (Fortier y Harris, 1989). Sin embargo, la digestibilidad y el valor nutricional de estas presas varía. Para la mayoría de las larvas de peces marinos los copépodos son

la primera y la más nutritiva presa. En la mayoría de los casos los estadíos tempranos de las larvas de los peces marinos no aceptan alimentos artificiales y no sobreviven ni crecen bien con ellos. Sin embargo, muchas especies pueden ser “des-tetadas” (transición del alimento vivo al alimento artificial) justo antes o durante la transformación. Las larvas que no tienen sistemas digestivos desarrollados dependen de alguna manera en los aminoácidos libres (FAA) presentes en sus presas y se pueden beneficiar con la adición de FAA en las dietas compuestas (Fyhn, 1989). También a veces es necesario engañar a las larvas para que hagan presa en partículas inertes o no nadadoras (Barnabé y Guissi, 1994).

En una especie típica de pez marino tropical con huevos planctónicos, a los 2 DAH se ha reducido la cantidad de vitelo y de aceite, los ojos se han pigmentado y el sistema digestivo es funcional pero simple. A los 3-4 dah el vitelo se acaba, puede quedar algún remanente de la gota de aceite, pero la larva tiene todavía poca habilidad para nadar y alimentarse. A los 10 dah el esqueleto está al menos en parte osificado, se forman las aletas y las larvas nadan y se alimentan más eficientemente.

Aunque casi ninguna especie de pez marino presenta metamorfosis, todas atraviesan durante su etapa larval avanzada por un proceso llamado “transformación” que las convierte en alevinos o juveniles. Solamente algunas especies como las anguilas, los sábalos y los lenguados presentan verdadera metamorfosis. Las larvas de la mayoría de las especies marinas tropicales se transforman en juveniles entre los 20-60 dah. En los juveniles ya se presentan los elementos merísticos (huesos y radios espinosos), escamas y dientes bien desa-

rrollados, una gran habilidad para escapar de los predadores y para alimentarse, así como una buena tolerancia al manipuleo. El estado adulto se alcanza con la madurez sexual, que según la especie puede llegar en pocos meses hasta varios años.

Períodos críticos en la reproducción de los peces marinos

Existen algunos “períodos críticos” durante los cuales la fortaleza de una misma cohorte de larvas puede verse reducida a cero. Además de unas adecuadas condiciones físicas y de calidad de agua durante los estadios de huevo y larva, es necesario cumplir con otros requisitos para obtener buena supervivencia hasta la obtención de los alevinos. A continuación se presentan en orden cronológico los eventos considerados como “períodos críticos” por Tucker (1998), así como los principales factores a tener en cuenta durante los mismos:

- **Durante la fertilización:** verificar calidad de los gametos, temperatura y salinidad, tiempo o “timing” correcto, cuidar el manipuleo.
- **Durante la eclosión:** verificar la fortaleza de los embriones, temperatura correcta, garantizar la disipación de las enzimas de la eclosión y la eliminación de sustancias tóxicas, cuidar la intensidad de luz.
- **Durante la alimentación inicial:** verificar la fortaleza y desarrollo de las larvas, el correcto “timing”, tamaño, disponibilidad y calidad del alimento vivo y poner iluminación apropiada.
- **En la finalización del vitelo y de la gota de aceite:** poner la temperatura correcta y facilitar suficiente absorción de nutrientes desde fuentes exógenas.

- **En la llenada de aire de la vejiga natatoria:** verificar la fortaleza de las larvas, luz no muy intensa, buena circulación de agua y eliminar las películas superficiales de grasa.
- **En el destete:** verificar la capacidad digestiva de las larvas y el correcto tamaño, disponibilidad y calidad del alimento compuesto.
- **En la transición al intercambio gaseoso branquial:** verificar el estado de salud general de las larvas.
- **En la transformación:** aunque menos vulnerables al daño físico por estar protegidos por aletas y escamas, los alevinos y juveniles están más expuestos a los predadores que las larvas, ya que estas últimas eran transparentes.

Conocimiento sobre las técnicas de reproducción en especies marinas de peces tropicales

El conocimiento sobre los mecanismos de la reproducción en los peces ha avanzado considerablemente durante los últimos 20 años, al igual que el desarrollo de técnicas para su manipulación y control. Resumiendo información presentada en las revisiones de Donaldson y Hunter (1983), Zohar (1989) y Bromage *et al.* (1990), puede decirse que hasta mitad de los años 70 la única alternativa disponible para inducir el desove era actuando a nivel del ovario en el eje hipotálamo-pituitaria-ovario, mediante la aplicación de inyecciones con extractos de pituitaria que contenían gonadotropinas. A mitad de los 70, esta técnica fue refinada mediante la obtención de extractos semipurificados de gonadotropinas de origen íctico, expresamente producidos para la inducción de la maduración final y desove en algunos peces. Durante este período (y aún hoy en día se usa)

se empezó a utilizar con éxito la inducción con gonadotropinas de mamíferos, especialmente la gonadotropina coriónica humana (HCG), ya sea sola o en combinación con extractos de pituitaria de peces. Sin embargo, los anteriores compuestos presentan varias desventajas; los extractos de pituitaria no tienen una potencia estandarizada, provocan en general reacciones inmunológicas en el organismo receptor, y contienen otras hormonas no gonadotrópicas que pueden causar un efecto adverso al buscado. Los extractos semipurificados de gonadotropina de origen íctico han demostrado ser muy específicos (poco útiles en un rango amplio de especies), a la vez que son costosos y escasos, por lo cual se usan más a nivel experimental que comercial. El uso de HCG está ampliamente difundido por sus buenos resultados, pero provoca también reacción inmunológica a mediano plazo y por el gran tamaño y complejidad de la molécula, difícilmente se puede pensar en su preparación comercial por medios sintéticos.

Las anteriores desventajas motivaron la búsqueda de sustitutos más confiables y potentes a partir de finales de los años 70, desencadenando el desarrollo de nuevas técnicas (Bromage, 1988; Zohar, 1989; Sato *et al.*, 1995; Patiño, 1997 y Peter y Yu, 1997). Dentro de estas, las que actúan a un nivel más alto en el eje hipotálamo-pituitaria-ovario son especialmente utilizadas hoy en día con éxito en gran cantidad de teleósteos. Mediante la inyección de hormonas liberadoras de gonadotropinas (GnRH) o análogos sintéticos de las mismas (GnRHa), se logra inducir la producción de gonadotropinas en la pituitaria. Estas hormonas liberadoras, especialmente las sintéticas como el análogo de hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRHa), tienen varias ventajas sobre

los compuestos anteriores: son péptidos cortos (9-10 aminoácidos) de bajo peso molecular, por lo cual su síntesis en laboratorio a nivel comercial, bajo costo y gran volumen, es perfectamente realizable. La forma sintética LHRHa presenta en la práctica una acción más duradera y potente que su versión natural (GnRH), a la vez que ha demostrado tener poca especificidad (contrario a las gonadotropinas) y por lo tanto es de mayor utilidad en la inducción de la maduración final, ovulación y desove en un amplio rango de especies. Se le consigue comercialmente en solución, en emulsión de aceite o en implantes que dosifican su liberación, siendo efectiva en una o varias dosis en el rango de los 2-100 µg/kg de peso del reproductor, según la especie. Su administración en dosis más altas ha demostrado no producir los efectos nocivos de las sobredosis de HCG.

Se ha demostrado que en varias especies de peces, especialmente ciprínidos (carpas) y algunos silúridos (catfish), la secreción de gonadotropina (GtH) por parte de la pituitaria está también controlada por una hormona inhibidora de la liberación de gonadotropina (GRIF) (Donaldson y Hunter, 1983; Goetz, 1983; Zohar, 1989 y Peter y Yu, 1997). Esta hormona es producida en el hipotálamo, al igual que las liberadoras de gonadotropina (GnRH), y se le conoce como dopamina. El tratamiento con antagonistas de la dopamina como el Pimozide® o Domperidona® resulta efectivo en la inducción de la maduración final, ovulación y desove en estas especies de aguas dulces, especialmente si se combina con la administración de LHRHa, técnica conocida como “método Limpe”. Sin embargo, varios estudios sugieren que en peces marinos no es necesaria la administración de estos antagonistas, ya que estas especies son altamente sensibles

a los análogos de GnRH (Zohar, 1989; Zohar *et al.*, 1995 y Bromage y Roberts, 1995).

Sobre el medio acuático y la infraestructura

Para consulta detallada de los aspectos de calidad de aguas, ingeniería e infraestructura en acuicultura, se recomiendan los textos y trabajos de Boyd (1990), Wheaton (1977, 1987) y Wedler (1998).

El agua

A diferencia de las operaciones de acuicultura en agua dulce, donde existe la posibilidad de conducir el agua por gravedad, en los laboratorios de peces marinos se requiere siempre del bombeo. Por esta razón la cantidad de agua disponible casi nunca es un factor limitante, ya que mientras que se cuente con la energía y los recursos económicos suficientes, siempre podrán instalarse más bombas o de mayor capacidad para proveer las necesidades que se requieran.

La reproducción de los peces marinos en general necesita aguas de la mejor calidad; la situación ideal sería poder contar con aguas oceánicas, las cuales tienen pocos sólidos en suspensión y bajos costos de filtración, buena cantidad de oxígeno disuelto y en general parámetros fisicoquímicos apropiados para la vida de los huevos y larvas planctónicas de este tipo de peces. Estas aguas también están menos expuestas a los peligros de la contaminación, pero deben filtrarse adecuadamente, sobre todo para la eliminación de patógenos y de huevos y larvas de posibles organismos depredadores y competidores. Existe la alternativa de utilizar aguas costeras, pero debe tenerse en cuenta que

estas presentan casi siempre mayores niveles de sólidos en suspensión y están muy expuestas a la contaminación. En estos casos generalmente se requieren costosos equipos de filtración mecánica o grandes reservorios de sedimentación donde se hace un tratamiento de desinfección previo. Una tercera alternativa viable, sobre todo en las instalaciones donde las cantidades de agua requeridas no son demasiado grandes, es la de utilizar agua de pozos profundos. Las principales ventajas de estas aguas son su excelente condición sanitaria, ya que al venir filtradas por el subsuelo no presentan mayor problema en lo referente a organismos patógenos, y la estabilidad en cuanto a sus parámetros fisicoquímicos que casi siempre permanecen constantes. Entre sus desventajas están las de presentar bajos niveles de oxígeno, lo cual acarrea costos adicionales de aireación, y la posibilidad de que contengan gases o metales indeseables como el metano, el ácido sulfídrico, hierro, aluminio, magnesio, etc. A continuación se presentan los valores recomendados para los principales parámetros fisicoquímicos del agua marina en los laboratorios de reproducción de peces marinos (Tabla 2):

Salvo en los casos en que se disponga de agua puramente oceánica, se recomienda bombear el agua a un reservorio de tamaño adecuado (ej. el volumen que se consumirá en uno o dos días) para proceder a su desinfección con hipoclorito de sodio (lejía) al 10% en cantidad de 20 ppm. Después de unas 3-4 horas se debe neutralizar el cloro utilizando tiosulfato de sodio hasta que el indicador de ortotoluidina no marque ninguna traza de amarillo. Se deja reposar o decantar el agua de un día para otro y se bombea a través de filtros de arena de 80µm y de filtros de carcaza de 20µm, 10µm,

Tabla 2. Valores y rangos recomendados para algunos parámetros, compuestos y elementos en el agua de un laboratorio de reproducción de peces marinos de aguas tropicales (tomado y modificado de Tucker, 1998).

Parámetro, compuesto o elemento	Valores o rangos
Oxígeno	> 4 mg/l
Temperatura	< 35 °C
Salinidad	< 38 UPS
PH	7.0-8.5
Dureza total	400-6500 mg/l
Alcalinidad	> 125 mg/l
NH ₄ -N = TAN	0.01 mg/l (L); 0.05 mg/l (F)
NH ₃ -N	0.001 mg/l (L); 0.005 mg/l (F)
NO ₂ ⁻	< 0.1 mg/l (L); < 1.0 mg/l (F)
NO ₃ ⁻	< 20.0 mg/l (L); < 50.0 mg/l (F)
CO ₂ ⁻	< 8.0 mg/l
H ₂ S	< 0.5 mg/l
CPO's (Chlorine-produced oxidants)	0 mg/l (L); < 0.001 mg/l (F)
OPO's (Ozone-produced oxidants)	0 mg/l (L); < 0.002 mg/l (F)
C _u total	< 0.02 mg/l (L); < 0.003 mg/l (F)
Hg total	< 0.0001 mg/l
P _b total	< 0.004 mg/l
Z _n total	< 0.025 mg/l
F _e total	< 0.1 mg/l
Diquat (H)*	0 µg/l
Paraquat (H)*	0 µg/l
Aldrin (I)**	0 µg/l
DDT (I)**	0 µg/l
Lindane (I)**	0 µg/l
Malathion (I)**	0 µg/l
Parathion (I)**	0 µg/l
Detergentes químicos (LAS)	0 µg/l

(L) = para larvas

(F) = para peces

(H) = herbicida

(I) = insecticida

5µm y 1µm, pasándola luego por un esterilizador UV para completar la eliminación de la posible carga bacteriana y viral que estuviera presente. En la medida de lo posible se deberían utilizar los sistemas de agua en recirculación, con los cuales se disminuye el gasto de agua y de desinfectantes y el riesgo de introducir patógenos a la instalación; al mismo tiempo estos resultan más sostenibles desde el punto de vista ambiental debido a los escasos volúmenes de aguas servidas que se descartan hacia los efluentes. En caso de utilizarse esta alternativa es necesario controlar el contenido de amonio tóxico en el sistema (más peligroso en agua salada que en agua dulce) utilizando sistemas de biofiltración. Una vez el biofiltro esté trabajando adecuadamente el pH del sistema se debe mantener entre 7.5 y 8.0 corrigiendo mediante la adición de bicarbonato de sodio. Los niveles de nitratos (NO₃⁻) en el agua no deben sobrepasar los niveles recomendados (Tabla 2). De lo contrario se debe proceder a recambiar parte del agua del sistema por agua nueva hasta restituir los valores recomendados. A continuación se presentan algu-

nos conceptos básicos para el manejo del amonio en los tanques de cultivo (Tabla 3):

TAN = NH₄-N = Nitrógeno amoniacal total

NH₃-N = Amonio no ionizado (altamente tóxico)

NH₃ -N = (a) (TAN)

(a) = Fracción molar de amonio no ionizado

De la tabla anterior se desprende que mientras mayores sean la temperatura y el pH, mayor será la fracción tóxica del amonio total presente en el agua.

Illuminación

En acuicultura marina los huevos y las larvas son puestos en tanques relativamente pequeños y pandos, de tal manera que quedan necesariamente cerca de la superficie y de las lámparas de iluminación, lo cual conlleva un riesgo de que sean quemadas por los rayos ultravioleta (UV) o infrarrojos (IR) del espectro propio de las lámparas. Las lámparas incandescentes con la totalidad

Tabla 3. Fracción molar (a) de amonio no ionizado (NH₃ -N) para salinidades entre 5 y 40 UPS en función del pH y de la temperatura (adaptado de Parsons et al., 1989).

Temperatura (°C)	pH							
	7.0	7.8	7.9	8.0	8.1	8.2	8.3	9.0
5	0.0007	0.0043	0.0054	0.0068	0.0085	0.0107	0.0135	0.0641
10	0.0010	0.0064	0.0081	0.0101	0.0127	0.0160	0.0200	0.0928
20	0.0022	0.0136	0.0171	0.0215	0.0269	0.0336	0.0419	0.1798
25	0.0031	0.0195	0.0244	0.0305	0.0381	0.0475	0.0591	0.2394
30	0.0044	0.0274	0.0343	0.0428	0.0532	0.0661	0.0818	0.3088
35	0.0062	0.0381	0.0475	0.0591	0.0733	0.0905	0.1114	0.3858
40	0.0086	0.0521	0.0647	0.0801	0.0988	0.1213	0.1481	0.4665

del espectro pueden ser dañinas para los huevos y estadios larvarios tempranos si no se ponen por lo menos a 2-3 m de la superficie o se les ponen filtros para los UV e IR. Gran parte de las lámparas fluorescentes comerciales resultan más apropiadas para los tanques de larvicultura. La unidad más usada para expresar la intensidad de iluminación en acuicultura es el lux (1 lux = 1 lumen/m²). A modo de ejemplo, la intensidad de la luz solar sobre la superficie del mar a medio día en el trópico es de unos 130.000 lux. Sin embargo las nubes pueden disminuir este registro fácilmente en más de un 90%.

