



ENSAYO DE REPRODUCCIÓN INDUCIDA EN *Ariopsis seemanni* CON
GONADOTROPINA CORIONICA HUMANA Y EXTRACTO HIPOFISIARIO DE
CARPA

VICTOR HUGO ESPINEL CARDENAS

UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA

INSTITUTO DE POSTGRADOS

FACULTAD DE INGENIERÍA

MAESTRIA EN ACUICULTURA Y ECOLOGIA ACUÁTICA TROPICAL

SANTA MARTA, MAGDALENA, COLOMBIA

2017

ENSAYO DE REPRODUCCIÓN INDUCIDA EN *Ariopsis seemanni* CON
GONADOTROPINA CORIONICA HUMANA Y EXTRACTO HIPOFISIARIO DE
CARPA

VICTOR HUGO ESPINEL CARDENAS

Tesis de Grado para optar el título de
Magíster en Acuicultura y Ecología Acuática Tropical

ADRIANA RODRIGUEZ FORERO – PhD

Directora

UNIVERSIDAD DEL MAGDALENA

INSTITUTO DE POSTGRADOS

FACULTAD DE INGENIERÍA

MAESTRIA EN ACUICULTURA Y ECOLOGIA ACUÁTICA TROPICAL

SANTA MARTA, MAGDALENA, COLOMBIA

2017

Nota de Aceptación

*Los miembros de la Comisión revisan la tesis de Magister de **VICTOR HUGO ESPINEL CARDENAS**, la han encontrado satisfactoria y recomiendan su aceptación como requisito para obtener el grado de Magister en Acuicultura y Ecología Acuática Tropical.*

Jurado

Jurado

Santa Marta, Magdalena, Colombia

DECLARACIÓN DEL AUTOR

Acorde con el artículo 25 del Código Contencioso Administrativo, los conceptos publicados en este documento, no comprometen la responsabilidad de la Dirección Nacional de Derecho de Autor, ni son de obligatorio cumplimiento o ejecución.

Declaro que el contenido del presente documento es producto de mi propia investigación, por ello de mi entera autoría. Toda la información proveniente de otros trabajos está debidamente identificada con su respectiva referencia y se incluye en la bibliografía.

DEDICATORIA

A DIOS padre y a nuestro señor Jesucristo
por haberme concedido la vida y todo

A la memoria de mis padres
Nelly y Luis (QEPD), que siempre creyeron en mí, dieron su amor
a mi vida y siempre están conmigo

A mi hijo Andrés la maravillosa motivación que Dios dio a mi vida.

A mi hermano Luis, mis sobrinas Viviam y Sandra y a mi hermosa Gabriela

A mis familiares que siempre están en mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible realizarlo gracias a la ayuda de personas e instituciones a quienes deseo expresar mis agradecimientos:

A la Dra. Adriana Rodríguez Forero, por su comprensión, apoyo, acompañamiento en sacar adelante este trabajo; sus aportes, su guía y su fe en nosotros a quienes el tiempo y oportunidades nos estaban olvidando.

A la Universidad del Magdalena, sus docentes, funcionarios y amigos que brindaron su tiempo y espacios en esta enseñanza académica de vida.

Al Dr. Frank Chapman por su amistad, enseñanzas, consejos, aportes, apoyo, ayuda, acompañamiento y dedicación para este logro.

A la Dra. Lury García, su amistad, apoyo, colaboración y esfuerzo para que esta oportunidad de Maestría llegara a ser realidad para nosotros.

A mis amigos, Pedro Tabares y Sandra Lamouroux por su amistad y apoyo.

A los pescadores de Bahía Málaga, Segundo y David Molano, por su valioso trabajo y ayuda, a los Tecnólogos Stiven Arrechea, Jessi Molano y Doris Palacios por su ayuda y colaboración.

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN.....	5
3. OBJETIVOS.....	7
3.1 Objetivo general.....	7
3.2 Objetivos específicos.....	7
4. MARCO TEÓRICO.....	8
4.1. Indicadores biológico reproductivos.....	8
4.1.1 Factor de condición simple de Fulton (K).....	9
4.1.2 Índice gonadosomático (IG)	10
4.1.3 Maduración gonádica en peces	10
4.1.4 Fecundidad	12
4.2 Factores exógenos que inciden en la reproducción de los peces	12
4.3 Aspectos endocrinológicos de la reproducción en peces Teleósteos	15
4.4 Inducción con hormonas exógenas	15
4.5 Tipos de hormonas utilizadas en reproducción inducida	16
4.5.1 Extractos pituitarios o productos con base a pituitaria de peces.....	16
4.5.1.1 Gonadotropinas purificadas de peces	17
4.5.1.2 Gonadotropinas de mamíferos	18
4.5.1.3 Hormonas liberadoras de gonadotropinas (GnRH y LH-RH) y sus análogos (GnRH _a y LH-RH _a).	18
4.5.2 Kisspeptinas.....	20

4.6	Metodologías en la práctica de la reproducción inducida	22
4.7	Descripción la especie	26
4.8	Antecedentes para la especie de estudio	27
4.9.	Hipótesis	28
5.	METODOLOGÍA	29
5.1	Localización área	29
5.2.	Material biológico	30
5.3	Manejo de los peces	31
5.3.1	Registros de longitud y peso de los peces	31
5.3.2	Parámetros biológicos	32
5.3.2.1	Proporción sexual entre hembras y machos	32
5.3.2.2	Índice gonadosomático	32
5.3.2.3	Relación peso - longitud	33
5.3.2.4	Factor de Condición (K)	34
5.3.2.5	Estado de madurez gonadal	34
5.3.2.6	Determinación de ovulación	34
5.3.2.7	Cantidad oocitos en estado de maduración	35
5.4	Diseño experimental	35
5.4.1	Unidades experimentales	35
5.4.2	Tratamientos hormonales	35
5.4.3	Dosificación, tratamientos hormonales	36
5.5	Registros de parámetros fisicoquímicos del agua	37
5.6	Análisis estadístico	38
6.	RESULTADOS	39

6.1	Reconocimiento de madurez sexual en reproductores	39
6.2	Registros biométricos de longitud y peso	40
6.3	Parámetros biológicos	40
6.3.1	Relación peso – longitud	40
6.3.2	Proporción sexual entre hembras y machos	43
6.3.3	Índice Gonadosomático (IGS) y Factor de condición Fulton (K)	43
6.3.4	Estado de madurez gonadal	44
6.3.5	Fecundidad	44
6.4	Respuesta reproductiva a los tratamientos hormonales	46
6.4.1	Comportamiento de los peces.....	50
6.5	Registros de parámetros fisicoquímicos del agua	50
7.	DISCUSIÓN	51
7.1	Reconocimiento de madurez sexual en reproductores	51
7.2	Registros biométricos	52
7.2.1	Longitud y peso	52
7.2.2.	Relación peso – longitud.	53
7.3	Parámetros biológicos	54
7.3.1	Proporción sexual entre hembras y machos	54
7.3.2	Indicadores reproductivos	55
7.3.2.1	Índice gonadosomático (IGS)	55
7.3.2.2.	Factor de condición simple de Fulton (K)	56
7.3.2.3	Madurez gonadal	58
7.3.2.4	Fecundidad	59
7.4	Respuesta reproductiva a los tratamientos hormonales	60

7.5 Parámetros fisicoquímicos.....	62
CONCLUSIONES	63
RECOMENDACIONES	64
BIBLIOGRAFIA.....	65

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos hormonales con base en el peso vivo de la hembra <i>Ariopsis seemanni</i>	36
Tabla 2. Peso (g) y longitud total LT (cm) de reproductores de <i>Ariopsis seemanni</i> en cada tratamiento.	41
Tabla 3. Longitud Total (LT), peso (W) peso gonadal (Wg), índice gonadosomático (IGS) y factor de condición de Fulton (K), para cada hembra de <i>Ariopsis seemanni</i> en cada tratamiento	45
Tabla 4. Respuesta reproductiva en hembras de <i>Ariopsis seemanni</i> , IGS, cantidad de oocitos en maduración en un ensayo de reproducción inducida (n= 24).	47
Tabla 5 Valores promedio diámetros (mm) oocitos en maduración en cada una de las hembras de cada tratamiento (n=24).	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Factores ambientales que modifican la amplitud y la fase de los ritmos biológicos reproductivos en los peces teleósteos.	13
Figura 2. Área experimental para ensayo de reproducción inducida en <i>Ariopsis seemanni</i>	29
Figura 3. Imágenes zona de captura de peces de <i>Ariopsis seemanni</i>	30
Figura 4. Peces adultos de <i>Ariopsis seemanni</i> separados por sexos (fotos: izquierda- machos, derecha- hembras)	31
Figura 5. Medidas de longitud y peso en peces <i>Ariopsis seemanni</i>	32
Figura 6. Aplicación dosis hormonal en <i>Ariopsis seemanni</i>	37
Figura 7. Signos externos de madurez sexual en hembras de <i>Ariopsis seemanni</i>	39
Figura 8. (A) Relación peso – longitud en hembras de <i>A. seemanni</i> (n=24); (B) Relación peso – longitud en machos de <i>A. seemanni</i> (n=24).....	42
Figura 9. Cantidad de oocitos en maduración por cada tratamiento, en hembras de <i>Ariopsis seemanni</i>	48
Figura 10. Gónadas y oocitos en maduración en hembras de <i>Ariopsis seemanni</i> inducidas hormonalmente.....	48
Figura 11. Oocitos de hembras de <i>Ariopsis seemanni</i>	48

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1.....	73
Anexo 2.....	75

RESUMEN

El bagre marino *Ariopsis seemanni* hace parte de la tradición alimenticia en pescadores y pobladores de la región pacífica colombiana. Los peces de menor tamaño (5 a 10 cm), tienen un alto comercio como ornamentales a nivel nacional e internacional. La presión pesquera ejercida históricamente de manera indiscriminada sobre la especie establece un escenario de poca viabilidad para su sostenibilidad y la recuperación natural de su población. La información científica obtenida sobre su biología, se constituye en una herramienta base para la creación de estrategias de manejo y alternativas acuícolas en la reproducción de la especie. Esta investigación propuso realizar la descripción macroscópica de madurez sexual, de su fecundidad, índice gonadosomático y factor de condición, en hembras utilizadas en un ensayo de desove inducido con gonadotropina coriónica humana (HCG) y extracto de hipofisis de carpa (EPC). Se utilizaron 24 parejas de peces, con un peso promedio de 263.6 ± 42.2 g y 174.4 ± 30.4 g para hembras y machos, respectivamente. Se utilizaron cuatro tratamientos hormonales: T₁: 5 mg EPC/kg; T₂: 7 mg EPC/kg; T₃: 2000 UI HGC/kg y T₄: 1000 UI HGC/kg. En este ensayo, no se obtuvo desove en ninguna de las hembras inducidas con las dosis utilizadas de HCG y EPC. Tampoco se observaron diferencias significativas entre los tratamientos hormonales sobre la cantidad de oocitos en maduración final encontrados en las hembras de cada tratamiento. La fecundidad media fue de 30.07 ± 2.34 oocitos maduros, con tamaño aproximado de 13 a 14 mm de diámetro. Los tratamientos hormonales utilizados lograron inducir maduración final en los oocitos de las hembras de esta especie.

Palabras clave: bagre, canchimalo, EPC, HGC, inducción.

ABSTRACT

The tete sea catfish *Ariopsis seemanni* is part of the food tradition fishermen and residents of Colombian Pacific region. The smaller fish (5-10 cm) have a high trade as ornamental fish at a national and international level. Historically fishing pressure indiscriminately on the species establishes a scenario of low viability in sustainability and natural recovery of the population of the species. We get scientific information on their biology, and its constituted as a basic tool in aquaculture management strategies and alternatives in the reproduction of the species. The aim of this research was: to describe the macroscopic determination of sexual maturity, fecundity, gonadosomatic index and condition factor in females used in a trial of induced spawning with human chorionic gonadotropin (HCG) and carp pituitary extract (EPC). Twenty four pairs of fish were used, with an average weight of 263.6 ± 42.2 g and 174.4 ± 30.4 g for females and males, respectively. Four hormonal treatments were used T₁: 5mg EPC/kg; T₂: 7mg EPC/kg; T₃: 2000 UI HGC/kg and T₄: 1000 UI HGC/kg. In this trial, no spawning was obtained in any of the females induced with HCG and EPC. No was observed a significant difference between hormonal treatments on amount of final maturation oocytes found in females from each treatment was observed either. The average fertility rate was 30.07 ± 2.34 mature oocytes, with approximate size of 13 to 14 mm in diameter. The hormonal treatments used were able to induce final maturation in the oocytes of the females of this species

Key words: catfish, canchimalo, EPC, HCG, induction.

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura desde el siglo XX, se ha convertido en una práctica sobresaliente en la producción de alimentos de necesidad mundial; mostrando un crecimiento superior a actividades tradicionales de la producción agrícola y agropecuaria (AUNAP, 2015). Ello ha conllevado en muchos países, al desarrollo de investigaciones, a fin de mejorar los niveles de producción, a contrarrestar los efectos de las enfermedades en los cultivos, a implementar sistemas, infraestructuras y tecnologías de producción hacia una eficiencia en el uso de los recursos naturales; así como también hacia el estudio de especies antes no consideradas, que pueden tener grandes posibilidades de incorporarse a la acuicultura.

La reproducción es el proceso biológico más importante de los organismos, ya que de él depende la supervivencia y perpetuación de las especies; por lo tanto, el control de los ciclos reproductivos de las especies ícticas sometidas a cultivo, es uno de los factores más importantes para asegurar el éxito de la acuicultura y constituye requisito indispensable para la introducción de nuevas especies a los sistemas de producción (Cruz-Casallas *et al.*, 2006).

Desde hace algunos años en Colombia se ha generado un interés por algunas especies de peces del orden de los Silúridos. En especies dulceacuícolas como: el Bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*), el Yaque (*Leiarius marmoratus*), el Capaz (*Pimelodus grosskopffi*), el Cajaro (*Phractocephalus hemiliopterus*), el Blanquillo (*Sorubim lima*), el Nicuro (*Pimelodus blochii*), el Mapurito (*Callophysus macropterus*), el Capitán de la sabana (*Eremophilus mutisii*) y el Tigrito (*Pimelodus pictus*) (Rodríguez-Pulido & Mojica-Benítez, 2005), se han realizado diferentes investigaciones sobre biología, así como también en aspectos reproductivos.

En el caso de los bagres marinos se han desarrollado escasas investigaciones y, específicamente para la especie de estudio no se conocen trabajos en reproducción inducida.

La especie *Ariopsis seemanni*, es un tipo de bagre marino presente en la costa pacífica colombiana, donde tradicionalmente los peces de mayor tamaño, han sido parte del consumo alimenticio de pobladores costeros. Esta especie también presenta en años recientes (últimas dos décadas) una alta presión pesquera sobre todo en la etapa juvenil, entendiéndose, como peces de corta longitud (5 a 10 cm), los cuales son altamente comercializados como peces ornamentales de origen marino, hacia un ambiente dulceacuícola particular, en la “acuariofilia” nacional e internacional (Lasso *et. al.*, 2011). Todos los peces que se destinan a este comercio ornamental, son capturados en las costas del Pacífico, pero son comercializados nacionalmente en centros de ciudades capitales (Cali, Medellín, entre otras) y exportados principalmente por vía aérea desde Bogotá a otros países.

Obtener conocimiento de aspectos biológicos de *Ariopsis seemanni*, es una herramienta útil para el manejo del recurso pesquero, igualmente para las prácticas acuícolas de reproducción, producción de semilla (alevinos) y procesos de cultivo.