Hasta antes de la alimentación inicial, los huevos y larvas de la mayoría de los peces marinos deben mantenerse a la sombra para impedir los daños de las radiaciones luminosas. La siembra de larvas recién eclosionadas en tanques exteriores debe hacerse temprano en la noche antes de que los ojos se pigmenten. Así las larvas pueden responder mejor a la luz a la mañana siguiente. Después de que los ojos se hayan pigmentado, la luz demasiado intensa repelerá las larvas. A medida que estas crecen empiezan a migrar verticalmente buscando su nivel preferido de iluminación que generalmente está asociado al de sus presas. Se han criado exitosamente larvas de peces marinos entre 1-11000 lux y microalgas entre 500-10000 lux. Hasta cierto punto el incrementar la iluminación aumenta la actividad y eficiencia en la alimentación de las larvas, pero demasiada luz las estresará y hará que se sitúen cerca del fondo y dejen de alimentarse. En general las larvas recién eclosionadas requieren de al menos 10 lux para empezar a alimentarse. En muchas especies las larvas se ponen inactivas a demasiada baja intensidad de luz dejando de alimentarse. Watanabe

y Kiron (1995) recomiendan intensidades entre 1000-3000 lux (máximo 5000 lux) para especies marinas tropicales y para la red sea bream.

La luz en el galpón donde están los tanques debe estar uniformemente distribuida para evitar comportamientos anormales en la distribución de las larvas.

Tanques y accesorios

La mayoría de las larvas de los peces marinos es atraída hacia las áreas más brillantes de los tanques (fondos o paredes blancas; zonas cercanas a los reflectores de luz artificial), lo cual ocurre también con casi todas las presas zooplanctónicas tradicionales. Este simple fenómeno puede causar mortalidades masivas en las larvas de cultivo debido a razones tales como una excesiva densidad de carga focalizada en un mismo sitio, abrasión de las larvas contra las paredes del tanque, atrapamiento de las larvas en la película oleaginosa de la superficie del agua, puntos muertos de oxígeno producidos por la superpoblación de larvas y presas en el mismo sitio, inanición de las larvas por un rápido consumo de la totalidad del alimento vivo. Las paredes interiores de los tanques de larvas deben ser oscuras, preferiblemente negras, y en tonalidades mate que no produzcan reflejos de luz. Esto, además de permitir que las larvas se distribuyan uniformemente por todo el tanque, permite que las mismas puedan ver mejor a sus presas debido a un buen contraste. Generalmente se usa que el color del fondo de los tanques sea blanco mate, no porque esto sea más cómodo para las larvas sino para poder verlas, lo cual sería muy difícil sobre colores oscuros. Los tubos y estructuras internas en los tanques también deben ser de

colores oscuros y mate a fin de evitar la atracción de las larvas y los reflejos de luz.

El material más práctico para los tanques en todo el laboratorio es la fibra de vidrio, ya que esta es higiénica, resistente, liviana y fácil de reparar, y la forma preferida en general es la circular. Los tamaños más usuales oscilan entre 10-40 m³ para almacenamiento de reproductores, 2-3 m³ para desoves y cría larvaria y 200-500 L para recolección de huevos e incubación.

Sobre el manejo de reproductores, huevos y larvas

Consecución de reproductores

Aunque existen muchos métodos de captura para los reproductores como las nasas, redes, boliches y trampas de diferentes tipos, tal vez el método más apropiado y de menor daño para los peces es el de las líneas de mano con anzuelos. Muchas especies al verse encerradas por unas horas dentro de las nasas se estropean la piel contra las mallas y marcos de las mismas hasta el punto en que a veces mueren. Por su parte, las redes como los chinchorros, boliches, atarrayas, etc. causan excoりaciones en la piel que generalmente dan como resultado un reproductor en muy malas condiciones que puede ser difícil de recuperar. La pesca se hace con líneas de mano y anzuelos a los cuales se les quita la barbi-lla de la punta, utilizando pescado fresco y calamar como carnada. Los peces que se capturan a más de 20 m de profundidad y son subidos rápidamente a la superficie pueden presentar barotraumas ocasionados por la súbita disminución de la presión (Fig. 1). Con el objeto de salvarlos, estos deben ser “des-inflados” mediante la punción de la vejiga natatoria

con una aguja hipodérmica 21G x 1½” hasta que se equilibren las presiones (Fig. 2). Luego son inyectados con 25 mg/kg de oxitetraciclina intraperitoneal para evitar infecciones, de acuerdo con la metodología reportada por Benetti y Alarcón (2000). En el momento de la captura se determina el sexo de los peces mediante la toma de una biopsia gonadal con una cánula de polietileno de 0.86 mm de diámetro interno y 1.5 mm de diámetro externo y se procede a marcarlos con placas numeradas para su posterior identificación. Se seleccionan preferiblemente solo los ejemplares adultos y maduros (listos para su reproducción), los cuales se transportan al laboratorio para hacerles curaciones, profilaxis e inducción hormonal de su maduración final y desove.

Mantenimiento y manejo de reproductores

Existen dos estrategias diferentes para buscar la maduración y el desove de los reproductores capturados:



Figura. 1. Barotrauma producido por la súbita reducción de la presión en un reproductor de pargo *Lutjanus* sp. recién capturado a 40 m de profundidad.



Figura 2. Punción de la vejiga natatoria para equilibrar la presión interna y poder salvar el reproductor, cuando se captura a más de 20 m de profundidad.

- a) Si se logran conseguir reproductores maduros, justo en su época de desove, estos se transportan inmediatamente al laboratorio y antes de uno o dos días se inyectan con hormonas para la inducción del desove. Si se proveen las condiciones apropiadas, al cabo de unas horas debe haberse obtenido el desove, después del cual los reproductores se almacenan para una próxima temporada.
- b) Si no es posible capturar reproductores maduros, los preadultos o adultos capturados son llevados al laboratorio, curados, cuarentenados y preparados durante varios días o meses hasta lograr su maduración y desove. Sin embargo, tal como lo documentan Carragher y Pankhurst (1993), Campbell *et al.* (1994) y Cleary y Pankhurst. (2000), el estrés ocasionado por la captura, cuarentena y confinamiento genera altos niveles de cortisol y bajas concentraciones de esteroides sexuales en el plasma sanguíneo de los peces, lo cual ocasiona que se suspenda y/o retroceda (regresión) el estado de madurez que los mismos pudieran tener en el momento de su captura, perdiéndose así el ciclo reproductivo que estaba en progreso.

En caso de optarse por la estrategia b), es necesario reiniciar el ciclo de maduración sexual de

los reproductores proporcionándoles en su cautiverio condiciones de bajo estrés, buena nutrición y parámetros ambientales adecuados. Esto puede hacerse mediante el control y manipulación de la temperatura, salinidad y fotoperíodo, lo que también se conoce como la aplicación de un “período de acondicionamiento”. Esta última tecnología es cada vez más utilizada, ya que además de ser de “ciclo cerrado” cumple con importantes requisitos desde el punto de vista de la sostenibilidad y bioseguridad.

Períodos de acondicionamiento

Botero y Castaño (en prensa) y Castaño y Botero (en prensa) diseñaron y aplicaron con éxito un período de acondicionamiento que permitió desbloquear el ciclo de maduración sexual de reproductores de pargo palmero *Lutjanus analis* en el laboratorio de CENIACUA en Punta Canoa (Bolívar, Colombia). Establecieron un ciclo de 9 meses, teniendo en cuenta el modelo propuesto por Arnold *et al.* (1978), donde se comprimió a 9 meses el ciclo sexual anual de *Lutjanus campechanus*, manipulando el fotoperíodo y la temperatura, de acuerdo con el régimen climático de zonas subtropicales. Para adaptar el modelo a las condiciones tropicales del Caribe colombiano el ciclo se empezó a aplicar a partir del mes de septiembre de 2002, teniendo en cuenta los valores de temperatura, salinidad y época climática que rigen los mayores picos de reproducción para *Lutjanus analis* en el litoral Caribe (Arévalo, 1996; Rodríguez *et al.*, 1999 y Sandoval, 1999). Los parámetros fisicoquímicos utilizados en el ciclo de acondicionamiento fueron los siguientes (Tabla 4):

Tabla 4. Parámetros de un período de acondicionamiento de 9 meses, aplicado por Botero y Castaño (en prensa) a un lote de reproductores de pargo palmero *Lutjanus analis* en el Laboratorio de CENIACUA en Punta Canoa, Caribe colombiano:

Mes/año	Temperatura (°C)	Salinidad (UPS)	Fotoperíodo (horas luz/oscuridad)	Obtención de desoves
10/02	26	37.5	13-11	
11/02	25	37.5	12-12	
12/02	24	37.5	12-12	
01/03	23	37.0	11-13	
02/03	23	37.0	11-13	
03/03	23	37.0	11-13	
04/03	26	35.0	13-11	
05/03	27	35.0	13-11	
06/03	28	36.0	13-11	XXXXX

Los reproductores se pueden tener bajo techo en tanques de fibra de vidrio de 6-10 m³ (Fig. 3) a una densidad de entre 0.5-1.5 kg/m³, valores bajos que favorecen el confort y bajo estrés de los peces durante el confinamiento. Para promover la madurez gonadal se puede suministrar una dieta rica en proteína como lo sugiere Turano *et al.* (2000), compuesta por calamar, camarón, pescado fresco y premezcla de minerales y vitaminas, administrada día de por medio a razón del 4% del peso corporal de los individuos. Los parámetros fisicoquímicos de temperatura, pH, oxígeno y salinidad en los tanques deben ser medidos diariamente por la mañana y tarde para llevar un control estricto sobre estas variables. Así mismo, semanalmente se deben medir las concentraciones del amonio total, las cuales se compaginan con los valores de temperatura y pH para determinar la fracción presente de amonio no ionizado, el cual es altamente tóxico para los peces marinos e indeseable en el sistema.



Figura 3. Tanques de fibra de vidrio de 10 toneladas, con control de temperatura y luminosidad, para el almacenamiento de los reproductores y obtención de los desoves.

Muestreo de los reproductores

En el caso en que los reproductores se estén manejando bajo la estrategia de un período de acondicionamiento, estos se deben muestrear una vez mensualmente durante el ciclo. Para su manipuleo, los peces se pueden anestésiar con 2-fenoxi-etanol a una concentración de 150 ppm, tal como lo recomiendan Benetti y Alarcón

(2000). La evaluación del progreso gonadal en machos se realiza mediante masaje corporal y biopsia testicular y en hembras mediante biopsias ováricas con cánulas de polietileno de 1.52 mm de diámetro externo y 0.86 mm de diámetro interno (Fig. 4), insertadas de 3 a 5 cm en el oviducto (Chaparro, 1994 y Watanabe *et al.*, 1998). Las muestras de las biopsias son obtenidas mediante succión bucal y conservada en formalina al 1% en solución salina de NaCl. Por lo menos deben ser medidos 100 ovocitos con ayuda de un microscopio con ocular micrométrico de más o menos 50 micrómetros de precisión (Watanabe *et al.*, 1998). Para la clasificación de los ovocitos se puede seguir la escala de Hunter y Macewicz (1985) para peces de desove múltiple (Tabla 5). Es posible que algunos peces logren su punto óptimo de madurez (Fig. 5) en días intermedios entre muestreo y muestreo, por lo cual es conveniente utilizar una cámara de video para la observación de posibles comportamientos de cortejo.

Toma y análisis de muestras de calcio y esteroides en el plasma sanguíneo

En casos especiales donde es difícil valorar el avance o evolución del período de acondicionamiento, se puede acudir a las técnicas de detección de calcio y esteroides en el plasma sanguíneo de los mismos (Castaño y Botero, en prensa). Para la elaboración de una escala de referencia para calcio y esteroides sexuales en el plasma se toman muestras de sangre mensual o bimensualmente mediante punción en el seno caudal, con jeringas hipodérmicas y agujas 22G (Pankhurst *et al.*, 1996). Una vez tomadas las muestras estas son refrigeradas en hielo mientras son llevadas al laboratorio para su centrifugación a 18.000 X g durante 3 minutos, para posteriormente ser preser-



Figura 4. Procedimiento de canulación de una hembra para realizar biopsia ovárica a fin de chequear su estado de madurez sexual.



Figura 5. Biopsia ovárica con la mayor parte de los ovocitos en estado IV – V de madurez, aptos para la inducción al desove por medios hormonales.

vadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Pankhurst y Thomas, 1998). Los niveles de Ca en el plasma sanguíneo son cuantificados mediante espectrofotómetro, de acuerdo con el protocolo consignado para el kit Arsenazo III (Sigma, procedimiento # 588) (Björnsson *et al.*, 1998). Los esteroides sexuales T y E_2 se cuantifican por el método de RIA's (Radioinmunoensayo), de acuerdo con el protocolo propuesto por Pankhurst y Carragher (1992).

Valores de referencia de concentraciones de Ca, T y E_2 para ejemplares inmaduros y maduros de par-go palmero (*Lutjanus analis*) pueden consultarse en Castaño y Botero (en prensa).

Tabla 5: Escala de Hunter y Macewicz (1985) para establecer el grado de desarrollo de los ovocitos en especies de peces de desove múltiple.

Estado y denominación	Diámetro y apariencia externa	Características histológicas
I Ovocitos previtelogénicos	0.15-0.25 mm, ovocitos muy pequeños, amorfos, rectangulares, triangulares	Ovocitos polimórficos, núcleo grande, tiñe de azul con numerosos nucleolos, poco citoplasma basófilo, capa hialina que tiñe de rojo
II Inicio de vitelo	Capa de vitelo en la periferia del ovocito aparece como una banda oscura que no se extiende más del 20% en dirección al núcleo	Empieza el depósito de vitelo, la periferia del ovocito tiñe de rojo, nucleolos en la periferia del núcleo, la membrana hialina se empieza a estriar formando las capas foliculares
III Ligeramente vitelado	La capa de vitelo se extiende desde la periferia hasta el núcleo dejando libre la zona nuclear	Son más grandes que la anterior, el vitelo ya cubre más del 50% del citoplasma, el núcleo tiñe de azul suave
IV Densamente vitelado (AYOS)	Vitelo denso, oscuro y glóbulos compactos que ocultan el núcleo	Gránulos de vitelo en todo el citoplasma, núcleo ovalado y central, nucleolos pequeños, zona radiada más ancha
V Ovocito hidratado	Más grandes, apariencia arrugada cuando se guardan en formol, son translúcidos, no se ve el núcleo, el corion se ve suelto y el vitelo es opaco y blancuzco	Se observa la migración del núcleo o la desaparición del mismo, el vitelo forma placas, la zona radiada se ve delgada y sin estrías

Inducción hormonal y obtención de los desoves

Ya sea que se opte por la estrategia de captura de reproductores maduros (a) o por la de someter los preadultos o adultos inmaduros a un período de acondicionamiento previo (b), cuando se tengan hembras con ovocitos en etapa avanzada de maduración (mínimo grado III en la escala de Hunter y Macewicz (Tabla 5), estas son seleccionadas y transferidas a tanques interiores de desove de 2-3 m³ de capacidad, cada una en compañía de al menos 2 machos también maduros (espermiantes bajo ligera presión abdominal). Estos “tríos” pueden ser inducidos al desove por varios métodos, pero aquí relacionaremos solo dos, uno **agudo** y otro **lento o crónico**, que han dado al autor resultados satisfactorios con las especies de pargos palmero (*Lutjanus analis*) y lunarejo (*Lutjanus guttatus*) del Caribe y Pacífico colombianos, respectivamente:

- **Por el método agudo:**

Si la hembra seleccionada tiene ovocitos con núcleo en posición periférica o migrando (grados IV o V, Tabla 5), se inyecta con 1000 UI de Prymogonil® (HCG) en el muñón de una de las aletas pectorales y se pone en un tanque de desove, preferiblemente de 2 a 3 m³, con dos o tres machos maduros, a cada uno de los cuales se le ha inyectado 500 UI de la misma HCG. Se pone aireación suave. El desove y fecundación de los huevos (que para la mayoría de las especies de peces marinos cultivados son flotantes) debe ocurrir en unas 24 horas, más o menos según el estado de avance de la madurez sexual de la hembra. A veces este puede demorarse hasta 36 horas. Si se trabaja con una hembra cuyos huevos están bien vitelados pero el núcleo todavía no ha empezado a migrar (posición central), se pueden utilizar para la hembra dos inyecciones de hormona; la primera dosis puede ser de 500 UI de HCG y la segunda de

1000 UI a las 24 horas. En este caso a los machos sólo se les pone una dosis de 500 UI en el momento de la segunda dosis de la hembra. Si se trata del caso en que la hembra está totalmente madura y a punto de desove y sus huevos salen al hacerle presión en la parte baja de los flancos y vientre, no se necesita inyección hormonal. Se extraen manualmente los huevos de la hembra con ligera presión, para lo cual hay que primero secarla bien, y se ponen en una coca panda bien seca. Se agrega el semen de dos o tres machos, también secándolos, y se mezclan los productos con la ayuda de una pluma o similar. Entonces se agrega agua de mar limpia, se revuelve suavemente y se espera por unos dos o tres minutos hasta que se haya completado la fecundación. Los huevos se lavan en un concentrador con malla menor de 500 μm para ser luego introducidos en la incubadora. Para el caso del desove inducido (dos primeros casos descritos anteriormente), los huevos se recolectan dejando que el tanque de desove rebose a un concentrador o colector con malla suave de menos de 500 μm que debe estar dentro de otro recipiente más grande para evitar el maltrato de los huevos. Se hace el mismo lavado en concentrador con malla menor de 500 μm que se anotó anteriormente y se ponen en la incubadora.