La reproducción inducida es una alternativa en la producción de alevinos, dadas las condiciones reproductivas encontradas en esta especie. En el presente estudio se presentan los resultados obtenidos de un ensayo de reproducción inducida en peces silvestres adultos maduros sexualmente del Canchimalo *Ariopsis seemanni*. La información generada sobre la biología se constituye en un aporte en la construcción del conocimiento científico sobre la reproducción en cautiverio de la especie.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

El aprovechamiento a través de los años del bagre marino Canchimalo (*Ariopsis seemanni* Günther, 1864), como especie de consumo, capturada mediante diferentes artes y técnicas de pesca: artesanal (atarrayas y anzuelos); industrial (redes de arrastre y demás), sumado a otros factores (contaminación, “desarrollo” humano, prácticas pesqueras no sostenibles ni sustentables, entre otros), que han degradado el ecosistema marino, han ocasionado la disminución del *stock* pesquero de la especie, al igual que en muchas otras especies presentes en el Pacífico colombiano (Lasso *et. al.*, 2011).

A *seemanni* se comercializa como especie ornamental en el mercado nacional e internacional y también es una fuente de proteína para consumo humano. Esta especie en sus primeros meses de vida, es llamada “tiburoncito” por su aparente similitud en forma a un tiburón adulto. Estos peces son capturados del medio natural; su pesca ha estado autorizada por la legislación mediante el decreto 3532 de 2007 del Instituto Colombiano de Desarrollo Rural - INCODER (Imprenta Nacional, 2007) y la terminación de los permisos de su aprovechamiento como especie ornamental mediante la resolución 1924 de 2015 de la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca – AUNAP (AUNAP, 2015, Imprenta Nacional, 2015), que permiten su aprovechamiento y ante los cuales, no hay una medida sostenible establecida y regulada o alguna actividad acuícola planteada desde las entidades oficiales del estado o desde lo privado, que contribuya a una recuperación del *stock* con acciones de repoblamiento; se debe comprender que la pesca de los juveniles de la especie afectan directamente el “*reclutamiento*” en la población, como proceso *per se* de recuperación natural que existe para este tipo de especies ícticas.

Tomando en consideración los planteamientos que se expresan en la Agenda Nacional de Investigación en Acuicultura de 2011-2012 (MADR & IICA, 2011),

sobre las necesidades en el desarrollo de investigaciones en especies marinas y potenciales para la acuicultura, es importante y prioritario desarrollar investigaciones en *Ariopsis seemanni*, ya que actualmente es la única especie marina ornamental autorizada para su comercialización nacional e internacional. Esta investigación ofrece aportes al conocimiento en aspectos biológicos de la especie, así como también insumos en la construcción de una técnica alternativa de reproducción para salvaguardar el recurso.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar parámetros reproductivos y realizar ensayos de reproducción inducida como requerimientos para el control del ciclo reproductivo en el bagre marino *Ariopsis seemanni*.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Determinar macroscópicamente signos externos de madurez sexual, en hembras.

3.2.2 Determinar parámetros biológicos de proporción sexual, la relación peso-longitud, factor de condición, índice gonadosomático, estado de madurez gonadal y fecundidad en hembras.

3.2.3 Evaluar el efecto de tratamientos hormonales con gonadotropina corionica humana y extracto de hipofisis de carpa, sobre la respuesta reproductiva en hembras.

4. MARCO TEÓRICO

La reproducción es el proceso biológico más importante de los organismos, de este depende la supervivencia y perpetuación de las especies; el control de los ciclos reproductivos en las especies ícticas en cultivo, es uno de los factores más importantes para asegurar el éxito de la acuicultura y constituye uno de los requisitos indispensables para la introducción de nuevas especies a los sistemas de producción (Cruz-Casallas *et. al.*, 2006).

Es bien sabido que en algunos procesos de reproducción con especies ícticas no se logra la maduración final y el desove espontáneo, debido al estrés por causa del cautiverio y la falta de los estímulos ambientales naturales adecuados que ejerzan el efecto apropiado para la liberación de sustancias endocrinas propias para la maduración final y desove de los gametos. La práctica de inducción hormonal exógena se ha utilizado como una estrategia para la reproducción artificial (Zohar & Mylonas, 2001).

4.1. Indicadores biológico reproductivos.

La evaluación gonádica de hembras y machos tiene implicaciones desde el punto de vista ecológico y de cultivo. En lo ecológico, se requieren establecer parámetros como proporción de hembras y machos que garanticen la fecundación, la primera edad de madurez sexual, establecimiento de época o periodo reproductivo, etc.; todos ellos necesarios e involucrados en el manejo de recursos pesqueros. En lo relacionado a especies sujetas para cultivos acuícolas, además de lo anteriormente mencionado, se requiere precisar en que momento del ciclo reproductivo se encuentra la especie, para seleccionar los peces adecuados para procesos de inducción a la madurez sexual o a la sincronía en la liberación de los gametos (Rodríguez-Gutierrez, 1992).

El manejo de índices biológico reproductivos, permite usarlos como indicadores del estado fisiológico, de las características fenotípicas o caracterizar la fase reproductiva, que al igual que en otro organismo esta influenciada por factores del ambiente, la calidad, cantidad y disponibilidad de alimento, etc. Algunos de estos índices requieren del sacrificio del pez, pero son mejores indicadores del ciclo reproductivo y son de gran utilidad para establecer la fase en la escala internacional de madurez gonádica; su uso se recomienda para evaluar poblaciones silvestres, para realizar investigaciones de una especie en la que se desconoce, así también para ponderar el efecto de hormonas empleadas, etc. (Rodriguez-Gutierrez, 1992).

4.1.1 Factor de condición simple de Fulton (K)

Lo expresado por Rodriguez-Gutierrez (1992), sobre el factor de condición simple de Fulton, se refiere a que este índice esta basado en la relación que guarda la longitud total del pez respecto a su peso y explica fundamentalmente el grado de bienestar que guarda relación en el cambio de la corpulencia durante su vida. Esta relación puede ser grande o pequeña, progresiva o cíclica relacionada directamente con su crecimiento y/o madurez sexual. Este índice no indica que tan grande, largo y robusto es el pez, sino que determina el estado fisiológico en términos numéricos.

Como las proporciones somáticas permanecen constantes durante su crecimiento se propuso la fórmula:

$$K = W / L^3$$

Ricker (1958) propuso utilizar L^b en lugar de L^3 , donde “b” es la pendiente de la regresión peso-longitud. Medina (1980) agrega 100, convirtiendo la fórmula en:

$$K = [W / L^b] * 100$$

Dónde: W: es el peso del ejemplar en gramos; L: longitud total del ejemplar en centímetros; y b: el coeficiente de la regresión peso – longitud.

4.1.2 Índice gonadosomático (IG)

Rodriguez-Gutierrez (1992), hace referencia a que el índice gonadosomático se basa en que el peso de la gónada con respecto al peso total del pez guarda una relación directamente proporcional, que explica el estadio de desarrollo gonádico, ya que alcanza un valor máximo inmediatamente antes del desove. De tal manera que al evaluar una población durante un ciclo anual el valor máximo se alcanza antes de la reproducción, y los “picos” de la gráfica indican el número de desoves posibles en un año. Su uso establece el estadio de maduración durante el ciclo reproductivo, aunque algunos autores lo utilizan como un indicador del efecto de hormonas a nivel de la gónada.

Rossenblum, *et. al.* (1987), propusieron la fórmula:

$$IGS = [(W_g) / (W_t)] * 100$$

Dónde: W_g: es el peso de la gónada en gramos. W_t: es el peso total del pez en gramos

4.1.3 Maduración gonádica en peces

Rodriguez-Gutierrez (1992), se refiere a que en la mayoría de las especies el ciclo reproductivo es anual, pero en otras especies como las migratorias es bianual o mayor en algunas como el esturión. Lo que hace que el periodo de desarrollo varíe considerablemente entre las diferentes especies; lo que ha generado una gran variedad de escalas para explicar el ciclo reproductivo de algunos grupos de peces: escala de Poulsin (Gádidos), escala de Heincke-Mayer (Pleuronéctidos),

escala de Nedoshiving (Esturiones), escala de Kulaev y Meien (Ciprinidos y Percas), escala de Clark (sardinias), escala de Bückman (mayoría de teleósteos), etc. Todas ellas están basadas en una escala universal que es el crecimiento y la maduración de la gónada, tomando en consideración que existen diferencias no solo en el tiempo en alcanzar el primer desove sino también entre desoves sucesivos.

La escala empírica de Nikolsky (1963), establece los siguientes estadios de maduración gonádica:

- Estadio I: Individuos vírgenes
- Estadio II: los gametos aún no han empezado su desarrollo, las gónadas están a lo largo de la cavidad celómica pero tienen tamaño pequeño. Los óvulos no se distinguen a simple vista
- Estadio III: **Madurando**. Los óvulos son visibles a simple vista. Los testículos cambian de transparente a color palo de rosa. Las gónadas incrementan su peso rápidamente
- Estadio IV. **Maduro**. Los gametos están maduros. Las gónadas han alcanzado su peso máximo, pero los gametos no son expulsados aún a suave presión del abdomen
- Estadio V: **Reproducción**. Los gametos salen a ligera presión. El peso de la gónada decrece rápidamente por el inicio del proceso de desove
- Estadio VI. **Gastado**. Los gametos ya fueron expulsados. La gónada parece un saco vacío, generalmente permanecen pocos óvulos en las hembras (de acuerdo al tipo de desarrollo del ovario) o espermias en los machos

4.1.4 Fecundidad

Rodriguez-Gutierrez (1992), hace referencia a que la fecundidad y fertilidad aportan datos de importancia para conocer el potencial reproductivo de una especie. La fecundidad está definida como el número de huevos maduros encontrados en el ovario de la hembra, justo antes del desove, mientras que la fertilidad se refiere al número de huevos desovados. La fecundidad se puede cuantificar de tres maneras diferentes. La primera es la fecundidad absoluta, que es el número de huevos que se encuentra en el ovario y se aplica a nivel del individuo. La segunda es la fecundidad relativa, que se obtiene del número de huevos respecto a la unidad de peso; y la tercera es la fecundidad de la población que es la suma de las fecundidades absoluta y relativas y por tanto es el número de huevos desovados en una temporada.

4.2 Factores exógenos que inciden en la reproducción de los peces

Generalmente, los factores ambientales (estrés, temperatura, fotoperiodo, factores sociales, alimento, sustrato, vegetación entre otros), son los responsables del inicio del complejo proceso endocrino de la reproducción de los peces, e igualmente son capaces de alterar la amplitud de un ritmo endocrino, pudiendo llevar incluso a la desaparición de los mismos y por tanto a la pérdida de la función reproductora que controlan (Figura 1) (Carrillo *et. al.*, 2009).

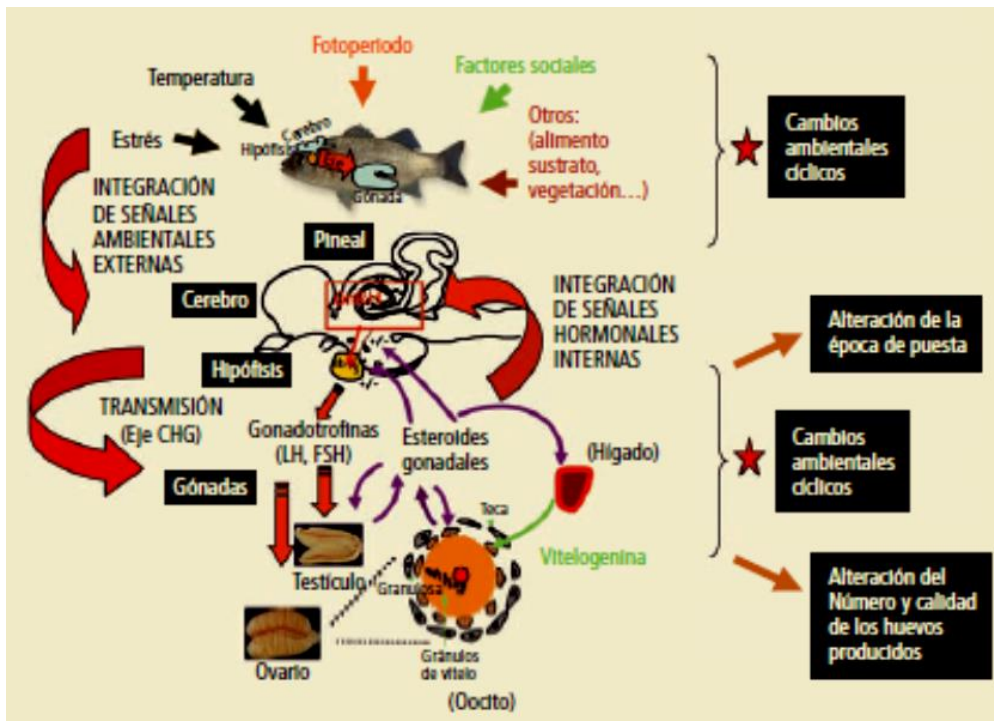


Figura 1. Factores ambientales que modifican la amplitud y la fase de los ritmos biológicos reproductivos en los peces teleosteos.

(Fuente Carrillo et. al., 2009).

Los peces tropicales tienden a desovar continuamente durante todo el año o mostrar picos asociados con la temporada de lluvias. Por ejemplo, en el pez cuchillo *Eigenmannia virescens*, una combinación de lluvia simulada, con un aumento de los niveles de agua y la disminución de la conductividad inducen una gametogénesis y desove completo, lo que no ocurre si los parámetros se prueban individualmente. Para otras especies tropicales de los géneros *Maculatus*, *Pimelodus*, *Piaractus*, *Colossoma*, entre otras especies tropicales, la lluvia parece tener papel decisivo en la maduración final y desove (Da Silva-Ribeiro & Guimarães-Moreira, 2012)

La temperatura y el fotoperíodo afectan la secreción y la capacidad de respuesta de la hipófisis para hormonas gonadotrópicas (hormona luteinizante - LH y la hormona estimulante del folículo - FSH), tanto en peces habitantes de clima

templado y tropical (Da Silva-Ribeiro & Guimarães-Moreira, 2012). En especies de regiones templadas que se reproducen en la primavera o principios del verano, el crecimiento gonadal es estimulado por un largo fotoperiodo, por lo general en combinación con altas temperaturas, como en el caso de la carpa, así como en las especies que se reproducen en el otoño o principios de invierno, donde el crecimiento gonadal es estimulado por la disminución del fotoperiodo, como para la mayoría de los salmónidos (Da Silva-Ribeiro & Guimarães-Moreira, 2012); estos factores pueden modular la acción de las hormonas en todos los niveles de control de la reproducción, especialmente en la ovulación y el desove (Da Silva-Ribeiro & Guimarães-Moreira, 2012).

Para algunas especies de bagres como el *Bagre marinus*, factores sociales como la presencia y el comportamiento de machos, juegan un papel importante en los aspectos reproductivos, debido a que los machos incuban los huevos. La táctica reproductiva de incubación oral en esta especie incrementa la supervivencia de los pequeños juveniles en el medio marino - estuarino (Segura-Berttolini & Mendoza-Carranza, 2013)

Para hembras del bagre de canal (*Ictalurus punctatus*), en ambientes naturales, a menudo desovan bajo troncos o en cavidades excavadas por los machos. Este aspecto ha sido considerado por muchos acuicultores de esta especie, que han utilizado contenedores fabricados en diferentes materiales (cajones en madera), "cantinas" de aluminio (usadas para almacenar leche de vacunos), como sustrato, refugio y sitio de desove de las hembras de esta especie (Kelly, 2004). Los bagres de canal son "reproductores de cavidad" y se les debe proporcionar un sitio de anidación cerrado para el desove (Tucker, 1966; Tucker & Hargreaves, 2004)

4.3 Aspectos endocrinológicos de la reproducción en peces Teleósteos

Existen dos tipos de gonadotropinas producidas y secretadas por parte de las células gonadotrópicas localizadas en la glándula hipófisis: 1) gonadotropina tipo I o vitelogénica que interviene en el proceso de incorporación de vitelo al citoplasma del oocito y 2) gonadotropina tipo II o maduracional, que interviene en el proceso de esteroidogénesis, espermatogénesis, espermiogénesis, espermiación, maduración del oocito y ovulación (Zohar, 1989; Nagahama, 1994; Nagahama *et al.*, 1995).