- **Por el método lento o crónico:**

En caso de que el estado de madurez de las hembras y machos no esté muy avanzado, sino que apenas llegue a grado III (Tabla 5), se puede entonces optar por este método que consiste en implantar tanto hembras como machos con una dosis de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de LHRHa (OVAPLANT®) (Fig. 6). Esta hormona viene embebida en pellets de colesterol que permiten su liberación y asimilación

lenta por parte del reproductor implantado. Los implantes son aplicados intramuscularmente con una pistola especial a una profundidad de 2-3 cm y por debajo de la segunda aleta dorsal. Con este método, partiendo de reproductores en grado III, puede esperarse una maduración total de los reproductores en 30-60 días después de aplicados los implantes. A partir de ese momento se siguen los mismos procedimientos explicados antes para el método agudo.

Figura 6. Procedimiento de implantación de pellets de colesterol con la hormona LHRHa (Ova-plant®) en un reproductor de pargo.

Fertilización, incubación y eclosión

Mientras se espera el desove, los parámetros físico-químicos del agua en los tanques deben mantenerse estables dentro de los siguientes rangos: temperatura 26-28 °C; salinidad 35-36 UPS; oxígeno > 6.0 ppm; pH 7.3-8.0; amonio < 0.3 ppm. Cada uno de los tanques de desove será equipado con un colector de huevos para recoger los huevos fertilizados, que en este caso son flotantes. Una vez que los huevos son puestos en la incubadora, que normalmente es un tanque de fondo cónico con volumen entre 200 y 500 L, se le imparte un ligero movimiento circular al agua con un palín o recipiente y se deja reposar durante unos 20 minutos. Los huevos muertos se concentran en el fondo hacia el centro, desde donde pueden ser drenados o sifoneados, mientras que los huevos fértiles (Fig. 7) permanecerán flotando. Se debe poner aireación suficiente como para mantener los huevos en movimiento pero en forma suave para no estropearlos. Se utiliza agua bien filtrada pero no se requiere flujo constante. El agua a utilizar puede

almacenarse previamente en un tanque grande (5-10 ton) y tratarse con 5 ppm de EDTA y 0.05 ppm de Treflán®. Durante el proceso de incubación, que a temperatura media de 28 °C debe durar unas 18 horas hasta la eclosión (para los pargos palmero y lunarejo) se debe recambiar un 50% del agua en las incubadoras al cabo de unas 6 horas y luego el otro 50% a las otras 6 horas. No se deben manipular los huevos hasta que estos estén embrionados (Fig. 8), poco antes de la eclosión, cuando son más resistentes y pueden ser trasladados a los tanques de larvicultura que son más grandes (2 a

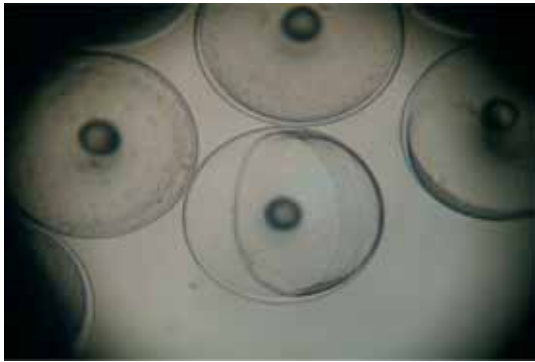


Figura 7. Huevos de pargo palmero (*Lutjanus analis*) recién fertilizados obtenidos en el laboratorio por medio de inducción hormonal.



Figura 8. Huevo embrionado de pargo palmero; en este estado puede ser trasladado a otros tanques para su incubación y posterior larvicultura.

3 ton). Inclusive, este traslado puede hacerse durante las primeras horas en que los huevos estén eclosionando, para que esta eclosión termine en el tanque de larvicultura. No tratar de transferir larvas que lleven ya varias horas de eclosionadas a otros tanques porque son extremadamente delicadas. La aireación debe reducirse al mínimo a partir de este momento.

Como punto de referencia, el momento de la eclosión se llama “0 dah” que quiere decir “0 days after hatching” y esta nomenclatura se usará así de aquí en adelante. Al principio no se necesita flujo continuo de agua sino un drenaje de las larvas muertas y un pequeño recambio de algo así como el 20% diario, cuidando que las larvas no se queden pegadas a las paredes del tanque.

Larvicultura

Aunque existen muchas variantes y posibilidades para realizar la larvicultura en peces marinos, en este numeral describiremos en primera instancia un método tradicionalmente utilizado en occidente, llamado del “agua clara”, y posteriormente otro método, llamado de “agua verde” o de “mesocosmos”, que ha sido preferido por muchos años en el continente asiático y que está cobrando cada vez más auge en nuestra región por la calidad de las larvas que produce. También se describen los métodos de producción de cada uno de los organismos vivos constituyentes del alimento en los dos métodos.

a) Método tradicional de “agua clara”:

Durante los 1 y 2 dah las larvas se alimentan de su saco vitelino y gota de aceite (Fig. 9) y sólo

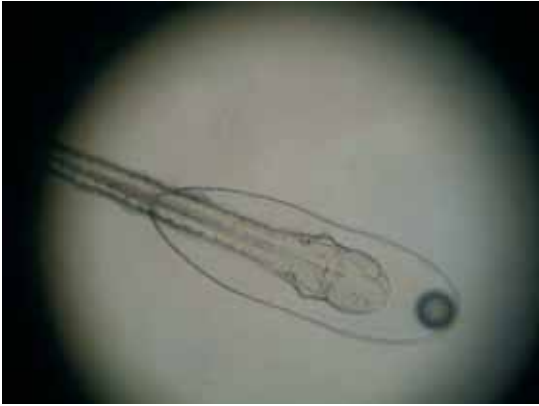


Figura 9 Larva de pargo palmero recién eclosionada, mostrando el saco vitelino y la gota de aceite.

se requiere tener la aireación al mínimo, drenar las larvas muertas y hacer el recambio del 20% diario.

A partir del 3 dah se debe hacer el recambio diario usando agua verde, preferiblemente con las microalgas *Tetraselmis* sp., *Isochrysis* sp., *Nannochloropsis* sp. o *Dunaliella* sp., o mejor con una mezcla de ellas, hasta que el agua tome y recupere un color verde claro. Al agua verde se le puede agregar EDTA pero no Treflán®. Se puede agregar además un poco de *Spirulina* sp. disuelta y filtrada por malla de 100 µm para enriquecer más el agua verde. También se deben empezar a agregar rotíferos (*Brachionus rotundiformis*) de cepa “SS” (*super small*), enriquecidos con algún producto comercial como el Selco® para rotíferos de INVE, según las instrucciones que vienen en el paquete. Después del enriquecimiento y antes de agregarlos al tanque de larvicultura, los rotíferos deben ser filtrados primero por malla de 200 µm para quitarles la mugre grande, reteniéndolos en un cedazo o capuchón con malla de 40 µm. Se debe tratar de mantener siempre una densidad mínima de 10 rotíferos/mL en el tanque de larvicultura.

A partir de este día se deben poner a operar los desnatadores sobre la superficie del tanque de larvicultura. Para no usar antibióticos fuertes se puede utilizar una dosis diaria de 3 gr/ton de extracto de ajo filtrado por malla de 100 µm.

A una temperatura media de 28 °C, al cabo de los 2 ½ dah se empieza a ver la boca de las larvas (aún no abierta) y los ojos se empiezan a ennegrecer (pronto serán funcionales) (Fig 10). A partir del 3 dah las larvas empiezan a comer y de aquí al 14 dah es indispensable continuar con la rutina diaria de reposición de agua verde y de rotíferos, utilizando un frasco lavador para evitar que las larvas se peguen a las paredes.

Durante los 8 y 9 dah las larvas deben inflar su vejiga natatoria y se irán más al fondo de la columna de agua, siendo más difícil verlas. Hay que tener especial cuidado al sifonear la mugre, para lo cual se puede usar un pequeño tambor con malla de 400 µm en el extremo inicial del tubo de sifoneo.

A partir del 14 dah se deben agregar adicionalmente nauplios enriquecidos de *Artemia* sp., dis-



Figura 10. Larva de pargo palmero en 4dah, cuando abre la boca y empieza a depender del alimento exógeno.

minuyendo paulatinamente la dosis de rotíferos. Se debe mantener una densidad media de 5 nauplios de *Artemia*/mL.

Después del 18 dah ya no se agregan más rotíferos y la dieta se substituye exclusivamente por estadios más avanzados de *Artemia sp.*, hasta que hacia el 30 dah se empieza el “destete” o proceso de acostumbrar las larvas al consumo de alimento artificial. Se pueden utilizar microencapsulados comerciales como por ejemplo los de INVE® o de ZEIGLER®. Empezar con alimento de 100-150 μm e ir aumentando el tamaño paulatinamente, hasta que hacia el 38 dah se deben estar utilizando partículas de unas 400-500 μm .

Hacia el 38 dah ya deben estar formados los alevinos (Fig. 11), de más o menos 2 cm de longitud y 0.5 gr de peso, comiendo concentrado y listos para pasar a la etapa de “nursery” o cría. Al cabo de unos 30 días de “nursery” los alevinos tendrán un peso de unos 3-5 gr y una longitud de 3-4 cm y estarán listos para ser trasladados a las jaulas o estanques de “engorde”. Estas últimas dos etapas de cultivo están por fuera del ámbito del presente capítulo, por lo cual no se presenta información sobre las mismas; sin embargo, se puede encontrar información detallada al respecto en Bromage y Roberts (1995), Tucker (1998) y Álvarez-Lajonchère y Hernández (2001).

b) Método del “mesocosmos”:

Aunque tradicionalmente en latitudes subtropicales a las larvas de los peces marinos se les da de comer inicialmente rotíferos (*Brachionus rotundiformis*) de tamaño pequeño (cepa SS, 100-240 μm), generalmente estos resultan demasiado



Figura 11. Larva pasando por el estado de flexión, después del cual se transformará en un alevino listo para su cultivo en jaulas y estanques.

grandes para la apertura bucal de la mayoría de las larvas tropicales (unas 100 μm). Esto dificulta su captura e ingestión por parte de las larvas, haciendo que mueran pronto por inanición. Adicionalmente, los rotíferos no reúnen muchos de los requerimientos alimenticios esenciales de las larvas de los peces marinos tropicales, especialmente los relacionados con las grasas, por lo cual deben ser enriquecidos (los rotíferos) previamente con costosas emulsiones de ácidos grasos polinsaturados (HUFA) antes de ser entregados a las larvas, presentándose en todo caso una alta mortalidad de las mismas. Los factores antes mencionados son quizás los principales responsables de que en la larvicultura de los peces marinos tropicales las supervivencias obtenidas sean tan bajas, superando escasamente el 15% en casos como el de la Dorada (*Sparus aurata*) y la Lubina (*Dicentrarchus labrax*), especies en las cuales se viene trabajando en Europa desde hace más de 30 años con un alto grado de tecnificación (Nash y Novotny, 1995). Para el caso de los Pargos (Familia Lutjanidae) las pocas experiencias adelantadas reportan supervivencias que van desde 0% en la mayoría de

los casos hasta un 12.5% en casos excepcionales como el reportado por Ogle y Lotz (2000).

Para dar solución a los problemas planteados anteriormente, durante la alimentación inicial se requiere proporcionar a las larvas presas suficientemente pequeñas y nutritivas que garanticen mayor calidad y porcentaje de supervivencia, hasta llegar al estado de alevinos. Actualmente se trabaja intensamente en la estandarización de técnicas para la propagación artificial y masiva de copépodos (de varias especies) y para el establecimiento de sistemas de “mesocosmos” o combinación mixta de copépodos, rotíferos, microalgas y otros microorganismos (Fig. 12), los cuales, a pesar de no ser fáciles de manejar, parecen ser excelentes alternativas para incrementar la calidad y supervivencia de las larvas, dado que proporcionan a estas gran cantidad y variedad de presas pequeñas (nauplios) de excelente perfil bromatológico en cuanto al contenido de HUFA y aminoácidos (Lavens y Sorgeloos, 1996).

Para la larvicultura por el método del “mesocosmos” el agua bombeada directamente del mar es



Figura 12. Mesocosmos o alimento vivo para las larvas de peces marinos, compuesto por microalgas, rotíferos y copépodos.

recolectada en un tanque reservorio de concreto de gran capacidad (50 m³ o más), desinfectada con hipoclorito de sodio o de calcio a una concentración 20 ppm de ingrediente activo y neutralizada 24 h después con tiosulfato de sodio (Schipp *et al.*, 1999). Antes de entrar a los tanques de eclosión y larvicultura, el agua del reservorio es pasada por una batería de filtros de cartucho de 10µm, 5µm y 1µm y lámparas UV para completar el protocolo de limpieza. Como acondicionador inicial del agua en los tanques de eclosión y larvicultura, y como sustento alimenticio para el zooplancton, se adicionan en estos tanques diariamente las microalgas *Nannochloropsis* sp. e *Isochrysis* sp. en una proporción de 75% de la primera y 25% de la segunda, hasta alcanzar densidades de 1x10⁶ cel/mL y 4x10⁴ cel/mL respectivamente (Álvarez-Lajonchère y Hernández, 2001). Tres días antes de transferir los huevos embrionados de la incubadora a los tanques de eclosión y larvicultura, estos últimos se inoculan con fito y zooplancton proveniente de los tanques de mesocosmos hasta lograr una densidad de 0,5 a 1 copépodo/mL (Toledo *et al.*, 1999).

Una vez que los huevos embrionados han sido transferidos a los tanques de larvicultura, el agua en los mismos (a la cual se le ha agregado fitoplancton y zooplancton del mesocosmos como se describió anteriormente) se mantiene sin recambio durante 5 a 6 horas, hasta el momento de la eclosión. Durante este tiempo se provee una aireación suave y constante para mantener los embriones en suspensión. Después de la eclosión es necesario suspender durante unos 20 min la aireación a fin de que las cáscaras de los huevos y las larvas muertas se sedimenten y puedan ser descartadas por sifoneo con una manguera de polietileno de

$\frac{3}{4}$ " de diámetro. Se reanuda la aireación y de allí en adelante, para evitar la acumulación de sedimentos en el fondo, se siguen haciendo sifoneos diarios. En cada uno de los tanques se instala un desnatador o "skimmer" para limpiar (2 veces al día) la superficie del agua de la película de aceite producida por las larvas y el alimento vivo suministrado.

Durante los primeros diez (10) días de larvicultura se agrega diariamente en los tanques suficiente fitoplancton y zooplancton proveniente de los tanques de mesocosmos. En los tanques de larvicultura se debe mantener como mínimo una concentración de 1 copépodo y 1 rotífero/mL y una coloración marrón en tonalidad media que indique suficiente presencia de algas para mantener el sistema. A partir del 10 dah la alimentación y manejo diario de las larvas, así como el control del suministro de alimento para el zooplancton en el mesocosmos, se hace de acuerdo con las metodologías presentadas en Toledo *et al.* (1999) y en los protocolos Nos. 31 y 32 consignados en Álvarez-Lajonchère y Hernández (2001).

La temperatura y el oxígeno disuelto se miden dos veces al día y la salinidad y el nitrógeno amoniacal una sola vez. Los rangos que se deben mantener para garantizar la adecuada calidad del agua serán: temperatura 27–28°C; oxígeno disuelto 4-7 mg/L; salinidad 35-37 UPS, nitrógeno amoniacal 0.01-0.27 mg/L. El fotoperíodo en los tanques de larvicultura debe ser el mismo utilizado en los tanques de reproductores durante el periodo de desove. La iluminación artificial debe darse con lámparas fluorescentes de espectro completo ("Day-light"), ya que son las de mayor similitud con el espectro natural (Tucker, 1998). Los re-

cambios de agua comienzan en el 1 dah a una tasa del 10%/día y se incrementan gradualmente hasta alcanzar el 150%/día del volumen total hacia el 20 dph, o a mitad del proceso de larvicultura (Watanabe *et al.*, 1998 y Watanabe, 2001).