4.4 Inducción con hormonas exógenas

Entre algunos de los factores de tipo exógeno que influyen sobre el ciclo reproductivo están: el ciclo lunar, la temperatura, el fotoperiodo (Carrillo, Zanuy y Bayarri, 2009), presencia y/o ausencia e intensidad de lluvias (Harvey y Hoar, 1980), el sustrato para el desove (Tucker, 1996), entre otros.

El desarrollo gonadal puede ser influenciado y controlado mediante la manipulación de algunos de los factores ambientales anteriormente mencionados. Sin embargo, debido a la complejidad de sincronizar estos factores, los elevados costos que implica la implementación y mantenimiento de un sistema que controle éstas variables, existe una forma práctica y confiable de inducción de la puesta (desove) mediante el uso de sustancias químicas exógenas como hormonas que estimulan el normal desarrollo gonadal (Harvey & Hoar, 1980).

El tratamiento hormonal en la reproducción inducida plantea como objetivos: 1) obtener gametos de una especie, aún en una época diferente a la de su reproducción natural en el medio ambiente, alargando el período de disponibilidad de alevines, 2) mejorar la planificación de la producción, gracias a la sincronización de grupos de reproductores para ovular y producir esperma en

épocas predeterminadas y 3) obtener elevados porcentajes de fecundidad, eclosión de las ovas y sobrevivencia de larvas (Harvey & Hoar, 1980)

4.5 Tipos de hormonas utilizadas en reproducción inducida

4.5.1 Extractos pituitarios o productos con base a pituitaria de peces

La inducción del desove de peces en cautiverio, mediante hormonas exógenas tuvo sus inicios en los años 1930 con el desarrollo del método conocido como hipofisación, que utiliza suspensiones o concentrados de glándulas hipófisis por su contenido de gonadotropina (Patiño, 1997).

A partir del año 1970 se recurrió a la utilización de técnicas, como la purificación de la gonadotropina y la síntesis de derivados hormonales, actuando en un nivel superior ó inferior al de la gonadotropina en el control hormonal del desarrollo gonadal (Nagahama, 1983).

Hasta mediados de la década de 1970, la inducción estaba limitada a la hipofisación. Sin embargo, la técnica presenta varias desventajas como: 1) falta de estandarización de las dosis utilizadas, por cuanto las hipófisis son tomadas de peces con grado variable de madurez sexual, reflejándose en la variación de la potencialidad de los extractos utilizados, 2) presencia de otras hormonas en la hipófisis, que puede causar efectos adversos al esperado, inhibiendo o modificando el efecto de las gonadotropinas, 3) se necesita una gran cantidad de peces donantes con menor o igual valor comercial que los reproductores a ser inducidos y 4) en el caso de utilizar pituitarias heteroplásticas el pez al que se las suministra, genera anticuerpos contra la gonadotropina inicialmente inyectada, lo que reduce considerablemente la efectividad de subsecuentes hipofisaciones,

llegando incluso a ser totalmente inactivada la hormona por la reacción inmunitaria del pez (Donalson & Hunter, 1983).

4.5.1.1 Gonadotropinas purificadas de peces

Desde 1970 se viene produciendo gonadotropina purificada de peces, debido a que estos compuestos presentan una mayor efectividad que los extractos de pituitaria, en inducir la ovulación y espermiación de los peces en cautiverio. Las gonadotropinas purificadas o parcialmente purificadas han sido obtenidas a partir de varias especies: carpa común (*Cyprinus carpio*), salmones (*Oncorhynchus tshawytscha*, *Oncorhynchus keta*, *Oncorhynchus gorbuscha*), bagre (*Heteropneustes fossilis*), tilapias (*Oreochromis mossambicus*, *Sarotherodon spirilus*), lenguado (*Pseudopleuronectes americanus*) y anguila (*Muraenesox cinereus*) (Donalson & Hunter, 1983).

La alta especificidad biológica de las hormonas gonadotropas, considera que la hormona de una especie no tenga los efectos esperados sobre el proceso reproductor de otra especie. Una de las principales desventajas que presentan estos compuestos ha sido su elevado costo de purificación. Este tipo de compuestos se utilizan en procesos de investigación por presentar algunas ventajas: 1) son más o menos libres de otras hormonas pituitarias, 2) pueden ser almacenadas por varios años sin perder su actividad; y 3) presentan una potencialidad estandarizada. La hormona SG-G100, parcialmente purificada de gonadotropina del salmón del pacífico (*Oncorhynchus sp.*), ha sido utilizada para inducir la ovulación y espermiación de las siguientes especies: dorado (*Carassius auratus*), bagre (*Heteropneustes fossilis*), lisa (*Mugil cephalus*), ayu (*Plecoglossus altivelis*), sabalote (*Chanos chanos*), lenguado japonés (*Limanda yokohamae*), pacú (*Colossoma mitrei*) y salmones (*Oncorhynchus kisutch*, *Oncorhynchus tshawytscha*) (Donalson & Hunter, 1983).

4.5.1.2 Gonadotropinas de mamíferos

Este tipo de gonadotropinas son de origen pituitario, como la hormona luteinizante (LH), hormona folículo estimulante (HFS) o la hormona placentaria gonadotropina coriónica humana (HGC) (Donalson & Hunter, 1983). El mecanismo de acción de estas hormonas consiste en dirigirse a las gónadas actuando sinérgicamente con las gonadotropinas propias del pez, para inducir a la producción de esteroides sexuales que son los mediadores directos del desarrollo gonadal y puesta (Harvey & Hoar, 1980).

La Hormona Gonadotropina Coriónica (HGC), es producida por la placenta y se encuentra en grandes cantidades en la orina de la mujer durante los primeros meses del embarazo, lo que permitió su fácil obtención para fines comerciales. La HGC presenta la ventaja de ser adquirida fácilmente como un producto comercial con una cantidad estandarizada de gonadotropina (Donalson & Hunter, 1983).

4.5.1.3 Hormonas liberadoras de gonadotropinas (GnRH y LH-RH) y sus análogos (GnRHa y LH-RHa).

Las hormonas liberadoras de gonadotropinas (GnRH) son moléculas pequeñas (decapeptidos) que realizan el control de la glándula hipófisis en su producción de gonadotropinas (LH y FSH o GtH-I y GtH-II). Con la fabricación de análogos sintéticos (LH-RHa y GnRHa) más potentes y de mayor duración que los nativos, se produjo un uso masificado. Los preparados sintéticos o análogos son nonapeptidos. En la mayoría de ellos se han sustituido los aminoácidos de las posiciones 6, 7 y 8 en relación a la molécula de GnRH de mamíferos y carecen de glicina en posición 10; siendo utilizados en varias especies como la carpa,

salmónidos, lubina, lisa, perca amarilla, esturiones, entre otras especies (Valdebenito, 2008).

Entre las ventajas de la aplicación de GnRH en la inducción al desove en peces sobre los preparados de GtH, se mencionan: 1) Las GnRH son pequeñas moléculas que no generan respuestas inmunes en los peces receptores, por lo que pueden ser utilizadas repetidas veces; 2) Las GnRH “reparan” y permiten la maduración final de los gametos reduciendo las alteraciones endocrinas producidas por el cautiverio; 3) Las GnRH se producen a nivel del hipotálamo, el cual controla la secreción de otras hormonas importantes en la homeostasis del pez, como son la prolactina, somatotropina y tirotropina; 4) El poder sintetizarlas y obtenerlas en forma pura reducen el costo, son más eficaces y evitan el riesgo de transmitir enfermedades a los peces receptores; y 5) Finalmente, la estructura molecular de estas hormonas es muy similar en muchos animales, lo que permite su uso en un gran número de especies con gran efectividad (Zohar & Mylonas, 2001).

Una inyección de GnRH induce un incremento inmediato en los niveles plasmáticos de GtH en muchos peces, pero durante un periodo corto de tiempo durante el cual se debe activar la maduración final de los oocitos, la espermiación o la puesta. La corta vida media de las GnRH es producto de la acción de endopeptidasas ubicadas en la hipófisis, hígado y riñón que actúan en los enlaces peptídicos en posición 5-6 y 9-10, transformándola en pequeños fragmentos inactivos. En los análogos sintéticos, se han sustituido en esas posiciones aminoácidos D y con etilamida, respectivamente, esto los hace resistentes a la acción enzimática y presentan una vida media mucho mayor que las hormonas nativas (aproximadamente 23 y 5 min, respectivamente) y la calidad de las puestas no difiere de la obtenida en los peces controles (Zohar & Mylonas, 2001). De esta manera, la GnRH permanece en circulación mucho más tiempo y estimula una mayor producción de GtH por más tiempo. Además, pueden

presentar una mayor afinidad por los receptores de la hipófisis (Zohar & Mylonas, 2001).

Estos factores dan como resultado una acción 30 a 100 veces más potente en los análogos y requieren dosis mucho más bajas que las hormonas nativas. De 1 a 15 mg de GtH/kg de pez frente a 1 a 100 µg de GnRH α /kg de pez (Valdebenito, 2008).

4.5.2 Kisspeptinas

El esquema clásico de control neuroendocrino de la reproducción que ha estado vigente durante las últimas décadas, y que implica a los sistemas neurohormonales GnRH como inductores de la secreción de gonadotropinas (FSH y LH) en células hipofisarias, las cuales actúan, a su vez, sobre las gónadas para inducir los procesos de gametogénesis y esteroidogénesis gonadal, se ha visto revolucionado por el descubrimiento de las kisspeptinas, codificadas por el gen KiSS-1, y que actúan sobre un receptor de membrana acoplado a la proteína G denominado GPR54 (Roa y Tena-Sempere, 2007).

Se ha descrito la presencia del ARNm de KiSS-1 en células del hipotálamo (núcleo arcuato y núcleo anteroventral periventricular), la expresión de los receptores GPR54 en las células GnRH, y una activación de la expresión de FSH y LH dependiente de GnRH tras la inyección periférica o intracerebroventricular de kisspeptina, así como una elevación considerable de los niveles de los ARNm de KiSS-1 y GPR54 al inicio de la pubertad. Los resultados de las investigaciones sugieren que las kisspeptinas y su receptor GPR54 están implicados en la activación peripuberal de las neuronas GnRH y en la liberación de GnRH hipotalámica, y representan factores críticos en la inducción de la cascada reproductiva que conduce a la pubertad. Además, las kisspeptinas se han

relacionado con el ciclo reproductivo en adultos y con la secreción de gonadotrofinas durante el ciclo ovárico, la gestación y la lactancia (Muñoz-Cueto, 2009).

La expresión de KiSS-1 (ARNm y péptido) y su receptor en el ovario y las experiencias que demuestran que la expresión hipotalámica de KiSS-1 está controlada por las hormonas esteroides gonadales, sugieren un importante papel de las neuronas KiSS-1 en la retroalimentación positiva y negativa del estradiol sobre la secreción de gonadotrofinas, y refuerzan el creciente papel de estos péptidos y su receptor en el control neuroendocrino de la reproducción (Muñoz-Cueto, 2009)..

Las secuencias de cDNA (ADN complementario) del gen KiSS-1 se han identificado en los peces: Cebra, Lamprea marina, Medaka, Fugu y Tetraodon. Asimismo, se han identificado las secuencias de su receptor GPR54 en algunas especies de peces como *Danio rerio*, *Oreochromis niloticus*, *Mugil cephalus*, *Rachycentron canadum*, *Micropogonias undulatus*, *Solea senegalensis* o *Pimephales promelas* (Muñoz-Cueto, 2009)..

En tilapia, se ha observado que el receptor GPR54 se expresa en las neuronas GnRH-1, GnRH-2 y GnRH-3 y que el número de neuronas GnRH que expresan GPR54 es mayor en machos maduros que en machos inmaduros. Se ha propuesto que la expresión de GPR54 es una señal necesaria para detener la migración de las neuronas GnRH-1, GnRH-2, y GnRH-3 y para un normal desarrollo del eje reproductivo. En la Cobia, las variaciones conjuntas en la expresión de los ARNm de GPR54 y las diferentes formas de GnRH durante el desarrollo larvario y juvenil y la pubertad también refuerzan la importancia de GPR54 en el control de la maduración de los sistemas GnRH y en su secreción durante estos procesos. Los resultados anteriores son consistentes con los obtenidos en *Pimephales promelas* que muestran una variación conjunta en la

expresión cerebral de GPR54 y la forma GnRH3 en estadios tempranos de la pubertad, y una estimulación de la expresión de ambos genes por la kisspeptina 10. En *Mugil cephalus*, los estadios de pubertad temprana se caracterizan también por una mayor expresión cerebral de GPR54 en relación con los estadios intermedios y avanzados, y la expresión de GPR54 también experimenta cambios en la gónada durante el proceso de pubertad. Los anteriores estudios representan una novedosa línea de acción de considerable interés para el esclarecimiento de los mecanismos neuroendocrinos que regulan la pubertad y la reproducción en peces (Muñoz-Cueto, 2009).

4.6 Metodologías en la práctica de la reproducción inducida

1) Manejo de reproductores: en algunos casos son capturados del medio natural y llevados al laboratorio donde son desinfectados, tratando de adaptarlos a las nuevas condiciones (Acevedo & Angel, 1999).

2) Diagnóstico de madurez gonadal del reproductor: mediante evaluación directa de acuerdo con sus características sexuales secundarias: presencia de signos evidentes de maduración: desarrollo exagerado de la región ventral en las hembras, los músculos ventrales un poco blandos, papila urogenital rojiza y dilatada con los pliegues de terminación del oviducto proyectados hacia fuera (Acevedo & Angel, 1999). En algunos casos la hinchazón abdominal no es garantía absoluta de ovulación o cercanía a la ovoposición, por ello se aconseja el método de biopsia ovárica que permite la evaluación directa de los oocitos (Zanuy & Carrillo, 1987).

Obtenidas las muestras de los oocitos, se examinan al microscopio con el fin de determinar el estado de maduración. De acuerdo a la posición del núcleo el estado de madurez de los oocitos, se puede dividir en tres tipos o fases: huevos con

núcleo central son inmaduros y no viables para la inducción; huevos cuyo núcleo está migrando, tienen las mayores posibilidades para la ovulación o inducción hormonal y por último huevos con núcleo periférico o maduro son inservibles para efectos de inducción hormonal. Se considera óptimo, si se presenta entre un 15-40% de los oocitos con el núcleo migrando (Acevedo & Angel, 1999).

3) Dosis hormonal, administración y método de inyección: la ovulación es generalmente inducida por la aplicación de hormonas (extracto pituitario o gonadotropina) en dos dosis, la primera se denomina dosis preparatoria o estimulante y la segunda dosis resolutive o definitiva. A los machos casi siempre se les inyecta una sola dosis, junto con la aplicación de la segunda inyección de la dosis en las hembras. El lapso entre las dos inyecciones se ha determinado experimentalmente (Harvey & Hoar, 1980). La inyección intramuscular de hormonas y extractos es la técnica más utilizada, aunque a veces se practica la inyección intraperitoneal, la cual cuando no se tiene experticia, puede dañar los órganos internos, y se puede producir pérdida de extracto al inyectarlo inadecuadamente en el intestino ofreciendo pocas ventajas (Acevedo & Angel, 1999).

4) Periodo entre dosis hormonales: la variación del intervalo de dos inyecciones consecutivas, depende del tipo del material inyectado, el estado de madurez gonadal del receptor, lugar de administración de la inyección, la temperatura y la vida media de los materiales inyectados (Zanuy & Carrillo, 1987). Cuando se intenta acelerar la vitelogénesis, las inyecciones se administran espaciadamente, pero si se trata de conseguir el desove, el intervalo es más corto. A su vez, la tasa de desaparición de la hormona en la sangre, varía entre otros con la temperatura, metabolismo o el estrés; por lo tanto el intervalo de la inyección depende de la temperatura del agua en el momento de aplicar el tratamiento (Zanuy & Carrillo, 1987).

5) Proceso de desove: la pre - ovulación comienza cuando el núcleo de la célula empieza a desplazarse desde el centro hacia la periferia, y el oocito absorbe fluidos (proceso de hidratación). La ovulación comienza con la desaparición de la capa folicular del oocitocelular, la concentración de los cromosomas y termina con la primera división meiótica. Al mismo tiempo, el folículo, que mantiene los huevos sujetos a la pared del ovario se rompe, se disuelve parcialmente y los oocitos caen a la cavidad ovárica. La masa de óvulos puede ya fluir libremente por el poro genital. Este proceso final de maduración toma cierto tiempo y depende en buena parte de la temperatura del agua en el medio. En la práctica, es necesario conocer el intervalo o periodo de latencia expresado en “horas-grados”, basado en la temperatura del agua del tanque en que se hallan los reproductores y que se estima registrando la temperatura cada hora, desde la aplicación de la dosis final, hasta la ovulación completa; sumando las cifras obtenidas (Woynarovich & Horváth, 1980).

De manera resumida para comprender el efecto que puede producir un tratamiento hormonal en hembras inducidas, se considera como respuesta reproductiva, tres eventos relacionados: 1) Maduración de oocitos, morfológicamente caracterizada por el inicio o reanudación de la migración de la vesícula germinal hacia el polo animal y la posterior ruptura de la vesícula germinal, además se produce una clarificación del vitelo y un marcado incremento de tamaño. En esta etapa concluye la primera división meiótica con la expulsión del primer cuerpo polar, para nuevamente volver a detenerse, esta vez en metafase de la segunda división, para luego ser ovulado y eventualmente desovado; 2) Ovulación, cuando los oocitos maduros son liberados al celoma (ovario gimnovárico) o interior del saco ovárico (ovario cistovárico); y 3) Desove, en el cual los oocitos son expulsados por la hembra fuera del cuerpo al exterior (Valdebenito *et. al.*, 2011).

5) Proceso de fecundación artificial (metodos seco, y semi-seco): el método, seco consiste en la recolección de oocitos en vasijas, a la que posteriormente se adiciona el semen, si se efectúa con rapidez, se obtiene una alta fecundación, de lo contrario el índice puede ser bajo, debido a que la motilidad del espermatozoide en el medio acuoso es típica de 30 a 90 segundos. Además, el oocito absorbe agua hidratándose y el micrópilo se cierra impidiendo la entrada del esperma). El método semi-seco consiste en primero activar el semen y la mezcla agregársela rápidamente a los huevos. (Woynarovich & Horváth, 1980).

6) Proceso de incubación de ovas: una vez fertilizados, los huevos empiezan a desarrollarse. Generalmente suelen colocarse en diferentes tipos de incubadoras. El desarrollo de las ovas es un proceso rápido, especialmente si se trata de peces tropicales y subtropicales. Algunos de los requisitos importantes a tener en cuenta para realizar el trabajo apropiado durante la incubación son: temperatura constante y adecuada del agua, buena concentración de oxígeno disuelto, flujo de agua que permita la eliminación de los metabolitos producidos por los huevos, eliminación de bacterias u otros organismos dañinos que se desarrollan en las materias orgánicas en las incubadoras, no presencia animales que dañen los huevos y reducción de efectos mecánicos que pueden causar sacudidas, choques, tirones o cualquier otra forma de daño mecánico a los huevos en desarrollo. Durante la incubación, los huevos completan su desarrollo embrionario dentro de la cubierta protectora del huevo y luego nacen las larvas, rompiendo esa cubierta (Woynarovich & Horváth, 1980).

4.7 Descripción la especie

Taxonomía

Phylum: *Chordata*

Clase: *Actinopterygii*

Orden: Siluriformes

Familia: *Ariidae*

Género: *Ariopsis*

Especie: *seemanni*

Nombre vulgar: Canchimalo, Tiburoncito

Nombres (otro idioma): Inglés *Tete sea catfish* Francés: *Mâchoiron Tété*

El Canchimalo (*Ariopsis seemanni*), es una especie íctica de ambientes marinos y salobres, se encuentra en zonas estuarinas de baja salinidad y en las desembocaduras de los ríos (Ortega, 1996; Ortega-Lara *et. al.*, 2011). Esta especie es endémica del Océano Pacífico Oriental, y se encuentra desde el sur del Golfo de California al norte de Perú (Fischer *et al.*, 1995; Cooke *et. al.*, 2010).

Morfológicamente presenta un cuerpo robusto y alargado, con cabeza aguzada y achatada, con un hocico levemente arqueado hacia abajo; boca ancha, subterminal; labios gruesos y crenulados. Ojo grande, comprendido de 4 a 7 veces en la longitud de la cabeza, y 1,6 a 2,8 veces en el espacio interorbitario carnoso. Escudo cefálico cubierto de numerosos gránulos medianos a grandes, extendiéndose hacia adelante en una amplia área triangular a cada lado del espacio interorbitario plano y liso; surco dorsal mediano ausente anteriormente,

estrecho y profundo posteriormente, casi alcanzando el proceso supraoccipital; este último es corto y triangular, con un ápice romo levemente redondeado, bordes laterales ligeramente convexos y una quilla mediana bien definida; placa predorsal estrecha y semilunar. Dientes de las mandíbulas y del paladar viliformes, estos últimos dispuestos en 4 placas: las vomerinas ovales, a menudo separadas en la línea media, pero contiguas a las placas laterales notoriamente más grandes y ovales. Los barbillones maxilares no alcanzan el borde posterior de la cabeza (adultos), pero son mucho más largos en los juveniles. Número total de branquiespinas en el primer arco branquial: 5 a 8 + 9 a 15; borde posterior del primer arco sin branquiespinas, el del segundo arco con 0 a 4 (todos los arcos restantes con branquiespinas). Base de la aleta adiposa 2/3 de aquella de la dorsal y situada por encima de los 2/3 posteriores de la anal; aleta anal con 17 a 20 radios; aletas pectorales con 1 espina y 10 a 11 radios, la espina aserrada a lo largo de su borde interno. Presenta un color azul-negruzco en el dorso, verde-violeta iridiscente en los flancos, plateado en el vientre; aletas oscuras, a excepción de manchas negras o marrón oscuras en las axilas y en la superficie dorsal de las pectorales y pélvicas; margen de la caudal a menudo negro (Fischer *et. al.*, 1995).

4.8 Antecedentes para la especie de estudio

Existe información general sobre diferentes aspectos de la biología en bagres marinos (Breder & Rosen, 1966; Etchevers, 1978), para las especies de bagres marinos en Colombia (Galvis-Cortes, 1983; Rubio *et. al.*, 1999; Betancur-R *et. al.*, 1999; Betancur-R. *et. al.*, 2004; Acero-P *et. al.*, 2005; Betancur-R & Acero-P., 2005; Olaya-Nieto & Arellano-Padilla, 2012; Sandoval-Londoño *et. al.*, 2015); pero son pocas las investigaciones encontradas específicamente sobre la especie *Ariopsis seemanni*. Estas se refieren principalmente a aspectos biológicos y ecológicos (Ortega, 1996), filogenéticos (Betancur *et. al.*, 2007), nutricionales

(Dallos-Rodríguez, 2007; Lamouroux-Lopez, 2014), morfológicos, relacionados con el encéfalo (Londoño & Hurtado-Giraldo, 2010), con el tracto digestivo (Gómez-Ramírez *et. al.*, 2010), con el nervio óptico (Castañeda-Cortés *et. al.*, 2013), con el ojo (Tovar-Bohórquez *et. al.*, 2013) y relacionados con el crecimiento y supervivencia en juveniles (García, Lozano & Chapman, 2016).

4.9. Hipótesis

H_0 : Los tratamientos hormonales utilizados no inducen maduración final de oocitos y desove en las hembras de *Ariopsis seemanni*.

H_1 : Los tratamientos hormonales utilizados inducen la maduración final de oocitos y desove en las hembras de *Ariopsis seemanni*.

5. METODOLOGÍA

5.1 Localización área

La fase experimental de la investigación se realizó en un área aproximada de 140 m², donde se adecuó un sistema de abastecimiento de agua y aireación y se ubicaron tanques plásticos. Adicionalmente se instalaron 24 incubadoras de forma similar a las del tipo Mc Donald, de fabricación artesanal (Figura 2). Se utilizó agua marina a condiciones de temperatura y salinidad ambiente presentes en las instalaciones de la estación acuícola Bahía Málaga de la AUNAP (3° 55'N y los 77° 21' O) (Cantera *et. al.*, 2014).

La Bahía Málaga está ubicada en la región central de la Costa Pacífica colombiana, es jurisdicción del Municipio de Buenaventura del cual se encuentra a una distancia aproximada de 36 kilómetros (Km) Presenta una temperatura ambiental promedio entre 26 a 28 grados centígrados (°C), humedad relativa del 90% y una pluviosidad promedio de 9.000 milímetros (mm) (PNNC, 2014)



Figura 2. Área experimental para ensayo de reproducción inducida en *Ariopsis seemanni*

5.2. Material biológico

Los peces utilizados fueron obtenidos del medio natural en la “quebrada Valencia” al interior del caserío de La Plata, 4° 02`16 N y 77° 13`47 O (Figura 3), en el mes de febrero de 2015.



Figura 3. Imágenes zona de captura de peces de *Ariopsis seemanni*

(Fuente: Google Maps, Google earth).

Los peces fueron capturados por pescadores artesanales de la región, utilizando pesca con anzuelo, chinchorro y atarraya. Se colectaron un total de 80 peces adultos que se trasladaron en lancha aproximadamente durante una hora de viaje, hasta la estación, donde se identificaron y se clasificaron por sexos y fueron colocados separadamente en dos tanques de 2.500 litros de capacidad (Figura 4), los cuales se llenaron hasta la mitad con agua de mar filtrada a 1 micra. Al momento de su recibo se observó en los peces presencia de heridas, daños corporales, mutilaciones, movilidad, entre otros.



Figura 4. Peces adultos de *Ariopsis seemanni* separados por sexos (fotos: izquierda- machos, derecha- hembras)

Los peces fueron mantenidos durante 24 horas, con un flujo continuo de agua de mar y aireación moderada en cada tanque.

5.3 Manejo de los peces

Para la manipulación de los peces durante el experimento, se utilizó como anestésico, aceite de clavo de olor LA-TOUR®, a una concentración de 10 ppm.

5.3.1 Registros de longitud y peso de los peces

De un total de 80 peces, se seleccionaron 24 hembras y 24 machos, a los cuales se les realizaron biometrías mediante un ictiómetro y un calibrador digital (Hopex modelo Werkzeuge, 0 a 200 mm), con los que se registraron longitud total y estándar; el peso se registró utilizando una balanza digital (Kern modelo PCB, 1.000 gramos (g), sensibilidad 0.1 g) (Figura 5).



Figura 5. Medidas de longitud y peso en peces *Ariopsis seemanni*

5.3.2 Parámetros biológicos

5.3.2.1 Proporción sexual entre hembras y machos

A partir de la población total de peces, se estimó la proporción sexual a través de caracteres fenotípicos (cantidad de orificios urogenitales, presencia de “carnosidad” en aleta pélvica en hembras). Para establecer si existieron diferencias significativas respecto a la proporción 1:1, se planteó una prueba estadística Z, considerando la hipótesis nula de igualdad en cantidad de hembras y machos (1:1) y la hipótesis alterna, que estas proporciones sean diferentes.

5.3.2.2 Índice gonadosomático

A partir de las medidas biométricas de las hembras: peso corporal y peso de la gónada; se calculó el índice gonadosomático (IGS) utilizando la ecuación propuesta por Rossenblum en 1987 (Rodríguez-Gutierrez, 1992):

$$\text{IGS} = [(W_g) / (W_t)] * 100$$

Donde:

W_g : peso de la gónada en gramos

W_t : peso total del pez en gramos

5.3.2.3 Relación peso - longitud

Con las medidas de cada uno de los reproductores de *A. seemanni*, se realizaron regresiones entre el peso (W) y la longitud total (LT). Para estimar la relación de peso y longitud, se tomó como referencia la ecuación potencial propuesta por Pauly (1984).

$$W = a * L^b$$

Dónde:

W : es el peso (g);

L : es la longitud (cm);

a y b : coeficientes de la regresión.

Para establecer el tipo de crecimiento, el coeficiente b de de la regresión fue analizado para determinar si era estadísticamente igual a 3 ($H_0: b=3$) crecimiento isométrico o diferente de 3 ($H_1: b \neq 3$) crecimiento alométrico; se estimaron los valores mediante la prueba estadística *t-student*, propuesta por Pauly (1984):

$$\hat{t} = \frac{sd(x)}{sd(y)} * \frac{|b - 3|}{\sqrt{1 - r^2}} * \sqrt{n - 2}$$

5.3.2.4 Factor de Condición (K)

El factor de condición simple de Fulton (K) fue calculado mediante la ecuación propuesta por Ricker en 1958 (Rodríguez-Gutierrez, 1992) y ajustada por Medina en 1980 (Rodríguez-Gutierrez, 1992).

$$K = [W / L^b] * 100$$

Dónde:

W: es el peso del ejemplar en gramos

L: longitud total del ejemplar en centímetros

b: coeficiente de la regresión peso – longitud.

5.3.2.5 Estado de madurez gonadal

En las hembras de *A. seemanni*, se tomaron como referencia los criterios planteados en la escala de madurez gonadal propuesta por Nikolsky (1963). Se hace la salvedad, de no haber podido determinar al inicio del experimento, la condición exacta de madurez en los oocitos (posición del núcleo en ellos) en las hembras, debido a la imposibilidad de canular las hembras y extraer oocitos.

5.3.2.6 Determinación de ovulación

Para reconocer el proceso de ovulación ocurrido en las hembras inducidas, se tomó en consideración encontrar oocitos expulsados por las hembras al ambiente o en su defecto, encontrar oocitos libres en el saco ovárico, que no presentasen conexión folicular con la pared de la gónada.

5.3.2.7 Cantidad oocitos en estado de maduración

Al final del experimento, a todas las hembras inducidas hormonalmente les fue practicada una disección *post mortem* para analizar sus gónadas. Se analizaron los oocitos presentes en los sacos ováricos. En cada una se tomaron en consideración todos los oocitos en estado de maduración y se determinó la cantidad de cada uno de estos oocitos, igualmente se estimó su diámetro.

5.4 Diseño experimental

5.4.1 Unidades experimentales

Se establecieron 24 unidades experimentales, cada una compuesta por una hembra y un macho. Cada una de las parejas de peces fue aleatoriamente ubicada en un tanque plástico de 120 L, con tapa, que tuvo un suministro y flujo constante de agua durante el experimento (Figura 2).

5.4.2 Tratamientos hormonales

Para evaluar el efecto de las hormonas sobre la respuesta reproductiva: maduración final, ovulación y desove en las hembras de *A. seemanni*, se plantearon cuatro tratamientos hormonales con base en el peso vivo de la hembra (Tabla 1).

Para los tratamientos T₁ y T₂ las cantidades pesadas (en una balanza analítica digital Marca Kern de capacidad de 300 g, sensibilidad 0.001 g) de extracto pituitario de carpa en estado sólido fueron disueltas en suero fisiológico

obteniendo dos soluciones de EPC líquida a concentraciones de 5 mg y 7 mg respectivamente.

Para la preparación de los tratamientos T₃ y T₄ con HGC, se utilizó la hormona marca Chorulon®, en presentación de ampolla individual de 10,000 UI.

Tabla 1. Tratamientos hormonales con base en el peso vivo de la hembra *Ariopsis seemanni*

Tratamiento	Dosis hormonal
T ₁	5 mg EPC/Kg peso
T ₂	7 mg EPC/Kg peso
T ₃	2000 UI HGC/Kg peso
T ₄	1000 UI HGC/Kg peso

5.4.3 Dosificación, tratamientos hormonales

Se utilizó un método de tratamiento hormonal invasivo agudo por inyección (Alvarez-Lajonchère & Hernández Molejón, 2001), empleando hormonas EPC y HGC, estableciendo dosis hormonales, con base en el peso de cada uno de los reproductores seleccionados. Para cada hembra en cada tratamiento, la cantidad de hormona a aplicar fue repartida en una inyección preliminar y una inyección definitiva. Para los tratamientos con base en EPC, la dosis preparatoria fue del 30% de la dosis total y la dosis resolutoria del 70%. Para los tratamientos con base en HGC, la dosis preparatoria y dosis final fue respectivamente del 50% del total de la dosis.