Al cabo del 40 dph las larvas deben haber completado toda su metamorfosis habiéndose convertido en alevinos perfectamente formados. La supervivencia de las larvas se monitorea durante los 2, 5, 7, 10, 15, 20 y 25 dph utilizando métodos volumétricos, siguiendo por ejemplo los protocolos Nos. 29 y 30 presentados en Álvarez-Lajonchère y Hernández (2001). A partir del 28 dph el número total de los alevinos producidos se determina por métodos gravimétricos, según métodos como los expuestos por Watanabe *et al.* (1998).

Producción del alimento vivo para las larvas

Como se puede ver en el numeral anterior, los organismos más utilizados como alimento vivo en la larvicultura de los peces marinos son: –a) las microalgas, b) los rotíferos, c) la *Artemia* sp. y d), los copépodos y "mesocosmos". Se puede consultar información detallada sobre los métodos de producción de cada uno de estos organismos en los trabajos de Lubzens (1987), Kraul (1989), Tucker (1992) y Lavens y Sorgeloos (1996). A continuación se presenta un resumen sencillo de estas metodologías:

Producción de microalgas

Son muchas las especies de microalgas que se producen en acuicultura para acondicionar el "agua verde" donde se criarán las larvas y para darles

de comer a los rotíferos, *Artemia* y copépodos. Sin embargo, a modo de ejemplo en este numeral describiremos un método que ha dado buenos resultados al autor para la producción de la especie *Nannochloropsis* sp., microalga verde de mucha aceptación por la mayoría del zooplancton.

Aunque la especie se puede aislar del medio natural mediante técnicas de laboratorio para iniciar su cultivo monoalgal, resulta más práctico adquirir la cepa pura en los mercados especializados o laboratorios existentes en el país. Para evitar el riesgo de perder la cepa, se mantienen dos series o “stocks” en varios tubos de ensayo, uno para iniciar los cultivos masivos y el otro sólo para garantizar la permanente disponibilidad de la cepa original. Los tubos se mantienen a una intensidad de luz de 1000 lux y a temperatura de 16-19 °C por un tiempo de un mes, cuando se hace necesario renovarlos paulatinamente. Para el cultivo masivo, el agua de mar debe ser esterilizada ya sea por medios físicos como microfiltros (1 µm), autoclaves o filtros UV, o por medios químicos como la clorinación, acidificación u ozonización. Aunque existen varios métodos para realizar el cultivo masivo, el cultivo en “baches” para cosecha diaria es el más utilizado por ser práctico y no requerir técnicas sofisticadas. El cultivo se empieza en un tubo de 20 mL diariamente hasta el día 7, cuando el primer tubo es transferido a un Erlenmeyer de 250 mL, y así sucesivamente en serie, hasta la cosecha diaria de un tanque de 1-2 m³. El medio de cultivo en todos los recipientes puede ser más o menos especializado, pero dos ejemplos prácticos son: a) sulfato de amonio 150 mg/L + urea 7.5 mg/L + superfosfato de calcio 25 mg/L; b) sulfato de amonio 100 mg/L + urea 10-15 mg/L + fertilizante N/P 16/20 10-15 mg/L. La intensidad de luz debe ser mante-

nida entre los 1000 y los 5000 lux, dependiendo del tamaño de los recipientes, y el pH entre 7 y 9. Para resultados óptimos, la temperatura debe estar entre 25 y 28 °C y la salinidad alrededor de las 25 UPS. Cada tanque de 1-2 m³ que se coseche diariamente se reparte para alimento del cultivo de rotíferos y para los tanques de cría larvaria de los peces en las densidades adecuadas.

Producción de rotíferos (*Brachionus rotundiformis*)

La cepa inicial puede ser conseguida y aislada del medio natural o comprada en laboratorios comerciales. Los rotíferos se mantienen a densidades entre 2-200/mL en tubos de 50 mL, expuestos a luz fluorescente de 3000 lux, 25 ppt de salinidad y 26-28 °C de temperatura. Los tubos se mantienen tapados, con al menos 10 mL de aire en su interior y con agitación periódica. Se alimenta cada tubo diariamente con 200 µL de concentrado de *Nannochloropsis* sp. (1x10⁸ células/mL). Cuando la densidad de los rotíferos llega a 200/mL (más o menos 1 semana) se saca la mayor parte para su cultivo masivo y el resto se mantiene en los tubos para mantenimiento del stock. El cultivo masivo se inicia en 7 Erlenmeyers de 500 mL puestos en frente de tubos fluorescentes de 5000 lux. La temperatura en los recipientes no debe sobrepasar los 30 °C. Se inoculan los rotíferos a densidad de 50/mL en 400 mL de *Nannochloropsis* sp. a densidad de 1-6x10⁶ células/mL.

Cada día se agregan 50 mL adicionales del mismo cultivo de algas. A los 3 días la densidad de rotíferos debe alcanzar 200/mL. Durante el período descrito no se suministra aireación. Alcanzada la densidad de 200-300 rotíferos/mL, los mismos

son sacados y lavados en filtro sumergido de 50 μm , para ser transferidos a una densidad de 50/mL en 7 recipientes de 15 L con 2 L de agua filtrada y aireación moderada. Diariamente se agrega *Nannochloropsis* sp. hasta 1.6×10^6 células/mL. Luego de una semana, los recipientes deben estar llenos y la densidad de rotíferos en ellos debe alcanzar al menos los 200/mL, momento en el que son transferidos a 7 tanques de 1-2 m^3 . Estos tanques se llenan a la mitad con algas a densidad de $13\text{-}14 \times 10^6$ células/mL y se inoculan con rotíferos a densidad de 100/mL. El primer día se agrega levadura 2 veces en cantidad de 0.25g/10⁶ rotíferos. El día siguiente los tanques se llenan completamente con algas en la misma proporción y se agregan 0.37g de levadura por millón de rotíferos. Al tercer día los rotíferos se dan como alimento en los tanques de cría larvaria y el ciclo continúa en la misma forma.

Producción de nauplios y adultos de *Artemia* sp.

Las latas de quistes se adquieren en el mercado y en lo posible se trabajará con quistes decapsulados. Para su decapsulación, los quistes (100g/L) se hidratan por 1 h en agua de mar con aireación a temperatura aproximada de 25 °C. Luego se tratan con una solución de hipoclorito de sodio a 0.5 g de ingrediente activo en 14 mL de agua de mar por gramo de quistes por 5-15 min., manteniendo la temperatura por debajo de los 4 °C con la ayuda de hielo o agua fría externamente. Durante este proceso los quistes se deben mantener en suspensión mediante aireación. Cuando los quistes se tornen anaranjados se ponen sobre malla de 125 μm y se lavan hasta que no se sienta olor a cloro. Se pasan por una solución de HCl 0.1 N

o de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 0.1% por menos de 1 min. para desactivar el hipoclorito y se vuelven a lavar con agua de mar abundante. Una vez decapsulados los quistes pueden usarse directamente para su eclosión o almacenarse en un refrigerador a 0-4 °C por varios días. La eclosión de los quistes se realiza en recipientes transparentes de fondo cónico con aireación para mantener el oxígeno por encima de 2 mg/L. La temperatura debe ser mantenida preferentemente entre 25-28 °C, la salinidad entre 28-38 ppt y el pH alrededor de 8. La densidad debe estar alrededor de los 2g/L y se debe proveer iluminación de unos 2000 lux en la superficie de los recipientes de eclosión. La eclosión de los quistes empezará hacia las 12-16 h de incubación y se extenderá posiblemente hasta las 24 h. Con el fin de cosechar los nauplios, se suspende la aireación. A los 5-10 min. los desechos flotarán y pueden ser removidos mientras que los nauplios y quistes sin eclosionar se mantendrán en el fondo. Por intermedio de la válvula de fondo de los recipientes o mediante sifoneo se sacan primero los quistes sin eclosionar, que pueden ser devueltos al recipiente, y luego los nauplios que se recogen en filtro sumergido de menos de 150 μm y son administrados a los tanques de cultivo larvario en la densidad apropiada tan pronto como sea posible. Cuando se necesite enriquecer los nauplios de *Artemia* sp. con HUFA (ácidos grasos altamente insaturados), inmediatamente después de su eclosión se transfieren a un tanque de enriquecimiento por 24 h a densidad de 300 nauplios/mL. El tanque contendrá agua de mar desinfectada, a una temperatura de 25 °C y con fuerte aireación, a la cual se ha agregado una emulsión comercial de HUFA en dosis consecutivas de 300 mg/L cada 12 h. A las 24 h se cosechan los nauplios enriquecidos, se lavan y se dan como alimento a las larvas de peces en los tanques de cría larvaria.

Producción de copépodos y “mesocosmos”

Los copépodos, que integran la clase más extensa de los crustáceos con más de 7.500 especies descritas, casi todas marinas, constituyen un eslabón muy importante en la cadena trófica, pues además de ser el alimento fundamental de las larvas de peces marinos y estuarinos en el medio natural, son el principal puente entre el fitoplancton y los niveles superiores de muchas de las cadenas tróficas marinas (Barnes, 1989; Hernández y Álvarez-Lajonchère, 2003).

Para estandarizar un método para la producción sostenida de copépodos y “mesocosmos” se pueden tener en cuenta las recomendaciones hechas por Støttrup (2000), Støttrup y Norsker (1997) y Hernández y Álvarez-Lajonchère (2003), así como el método descrito en Schipp *et al.* (1999), el cual se ajusta para la producción masiva de copépodos del tipo calanoide, que es el más frecuente en las aguas costeras tropicales y del Mar Caribe. Estas metodologías se pueden resumir como sigue:

La cepa madre de copépodos se colecta durante la noche en alguna laguna costera. Estos se concentran con una linterna halógena aprovechando su fototropismo positivo y son colectados con una malla de 150 μm . Se verifica en el microscopio que los copépodos capturados sean de los que sirven (calanoides) y la contaminación con otros organismos se elimina realizando un juagado de lo cosechado antes de llevarlo al laboratorio. Después de la colecta, los copépodos son tamizados para aislar la fracción de mayor tamaño que contiene predominantemente adultos y copepoditos tardíos, pasando lo colectado por una malla de 500 μm para eliminar huevos y larvas de posibles

depredadores. Lo filtrado se enjuaga durante dos horas en un “lavador de plancton”, el cual consta de una malla de 190 μm que deja pasar todos los contaminantes más pequeños, los cuales son descartados.

Para la alimentación de los copépodos y de los demás organismos del mesocosmos es necesario producir microalgas. Se utilizan las especies *Tetraselmis* sp. que es altamente móvil, lo cual ayuda a que sus células se mantengan en suspensión con poca aireación, *Isochrysis* sp. que es rica en HUFA y *Nannochloropsis* sp. que es fácil de cultivar y muy apropiada para la alimentación de los rotíferos y otros zooplanctones del mesocosmos. Las microalgas se cultivan por el sistema de “batches” a 24 °C y 26 UPS de salinidad, bajo un régimen de 14:10 horas luz/oscuridad y fertilizadas con medio “Conway” estándar. Las cepas puras se mantienen en tubos de ensayo en una cámara estéril y se siembran en Erlenmeyers de 500 mL para iniciar su propagación. Cuando las algas adquieran la concentración adecuada se pasarán a bolsas plásticas de 30 L, seguidas por recipientes de policarbonato de 250 L en un ciclo que dura unos 7 días y que se repite para cada una de las especies en recipientes adicionales. En esta forma se puede cosechar un recipiente de 250 L con una de las microalgas cada día para ser administrado como alimento para el mesocosmos.

Una semana antes del desove se toman dos tanques para “mesocosmos” de 3 m³ c/u, los cuales se llenan con agua de mar sin filtrar, fertilizándolos con fosfato de amonio (1,7 mg/L), fosfato de monopotásico (0.5 mg/L), urea (0,08 mg/L), Fe-EDTA (0.25 mg/L), mezcla de metales traza (0.017 mg/L) y se inoculan con las microalgas

hasta una concentración de 150×10^3 células/mL. Después se adicionan en los tanques los copépodos y rotíferos a una concentración de 1 ej./mL de cada uno de estos dos grupos. Al cabo de una semana, cuando se presente el desove, la concentración de copépodos en los tanques habrá llegado a unos 5 ej./mL. Diariamente se agregan suficientes algas en los tanques de mesocosmos hasta recuperar el

color marrón característico que denota la abundancia de alimento para el zooplancton presente en los mismos. El sistema de mesocosmos se maneja diariamente haciendo los ajustes necesarios a la rutina descrita, hasta el momento en que se estabilice, arrojando una producción regular y sostenida de zooplancton para ser ofrecida a las larvas de peces marinos tropicales cuando estas lo requieran.

BIBLIOGRAFÍA

- AIKEN, D., 1991. Editorial: Aquaculture and the influenza virus. *World Aquac.*, 22(1):1-2.
- ALLEN, P.G., L.W. BOTSFORD, A.M. SCHUUR Y W.E. JOHNSTON. 1984. Bioeconomics of Aquaculture. *Dev. Aquac. Fish. Sci.*, 13, 351 p.
- ÁLVAREZ-LAJONCHÉRE, L. Y O.G. HERNÁNDEZ. 2001. Producción de juveniles de peces estuarinos para un Centro en América Latina y el Caribe: diseño, operación y tecnologías. *World Aquac. Soc.*, Baton Rouge, 424 p.
- ARÉVALO, J.C. 1996. Caracterización trófica y reproductiva de las poblaciones de *Lutjanus synagris* (Linnaeus, 1758) y *Lutjanus analis* (Cuvier, 1828) en el Parque Nacional Natural Tayrona, Caribe colombiano. Tesis de grado, Facultad de Biología Marina, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta, Colombia, 65 p.
- ARNOLD, C.R.; J.M. WAKEMAN; T.D. WILLIAMS Y G.D. TREECE. 1978. Spawning of red snapper (*Lutjanus campechanus*) in captivity. *Aquaculture*, 15:301-302.
- BARNABÉ, G. Y A. GUISSI. 1994. Adaptations of the feeding behaviour of larvae of the sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), to an alternating live-food/compound-food feeding regime. *Aquac. Fish. Mgt.*, 25:537-546.
- BARNES, R.D. 1989. *Zoología de los Invertebrados Interamericana*, Bogotá, 1157p.
- BARTHLEY, D.; M. BAGLEY; G. GALL Y B. BENTLEY. 1992. Use of linkage disequilibrium data to estimate effective size of hatchery and natural fish populations. *Conserv. Biol.*, 6:365-375.
- BENETTI, D.D. Y J. ALARCÓN. 2000. General prophylaxis and quarantine of marine brood fish. *The Advocate*, Dec, (1): 60-61.
- BENETTI, D.D.; A. VENIZELOS Y C. ACOSTA. 1994. Finfish aquaculture development in Ecuador. *World Aquac.*, 25(2): 18-25.
- BENETTI, D.D.; C.A. ACOSTA Y J.C. AYALA. 1995. Cage and pond culture of marine fish in Ecuador. *World Aquac.*, 26(4): 7-13.
- BJÖRNSSON, B.T.; O. HALLD´ROSSON; C. HAUX; B. NORBERG Y C.L. BROWN. 1998. Photoperiod control of sexual maturation of the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): plasma thyroid hormone and calcium levels. *Aquaculture*, 166:117-140.
- BLAXTER, J.H.S. 1986. Development of sense organs and behaviour of teleost larvae with special reference to feeding and predator avoidance. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 115:98-114.
- BLAXTER, J.H.S. Y K.F. EHRLICH. 1974. Changes in behaviour during starvation of herring and plaice larvae. 575-588 p. En: J.H.S. Blaxter (edit.), *The Early Life History of Fish*. Springer-Verlag, New York.