Cada una de las dosis hormonales fue inyectada en la base de la aleta pélvica de los peces (Figura 6), utilizando jeringas plásticas para insulina (1 ml x 31 g x 8mm). Entre las aplicaciones de las dosis transcurrieron 12 horas. Para todos los machos fue suministrada una sola dosis, igual a la mitad de la dosis total de la hembra planteada en cada tratamiento, esta dosis fue ajustada y acorde al peso e inyectada en el momento y tiempo que se aplicó la dosis definitiva en cada una de las hembras de cada tratamiento.



Figura 6. Aplicación dosis hormonal en *Ariopsis seemanni*

5.5 Registros de parámetros fisicoquímicos del agua

Se monitorearon parámetros del agua de mar así: en temperatura mediante un termómetro Brixco (0-50 sensibilidad 1°C), haciendo registros cada hora. La concentración de oxígeno disuelto (OD) y el porcentaje (%) de saturación fueron medidos con una sonda paramétrica (YSI, modelo 550^a), realizando registros cada seis horas. La salinidad fue determinada mediante un salinómetro refractómetro Atago® (modelo S10α), con mediciones cada 6 horas. Se determinó el flujo de agua mediante mediciones de aforo de caudal (litros/minuto) cada tres horas.

5.6 Análisis estadístico

Los datos obtenidos durante el experimento, fueron organizados en un archivo tipo Excel (Microsoft Office® versión 2010), que permitió manejo y proceso de estadística básica para indicadores de tendencia central (promedios), indicadores de dispersión (desviación estándar), y estimación de estadísticos (*t-student* y Z).

Los análisis estadísticos avanzados se efectuaron sobre un diseño experimental de clasificación simple, con una distribución completamente al azar (DCA), con cuatro tratamientos y seis réplicas por tratamiento, para 24 unidades asociadas al modelo y contrastadas al efecto de los tratamientos. Se utilizó el programa Statgraphics® Centurión XV versión 15.02.5, que permitió realizar análisis de varianza paramétrica de efectos fijos (ANOVA) simple, los análisis efectuados se realizaron a un nivel de confiabilidad al 95%. La aleatoriedad de los datos se verificó, mediante los supuestos de homocedasticidad (Levene's) y prueba de normalidad (Kolmogorov-Smirnov),

6. RESULTADOS

6.1 Reconocimiento de madurez sexual en reproductores

Macroscópicamente se reconocieron características morfológicas reproductivas en las hembras al inicio del experimento: abultamiento en el abdomen, enrojecimiento y leve proyección de la papila urogenital y carnosidad en el inicio de las aletas pélvicas, considerándolos como signos externos de madurez sexual. La Figura 7, ilustra de manera comparativa hembras que no presentan rasgos de madurez (A y C) y hembras que si los presentan (B, D y E).



Figura 7. Signos externos de madurez sexual en hembras de *Ariopsis seemanni*

6.2 Registros biométricos de longitud y peso

Las medidas biométricas de cada uno de los machos de cada tratamiento son presentados en la Tabla 2. Los registros de longitud total y peso de hembras de cada tratamiento son presentados en la Tabla 3.

6.3 Parámetros biológicos

6.3.1 Relación peso – longitud

Se obtuvieron las siguientes expresiones matemáticas de relaciones potenciales entre el peso (W) y longitud total (LT) en *A. seemanni*:

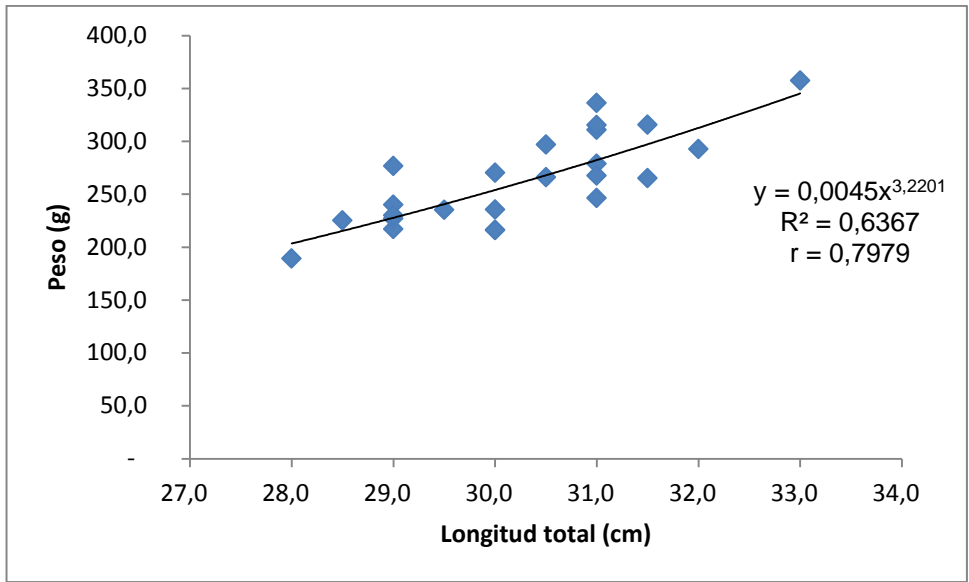
$$\text{Para hembras} \quad W = 0,0045 L^{3,2201} \quad R^2 = 0,6367 \quad n = 24$$

$$\text{Para machos} \quad W = 0,006 L^{3,1265} \quad R^2 = 0,7305 \quad n = 24$$

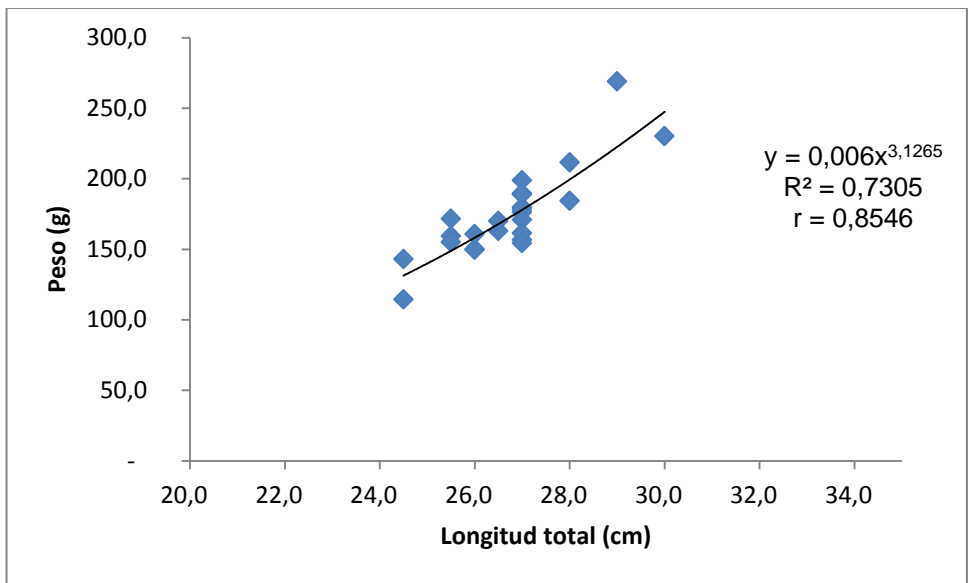
Las figura 8 presenta las relaciones potenciales entre el peso y la longitud total en hembras y machos respectivamente.

Tabla 2. Peso (g) y longitud total LT (cm) de reproductores de *Ariopsis seemanni* en cada tratamiento.

TRATAMIENTO	REPLICA	HEMBRAS		MACHOS	
		Peso (g)	LT (cm)	Peso (g)	LT (cm)
T₁: 5 mg EPC/Kg	R1	310,8	31,0	188,7	27,0
	R2	315,5	31,5	178,1	27,0
	R3	270,3	30,0	143,0	24,5
	R4	357,3	33,0	268,9	29,0
	R5	216,0	30,0	150,0	26,0
	R6	240,0	29,0	163,0	26,5
T₂: 7 mg EPC/Kg	R1	315,3	31,0	176,4	27,0
	R2	336,3	31,0	179,8	27,0
	R3	296,7	30,5	198,8	27,0
	R4	278,8	31,0	171,5	25,5
	R5	216,0	30,0	189,4	27,0
	R6	217,0	29,0	156,5	27,0
T₃: 2000 UI HGC/Kg	R1	265,0	31,5	170,8	27,0
	R2	276,5	29,0	230,0	30,0
	R3	266,0	30,5	161,4	27,0
	R4	292,6	32,0	149,5	26,0
	R5	227,0	29,0	159,3	25,5
	R6	230,0	29,0	114,3	24,5
T₄: 1000 UI HGC/Kg	R1	267,5	31,0	211,5	28,0
	R2	235,4	30,0	184,3	28,0
	R3	235,2	29,5	154,4	27,0
	R4	246,4	31,0	170,0	26,5
	R5	189,0	28,0	160,6	26,0
	R6	225,0	28,5	155,0	25,5



(A)



(B)

Figura 8. (A) Relación peso – longitud en hembras de *A. seemanni* (n=24); (B) Relación peso – longitud en machos de *A. seemanni* (n=24).

Los valores calculados de los coeficientes b de las relaciones potenciales de peso-longitud, en hembras ($b=3,2201$) y machos ($b=3,1265$), fueron estadísticamente iguales a 3 ($p<0,05$) ($t_{hembras} = 0,4244$), ($t_{machos} = 0,3124$), $t_{(95\% \ 22 \ DF)} = 0,9605$; lo cual determinó una condición de crecimiento isométrico en ambos sexos. Para una mayor comprensión del análisis efectuado, en la Tabla 4 exponen los planteamientos y consideraciones al respecto.

6.3.2 Proporción sexual entre hembras y machos

Del total de peces colectados ($n= 80$), se pudo determinar una muestra compuesta en la que se lograron identificar 45 hembras (56.2%) y 35 machos (43.7%), lo cual da una proporción de 1.2 a 1, hembras a machos respectivamente, no habiendo diferencias estadísticas significativas en cuanto a la proporción 1:1 ($Z_{calculado}= 1.11 < Z_{(0.025)} = 1.96$), (Anexo 2).

6.3.3 Índice Gonadosomático (IGS) y Factor de condición Fulton (K)

Los valores calculados de índice gonadosomático y factor de condición para cada una de las hembras utilizadas en el experimento se presentan en la Tabla 1. Para hembras de *A. seemani*, se obtuvieron promedios de IGS de 11.56 ± 2.6 y K de 0.91 ± 0.1 , en hembras con oocitos en maduración final; y de IGS de 1.4 ± 1.2 y K de 0.84 ± 0.1 , en hembras con oocitos inmaduros.

6.3.4 Estado de madurez gonadal

En cada una de las hembras adultas maduras de *A. seemanni*, en la cavidad abdominal por debajo de riñones y vejiga natatoria, se encontraron dos sacos ováricos, de similar tamaño, en condición cistovárica, los cuales ocupaban 2/3 partes de la cavidad abdominal. Estos sacos de color rosado amarillento, con irrigación de vasos sanguíneos, de un tamaño aproximado de 8 cm de largo y hasta 3 a 4 cm de diámetro en su punto máximo en su exterior, alojaban oocitos en diferente estado de desarrollo (Figura 11 y 12).

Las características en tamaño, vascularización y coloración que se reconocieron de la gonada, los tipos de oocitos y su desarrollo (tamaño, coloración y vascularización) y su ubicación dentro de cada saco ovárico, permitieron identificar un estado de madurez gonadal tipo IV en el cual se encuentra que los gametos están maduros pero no son expulsados de manera natural.

6.3.5 Fecundidad

La fecundidad media encontrada en las hembras de *A. seemanni* fue de 3.07 ± 1.02 para oocitos en maduración: tipo I, de 9.80 ± 1.86 para oocitos tipo II y de 17.20 ± 1.26 para oocitos tipo III; y la fecundidad promedio total fue de 30.07 ± 2.34 oocitos en maduración final (considerando las 15 hembras en las que se encontraron estos tipos de oocitos).

Tabla 3. Longitud Total (LT), peso (W) peso gonadal (Wg), índice gonadosomático (IGS) y factor de condición de Fulton (K), para cada hembra de *Ariopsis seemanni* en cada tratamiento

TRATAMIENTO	REPLICA	LT (cm)	W (g)	Wg (g)	IGS	K
T₁: 5 mg EPC/Kg	R1	31.0	310.8	45.81	14.74	0,97
	R2	31.5	315.5	47.23	14.97	0,94
	R3	30.0	270.3	0.19	0.07	0,93
	R4	33.0	357.3	60.56	16.95	0,92
	R5	30.0	216.0	0.13	0.06	0,74
	R6	29.0	240.0	0.14	0.06	0,91
T₂: 7 mg EPC/Kg	R1	31.0	315.3	28.44	9.02	0,98
	R2	31.0	336.3	32.35	9.62	1,05
	R3	30.5	296.7	25.16	8.48	0,97
	R4	31.0	278.8	22.22	7.97	0,87
	R5	30.0	216.0	2.53	1.17	0,74
	R6	29.0	217.0	2.56	1.18	0,83
T₃: 1000 UI HGC/Kg	R1	31.0	267.5	31.83	11.90	0.83
	R2	30.0	235.4	24.65	10.47	0.81
	R3	29.5	235.2	24.60	10.46	0.85
	R4	31.0	246.4	27.01	10.96	0.77
	R5	28.0	189.0	2.08	1.10	0.80
	R6	28.5	225.0	2.95	1.31	0.90
T₄: 2000 UIHGC/Kg	R1	31.5	265.0	8.90	3.36	0,79
	R2	29.0	276.5	33.24	12.02	1,05
	R3	30.5	266.0	30.78	11.57	0,87
	R4	32.0	292.6	37.22	12.72	0,83
	R5	29.0	227.0	6.54	2.88	0,86
	R6	29.0	230.0	6.69	2.91	0,88

6.4 Respuesta reproductiva a los tratamientos hormonales

Para cada una de las hembras la cantidad de oocitos en estado de madurez (oocitos tipo I, II y III), la respuesta a ovulación y al desove en cada tratamiento son presentados en la Tabla 4. Los valores cero en la tabla, hacen referencia a hembras en las cuales no se encontraron oocitos en maduración.

Se encontraron dos sacos ováricos, en los que se pudieron reconocer variados tipos de oocitos en relación al tamaño y a la coloración unos pequeños de color blanco identificados como oocitos inmaduros y otros de mayor tamaño diferenciados por coloración (Figuras 10 y 11). Estos oocitos se catalogaron como oocitos en maduración final, bajo la siguiente nomenclatura:

- Oocitos tipo I. Oocitos en estado de maduración, de coloración amarillo – anaranjado y alta vascularización periférica
- Oocitos tipo II. Oocitos en maduración, de coloración amarillo – verde, baja vascularización periférica
- Oocitos tipo III. Oocitos, de coloración verde claro translucido, escasa vascularización periférica

La tabla 5, presenta la cantidad de oocitos en estado de maduración observados en las hembras de *A. seemanni*. En cada uno de los tratamientos hormonales se observa la prevalencia de oocitos tipo III en las hembras que presentaron madurez en los tratamientos. La Figura 9 visualiza gráficamente las cantidades de oocitos en cada una de las hembras de cada tratamiento.

Tabla 4. Respuesta reproductiva en hembras de *Ariopsis seemanni*, IGS, cantidad de oocitos en maduración en un ensayo de reproducción inducida (n= 24).

Tratamiento	Répl.	Ovul.	Desov.	IGS	Oocitos Tipo I	Oocitos Tipo II	Oocitos Tipo III	Total Oocitos Mad.
T ₁ 5 mg EPC/kg	1	+	-	14.74	2	11	15	28
	2	+	-	14.97	2	9	17	28
	3	-	-	0.07	0	0	0	0
	4	+	-	16.95	1	8	19	28
	5	-	-	0.06	0	0	0	0
	6	-	-	0.06	0	0	0	0
T ₂ 7 mg EPC/kg	1	+	-	9.02	3	10	16	29
	2	+	-	9.62	5	8	17	30
	3	+	-	8.48	4	11	19	34
	4	+	-	7.97	4	9	17	30
	5	-	-	1.17	0	0	0	0
	6	-	-	1.18	0	0	0	0
T ₃ 1000 UI HGC/kg	1	+	-	11.90	3	11	18	32
	2	+	-	10.47	4	9	17	30
	3	+	-	10.46	4	11	17	32
	4	+	-	10.96	4	11	19	34
	5	-	-	1.10	0	0	0	0
	6	+	-	1.31	1	8	17	26
T ₄ 2000 UI HGC/kg	1	-	-	3.36	0	0	0	0
	2	+	-	12.02	2	9	17	28
	3	+	-	11.57	6	11	15	32
	4	+	-	12.72	1	11	18	30
	5	-	-	2.88	0	0	0	0
	6	-	-	2.91	0	0	0	0

Répl.= Réplica; Ovul.= Ovulación; IGS (Índice Goondasomático) Desov.= Desove; Mad.= Maduración.

+ evento ocurrido.

- evento no ocurrido .

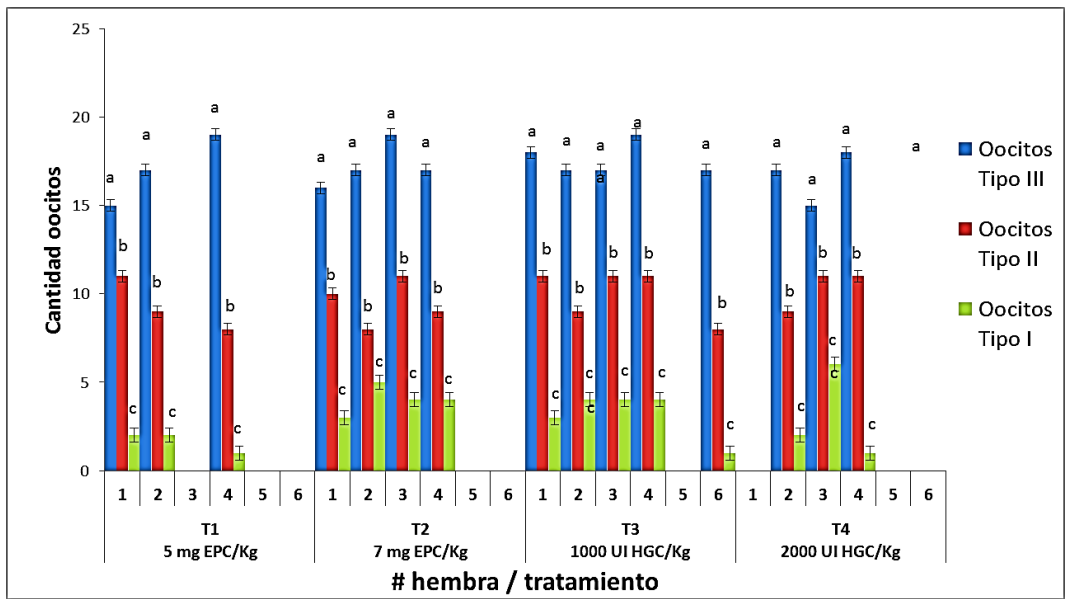


Figura 9. Cantidad de oocitos en maduración por cada tratamiento, en hembras de *Ariopsis seemanni*.

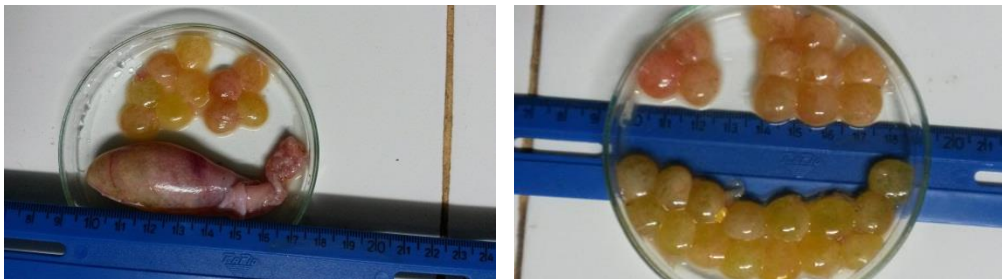


Figura 10. Gónadas y oocitos en maduración en hembras de *Ariopsis seemanni* inducidas hormonalmente.

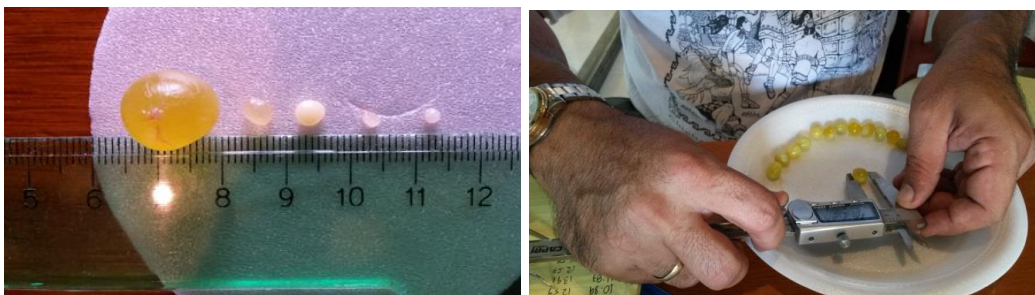


Figura 11. Oocitos de hembras de *Ariopsis seemanni*.

(Fuente: Espinel, Lamouroux y Tabares, 2014).

Tabla 5. Valores promedio diámetros (mm) oocitos en maduración en cada una de las hembras de cada tratamiento (n=24).

Tratamiento	Réplica	Diámetro (mm) Oocitos maduración/sacos ováricos			Promedio Diámetro (mm) oocitos en Maduración
		Oocitos I	Oocitos II	Oocitos III	
T₁: 5 mg EPC/Kg	1	13,2	14,1	12,3	13,2
	2	13,1	13,1	14	13,4
	3				
	4	13,1	13,3	14,2	13,5
	5				
	6				
T₂: 7 mg EPC/Kg	1	14,2	16,1	15	15,1
	2	13,2	14,2	14,3	13,9
	3	13,1	13,2	12,4	12,9
	4	14,2	13,4	15,1	14,2
	5				
	6				
T₃: 1000 UI HGC/Kg	1	14,2	15,1	16	15,1
	2	14,2	14,1	15	14,4
	3	14,2	15,2	16,1	15,2
	4	14,2	14,2	16,2	14,9
	5				
	6	13,2	13,2	13,2	13,2
T₄: 2000 UI HGC/Kg	1				
	2	13,3	14,1	14,2	13,9
	3	13,3	14,3	16,1	14,6
	4	13,3	14,3	15,1	14,2
	5				
	6				

Casillas vacías en la tabla significan ausencia de este tipo de oocitos

6.4.1 Comportamiento de los peces

Luego de ser aplicada la primera dosis hormonal, se presenta poca actividad de los peces, en la cual el macho y la hembra por algunos momentos intermitentes permanecen cercanos con lentos y escasos movimientos natatorios. Esta actividad se incrementa después de la segunda dosis definitiva, donde el macho permanece junto a la hembra durante mayores periodos de tiempo y tiene actividad natatoria aunque de forma lenta pero continua.

6.5 Registros de parámetros fisicoquímicos del agua

Los registros promedio de los parámetros fisicoquímicos registrados en el agua durante el experimento fueron: 7.16 ± 0.06 en oxígeno disuelto, con una saturación de oxígeno de $80.2\% \pm 0.006$, temperatura de 28.43 ± 0.36 °C, salinidad de 28.8 ± 0.02 ups y flujo de agua de 0.97 ± 0.04 l/min.

7. DISCUSIÓN

7.1 Reconocimiento de madurez sexual en reproductores

Los rasgos de madurez sexual fueron reconocidos macroscópicamente mediante revisión externa en hembras de *A. seemanni*, identificando un enrojecimiento y proyección de la papila urogenital, abdomen abultado ligeramente y una “carnosidad” en las aletas pélvicas, algunos de estos criterios son también mencionados por Woynarovich & Horváth (1980), Chaparro (1994), Acevedo & Angel (1999).

El volumen o tamaño de desarrollo en la carnosidad en la aleta pélvica en las hembras, puede ser un indicador indirecto de la madurez de los oocitos en las hembras. Para este estudio de inducción hormonal, hembras que presentaron esta carnosidad con un tamaño menor (Figura 7D) presentarían oocitos viables para la inducción; comparativamente al grado avanzado de desarrollo (Figura 7E), donde posiblemente se encuentran oocitos en un estado de madurez avanzada, próximos al desove o quizá en estado de regresión y reabsorción, donde posiblemente el efecto de la hormona podría haber causado una “sobremaduración”, deterioro y descomposición de los oocitos, generando un evento de septicemia, que podría desencadenar la muerte en la hembra.

Según Galvis-Cortes (1983), Olaya-Nieto (2007), la carnosidad en la aleta pelvica en hembras maduras sexualmente de *Ariopsis bonillai*; así como también lo observado en esta investigación, respecto al tamaño en la carnosidad en la aleta pélvica en las hembras, permite llegar a considerar este rasgo, como un indicador indirecto, que puede ser utilizado en el proceso de reconocimiento de hembras en estado de madurez sexual.

Similares rasgos externos de madurez son usados en otras especies, por ejemplo para el *Bagre marinus*, en las que el sexo y la fase de madurez fueron

determinados mediante observación de las características macroscópicas de los ovarios y testículos, y lo cual se confirmó con la observación del grado de inflamación del orificio urogenital (Caballero-Chávez, 2013). Galvis-Cortes (1983); Olaya-Nieto *et. al.*, (2007), afirman que el reconocimiento del sexo en *Ariopsis bonillai*, se pudo distinguir por rasgos en la morfología externa (papila urogenital enrojecida y proyectada) a los 19 cm LT, en hembras donde se presenta una carnosidad triangular, que se torna muy agrandada y enrojecida durante el máximo estado de madurez sexual.

Los criterios de caracterización macroscópica de la condición de madurez en las hembras de *A. seemanni* no son garantía absoluta de la determinación de un exacto estado de desarrollo gonadal (Zanuy & Carrillo, 1987), por lo mismo es necesario determinar la posición del núcleo en los oocitos extraídos de la gónada (Acevedo & Angel, 1999), mediante biopsia ovárica (Zanuy & Carrillo, 1987); que para el caso de *A. seemanni*, presenta inconvenientes prácticos, por el tamaño en los oocitos, los que al ser extraídos, podrían afectar la condición de salud en las hembras, posiblemente generando lesiones, traumas y estrés que podrían bloquear los procesos endocrinos necesarios en el proceso de inducción hormonal y en algunos casos hasta la muerte. Una posible alternativa sería adelantar estudios que evalúen los ciclos gametogénicos y establezcan un referente que confirme los picos reproductivos en la especie.

7.2 Registros biométricos

7.2.1 Longitud y peso

Las biometrías de las hembras de *A. seemanni*, mostraron ejemplares de tamaño entre 28 a 33 cm y pesos entre 189 a 357 g. en capacidad reproductiva. Estas longitudes, son similares o están dentro del rango que también se reporta en el

Bagre marinus, donde la hembra más pequeña encontrada midió 25.2 cm de longitud furcal (Caballero-Chávez, 2013). Así mismo para el bagre cominate *Occidentarius platypogon*, se relaciona una longitud de madurez sexual encontrada en hembras de 35 cm (Amezcuca & Muro-Torres, 2012).

Para *Ariopsis bonillai*, autores como Olaya-Nieto *et. al.*, (2007) reportan hembras entre 22.0 y 24.0 cm LT que presentan talla de primera madurez sexual y talla media de madurez sexual en hembras de 32.85 cm LT. Las tallas encontradas para hembras de *A. seemanni* en este estudio, se encuentran dentro del rango planteado por esos autores para este otro tipo bagre.

7.2.2. Relación peso – longitud.

Los modelos matemáticos de peso-longitud explicarían una relación entre las variables peso en función de la longitud, del 79.79% y del 85.46% para hembras y machos respectivamente. También los valores de los coeficientes b , de cada una de las regresiones y su posterior prueba de hipótesis, han permitido establecer una condición de crecimiento isométrico en ambos sexos en la especie. Ortega (1996), ha reportado para *A. seemanni* una condición de crecimiento isométrico ($b=3.05$), también Galvis-Cortez, (1984) ha planteado condiciones de crecimiento isométrico ($b=3.32$) en *A. bonillai*; puede comprenderse que estos peces pueden presentar en diferentes etapas de la vida un incremento en peso y longitud simultáneo. Esta condición de isometría puede cambiar en el tiempo de acuerdo a las necesidades alimenticias de los organismos cuando van adquiriendo tamaños y pesos mayores, y en donde los requerimientos para el mantenimiento del metabolismo se hacen menores, en proporción a la biomasa adquirida.

7.3 Parámetros biológicos

7.3.1 Proporción sexual entre hembras y machos

En el presente estudio, la muestra poblacional tuvo una composición de 56.2% hembras y 43.7% machos, permitiendo calcular una proporción de 1.2 a 1, no siendo diferente estadísticamente de la proporción 1:1. Los resultados encontrados de la proporción de hembras machos de *A.seemanni* podrían sugerir una población íctica que está en aparente equilibrio. Pero esta proporción podría variar en las distintas etapas de desarrollo y por clases de edad (Jaramillo, 2009) (Jaramillo-Londoño , 2009).

Estos datos se plantean como valores preliminares y puntuales a tomar en consideración de posteriores estudios ya que corresponden solo a muestras tomadas en una época determinada. Este resultado podría diferir de otras investigaciones, en las cuales se utilizan registros a través del tiempo (diferentes meses), o en diferentes localidades. Por ejemplo, Caballero-Chávez, (2013) en el *Bagre marinus* obtuvo una proporción de 36.4% de machos, y 57.8% de hembras. Siendo estas últimas las que predominaron (1.6 a 1). Mientras que Olaya-Nieto *et. al.*, (2007) en su trabajo determinaron a lo largo de un año de investigación (2005) para *A. bonillai*, una proporción sexual de 4.7 a 1 hembras a machos. Lo anterior nos indica que para el caso de *A. seemanni*, se tiene una aparente baja proporción de hembras a machos y que posiblemente concuerda con el final de un periodo reproductivo.

7.3.2 Indicadores reproductivos

En la zona de la quebrada Valencia en Bahía Málaga, localidad en la que colectaron los peces utilizados en esta investigación, se tiene conocimiento por parte de los pescadores, que manifiestan, que se puede encontrar una mayor población de hembras maduras sexualmente durante los meses de finales de abril a julio y de finales de octubre a finales de febrero, en esta localidad. Estos periodos podrían diferir de los reportados por Ortega (1996) para la especie en las poblaciones estudiadas en la bahía de Buenaventura en el año de 1995, donde se determinó un pico en octubre y otro en diciembre. Sin embargo, nuevos estudios deben realizarse con el fin de corroborar el comportamiento reproductivo de los animales y actualizar la información.

7.3.2.1 Índice gonadosomático (IGS)

El IGS en las hembras de *A. seemanni* tuvo un valor promedio global de 7.33 ± 5.5 calculado considerando todas las hembras inducidas hormonalmente. El promedio más alto de IGS fue 11.56 ± 2.6 representando una proporcionalidad media cercana al 11.6% del peso de la gónada respecto del peso total de la hembra; obtenido en las hembras que presentaron oocitos en maduración. El promedio más bajo de IGS fue 1.41 ± 1.2 representando una proporcionalidad media cercana al 1.4% del peso de la gónada respecto del peso total de la hembra, obtenido en las hembras que no evidenciaron oocitos en estado de maduración en sus gónadas.