- BOTERO, J. Y J. F. OSPINA. 2003a. Crecimiento de juveniles de pargo palmero *Lutjanus analis* (Cüvier) en jaulas flotantes en Islas del Rosario, Caribe colombiano. Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras, (31): 205-217.
- BOTERO, J. Y J. F. OSPINA. 2003b. Crecimiento y desempeño general de juveniles silvestres de mero guasa *Epinephelus itajara* (Lichtenstein) mantenidos en jaulas flotantes bajo diferentes condiciones de cultivo. Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras, (32):25-36.
- BOTERO, J. Y F. CASTAÑO. En prensa. Inducción de la madurez gonadal del pargo palmero *Lutjanus analis* mediante la aplicación de un fotoperíodo artificial de acondicionamiento en el laboratorio. Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras.
- BOYD, C. 1990. Water quality in ponds for aquaculture. Birmingham Publishing Co., Alabama, 482 p.
- BUSCHMANN, A.H.; D.A. LÓPEZ Y A. MEDINA. 1996. A review of the environmental effects and alternative production strategies of marine aquaculture in Chile. Aquac. Eng, 15(6): 397-421.
- BROMAGE, N.R. 1988. Propagation and stock improvement. 103-153 p. En: C.J. Shepherd y N.R. Bromage (Eds.), Intensive Fish Farming. Blackwell, Oxford.
- BROMAGE, N.R., C. RANDALL, J. JONES, B. MCANDREW Y K. RANA. 1990. New developments in the control of reproduction of farmed fish. 109-118 p. En: K. O'Grady; A. Butterworth; P. Spillet y J. Domaniewski (Eds.), Fisheries in the Year 2000, Inst. Fish. Man., Nottingham.
- BROMAGE, N.R. Y R.J. ROBERTS (EDS.). 1995. Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Blackwell, Oxford, 424 p.
- BROWN, C.L. Y H.A. BERN. 1989. Thyroid hormones in early development, with special reference to teleost fishes. En: M.P. Schreibman y C.G. Scanes (Eds.), Development, Maturation and Senescence of Neuroendocrine Systems: A comparative Approach. Academic Press, San Diego, 289-306 p.
- CAMPBELL, P.M.; T.G. POTTINGER Y J.P. SUMPTER. 1994. Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. Aquaculture, 120:151-169.
- CARRAGHER, J.F. Y N.W. PANKHURST. 1993. Plasma levels of sex steroids during sexual maturation of snapper, *Pagrus auratus* (Sparidae), caught from the wild. Aquaculture, 109:375-388.
- CASTAÑO, F. Y J. BOTERO. En prensa. Seguimiento de los niveles de testosterona y estradiol en el plasma sanguíneo de hembras de pargo palmero *Lutjanus analis* durante dos termoperíodos de acondicionamiento. Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras (34)
- CHAPARRO, N. 1994. Reproducción Artificial y Manipulación Genética en Peces. Editorial Mejoras, Barranquilla, 208 p.
- CHEN, S., D.E. COFFIN Y R.F. MALONE. 1997. Sludge production and management for recirculating aquacultural systems. J. World Aquac. Soc. 28:303-315.
- CLEARY, J.J. Y N.W. PANKHURST. 2000. The effect of capture and handling stress on plasma steroids levels and gonadal condition in wild and farmed snapper *Pagrus auratus* (Sparidae). J. World Aquac. Soc. 31(4): 558-569.
- DOI, M. Y T. SINGHAGRAIWAN. 1993. Biology and culture of the red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. Res. Proj. Fishery Resource Dev. Kingdom of Thailand, 51 p.
- DONALDSON, E.M. Y G.A. HUNTER. (1983). Induced final maturation, ovulation and spermiation in cultured fish. 351-403 p. En: W.S. Hoar, D.J. Randall y E.M. Donaldson (Eds.), Fish Physiology, vol. 9 part B, Academic Press, New York.
- DURAY, M.N.; L.G. ALPASAN Y C.B. ESTUDILLO. 1996. Improved hatchery rearing of mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*, in large tanks with small rotifer (*Brachionus plicatilis*) and *Artemia*. Bamidgheh, 48:123-132.
- EDWARDS, P. 1991. Letters: Fish-fowl-pig farming uncommon. World Aquac, 22(3): 2-3,6.

- FAO. 1998. Aquaculture production statistics 1987-1996. FAO Fish. Circ. No. 815, Rev. 10, 197 p.
- FAO. 2002. El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura. Roma, 148 p.
- FERLIN, P. Y P. NORIEGA-CURTIS. 1989. A regional survey of the aquaculture sector in the Caribbean. FAO/UNDP/ADCP/REP/89/40, 66 p.
- FORTIER, L. Y R.P. HARRIS. 1989. Optimal foraging and density-dependent competition in marine fish larvae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 51:19-33.
- FYHN, H.J. 1989. First feeding of marine fish larvae: are free aminoacids the source of energy? *Aquaculture*, 80:111-120.
- FUCHS, J.; G. NEDELEC Y E. GASSET. 1990. Selection of finfish species as candidates for aquaculture in French Polynesia. *Advances in Tropical Aquaculture. AQUACOP, IFREMER, Actes Colloc*, (9):461-484.
- GARIBALDI, L. 1996. List of animal species used in Aquaculture. FAO Fish. Circ. No. 914, 38 p.
- GOETZ, F.W. 1983. Hormonal control of oocyte final maturation and ovulation in fishes. 117-170 p. En: W.S. Hoar, D. J. Randall y E.M. Donaldson (Edit.), *Fish Physiology*, vol. 9 part B, Academic Press, New York.
- HERKE, W.H. 1977. Dangers of mariculture in wetlands are further documented by Herke. *National Fisherman*, 58(8): 1-34.
- HERNÁNDEZ, O.G. Y L. ÁLVAREZ-LAJONCHÉRE. 2003. Culture experiments with *Oithona oculata*, Farran 1913 (Copepoda: Cyclopoida), and its advantages as food for marine fish larvae. *Aquaculture*, 219:471-483.
- HUNTER, J.R. Y B.J. MACEWICZ. 1985. Measurement of spawning frequency in multiple spawning fishes. 79-94 p. En: R. Lasker (Ed.), *An egg production method for estimating spawning biomass of pelagic fish: application to the northern anchovy, *Engraulis mordax**, NOAA Tech. Rep. NMFS 36.
- KRAUL, S. 1989. Production of live prey for marine fish larvae. En: *Advances in Tropical Aquaculture. AQUACOP-IFREMER, Actes Colloq*, (9): 595-607.
- LAM, C.W.Y. 1990. Pollution effects of marine fish culture in Hong Kong. *Asian Mar. Biol*, 7:1-7.
- LAVENS, P. Y P. SORGELOOS. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fish. Tech. Pap. 361, 295 p.
- LUBZENS, E. 1987. Raising rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiologia*, 147:245-255.
- MEADE, J.W. 1989. *Aquaculture Management*. Van Nostrand Reinhold, New York, 175 p.
- NASH, C.E. Y A.J. NOVOTNY (EDIT.). 1995. *Production of Aquatic Animals: Fishes*. Elsevier, Amsterdam, 405 p.
- OGLE, J. Y J.M. LOTZ. 2000. Culture of Red snapper. *The Advocate*, oct. 23-26 p.
- PANKHURST, N.W., G.J. PURSER, G. VAN DER KRAAK, P.M. THOMAS Y G.N.R. FORTEATH. 1996. Effect of holding temperature on ovulation, egg fertility, plasma levels of reproductive hormones and in vitro ovarian steroidogenesis in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 146:277-290.
- PANKHURST, N.W. Y P.M. THOMAS. 1998. Maintenance at elevated temperature delays the steroidogenic and ovulatory responsiveness of the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to luteinizing hormone releasing hormone analogue. *Aquaculture*, 166:163-177.
- PANKHURST, N.W. Y J.F. CARRAGHER. 1992. Oocyte maturation and changes in plasma steroid levels in snapper *Pagrus (= Chrysophrys) auratus* (Sparidae) following treatment with human chronic gonadotropin. *Aquaculture*, 101: 337-347.
- PARSONS, T.R., Y. MAITA Y C.M. LALLI. 1989. *A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis*. Pergamon, Oxford, 173 p.
- PATÍÑO, R. 1997. Manipulations of the reproductive system of fishes by means of exogenous chemicals. *Prog. Fish Cult*, 59(2): 118-128.

- PETER, R.E. Y K.L. YU. 1997. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. *Rev. Fish Biol. Fish*, 7(2): 173-197.
- PILLAY, T.V.R. 1992. *Aquaculture and the Environment*. Wiley, New York, 189 p.
- RODRÍGUEZ, J., J.C. ARÉVALO Y L. MANJARRÉS. 1999. Aspectos biológico-pesqueros de los pargos rayado (*Lutjanus synagris*) y ceibal (*Lutjanus analis*). *Boletín Científico INPA*, 6:53-75.
- ROMERO, D., F. CASTAÑO, J. BOTERO Y F. GALLEGRO. 2004. Biopsias ováricas en reproductores de pargo palmero *Lutjanus analis* (Cuvier, 1828) mantenidos en cautiverio. *Revista UDCA, Actualidad y Divulgación Científica*, Año 7 No. 1: 109-116.
- SANDOVAL N. 1999. Análisis reproductivo y de fecundidad de dos especies demersales, *Lutjanus synagris* y *Lutjanus analis*, en El Golfo de Salamanca, Caribe colombiano. Tesis de grado, Facultad de Ingeniería Pesquera, Universidad del Magdalena, Santa Marta, Colombia, 89 p.
- SATO, N., I. KAWAZOE, Y. SHIINA, K. FURUKAWA, Y. SUZUKI Y K. AIDA. 1995. A novel method of hormone administration for inducing gonadal maturation in fish. *Aquaculture*, 135: 51-58.
- SCHIPP, G.R., J.M.P. BOSMAN Y A.J. MARSHALL. 1999. A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods *Acartia* sp. *Aquaculture*, 174: 81-88.
- SHANG, Y.C. 1990. *Aquaculture Economic Analysis*. *Adv. World Aquac.*, vol. 2, 211 p.
- SHIROTA, A. 1970. Studies on the mouth size of fish larvae. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish*, 36: 353-368.
- STEPHENSON, R.L. 1990. Multiuse conflict: aquaculture collides with traditional fisheries in Canada's Bay of Fundy. *World. Aquac*, 21(2): 34-45.
- STØTTRUP, J.G. 2000. The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. *Aquac. Res*, 31: 703-711.
- STØTTRUP, J.G. Y N.H. NORSKER. 1997. Production and use of copepods in marine fish larviculture. *Aquaculture*, 155: 231-247.
- THOMPSON, A.G. 1990. The danger of exotic species. *World Aquac*, 21(3): 25-32.
- THOUARD, E., P. SOLETCHNIK Y J.P. MARION. 1990. Selection of finfish species for aquaculture development in Martinique (F.W.I.). *Advances in Tropical Aquaculture*, AQUACOP-IFREMER, Actes de Colloq, (9): 499-510.
- TOLEDO, J.D., M.S. GOLEZ, M. DOI Y A. OHNO. 1999. Use of copepod nauplii during early feeding stage of grouper *Epinephelus coioides*. *Fish. Sci*, 65(3): 390-397.
- TUCKER, J.W., JR. 1992. Feeding intensively-cultured marine fish larvae. 25-40 p. En: G.L. Allan y W. Dall (Edit.), *Proc. Aquac. Nutr. Workshop*. New South Wales Fisheries, Brackish Water Fish Cult. Res. Sta., Salamander Bay, Australia.
- TUCKER, J.W., JR. 1998. *Marine Fish Culture*. Kluwer Academic Publishers, Boston, 750 p.
- TUCKER, J.W., JR. Y D.E. JORY. 1991. Marine fish culture in the Caribbean region. *World Aquac*, 22(1): 10-14, 16-17, 19-27.
- TURANO, M.A.J.; D.A. DAVIS Y C. R. ARNOLD. 2000. Observations and techniques for maturation, spawning, and larval rearing of the yellowtail *Ocyurus chrysurus*. *J. World Aquac. Soc*, 31(1): 59-68.
- WATANABE, W.O. 2001. Species profile: mutton snapper. *South. Reg. Aquac. Center (SRAC)*, publication No. 725, 11 p.
- WATANABE, T. Y V. KIRON. 1995. Red sea bream (*Pagrus major*). 398-413 p. En: N.R. Bromage y R.J. Roberts (Eds.), *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell, Oxford.
- WATANABE, W.O.; E.P. ELLIS; S.C. ELLIS; J. CHAVES; C. MANFREDI; R.W. HAGOOD; M. SPARIS Y S. ARNESON. 1998. Artificial propagation of mutton snapper *Lutjanus analis*, a new candidate marine fish species for aquaculture. *J. World Aquac. Soc*, 29(2): 176-187.
- WEDLER, E. 1998. Introducción a la acuicultura con énfasis en los neotrópicos. *Litoflash*, Santa Marta, Colombia, 388 p.

- WHEATON, F.W. 1977. Aquacultural Engineering. Wiley-Interscience, N.Y., 708 p.
- WHEATON, F.W. 1987. Acuicultura, diseño y construcción de sistemas. Editorial Calipso, México, 587 p.
- WU, R.S.S. 1990. Biological and economic factors in the selection of cultured fish species and the development of a bio-economic model. En: Advances in Tropical Aquaculture, AQUACOP-IFREMER, Actes Colloq, (9): 437-444.
- ZOHAR, Y. 1989. Fish reproduction: its physiology and artificial manipulation. 65-119 p. En: M. Shilo y S. Sarig (Eds.), Fish Culture in Warm Water Systems: Problems and Trends. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- ZOHAR, Y., M. HAREL, S. HASSIN Y A. TANDLER. 1995. Gilt-head sea bream (*Sparus aurata*). En: N.R. Bromage y R.J. Roberts (Eds.), Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Blackwell, Oxford, 94-117 p.

ASPECTOS BÁSICOS PARA REPRODUCCIÓN INDUCIDA DEL PARGO LUNAREJO *Lutjanus* (Steindachner, 1869)

Jesus Hernando Gamboa¹ y Juan Valverde Pretelt (q.e.p.d.)²

Introducción

Aunque la piscicultura marina y estuarina cuenta con desarrollos tecnológicos importantes en muchos países tropicales del sudeste asiático y en Europa desde hace más de 2.000 años (Hickling, 1970), en América tropical, incluyendo a Colombia, su desarrollo aún es incipiente. Una tradicional vocación agropecuaria ha impedido visualizar el potencial de este renglón, el cual podría ser generador de desarrollo socioeconómico y de divisas para el país. Es por lo tanto necesario apoyar el desarrollo tecnológico de la acuicultura marina, con el fin de aprovechar algunas de las tantas especies que habitan nuestras costas como pargos, meros, róbalo, corvinas, lisas, lebranches y otras, las cuales alcanzan precios entre 5 y 20 dólares por kilogramo en los mercados internacionales (SEAFDEC, 1997 y FAO FISHERIES INFORMATION, 1997).

Durante los últimos años los peces marinos han recibido especial atención a nivel mundial y en el Caribe por su gran potencial (Aquacop *et al.*, 1989; Thouard *et al.*, 1989; Wu, 1989; Gómez-Gaspar y Cervigón, 1987; Cervigón, 1983 y Tucker y Jory, 1991). Dentro de estos, las especies demersales (pargos, corvinas, meros, etc.) presentan un gran interés por su excelente calidad, elevado precio y gran demanda en mercados locales y de exportación. Sin embargo, el cultivo de estas especies se abastece principalmente con juveniles capturados en el medio natural, práctica que atenta contra la estabilidad de las poblaciones y que no ofrece garantías desde el punto de vista económico (Doi y Singhagrain, 1993 y Duray *et al.*, 1996).

¹ Coordinador Estación Marina Bahía Málaga, Buenaventura. INCODER.

² Coordinador GIEP Buenaventura. INCODER.

La reproducción inducida de peces es una actividad muy importante, porque genera la obtención de organismos viables y resistentes a las condiciones del medio natural; este aspecto ha sido practicado durante mucho tiempo, algunas técnicas de desove inducido están descritas en los trabajos de Pruginin y Cirlin (1973). Por otra parte, es necesario trabajar en el establecimiento de paquetes tecnológicos para la producción de organismos por desove inducido de reproductores obtenidos en las propias instalaciones. Esto garantizará el suministro adecuado y eficiente de los individuos, así como el establecimiento de planes de selección y mejoramiento genético.

El pargo lunarejo, *Lutjanus guttatus*, es una especie ampliamente distribuida en el Pacífico colombiano, la cual tiene gran importancia comercial a nivel regional y posibilidades de exportación, así como condiciones favorables para su cultivo (Mosquera, 1999 y Riascos, 1999). Adicionalmente, por ser una especie de pargo que habita aguas someras y varios ambientes, incluidos las zonas estuarinas, su mantenimiento en cautiverio supone menores dificultades que el de las especies de pargos de aguas más profundas, por lo tanto es una alternativa viable para el cultivo en jaulas y piscinas.

A nivel mundial, el cultivo experimental de diferentes especies de pargos (Familia Lutjanidae) se realiza con relativo éxito en Asia y en algunos países americanos, como Estados Unidos, Martinica (Thouard *et al.*, 1989), Cuba y Venezuela (Colura *et al.*, 1991), siendo una realidad comercial en Singapur, Filipinas y Tailandia, donde se cultivan en jaulas y estanques el pargo manglero *Lutjanus argentimaculatus* y el pargo dorado *L. johni* con excelentes resultados (Garret, 1994 y Chaitanawisuti y Piyatiratitivorakul, 1994). Se reporta que estas especies crecen bien a densidades de 100-200 ind/m³ y que se reproducen

en cautiverio, ya sea espontáneamente o utilizando hormonas gonadotrópicas en dosis muy bajas 400-1500 U.I./kg (Emata *et al.*, 1994 y Singhagruiwan y Doi, 1993). La cría larvaria de estas especies se ha realizado en forma exitosa utilizando rotíferos y cópodos como primer alimento, produciendo miles de juveniles para su engorde en la actividad comercial (Duray *et al.*, 1996). En el Pacífico mexicano se han realizado ensayos de reproducción y cría en tanques y jaulas para las especies *L. guttatus* y *L. argentiventris* (Muhlia *et al.*, 1996).