Mendoza-Carranza & Hernández-Franyutt (2005), registraron para el *Bagre marinus* valores de IGS, de 5.22 en mayo a 6.85 en julio durante el periodo reproductivo. Para los otros meses el IGS de las hembras fue inferior a 0.5. Para

el bagre *Occidentarius platypogon*, una especie de silúrido que habita en el Pacífico Oriental y en las costas de Centro y Sur América, se reportaron valores medios del IGS entre 0.81 a 3.60, los valores más bajos se observaron en hembras en recuperación en el otoño, asociados a mayores temperaturas, y hembras en estadio de maduración I en el invierno, con temperaturas cercanas a 23°C. Los valores de IGS más altos se registraron en primavera, con menores temperaturas ambientales; y con la mayoría de las gónadas en etapas maduras (Amezcuca & Muro-Torres, 2012).

Los valores obtenidos en el presente estudio son mayores a los reportados para *A. seemanni*, de IGS de 4.64 para el mes de junio en peces de talla de 23-24 cm y de IGS de 7.64 para el mes de diciembre en peces de talla de 28-29 cm (Ortega, 1996). Es probable que los altos valores de IGS de las hembras de *A. seemanni* en este estudio, estuvieran influenciados por el efecto de los diferentes tratamientos hormonales utilizados, que generaron maduración final en los oocitos y por ello incrementaron el peso final de la gónada. La Tabla 4 permite notar como las hembras que tienen un valor de IGS > a 3.36, presentan oocitos en maduración. Por tal razón, se plantea considerarlos como datos experimentales preliminares y se sugiere tomarlos en referencia como cercanos a la condición de madurez sexual, en las hembras de *A. seemanni* con los pesos y longitudes registradas en este estudio.

7.3.2.2. Factor de condición simple de Fulton (K)

El valor promedio global del factor de condición en las hembras de *A. seemanni* fue de $K=0.88\pm 0.09$, considerando todas las hembras inducidas hormonalmente en la investigación. Para hembras en las que se encontraron oocitos en

maduración el factor de condición fue de $K=0.91\pm 0.09$. Para hembras en las que no se encontraron oocitos en maduración el valor fue de $K=0.84\pm 0.07$. Los valores del factor K obtenidos en las hembras de *A. seemanni*, del presente estudio, son mayores a $K=0.651$, reportado para la especie, en peces colectados de mayo a diciembre en 1995 por Ortega (Ortega, 1996). Mendoza-Carranza & Hernández-Franyutt (2005) reportaron para el *Bagre marinus*, valores altos en el factor de condición (0,61 a 0,63 entre mayo y julio) y de 0,55 a 0,57 durante los otros meses. Lo que posiblemente se deba a una mejor condición nutricional ante el evento reproductivo en estas hembras de *A seemanni*.

Es particularmente interesante comprender que en *A. seemanni*, se puedan encontrar valores mayores del factor de condición (K), respecto a lo reportado en otras especies de Áridos. Las hembras de *A. seemanni* muestran ser peces cortos en longitud y robustos. El factor K, muestra una condición fisiológica del estado de bienestar en los peces en un determinado momento condicionado por la interacción de factores tanto bióticos y abióticos; además permite suponer posibles condiciones alimentarias recientes y está sujeto a variaciones durante el ciclo reproductivo (Vazzoler, 1981), el cual aumenta en valor hacia el pico reproductivo y decrece en valor después de ese periodo de reproducción (Ortega, 1996). Los mayores valores encontrados para *A. seemanni* en el presente estudio, respecto a lo reportado para otras especies de Áridos, posiblemente indicarían una mayor condición o bienestar alimenticio que se ha producido en el tiempo como evento preparatorio hacia un periodo reproductivo, con lo que consecuentemente la hembra podría destinar una mayor disponibilidad de nutrientes que incidirían en la cascada endocrina (eje cerebro hipófisis-gónada) y en la disponibilidad de componentes bioquímicos necesarios para la formación del huevo y reservas en los oocitos.

7.3.2.3 Madurez gonadal

El estadio IV de madurez gonadal encontrado en *A. seemanni*, es similar a lo descrito para el bagre cominate *Occidentarius platypogon* donde se utiliza de referencia la escala de madurez propuesta por Vazoller 1996 (Amezcuca & Muro-Torres, 2012).

En los sacos ováricos de *A. seemanni*, se pudieron observar oocitos en diferentes estados de desarrollo (tamaño, coloración y posición en el saco ovárico). Oocitos en maduración, hacia el extremo posterior del saco ovárico y oocitos inmaduros en la región anterior. La presencia de oocitos en diferente estado de desarrollo podría hacer considerar: 1) Un desarrollo diferencial o asincrónico de los folículos reproductivos. Esta condición asincrónica, estaría acorde al concepto planteado años atrás para la especie (Ortega, 1996). 2) Un desarrollo sincrónico por grupos de oocitos, que conllevaría a un proceso de reproducción durante varios días, teniendo desoves parciales. Este concepto podría considerarse, como estrategia reproductiva que favorece la supervivencia de los alevinos; tomando en consideración el planteamiento que refiere la capacidad bucal que tienen los machos de algunos Áridos en los procesos de incubación de huevos fecundados. Un caso contrario es lo reportado por Amezcuca & Muro-Torres (2012), para *Occidentarius platypogon*, otra especie de árido, donde encontraron una condición de madurez gonadal, que les permitió determinar un desarrollo sincrónico de oocitos y un proceso de desove anual.

7.3.2.4 Fecundidad

En las hembras de *A. seemanni* se estimó la fecundidad media de 30.07 ± 2.3 oocitos, tomando en consideración aquellas que presentaron oocitos en maduración (tipo I, II y III). Valores cercanos son reportados por Acero (2000, en Olaya-Nieto *et. al.*, 2007) en *A. bonillai* con una fecundidad media de 36 oocitos. Para el *Bagre marinus*, se reportaron cantidades de 21 a 33 ovocitos hidratados y un máximo de 62; este último valor en hembras maduras de 350 a 555 mm de longitud y 351 a 1980 g de peso (Mendoza-Carranza & Hernández-Franyutt, 2005). Podría considerarse, de manera preliminar, que *A. seemanni* es una especie de fecundidad promedio entre las especies de áridos de este género.

Por otra parte, el diámetro promedio global de los oocitos de *A. seemanni*, fue de 13.2 ± 3.6 mm. Estos tamaños son similares a los reportados para *A. bonillai*, por Toro & Villa (1983) entre 1-2 cm; por Chaparro *et al.* (2002) entre 0.9-1.6 cm; por Olaya-Nieto, *et. al.* (2007) entre 0.8-1.6 cm y también por Olaya-Nieto *et. al.* (2007) con un promedio de 1.2 ± 0.13 cm

Según los resultados relacionados con fecundidad y tamaño de los oocitos, en *A. seemanni*, se conservan los planteamientos de Yáñez-Arancibia (Olaya-Nieto *et. al.*, 2007), acerca de los Áridos donde se manifiesta una aparente baja fecundidad, en un sentido estricto, con base al tamaño de sus oocitos, pero donde biológicamente existen mecanismos que aseguran una alta supervivencia de huevos y larvas, huevos grandes en tamaño y reservas de vitelo y una protección de huevos y larvas, gracias a la incubación bucal de los machos.

7.4 Respuesta reproductiva a los tratamientos hormonales

Se pudieron reconocer y diferenciar oocitos en diferente color y tamaño (Figura 10) respecto a oocitos pequeños inmaduros de color blanco (Figura 11). La ovulación se identificó encontrando oocitos en maduración en el saco ovárico, que no tenían conexión folicular con la pared del ovario. Este evento está en concordancia con lo expuesto por Cerdá (2010), donde estima que la ovulación tiene lugar por la ruptura de la conexión del folículo con la pared del ovario causada por acción enzimática que genera la disolución parcial de la membrana basal y la zona pelúcida, haciendo que los oocitos queden libres. De forma similar Carrillo & Rodríguez (2001), manifiestan que en el proceso de ovulación las microvellosidades de las células foliculares y el oocito se separan de la membrana o corión mediante un proceso enzimático proteolítico y el oocito maduro e hidratado es expulsado hacia la cavidad ovárica en un evento mecánico producido por las contracciones de las células tecaes. El tiempo de permanencia de los óvulos en la cavidad ovárica depende de la especie y de los factores externos que predisponen el desove

En todos los tratamientos hormonales, se observaron hembras con oocitos en estado de maduración, solamente 9 hembras de las 24, no presentaron este tipo de oocitos, lo que conllevaría a considerar que en ellas no hubo respuesta a la inducción.

La ausencia de desoves espontaneos en las hembras inducidas hormonalmente, probablemente se puede asociar a varios sucesos: las cantidades de hormona utilizadas no fueron lo suficientemente determinantes para lograr inducir el desove en las hembras; la ausencia de estímulos exógenos adicionales a los manejados o presentes durante la experiencia, por ejemplo: disponer de un refugio artificial, un sustrato diferente (Tucker, 1966), una mayor proporción macho a hembra, que induzca mayor disponibilidad de feromonas en el medio, donde el desove puede

ser más eficiente en grupos que en parejas de peces aisladas (Mylonas *et. al.*, 2010).

Por lo anterior se hace necesario tomar en cuenta en el proceso de reproducción inducida en esta especie, considerar estímulos ambientales abióticos y la manipulación de ellos como factores importantes adicionales al agente hormonal (Carrillo *et. al.*, 2009), como la temperatura, el fotoperiodo ó el periodo de fase lunar.

Para la hormona HGC comercial se conocen concentraciones con las cuales se han logrado buenos resultados en otras especies de bagres (Cacot *et.al.*, 2002; Adebayo & Fagbenro, 2004; Sahoo *et. al.*, 2007), y su uso se ha generalizado al punto de sugerirse hasta dosificaciones de 5000 UI/libra de pez para hembras de bagre de canal *Ictalurus punctatus* (www.merck-animal-health-usa.com); pero su molécula es muy diferente a la de los peces. Por lo anterior no ha sido efectiva o eficiente en algunas especies y las dosis no han sido adecuadas en determinadas especies con márgenes de seguridad muy estrechos, por lo que se pueden provocar sobredosis que producen desoves parciales, obstrucción del poro genital, con resultados negativos, tanto por la mala calidad de los huevos como por causar daños e incluso mortalidad en los reproductores (Alvarez-Lajonchère & Hernández Molejón, 2001). Por lo tanto, la cantidad de hormona que se utilizó en cada uno de los tratamientos, se planteó como dosis punto de partida, para la especie objeto de estudio.

El comportamiento de aparente pasividad y tranquilidad que se observó en los peces después de aplicada la dosis hormonal inicial en las hembras, se puede considerar habitual y es de esperar como se suele presentar en otras especies de peces durante la inducción hormonal. Aunque después de aplicada la dosis definitiva a las hembras y dosis única en los machos, no se observaron episodios de golpes o “empujones” por parte del macho para con la hembra, podría

considerarse que este comportamiento de los machos, posiblemente está relacionado con la ausencia de factores exógenos determinantes en su comportamiento, así como también al que indujeran al desove por parte de las hembras.

7.5 Parámetros fisicoquímicos

Los valores de los parámetros observados en esta investigación se consideran aceptables en procesos de reproducción inducida en especies ícticas cálidas y se encuentran dentro de los rangos de *confort* reportados para especies tropicales (Yu *et al.*, 2008). Algunos valores de temperatura, concentración de oxígeno disuelto son similares a los reportados en trabajos de reproducción inducida para el *Lutjanus guttatus*, (Mejía-Narváez *et al.*, 2009), realizados en las mismas instalaciones acuícolas empleadas para este estudio.

CONCLUSIONES

En el mes de febrero es posible encontrar hembras de *A. seemanni* con pesos desde 189 g hasta 357.3 g y longitudes entre 28 cm a 33 cm, que presentan signos externos de madurez sexual, visibles y macroscópicamente evidentes.

En *A. seemanni*, la fecundidad media en las hembras fue de 30.07 ± 2.34 oocitos en maduración. El IGS promedio global fue de 7.33 ± 5.5 . El promedio más alto de IGS fue de 11.56 ± 2.60 y el promedio más bajo fue de 1.41 ± 1.24 . El factor de condición promedio fue de $K=0.88 \pm 0.09$; mientras que para hembras con maduración de oocitos fue de $K=0.91 \pm 0.09$ y para hembras sin maduración de oocitos fue de $K=0.84 \pm 0.07$.

En las hembras de *Ariopsis seemanni* se halló un desarrollo diferencial en la maduración de los oocitos presentes en los ovarios, lo que conlleva a estimar que esta especie tiene una maduración oocitaria asincrónica, con grupos de oocitos maduros e inmaduros, que le faculta desoves parciales durante varios días en su época reproductiva.

Las hormonas y dosis utilizadas, indujeron maduración oocitaria, pero no fueron lo suficientemente determinantes para producir el desove espontáneo en las hembras de *A. seemanni*. El proceso de desove, pudo estar influenciado por la ausencia de otros factores exógenos determinantes.

RECOMENDACIONES

Para posteriores experiencias de reproducción inducida en *A. seemanni*, podría considerarse el uso de otros agentes hormonales, como la LHRH, de más bajo costo, y posiblemente con una acción endocrinológica más amplia sobre el eje hipotálamo - hipófisis - gónada.

Considerar abastecer de refugio a las hembras de esta especie, durante la reproducción inducida.

Realizar investigaciones conformando un lote de reproductores de la especie, adaptados a condiciones de laboratorio, que permitan identificar aspectos morfológicos y anatómicos, para ser correlacionados con análisis histológicos y con resultados citológicos del desarrollo oocitario, para estimar el tiempo adecuado y preciso, para realizar procesos de inducción hormonal, debido a lo impráctico e improbable en esta especie, de biopsias ováricas o de extrusión de oocitos para procesos de fertilización en seco.

BIBLIOGRAFIA

- Acero-P, A., Betancur-R, R., Polanco, A., & Chaparro, N. 2005. Diferenciación sexual temprana a nivel óseo en dos géneros de bagres marinos (*Pisces: Ariidae*) del Caribe. *Memoria de la Fundación La Salle de Ciencias Naturales*(163), 37-43.
- Acevedo, C., & Angel, F. 1999. Reproducción inducida e incubación del bagre pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum*) (Linnaeus, 1766) y barbudo (*Pimelodus sp*). Palmira, Valle del Cauca, Colombia.
- Adebayo O.T., O.A. Fagbenro. 2004. Induced ovulation and spawning of pond raised African giant catfish, *Heterobranchus bidorsalis* by exogenous hormones, *Aquaculture*, Volume 242, Issues 1–4, Pages 229-236
- Alvarez-Lajonchère, L., & Hernández Molejón, O. 2001. Producción de juveniles de peces estuarinos para un centro en América Latina y el Caribe: diseño, operación y tecnologías. (D. C. Browdy, Ed.) Baton Rouge, Louisiana, Estados Unidos de América - USA: The World Aquaculture Society.
- Amezcuca, F., & Muro-Torres, V. 2012. Biología reproductiva del bagre cominate *Occidentarius platypogon* (*Pisces: Ariidae*) en el sureste del golfo de California. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 2(40), 428-434.
- AUNAP. 2015. *aunap.gov.co*. Recuperado el 06 de Noviembre de 2015, de <http://www.aunap.gov.co/wp-content/uploads/2015/11/1924-03-11-20151.pdf>
- Betancur, R., Acero, A., & Bermin, E. 2007. Systematics and biogeography of New World sea catfishes (*Siluriformes: Ariidae*) as inferred from mitochondrial, nuclear, and morphological evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45(1), 339–357.
- Betancur-R, R., & Acero-P., A. 2005. Description of *Cathorops mapale*, a new species of ariid catfish (*Pisces: Siluriformes*) from the Colombian Caribbean, based on morphological and mitochondrial evidence. *Zootaxa*(1045), 45-60.
- Betancur-R, Ricardo; Mejía-L, Luz; Acero-P, Arturo. 1999. Diferenciación sexual del chivo mapalé, *Cathorops spixii* (Agassiz 1829) (*Pisces: Ariidae*), de la región sur de Santa Marta a partir de análisis osteológicos. *V Simposio Colombiano de Ictiología*, (págs. 8-9). Leticia.