De igual forma, en el centro de acuicultura australiano y en el centro de desarrollo pesquero del sudeste asiático (SEAFDEC) se ha trabajado con *L. johnii*, pargo dorado y *L. argentimaculatus*, pargo rojo, obteniendo resultados de importancia considerable para el crecimiento de larvas de pargo en tanques (SEAFDEC, 1997). Las experiencias previas de cultivo de peces en encierros naturales llevadas a cabo por el Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (INPA), entidad liquidada, en la Bahía de Buenaventura (Valverde *et al.*, 1998), han demostrado la factibilidad técnica y económica de aprovechar los esteros de la región para engordar en ellos, a bajo costo, especies como el pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*), especie que tiene un alto precio y gran demanda en los mercados nacionales y de exportación, así como condiciones favorables para su cultivo (Ocampo y Rubio, 1989; Mosquera, 1999 y Riascos, 1999).

Características y descripción de la especie

Características distintivas

El pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) presenta una coloración que varía de rosado a amarillento, con lí-

neas doradas o amarillentas en los flancos colocadas en posición oblicua. La característica más notable es la presencia de una mancha negra debajo de la aleta dorsal, entre la 8ª espina y el 3º radio blando. Sus aletas pélvicas y la anal son de color amarillento (Fig. 1). Puede alcanzar hasta 100 cm de longitud total y cerca de 40 kg de peso (Herrera, 1994).

• Sistemática

Tomando como referencia a Nelson (1994), la ubicación taxonómica completa de *Lutjanus guttatus* es:

Phylum:	Chordata
Subphylum:	Vertebrata
Superclase:	Gnathostomata
Clase:	Actinopterygii
División:	Teleostei
Subdivisión:	Euteleostei
Superorden:	Acanthopterygii
Serie:	Percomorpha
Orden:	Perciformes
Suborden:	Percoidei
Superfamilia:	Percoidea
Familia:	Lutjanidae
Subfamilia:	Lutjaninae
Género:	<i>Lutjanus</i>
Especie:	<i>L. guttatus</i> (Cuvier, 1828)



Figura 1. Ejemplar adulto de pargo lunarejo, *Lutjanus guttatus*

• Distribución geográfica y hábitat

El pargo lunarejo se distribuye a través del Golfo de California hasta el Perú, siendo más común en las zonas costeras de la parte central y baja del Golfo de California que en la parte alta del mismo. Este pargo se encuentra frecuentemente a profundidades de 4.6 a 12 metros, no siendo común a profundidades mayores de 30 metros, está presente principalmente en fondos rocosos, aunque pueden encontrarse en arrecifes y zonas arenosas. Los juveniles se concentran en aguas someras y bahías protegidas, esteros y algunas veces en aguas dulces, prefiriendo hábitats rocosos. Los adultos habitan sobre fondos rocosos y arenosos de profundidades medias a bajas. La mayor actividad de esta especie es desplegada en las horas de la noche. Durante el día se refugian entre las rocas. Las larvas y juveniles son comunes en zonas estuarinas aledañas a los manglares o en charcas intermareales de fondos rocosos (Ocampo y Rubio, 1989).

En el Pacífico colombiano *L. guttatus* es la especie más abundante del género. Se ha reportado en Isla Gorgona (Muelle, Playa Blanca), Ensenada de Tumaco, Bahía de Guapi, Punta Coco, Golfo de Tortugas, Bahía de Buenaventura (Punta Soldado, Limones), Bahía Málaga (Curichíchi, La Muerte), a profundidades de 0.5 a 20 brazas (Rubio, 1988).

La especie es generalmente capturada en los arrastres de la flota camaronera, flota semiindustrial (Longlinera) y por los pescadores artesanales, utilizando para ello trasmallos, chinchorros y atajos (Rubio, 1988).

• Hábitos alimenticios

La especie es de hábitos carnívoros. Es un predador nocturno que se refugia en cuevas y grietas

durante el día, aunque en ocasiones sale a incursionar durante las horas del día. En la noche se alimenta de crustáceos y cardúmenes de peces juveniles. A menudo la especie ha sido caracterizada como carnívora oportunista (Herrera, 1994).

De acuerdo con lo reportado por Beaumairge y Lewis (Herrera, 1994), los peces anguiliformes son los más comunes y abundantes en la dieta de la especie. Cuando los ejemplares se capturan cerca o dentro de los arrecifes coralinos, su dieta incluye una variedad de peces que no están asociados con estos hábitats. Los cangrejos adultos constituyen el segundo nivel de importancia en su dieta y los camarones componen la siguiente categoría, seguidos por otros crustáceos, incluyendo principalmente estomatópodos, langostas y ocasionalmente anfípodos (Herrera, 1994).

Dentro de las formas planctónicas del contenido estomacal se incluyen copépodos, eufácidos y larvas de otros organismos no identificados. Con respecto a los moluscos, se reportan gasterópodos pelágicos (pterópodos y heterópodos) y urocordados pelágicos. Los pargos se consideran completamente carnívoros y en su dieta claramente domina el alimento animal. Sin embargo, en algunas ocasiones se ha reportado material vegetal en su tracto digestivo. Varios autores sugieren que este es ingerido accidentalmente al capturar su alimento rutinario (Parrish, 1987).

• Reproducción

En el trabajo realizado por Ocampo (1990) sobre el crecimiento y ciclo sexual del *Lutjanus*

guttatus en el Pacífico colombiano, se hacen las siguientes anotaciones sobre su biología reproductiva: “Los pargos lunarejos son organismos dioicos que presentan poco o ningún dimorfismo sexual. No se observó maduración gonadal en la zona estuarina en individuos menores a 22 cm de longitud estándar. Mar afuera se hallaron ejemplares con tallas superiores madurando y en fase desovante. Esto sugiere que el pargo lunarejo, al igual que otras especies de pargos, requiere para su reproducción, temperaturas y salinidades superiores a las encontradas en los estuarios durante gran parte del año. Se cree que cuando el *Lutjanus guttatus* alcanza tallas entre 20 y 24 cm de longitud estándar (tallas poco frecuentes en zonas estuarinas) inicia una migración mar afuera para su reproducción, la cual posiblemente comienza en el mes de julio. El desove se extiende durante los meses de septiembre a noviembre y se puede catalogar como sincrónico, lo cual sugiere una sola época de desove en el año que podría coincidir con picos de fuerte pluviosidad. Con respecto a la fecundidad los pocos análisis efectuados muestran una especie de gran fecundidad con una estrategia típica “r” (gran cantidad de gametos sin cuidado parental)”.

Se tiene referencia sobre la reproducción de *Lutjanus guttatus* en cautiverio en algunos trabajos realizados en el Pacífico mexicano (Muhlía *et al.*, 1996). En Panamá (Cano, 1997 y en el Pacífico colombiano (Valverde y Gamboa, 2003) donde se ha logrado la reproducción de este pargo hasta la obtención de alevinos. También se cuenta con una revisión general presentada por Thresher (1984) sobre las características y hábitos reproductivos de la familia Lutjanidae.

Producción de semilla en el laboratorio

Infraestructura

La estructura física de un laboratorio para producción de semilla de pargos lunarejos debe costar básicamente de: tanques reservorios de aguas marina y agua dulce, sistemas de bombeo y filtrado de agua marina, sistema de aireación, tanques de maduración y manejo de reproductores, tanques para desove, tanques de eclosión de huevos, tanques de cultivos masivos de microalgas, tanques para tamizado de zooplancton (mesocosmo), sala de cultivo de microalga, sala de cultivo de rotíferos, sala de eclosión de artemia y sala de larvicultura.

- **Tanques reservorios de agua marina**

Son tanques en concreto, generalmente rectangulares con una capacidad de almacenamiento tal que posibilite el recambio aproximado del 100% del agua de los tanques de maduración por día (24 horas), el suministro del 100% del agua necesaria para la larvicultura, cultivo masivo de algas. El sistema debe ser dimensionado para atender emergencias, en las cuales sería necesario el recambio del 200% del volumen total de los tanques de maduración.

- **Sistema de bombeo y filtración**

Está conformado por una bomba de una potencia que permita el almacenamiento en el tanque reservorio a su máxima capacidad. El agua se conducirá por tubería de PVC a un filtro de arena de alto rendimiento para continuar luego a los tanques reservorios donde

se continuará con los otros procedimientos, como son: filtración mediante filtros de felpa, filtros de cartucho de 20, 10, 5, 1 y 0.35 micras y filtro de luz ultravioleta. Posteriormente el agua marina estará lista para ser usada para la producción de alimento vivo y la cría de larvas (Fig. 2).

- **Sala de maduración y manejo de reproductores**

Consta de un espacio cubierto donde se tienen tanques en concreto, en fibra de vidrio o en lonas plásticas con soportes metálicos o de madera. Pueden ser de forma circular o rectangular, con capacidad entre 60 a 200 metros cúbicos con una altura mínima de 2 metros, los cuales poseen un sistema de vaciado controlado que permite hacer recambio de hasta un 300% si fuera necesario. A los tanques se les instala un sistema eficiente para la colecta de los huevos y la sala debe estar dotada de un sistema donde se pueda hacer el manejo de fotoperiodo, temperatura y salinidad.

- **Sala de desove y eclosión**

Debe ser un espacio cerrado equipado con tanques cilíndricos construidos en concreto, plastilonas o



Figura 2. Filtros de arena, cartucho y luz ultravioleta necesarios para esterilización del agua marina.

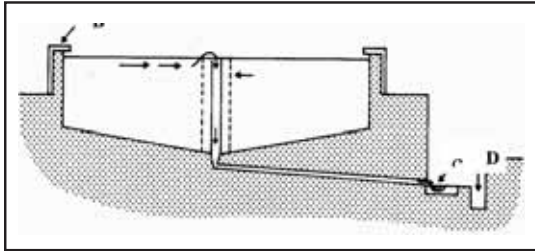


Figura 3. Diseño de tanque de maduración de reproductores. B-borde de tanque; C-colector de huevos. D-desagüe (Álvarez-L. y Hernández. 2001).

fibra de vidrio, con volúmenes entre 2.000 y 4.000 litros equipados con un sistema de recolección de huevos por rebose, en donde se depositan los reproductores una vez se ha realizado la inducción con las hormonas.

Los tanques de eclosión de huevo de peces, por lo general son tanques cilíndrico-cónicos, con capacidades entre 100 y 300 litros, provistos de sistema de aireación y recambio de agua (Fig. 4).

- **Sala de larvicultura**

Es una sala con cubierta y paredes que permite el control de la temperatura. Esta sala puede ser cons-

truida en concreto o madera con tejas de zinc, aluminio o asbesto-cemento. Los tanques pueden ser de 1.000 a 10.000 litros de tipo circular o rectangulares con fondo en U o V; equipados con entrada de agua marina, con difusores de aire y un drenaje. Pueden ser construidos en concreto, mampostería, fibra de vidrio, plástico reforzado o en lonas plásticas con soportes metálicos o de madera.

- **Laboratorio de cepas puras y cultivo masivo de algas**

El laboratorio de producción de pargos debe contar con una pequeña sala cerrada y atemperada (aire acondicionado), iluminación permanente con luz fría, mesón de trabajo, equipos (microscopios, autoclave, estanterías) y materiales (tubo de ensayos, gradillas para tubo de ensayos, pipetas, erlenmeyer, botellones, etc.), para el mantenimiento de las cepas puras y la producción de microalgas. La fase de mayor producción se realiza en exteriores y se utilizan recipientes de acrílico transparentes, o tanques traslúcidos de policarbonatos de capacidad de 100, 1.000 y 2.000 litros iluminados con baterías de tubos de luz fría.



Figura 4. Tanque de desove de peces e incubadoras de huevos utilizados en la Estación Marina de Bahía Málaga del Instituto Colombiano de Desarrollo Rural – INCODER (Buenaventura, Pacífico colombiano).

- Sala de producción de rotíferos y artemia

Esta sala debe estar diseñada para la producción del zooplancton necesario para la alimentación de las larvas y debe construirse lo suficientemente alejada de la sala de algas para evitar que sean contaminadas con rotíferos o artemia. La sala debe estar equipada con tanques cilíndrico-cónicos semitransparentes, con capacidades entre 60 y 200 litros para la eclosión de artemia y tanques cilíndricos de fondo plano entre 500 y 1.000 litros para el cultivo de rotíferos (Fig. 5).

REPRODUCCIÓN

- Captura y transporte de reproductores

Los reproductores de pargo lunarejo se capturan generalmente durante la noche a una profundidad de 10 a 20 brazas, empleándose un palangre de fondo de 150 a 200 anzuelos y líneas de mano. El palangre se deja puesto alrededor de 120 minutos y luego se recoge. Luego de capturados se les retira el anzuelo, se transfieren a un tanque de transporte, previamente adecuado a la embarcación. El ascenso involuntario

de los peces desde aguas relativamente profundas impide que los animales regulen su presión interna de modo que llegan a la superficie con la vejiga gaseosa llena, la cual los somete a un estado boyante al ser introducidos en el tanque. Para igualar la presión externa con la presión interna del pez, se les desinfla la vejiga mediante la introducción de una aguja hipodérmica por un costado, acompañado de un suave masaje de la cavidad abdominal. El gas sale y el animal se estabiliza.

La manipulación debe minimizarse al máximo, de ser posible los peces deben ir directamente del mar al tanque de transporte, sin tocar los bordes de la embarcación. Los tanques de transporte deben ser redondos y con fondo plano, con una capacidad de 500 a 1.000 litros de acuerdo con el tamaño de la embarcación. Una circulación constante de agua salada debe ser mantenida en el tanque durante el transporte a través del uso de una bomba instalada a bordo. La salida debe ser regulada de acuerdo con la entrada para mantener en forma constante el nivel de agua en el tanque. El nivel de oxígeno disuelto durante el transporte deberá ser mantenido próximo a saturación (6.0-7.0 mg O₂/litro).



Figura 5. Tanques de eclosión de artemia y cultivo de rotíferos.

• Tratamiento y selección de reproductores

Los animales deberán ser anestesiados siempre antes de manipularlos. El tipo y las dosis recomendables de anestésico son: 2-Phenoxyethanol entre 100-150 ppm diluidos en agua de mar de igual salinidad y temperatura del agua utilizada para el transporte y manipulación. Los peces deberán ser desinfectados y tratados al llegar al laboratorio aunque no presenten daños visibles de lastimaduras. Se deben realizar baños de agua dulce (1-2 minutos) y formol (100 ppm por 1-2 minutos) estos tratamientos son utilizados contra ectoparásitos. Para prevenir infecciones bacterianas se utilizan antibióticos, principalmente en la aleta caudal y en los ojos, que son los puntos más vulnerables. Se usa Oxytetraciclina especialmente, durante 5-8 días (50 ppm por 3 horas por día).

Luego de la llegada de los reproductores al laboratorio y mientras estén anestesiados para la manipulación y tratamiento contra parásitos se deben hacer la determinación de sexos (macho/hembra) y el desarrollo gonadal. Las hembras se distinguen por tener una abertura transversal entre el ano y la uretra; los machos sólo poseen la abertura anal y una posterior que es la urogenital. Los machos maduros expulsan semen al hacerles una suave presión en la parte baja del abdomen. Para conocer el estado de madurez de las hembras se les introdujo una cánula (1.25 mm de diámetro interno) por el oviducto unos 5-10 centímetros dentro de la gónada y se succionó con la boca para extraer los ovocitos. Estas muestras se colocaron en láminas portaobjetos y se le agregaron unas gotas de solución Serra para que los ovocitos se aclaren para hacer la observación al microscopio (Fig. 6).



Figura 6. Proceso de Canulación ovárica en hembra de pargo lunarejo, *Lutjanus guttatus*

El estado ideal de madurez para hacer la inducción con la hormona se tiene cuando los ovocitos están bien vitelados con un diámetro $\geq 350 \mu\text{m}$, cuyo núcleo esté en la periferia del huevo o al menos migrando al centro de esta. También sirven las hembras que tengan ovocitos con núcleo en posición central.

Las hembras que no estén maduras se colocan en los tanques de maduración para aclimatación y acondicionamiento al desove. Una proporción de dos machos por cada hembra es la ideal, determinando la biomasa total de peces por tanque para efecto del cálculo del alimento o para tratamientos necesarios para lograr la maduración en condiciones controladas en el laboratorio.

• Inducción del Desove

Cuando la(s) hembra(s) presenta(n) ovocitos con núcleo en posición periférica o migrando se le suministran dos dosis de hormona Prymogonil® (HCG) 1000 UI/kg de peso corporal –en el muñón de una de las aletas pectorales y la segunda dosis de 500 UI/kg de peso corporal con un intervalo de 24 horas. Se deposita en el tanque de desove con

dos machos maduros, a los cuales se inyectan con 500 UI/kg peso corporal de HCG, al mismo tiempo de la 2ª inyección de la hembra (Fig. 7).



Figura 7. Proceso de aplicación de hormonas en hembras y machos de pargos

- **Fecundación y Recolección de los Huevos**

Existen dos sistemas utilizados en la fecundación de los huevos de pargos: fecundación natural y la fecundación artificial.

- **Fecundación natural**

Una vez a las hembras se les realiza la segunda aplicación de la hormona, cada hembra es transferida, junto con dos machos (en total un trío), a uno de los tanques interiores de desove de 2 m³-4 m³ de capacidad. El tanque de desove debe contar con un recambio permanente de agua y con un colector de huevos. El desove y fecundación natural de los huevos normalmente ocurre entre las 30 y 40 horas después de la primera dosis de hormona.

Los huevos se recolectan por rebosamiento en el colector de huevo, con malla suave de menos de 500 µm colocado dentro de otro recipiente para evitar el maltrato de los huevos.

- **Fecundación artificial**

Cuando se hace la observación de las hembras a las 24 horas y si alguna está próxima a desovar, se separa y se le realiza seguimiento a los huevos, cuando estos se presentan completamente claros y cuando la gota de aceite ha emigrado a la periferia, la hembra se anestesia y al cabo de dos minutos, cuando ha perdido el equilibrio, se retira del agua que contiene el tranquilizante, se lava con agua fresca para desechar el tranquilizante y se seca suavemente para evitar que humedezca el recipiente donde se van a depositar los huevos. Con el dedo pulgar y el índice se ejerce una ligera presión en la cavidad abdominal, desde la parte anterior del tronco hacia el orificio genital. Los huevos deben salir libremente evitando al máximo que les caiga agua. Enseguida se extrae el semen de tres machos utilizando la misma metodología descrita para las hembras y se mezclan los productos con ayuda de una pluma. Luego se agrega agua de mar lentamente, se revuelve por 10 minutos completando la fecundación.

- **Conteo de huevos y tasa de fertilización**

Una vez recogido los huevos se determina la cantidad y la tasa de fertilización. El conteo se realiza a través de muestreos con un beaker, sacando mínimo tres muestras, contando la cantidad de los huevos de este y extrapolando la cantidad por el volumen total del tanque o balde. Para la determinación de la tasa de fertilización se sacan dos submuestras de 50 huevos cada una y se observan al microscopio.

Se utilizan las siguientes fórmulas para las determinaciones:

$$\text{No. Total de huevos} = \text{No. de huevos en muestra} \times \text{volumen del tanque}$$
$$\% \text{ de huevos fertilizados} = \frac{\text{No. de huevos fertilizados en la submuestra}}{\text{No. Total de huevos en la submuestra}}$$

• Incubación y desarrollo embrionario

La incubación de los huevos debe hacerse en tanque cilíndrico-cónico de 500 a 1.000 litros en la sala de desove. Pueden ser sembrados hasta 300 huevos por litro. Se deben sembrar solamente los huevos buenos, fertilizados, los cuales son transparentes y flotan. Para hacer la separación de los huevos fertilizados de los no fertilizados en las incubadoras se realiza un ligero movimiento circular del agua y se deja reposar durante 10 minutos. En este periodo los huevos fertilizados flotan y los demás se van al fondo, los cuales se sacan con un sifón o por drenaje. El agua empleada en los tanques de eclosión debe estar filtrada y esterilizada, conservando un flujo continuo a través de una malla de 500 micras y manteniendo la aireación a niveles medianos durante todo el periodo de incubación, asegurándose de reducirla cuando los huevos empiecen a eclosionar.

Los huevos fertilizados de *L. guttatus* son transparentes, esféricos y pelágicos, con un diámetro de 0.728-0.810 mm, generalmente se observa un solo glóbulo de aceite y en ocasiones entre dos y cuatro pequeños glóbulos. En el desarrollo embrionario se observa una división de dos células a los 15-20 minutos después de la fertilización (DF), el estadio de cuatro células a los 30 min. (DF), el estadio de ocho células a los 35 min. DF y el estadio de 16 y 32 células se observa a los 50 y 60 min. (DF). El embrión empieza a distinguirse entre las 6 h y 7 h 30 min. A las 11 h se observa que han desarrollado los ojos y las vesículas óticas son visibles, a las 14

h el corazón empieza a pulsar regularmente y la cola se separa del saco vitelino. La eclosión inicia a las 16:30 h (DF) y termina a las 18 h. (DF) a una temperatura de 28.5°C (Fig. 8).

Al eclosionar la larva presenta la cabeza ligeramente flexionada sobre el extremo anterior del saco vitelino, con el glóbulo de aceite en el extremo anterior. El tubo digestivo es recto y se observa adherido al cuerpo de la larva, el ano y conducto urogenital se encuentran cerrados.

• Larvicultura

Los huevos no deben manipularse hasta que estén embrionados, poco antes de la eclosión (a las 15-16 horas) debido a que en este estado son más resistentes y pueden ser trasladados a los tanques de larvicultura que son más grandes. Se suspende la aireación dejando que los huevos se distribuyan en la superficie y se colectan con un balde. El traslado puede hacerse inclusive durante las primeras horas en que los huevos estén eclosionando para que la eclosión termine en los tanques de larvicultura. No se deben transferir larvas que lleven varias horas de eclosionadas a otros tanques, puesto que son extremadamente delicadas.

La densidad inicial para la larvicultura de pargos debe ser entre 20-50 larvas por litro para sistemas intensivos utilizando tanques cilíndrico-cónicos o rectangulares en interiores de 1.000 a 4.000 litros y una densidad de 5-10 larvas por litros en sistemas extensivos en tanques exteriores (mesocosmos).

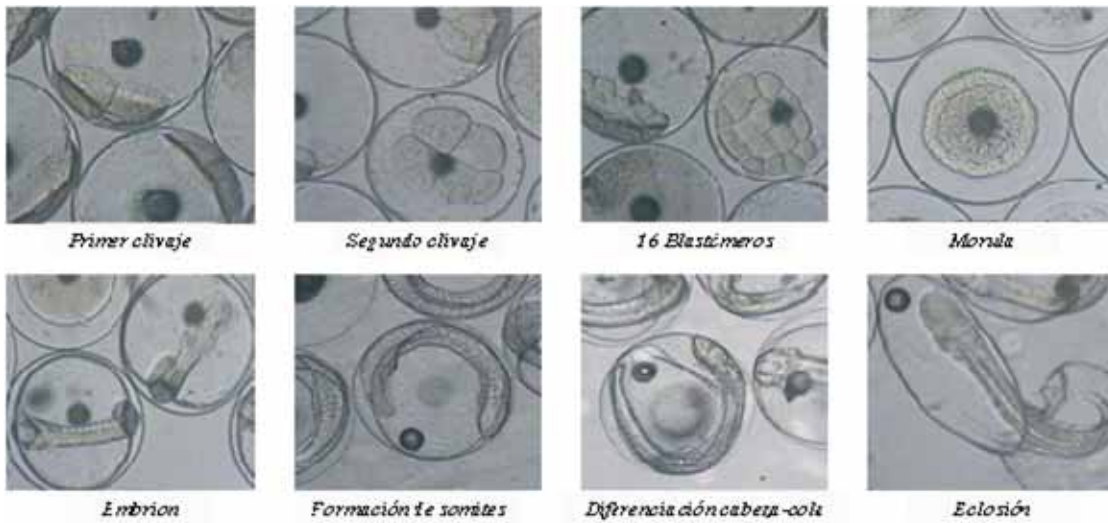


Figura 8. Diferentes estadios embrionarios de huevos de pargo lunarejo, *Lutjanus guttatus*

Como punto de referencia, el momento de la eclosión se denomina '0 DAH' (*0 days after hatching*), nomenclatura que será utilizada de aquí en adelante. Al principio no se necesita flujo continuo de agua sino un drenaje de las larvas muertas y un pequeño recambio de alrededor del 20% diario, cuidando que las larvas no se queden pegadas a las paredes del tanque.

Durante los días 1 y 2 DAH las larvas se alimentan de su saco vitelino y gota de aceite y sólo se requiere tener una aireación muy ligera. Drenar las larvas muertas, las cáscaras de los huevos y hacer recambio del 10-20% diario. Para este recambio se utiliza agua verde (200.000 células/mililitros de *Nannochloropsis sp.* o *Tetraselmis sp.*) y agua nueva, empleando las válvulas que salen del tubo de suministro de agua, la cual debe previamente ser filtrada y esterilizada.

Diariamente se debe sifonear muy suavemente el fondo de los tanques con una manguera de ½ pulgada de diámetro para retirar la mugre.

A partir del 3 DAH se añaden rotíferos de la cepa SS (super small). Los rotíferos deberán ser cose-

chados y separados el día anterior y mantenidos en agua filtrada y esterilizada con antibióticos (20 ppm de oxytetraciclina por 6-12 horas). Luego del tratamiento los rotíferos deberán ser enriquecidos con algún producto comercial como el Selco para rotíferos, utilizando un mililitro/millón de rotíferos, manteniendo una densidad de 5-10 rotíferos/ml. Después del enriquecimiento y antes de agregarlos al tanque de larvicultura los rotíferos deben ser filtrados por una malla de 200 µm para quitarles los grumos a la mugre grande, reteniéndolos en un cedazo con malla de 40 µm.

La limpieza de la superficie del agua y del fondo de los tanques es indispensable. A partir del día 4 se deben utilizar los limpiadores de basura de superficie (*skimmers*), limpiándolos durante el día cuando la espuma se forma en el área colectora del limpiador, aproximadamente cada dos horas, utilizando un beaker, una red o una servilleta.

Durante los 8 y 9 DAH las larvas deben inflar su vejiga gaseosa y se irán más al fondo de la columna de agua, siendo más difícil verlas. Hay que

tener especial cuidado al sifonear la mugre. Durante estos días es recomendable el suministro de nauplios de copépodos y copepoditos, los cuales son una excelente fuente de alimento para las larvas, estos pueden ser obtenidos en los sistemas de cultivos en exteriores (mesocosmos) (Fig. 10). En este, caso antes de introducir los copépodos en los tanques, tratarlos y desinfectarlos con los mismos métodos descritos para rotíferos.

A partir del 12 DAH se deben agregar adicionalmente nauplios de *Artemia*, disminuyendo paulatinamente la dosis de rotíferos. Mantener una densidad de 1-3 nauplios/ml. Después del 16 DAH ya no se agregan más rotíferos y la dieta ha sido sustituida exclusivamente por estadio más avanzados de *Artemia*, hasta que hacia el 30 DAH se empieza el ‘destete’ o proceso de acostumbrar las larvas al consumo de alimento artificial. Se pueden utilizar microencapsulados comerciales. Empezar

con alimento de 150-200 μm e ir aumentando el tamaño paulatinamente hasta que hacia el día 38 se deben estar utilizando partículas de 400-500 μm .

Para este día los alevinos deben tener alrededor de 1.5 cm de longitud y 0.3 g de peso, comiendo concentrado y listos para pasar a la etapa de ‘nursery’. Al cabo de unos 40 días de ‘nursery’, los alevinos tendrán un peso de 2-4 g y una longitud de 3-4 cm y estarán listos para ser trasladados a los estanques de engorde.

Producción del alimento vivo para alimentación de las larvas

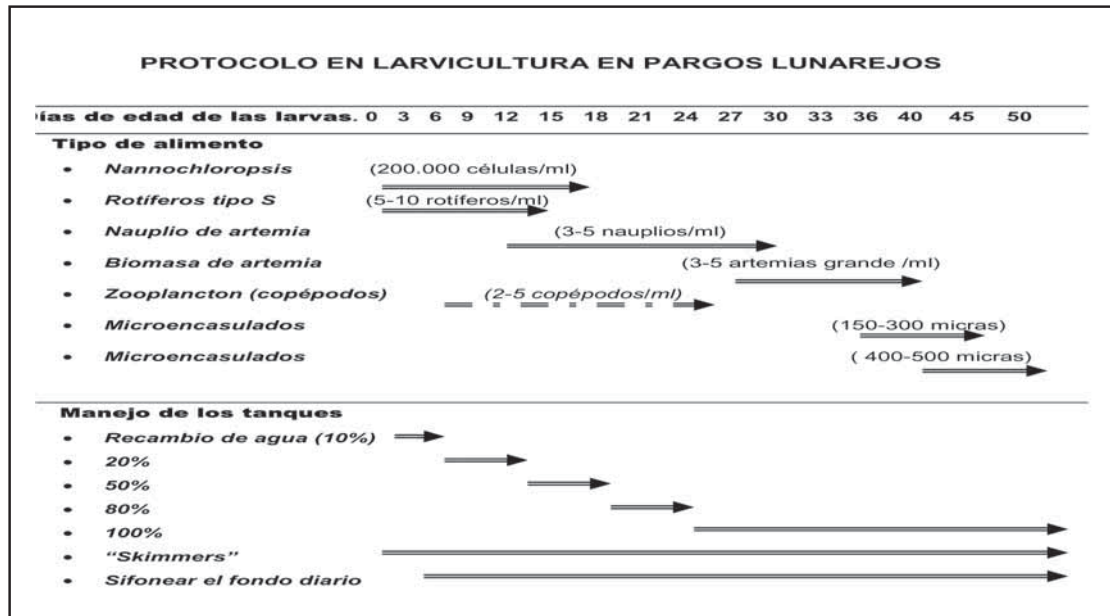
Zooplankton tamizado (copepoditos, nauplius de copépodos y rotíferos)

La obtención del zooplankton tamizado (mesocosmos) se inicia con la aplicación de fertilizantes



Figura 9. Diferentes estadios larvales y alevinos de pargo

Tabla 1. Protocolo de manejo de alimento y recambios de agua en la larvicultura



inorgánicos de agua marina filtrada depositada en tanques de platilonas o concreto entre 20-120 metros² por 1 metro de altura (Fig. 10), se emplea urea (45% de N) y superfosfato triple (46% de P₂O₅), se hacen dos aplicaciones semanales de 1.0 mg N/L combinado con 0.1 mg P/L, lo cual representa una relación N:P de 10:1. Para el llenado del tanque se filtra el agua con malla Nytex de 200 µm. La fertilización provocará el “bloom” de fitoplancton empezando por las diatomeas, las cuales colapsan rápidamente por el agotamiento de los silicatos, seguido por otras algas y la proliferación de nanoflagelados, dinoflagelados, ciliados, rotíferos y copépodos. Cuando se tenga una población adecuada (aprox. 100 ejemplares/ml de rotíferos y copépodos) se procede a separar el fito y zooplankton de menos de 70 µm homogenizando la masa de agua y vaciando volúmenes de la misma en tinas plásticas a través de malla de plancton del calibre apropiado. El mismo procedimiento se usa posteriormente para la separación del plancton de menos de 110 µm, pero utilizando red del correspondiente



Figura 10. Tanques fibra de vidrio utilizado para producción de alimento en exteriores (mesocosmo).

calibre. El plancton seleccionado se adiciona dos veces al día en los tanques de cría larvaria, verificando que la densidad de presas sea la apropiada.

Cultivo de microalgas

La producción de cultivo monoalgal requiere una cepa pura previamente aislada del mar mediante proceso de atomizado, medio selectivo, presión osmótica o micropipetas (Fig.11). Pero resulta más práctico adquirir la cepa pura en los mercados especializados o laboratorios existentes en



Figura 11. Sala de cultivo de microalgas

el país. El procedimiento consiste en inocular en forma escalonada la especie de alga seleccionada, con el fin de mantener la pureza y vigor de la cepa. El cultivo se empieza en un tubo de 20 ml diariamente hasta el día 7, cuando el primer tubo es transferido a un erlenmeyer de 250 ml, y así sucesivamente en serie a erlenmeyers de 2 litros y recipientes transparentes de 30 y 300 litros de capacidad.

Los recipientes se disponen en estanterías y se mantienen a una intensidad de luz de 1.000 lux y a temperatura de 20-22 °C, suministrándoles aireación constante. El medio utilizado para el cultivo de la microalga contiene un preparado compuesto por agua de mar estéril; el medio específico para estas algas puede ser cualquiera de los siguientes: Guillard y Rither (F2), Conway, Clark's, etc. (Tabla 2).

Para el cultivo masivo, el agua de mar debe ser esterilizada, ya sea por medios físicos como microfiltros (1 µm), autoclaves o filtros UV o por medios químicos como la clorinación, acidificación u ozonización (Fig. 12). Sin embargo, si se dispone de agua de mar extraída del subsuelo con mecanismos apropiados, los procesos anteriores no son necesarios. La intensidad de luz debe ser mantenida entre los 1.000 y los 5.000

Tabla 2. Medios utilizados para cultivos de microalgas

GUILLARD Y RYTHER F/2		CONWAY	
Na NO ₃	75 mgr	Fe Cl ₃ 6 H ₂ O	2.6 gr
Na H ₂ PO ₄ H ₂ O	5 mgr	Mn Cl ₂ 4 4 H ₂ O	0.72 gr
Na ₂ SO ₃ 9H ₂ O	30 mgr	H ₃ BO ₃	67.20 gr
Metales trazo		EDTA	90 gr
Na ₂ EDTA	4.36 mgr	Na H ₂ PO ₄ 2 H ₂ O	40 gr
Fe Cl ₃ 6H ₂ O	3.15 mgr	Na NO ₃	200 gr
Cu SO ₄ 5 H ₂ O	0.01 mgr	Metales traza	2.0 ml
Zn SO ₄ 7H ₂ O	0.022 mgr	Agua destilada	2 litros
Co Cl ₂ 6 H ₂ O	0.01 mgr	Mezcla de vitaminas	100 ml
Mn Cl ₂ 4 H ₂ O	0.18 mgr	Metales traza	
Na ₂ Mo O ₄ 2 H ₂ O	0.006 mgr	Zn Cl ₂	2.1
Vitaminas		Co Cl ₂ 6 H ₂ O	2.0
Tiamina Hcl	0.1 mgr	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ - 4 H ₂ O	0.9
Biotina	0.5 microgramos	Cu SO ₄ 5 H ₂ O	2.0
B ₁₂	0.5 microgramos	H ₂ O destilada	100 ml
Agua de mar	1 litro	Mezcla de vitaminas	
		B ₁₂	100 mgr
		Bi	200 mgr
		Agua destilada	100 ml

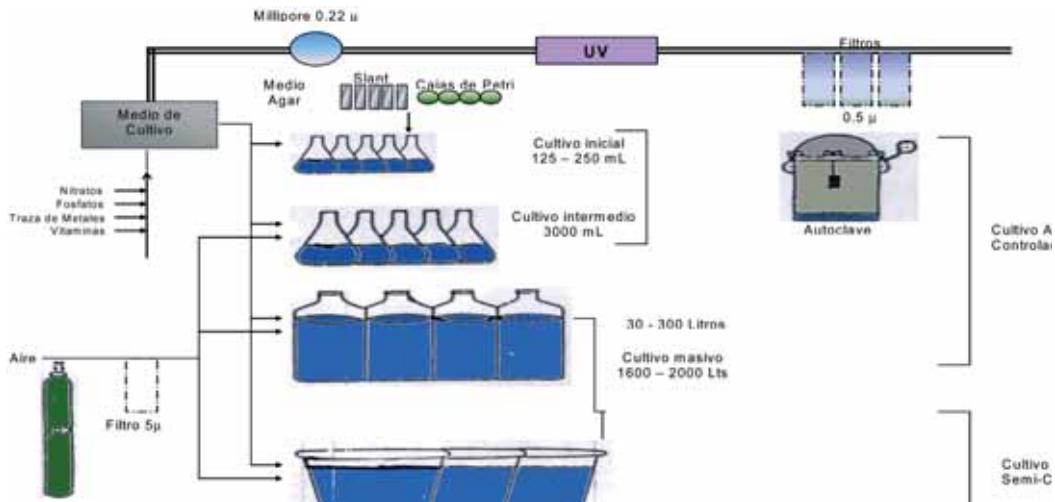


Figura 12. Diagrama de la secuencia de producción de microalgas

lux, dependiendo del tamaño de los recipientes, y el pH entre 7 y 9. Para resultados óptimos, la temperatura debe estar entre 25 y 28 °C y la salinidad alrededor de las 25 ppt. Cada tanque de 1-2 m³ que se coseche diariamente se reparte para alimento del cultivo de rotíferos y para los tanques de cría larvaria de los peces en las densidades adecuadas.

Cultivo de rotíferos

La cepa inicial puede ser conseguida y aislada del medio natural o adquirida en laboratorios comerciales. Los rotíferos se mantienen a densidades entre 2-200/ml en tubos de 50 ml, expuestos a luz fluorescente de 3.000 lux, 25 ppt de salinidad y 26-28 °C de temperatura. Los tubos se mantienen tapados, con al menos 10 ml de aire en su interior y con agitación periódica. Se alimenta cada tubo diariamente con 200 µl de concentrado de *Nannochloropsis sp.* (1×10^8 células/ml). Cuando la densidad de los rotíferos llega a 200/ml (más o menos una semana) se saca la mayor parte para su cultivo masivo y el resto se conserva en los tu-

bos para mantenimiento del stock. El cultivo masivo se inicia en 7 erlenmeyers de 500 ml puestos en frente de tubos fluorescentes de 5.000 lux. La temperatura en los recipientes no debe sobrepasar los 30 °C. Se inoculan los rotíferos a densidad de 50/ml en 400 ml de *Nannochloropsis sp.* a densidad de $1-6 \times 10^6$ células/ml. Cada día se agregan 50 ml adicionales del mismo cultivo de algas. A los 3 días la densidad de rotíferos debe alcanzar 200/ml. Durante el período descrito no se suministra aireación. Alcanzada la densidad de 200-300 rotíferos/ml, los mismos son sacados y lavados en filtro sumergido de 50 µm, para ser transferidos a una densidad de 50/ml en 7 recipientes de 15 litros con 2 litros de agua filtrada y aireación moderada. Se les agrega diariamente *Nannochloropsis sp.* (1.6×10^6 células/ml). Luego de una semana, los recipientes deben estar llenos y la densidad de rotíferos en ellos debe alcanzar al menos los 200/ml, momento en el que son transferidos a 7 tanques de 1-2 m³. Estos tanques se llenan a la mitad con algas a densidad de $13-14 \times 10^6$ células/ml y se inoculan con rotíferos a densidad de 100/ml. El primer día se agrega levadura dos veces en can-

tividad de 0.25g/10⁶ rotíferos. El día siguiente los tanques se llenan completamente con algas en la misma proporción y se agregan 0.37g de levadura por millón de rotíferos. Al tercer día los rotíferos se dan como alimento en los tanques de cría larvaria y el ciclo continúa en la misma forma.

Eclosión de artemia salina

Las latas de quistes se adquieren en el mercado y en lo posible se trabaja con quistes desencapsulados. Para su desencapsulación, los quistes (100g/l) se hidratan por 1 hora en agua de mar con aireación a temperatura aproximada de 25 °C. Luego se tratan con una solución de hipoclorito de sodio a 0.5 g de ingrediente activo en 14 ml de agua de mar por gramo de quistes por 5-15 min, manteniendo la temperatura por debajo de los 40 °C con la ayuda de hielo o agua fría externamente. Durante este proceso los quistes se deben mantener en suspensión mediante aireación. Cuando los quistes se tornen anaranjados se ponen sobre malla de 125 µm y se lavan hasta que no se sienta olor a cloro. Se pasan por una solución de HCl 0.1N o de Na₂S₂O₃ al 0.1% por menos de 1 minuto para desactivar el hipoclorito y se vuelven a lavar con agua de mar abundante. Una vez desencapsulados, los quistes pueden usarse directamente para su eclosión o almacenarse en un refrigerador a 0-4 °C por varios días. La eclosión de los quistes se realiza en recipientes transparentes de fondo cónico con aireación para mantener el oxígeno por encima de 2 mg/l. La temperatura debe ser mantenida preferentemente entre 25-28 °C, la salinidad entre 28-38 ppt y el pH alrededor de 8. La densidad debe estar alrededor de los 2 g/l y se debe proveer iluminación de unos 2.000 lux en la superficie de los recipientes de eclosión. La eclosión de los quistes empezará hacia las 12-16

h de incubación y se extenderá posiblemente hasta las 24 h. Con el fin de cosechar los nauplios, se suspende la aireación. A los 5-10 minutos los desechos flotarán y pueden ser removidos mientras que los nauplios y quistes sin eclosionar se mantendrán en el fondo. Por intermedio de la válvula de fondo de los recipientes o mediante sifoneo se sacan primero los quistes sin eclosionar, que pueden ser devueltos al recipiente, y luego los nauplios que se recogen en filtro sumergido de menos de 150 µm y son administrados a los tanques de cultivo larvario en la densidad apropiada tan pronto como sea posible. Cuando se necesite enriquecer los nauplios de *Artemia* con HUFA (ácidos grasos altamente insaturados), inmediatamente después de su eclosión se transfieren a un tanque de enriquecimiento por 24 h a densidad de 300 nauplios/ml. El tanque contendrá agua de mar desinfectada, a una temperatura de 25 °C y con fuerte aireación, a la cual se ha agregado una emulsión comercial de HUFA en dosis consecutivas de 300 mg/l cada 12 h. A las 24 h se cosechan los nauplios enriquecidos, se lavan y se dan como alimento a las larvas de peces en los tanques de cría larvaria.

Parámetros físico-químicos y biológicos

Durante el proceso de la reproducción y cría larvaria se deberán tomar los parámetros físico-químicos más importantes diariamente: Temperatura, salinidad, pH, turbidez, oxígeno disuelto, análisis de Amonio, Nitritos, Nitratos y Fosfatos. Se realizará un monitoreo de las condiciones biológicas: sobrevivencia de larvas, estado sanitario de los reproductores, abundancia de alimento natural en los mesocosmos, realizando conteos de fitoplancton y zooplancton.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- ÁLVAREZ, R. Y O. G. HERNÁNDEZ. 2001. Producción de juveniles de peces estuarinos para un centro en América Latina y el Caribe: diseño, operación y tecnologías. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 424 p.
- AQUACOP F., J., G. NEDELEC Y E. GASSET. 1989. Selection of finfish species as candidates for aquaculture in French Polynesia. En: *Advances in Tropical Aquaculture*, Tahiti, February 20- March 4: Actes de Colloques 9, AQUACOP-IFREMER: 561-484.
- CANO, A. 1997. Informe de la cooperación técnica de la OFCF (Japón) para la producción de semilla de pargo *Lutjanus guttatus* en la República de Panamá. 33 p.
- COLURA, R. L., A. HENDERSON- ARZAPALO Y F. MACROSOSKI. 1991. Culture of reed drum *Sciaenops ocellatus*. En: Mckey, J. P. (Ed.). *C. r. C. Hand Book of Mariculture. Finfish Aquaculture*. Boca Raton, Florida, vol. 2: 149-166.
- CERVIGÓN, F. 1983. La Acuicultura en Venezuela: Estado actual y perspectivas. Editorial Arte . Caracas, Venezuela. 121 p.
- CHAITANAWISUTI, N. Y S. PIYATIRATITIRA-VORAKUL. 1994. Studies on cage culture of red snapper *Lutjanus argentimaculatus*, with special emphasis on growth and economics. *Journal Aquaculture trop*. Vol. 9. (4): 269-278.
- DOI, M. Y T. SINGHAGRAIWAN. 1993. Biology and culture of the red snapper *Lutjanus argentimaculatus*. The Research Project of Fishery Resource Development. Thailand. 51 p.
- DURAY, M. N., L. ALPASAN Y C. B. ESTUDILLO. 1996. Improved hatchery earing of mangrove red snapper *Lutjanus argentimaculatus* in large tanks with small riter (Brachionus plicatilis) and Artemia. *ISR. J Aquaculture*. Bamidgeh. Vol. 48 (3): 123-132.
- EMATA, A. C., B. EULLARAN Y T. BAGARINAO. 1994. Induced spawning and early life description of the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. *Aquaculture*. Vol. 121 (4): 381-387.
- FAO FISHERIES INFORMATION, D.S.U. 1997. Aquaculture production statistics 1986-1995. FAO Fisheries Circular 815, Rev. 9, Rome, FAO. 195 p.
- FAO, 1999. El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura. FAO, 1998. Roma. 112 p.
- GARRET, R. N. 1994. Hatchery breeding of mangrove Jack *Lutjanus argentimaculatus* and barramundi *Lates calcarifer* Australian barramundi farming. Workshop. Brisbane. Q. L. D. Australia. 16 p.
- GÓMEZ-GASPAR, A. Y F. CERVIGÓN. 1987. Perspectivas del cultivo de peces marinos en el Caribe sur y nordeste de Sudamérica. *Revista Latinoamericana de Acuicultura*. Vol. 34: 40-50.
- HERRERA, M. E. A. 1994. Desarrollo científico y tecnológico para el cultivo de pargos (*Lutjanus* sp.) en jaulas flotantes. Secretaría de pesca. Subsecretaría de fomento y desarrollo pesquero. Instituto de Acuicultura del Estado de Sonora, México. 84 p.
- HICKLING, C. F. 1970. Estuarine Fish Farming. *Adv. Mar. Biol.*, 8: 119-213.
- MOSQUERA, C. W. 1999. Cultivo experimental de pargos (*Lutjanus* sp.) en jaulas flotantes en un sistema de encierros naturales en el Golfo de Tortugas. Pacífico colombiano. Tesis de grado. Universidad del Valle. Cali. Colombia. 80 p.
- MUHLIA, M. A., D. GUERRERO, J. RODRÍGUEZ, J. ARRIZU Y F. GUTIÉRREZ. 1996. Growth and survival of the pargo amarillo *Lutjanus argentiventris* related to density in experimental conditions in tidal ponds in La Paz. Baja California. México. *World Aquaculture* 96. Thailandia. 265 p.
- NELSON, J. S. 1994. *Fishes of the world*. 3 Ed. John Wiley and Sons Inc. New York, USA. 600 p.
- OCAMPO, P. 1990. Aplicación de técnicas de cultivo en jaulas flotantes para peces y camarones en zonas estuarinas de Bahía Málaga. Pacífico colombiano 10 pp.
- OCAMPO, P. Y E. RUBIO. 1989. Fomento a la pesca artesanal de camarones y peces en jaulas flotantes, una alternativa a la pesca artesanal, comunidad de la Plata. Corporación Valle del Cauca – CVC– Informe final. 40 p.

- PARRISH, J. D. 1987. The trophic biology of snappers and groupers. En: J. J. Polovina y S. Ralston (Eds.). Tropical snappers and groupers. Biology and fisheries management. Boulder, Colorado. Weistview Press. 405-463.
- PRUGININ, Y. Y B. CIRLIN. 1975. Techniques used in controlled breeding and production of larvae and fry in Israel. EIFAC Tech. Pap. (25): 90-100.
- RIASCOS, M. Z. 1999. Ensayos de crecimiento de pargos (Pisces: Lutjanidae) utilizando jaulas flotantes en zonas estuarinas de la bahía de Buenaventura. Tesis de grado. Universidad del Valle. Cali, Colombia. 75 p.
- RUBIO, E. A. 1988. Peces de importancia comercial para el Pacífico colombiano. Centro de publicaciones. Universidad del valle. Cali. Colombia. 500 p.
- SEAFDEC. 1997. A hatchery rearing method for the mangrove red snapper. SEAFDEC, Asian Aquaculture, vol.19 (1): 1-5.
- SINGHAGRAIWAN, T. Y M. DOI. 1993. Induced spawning and larval rearing of the red snapper *Lutjanus argentimaculatus* at the eastern marine fisheries development center. Thai Mar. Fish. Res. Bull. vol. 4: 45-57.
- THOUARD, E.; P. SOLETCHNICK Y J. P. MARION. 1989. Selection of finfish species for Acuaquaculture development in Martinique (F.W.I.). In: Advances in Tropical Acuaquaculture. Tahiti, February 20 March 4: Actes de Colloques 9 AQUACOP – IFREMER. 499-510.
- THRESHER, R. E. 1984. Reproduction in reef fishes. Neptune City, USA.: T. F. H. Publications.
- TUCKER, J. Y D. E. JORY. 1991. Marine fish culture in the Caribbean region world Aquaculture, 22(1): 10-27.
- VALVERDE, P. J., J. H. GAMBOA Y E. E. SÁNCHEZ. 1998. Cultivo de la lisa *Mugil curema* en canales intermareales y del pargo de esteros *Lutjanus aratus* en jaulas flotantes. Santa Clara. Bahía de Buenaventura, Pacífico colombiano. Informe final. Programa de Pesca INPA/VECEP. Buenaventura. Colombia. 30 p.
- VALVERDE, J. Y H. GAMBOA. 2003. falta...
- WU, R. S. S. 1989. Biological and economic factors in the selection of cultured fish species and the development of a bio-economic model. In: Advances in Tropical Aquaculture. Tahiti, February 20- March 4: Actes de Colloques, 9: 437-444.