- Betancur-R., R., Mejía-Ladino, L., & Acero-P, A. 2004. Análisis filogenético preliminar de algunos bagres marinos (*Siluriformes: Ariidae*) neotropicales. *Memoria de la Fundación La Salle de Ciencias Naturales*, 62(158), 61-85.
- Breder, C., & Rosen, D. 1966. Modes of reproduction in fishes (Vol.). City, N. Y, USA: The Natural History Press.
- Caballero-Chávez, V. 2013. Madurez y reproducción de bagre bandera *Bagre marinus* en el sudeste de Campeche. *Ciencia Pesquera*, 21(2), 13-19.
- Cacot P., M. Legendre, T. Quoc, L. Thanh, P. T. Liem, C. Mariojouis, J. Lazard. 2002. Induced ovulation of *Pangasius bocourti* (Sauvage, 1880) with a progressive hCG treatment, *Aquaculture*, Volume 213, Issues 1–4, Pages 199-206
- Cantera, J. R., Escarria, E., Mejia Ladino, L., & Medina Contreras, D. 2014. Distribución y densidad de ictioplancton en el Estuario de Bahía Málaga, pacífico colombiano (septiembre de 2009-febrero de 2010). *Boletín de Investigaciones Marino Costeras*, 43(1), 107-119.
- Carrillo Ávila, M., & Rodríguez Pulido, J. 2001. Bases fisiológica de la reproducción en peces tropicales. En Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura, H. Rodríguez, P. Victoria, & M. Carrillo (Edits.), *Fundamentos de Acuicultura Continental* (Vol. 1, págs. 189-216). Bogotá, Colombia: Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura.
- Carrillo, M., Zanuy, S., & Bayarri, M. 2009. El control ambiental de la reproducción de los peces con especial referencia al control del ciclo sexual, de la pubertad y de la precosidad. En C. M. Adrián, *La Reproducción de los Peces - aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura* (Serie: Publicaciones Científicas y Tecnológicas de la Fundación Observatorio Español de Acuicultura ed., págs. 173-233). Madrid, España : Fundación Observatorio Español de Acuicultura.
- Castañeda-Cortés, D., Tovar-Bohorquez, O., & Hurtado-Giraldo , H. 2013. Estudio Morfométrico del Nervio Óptico de Tiburoncito (*Ariopsis seemanni*). *International Journal of Morphology*, 31(1), 184-188.
- Cerdá, Joan. 2010. Mecanismos moleculares durante la maduración y ovulación del oocito de teleósteos: avances recientes y su aplicación en acuicultura. En M. Carrillo Estévez, *La reproducción de los peces: aspectos básicos y*

sus aplicaciones en acuicultura (págs. 401-474). Madrid, España: Fundación Observatorio Español de Acuicultura (OESA).

- Chaparro, Nicolas. 1994. *Reproducción artificial y manipulación genética en peces*. Barranquilla, Colombia: Editorial Mejoras.
- Cooke, R., Acero, A., Betancur, R., Rojas, P., & Cotto, A. 2010. *The IUCN Red List of Threatened Species*. Recuperado el 29 de Julio de 2016, de <http://www.iucnredlist.org>:
<http://www.iucnredlist.org/details/183818/0#sectionTaxonomy>
- Cruz-Casallas, P., Velasco-Santamaría, Y. M., & Medina-Robles, M. 2006. Manejo hormonal de la función reproductiva de peces tropicales bajo condiciones de cautiverio. *Revista electrónica en producción acuícola Universidad de Nariño*, 2(2).
- Da Silva-Ribeiro, C., & Guimarães-Moreira, R. 2012. Factores ambientais e reprodução dos peixes. *Revista da Biologia*, 8, 58-61.
- Dallos-Rodríguez, J. 2007. Efecto de la suplementación con ácido ascórbico sobre el crecimiento y la supervivencia en juveniles de *Hexanematichthys seemanni* (Günther, 1864). 2007, 45. Bogotá, Colombia.
- Donalson, E. M., & Hunter, G. A. 1983. Induced final maturation, ovulation, and spermiation in cultured fish. *En D. . W. S . HOAR, Fish Physiology* (Vol. 9 B, págs. 351-403.). New York: Academic Press, Inc.
- Etchevers, S. 1978. Contribution to the biology of the sea catfish *Arius spixii* (Agassiz) (Pisces: *Ariidae*) south of Margarita Island, Venezuela. *Bulletin of Marine Science*, 28(2), 381-385.
- Fischer, W., Krupp, F., Schneider, W., Sommer, C., Carpenter, K., & Niem, V. 1995. *Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico centro-oriental*. (Vol. II). Roma, Italia.
- Galvis-Cortez, O. 1984. Estimación del crecimiento y mortalidad del chivo cabezón *Ariopsis bonillai* (Miles, 1945) (Pisces: Siluriformes: *Ariidae*), en la Ciénaga Grande de Santa Marta. *Anuario Instituto de Investigaciones Marinas de Punta Betín*, 14, 67-84. Santa Marta, Colombia.
- Galvis-Cortez, O. 1983. Los áridos de la Ciénaga Grande de Santa Marta. 186 pp. (Universidad-Nacional-de-Colombia., Ed.) Bogotá., Colombia.

- García, L., Lozano, J., & Chapman, F. 2016. Evaluation of the survival and growth of the ornamental "Colombian shark catfish" *Ariopsis seemanni* in water of different salinities. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation International Journal of the Bioflux Society*, 9(5), 1167-1171.
- Gómez-Ramírez, E., Tovar-Bohórquez, M. O., Obando-Bulla, M. J., & Hurtado-Giraldo, H. 2010. Estudio histológico del tracto digestivo del pez *Ariopsis seemanni* (Ariidae). *Revista Facultad de ciencias básicas Universidad Militar Nueva Granada*, 6(2), 216-225.
- Harvey, B., & Hoar, W. 1980. *Teoría y práctica de la reproducción inducida en los peces*. Ottawa, Canada: Centro Internacional de Investigaciones para el desarrollo.
- Imprenta Nacional. 2007. Resolución 3532. *Diario Oficial* (46.854), págs. 10-15.
- Imprenta Nacional de Colombia. 2015. *Imprenta Nacional de Colombia*. (Imprenta Nacional de Colombia, Ed.) Recuperado el 8 de Noviembre de 2015, de Diario Oficial disponible en:
http://www.imprenta.gov.co/diariop/diario2.indice?v_num=49.687
- Jaramillo-Londoño, Á. 2009. Estudio de la biología trófica de cinco especies de peces bentónicos de la costa de Cullera. Relaciones con la acumulación de metales pesados. 478. Valencia, Valencia, España: Universidad Politécnica de Valencia.
- Kelly, A. 2004. Broodfish Management. En C. Tucker, J. Hargreaves, & ELSEVIER (Ed.), *Biology and Culture of Channel Catfish* (págs. 129-143). California, USA.
- Lamouroux-Lopez, S. L. 2014. Efecto de nivel de proteína sobre el desempeño productivo del tiburoncito *Ariopsis seemanni*. *Orinoquía*, 18(2), 212-217.
- Lasso, C., Agudelo-Córdoba, E., Jiménez-Segura, L., Ramírez-Gil, H., Morales-Betancourt, M., Ajiaco-Martínez, R., y otros. 2011. *I. Catálogo de los recursos pesqueros continentales de Colombia* (Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH) ed., Vol. Serie Editorial Recursos Hidrobiológicos y Pesqueros Continentales de Colombia). Bogotá, Colombia.

- Londoño, C., & Hurtado-Giraldo, H. 2010. Estudio preliminar morfológico y morfométrico de encéfalo del pez tiburoncito, *Ariopsis seemanni*, (Pisces: Ariidae). *Universitas Scientiarum*, 15(2), 101-109.
- MADR, & IICA. 2011. Agenda nacional de investigación en pesca y acuicultura 2011-2012. 154 . Bogotá, Colombia: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- Medina M. 1980. El factor de condición múltiple Km y su importancia en el manejo de poblaciones de la carpa Israel (*Cyprinus carpio specularis*) En: *Manuales técnicos de Acuicultura*. México. Año 1. Vol.1. Pág. 5-10
- Mejia-Narváez, L., Rodríguez-Araújo, C., & López-Macías, J. 2009. Evaluación de la Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) a diferentes dosis, en la reproducción inducida de pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*, Stendaichner 1869). *Vet. Zootec.*, 3(2), 28-40.
- Mendoza-Carranza, M., & Hernández-Franyutt, A. 2005. Annual reproductive cycle of gafftopsail catfish, *Bagre marinus* (Ariidae) in a tropical coastal environment in the Gulf of Mexico. *Hidrobiológica*, 15(3), 275-282.
- Merck Animal Health. Chorulon for veterinary use. www.merck-animal-health-usa.com
- Muñoz Cueto, J. A. 2009. Cerebro y reproducción en peces: bases neurales y neuroendocrinas. En M. A. CARRILLO ESTÉVEZ, *Reproducción de los peces: Aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura* (págs. 25-75). España: Fundación OESA.
- Mylonas, C., Fostier, A., & Zanuy, S. 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology*(165), 516-534.
- Nagahama, Yoshitaka. 1983. The functional morphology of teleost gonads. En D. Randall , & E. Donaldson, *Fish physiology* (Vol. 9a, págs. 223-275). New York: Academic Press.
- Nagahama. 1983. The functional morphology of teleost gonads. En D. Randall , & E. Donaldson, *Fish physiology* (Vol. 9a, págs. 223-275). New York: Academic Press.
- Nagahama, Y. 1994. Endocrine regulation of gametogenesis. *Fisheries International Journal of Development Biology*, 38, 217-229.

- Nagahama, Y., Yoshikuni, Y., Yamashita, M., & Tokumoto, T. 1995. Regulation of oocyte growth and maturation in fish. *Current topics in Developmental Biology*, 30, 103-145.
- Nikolsky, G. 1963. *The ecology of fishes*. (M. S. University, Ed.) Moscow , Rusia.
- Olaya-Nieto, C., & Arellano-Padilla, J. 2012. Hábitos alimentarios del barbul de piedra (*Ariopsis sp.*) En el río Sinú, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 17(1), 117-128.
- Olaya-Nieto, C. W., Segura-Guevara, F. F., Tordecilla-Petro, G., & Appeldoorn, R. S. 2007. Estimación de los parámetros biológicos básicos de peces comerciales del río Sinú – II fase. Informe Final, Universidad de Córdoba. Lórica, Córdoba, Córdoba, Lórica.
- Ortega, Armando. 1996. Aspectos de la biología y la abundancia de *Arius seemanni* (Pisces: Siluriformes: *Ariidae*) en un manglar de la bahía de Buenaventura (pacífico colombiano). 72. (Universidad del Valle, Ed.) Cali, Valle del cauca, Colombia.
- Ortega-Lara, A., Acero, A., Rincón-López, C., Rivas-Lara, T., & Sanchez, G. 2011. *Ariopsis seemanni*. En C. Lasso, E. Agudelo-Córdoba, L. Jimenez-Segura, H. Ramirez-Gil, R. Morales-Betancourt, E. Ajiaco-Martinez, y otros, & I. d. Humboldt (Ed.), *Catálogo de los recursos pesqueros continentales de Colombia* (Serie Editorial Recursos Hidrobiológicos y Pesqueros Continentales de Colombia ed., pág. 169). Bogotá, Colombia.
- Patiño, R. 1997. Manipulations of the Reproductive System of Fishes by Means of Exogenous Chemicals. *The Progressive Fish-Culturist*, 59(2), 118-128.
- Pauly, D. 1984. *Fish Population Dynamics in Tropical Waters: A Manual for Use with Programmable Calculators* (Vol. ICLARM Studies and Reviews 8). Manila, Philippines: International Center for Living Aquatic Resources Management.
- PNNC. 2014. *Parques Nacionales de Colombia*. Recuperado el 23 de 09 de 2015, de www.parquesnacionales.gov.co
- Ricker W. 1958. Handbook of computatiosfor biological statistic of fish population. Fish. Res. Bd. Canadá. Bull No. 119. 300 Págs.

- Roa, J y M. Tena-Sempere, 2007. KiSS-1 system and reproduction: comparative aspects and roles in the control of female gonadotropic axis in mammals. *Gen Comp Endocrinol* 153: 132-140.
- Rodriguez-Gutierrez, M. 1992. Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica en peces. 1ª. Edición, 79. (AGT. Editor S.A, Ed.) México.
- Rodríguez-Pulido, J., & Mojica-Benítez, H. 2005. Reproducción y manejo de silúridos en cautiverio. En INCODER , & Universidad Nacional de Colombia, *Reproducción de peces en el trópico* (págs. 105-122). Bogotá, Colombia: Imprenta Nacional de Colombia.
- Rossemblum M.; Pudney J.; Callard I. 1987. Gonadal morphology enzyme histochemistry and plasma steroids levels during the annual reproductive cycle of male and female brown bullhead catfish *Ictalurus nebulus*. Lesueur. *J. Fish. Biol.* 31: 325-341
- Rubio, E., Loaiza, J., & Arroyo, R. 1999. Crecimiento de *Arius kessleri* & *Sciadeops troschellii* (Pisces: Ariidae) en jaulas flotantes en zonas estuarinas de la bahía de Buenaventura. *Acta Biológica Colombiana*, 4(2), 62-69.
- Sahoo S.K., S.S. Giri, S. Chandra, A.K. Sahu. 2007. Spawning performance and egg quality of Asian catfish *Clarias batrachus* (Linn.) at various doses of human chorionic gonadotropin (HCG) injection and latency periods during spawning induction, *Aquaculture*, Volume 266, Issues 1–4, Pages 289-292
- Sandoval-Londoño, L., Leal-Flórez, J., Blanco-Libreros, J., & Taborda-Marín , A. 2015. Hábitos alimenticios y aspectos del uso del hábitat por el chivo cabezón *Ariopsis sp. (aff. assimilis)* (Siluriformes: Ariidae), en una laguna costera neotropical (Ecorregión Darien, Colombia). *Acta Biológica Colombiana*, 37(102), 295-306.
- Segura-Bertolini, E., & Mendoza-Carranza, M. 2013. La importancia de los machos del bagre bandera, *Bagre marinus* (Pisces: Ariidae), en el proceso reproductivo. *Ciencias Marinas*, 39(1), 29-39.
- Tovar-Bohórquez, M., Corchuelo-Chavarro, S., Gómez-Ramírez, E., Obando-Bulla, M., & Hurtado-Giraldo, H. 2013. Histología y morfometría del ojo del pez de *Ariopsis seemanni*: Implicaciones en ecología visual. *Hidrobiológica*, 23(3), 420-430.

- Tucker, C. 1966. The ecology of channel catfish culture ponds in Northwest Mississippi. *Reviews in Fisheries Science*, 4(1), 1-55.
- Tucker, C., & Hargreaves, J. 2004. ELSEVIER, Ed. Recuperado el 10 de Octubre de 2015. disponible en:
http://samples.sainsburysebooks.co.uk/9780080472201_sample_733072.pdf
- Valdebenito, Ivan. 2008. Terapias hormonales utilizadas en el control artificial de la madurez sexual en peces de cultivo: una revisión. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 40(2), 115-123.
- Valdebenito, I., Paiva, L., & Berland, M. 2011. Atresia folicular en peces teleósteos: una revisión. *Archivos de Medicina Veterinaria*(43), 11-25.
- Vazzoler, Anna. 1981. *Manual de métodos para estudos biológicos de população de peixes. Reprodução e crescimento*. Brasilia, Brasil: Conselho Nacional de Pesquisa.
- Woynarovich, E., & Horváth, L. 1980. *The artificial propagation of warmwater finfishes - a manual for extension*. FAO. FAO Fisheries and Aquaculture Department.
- Yu C, Xing B, Xu L, Li D. 2008. Water quality management in intensive aquaculture in china. En: IFIP International Federation for Information Processing, Volume 259; *Computer and Computing Technologies in Agriculture, Vol 2*; Daoliang Li, (Boston: Springer);143-1252
- Zanuy, S., & Carrillo, M. 1987. Reproducción en acuicultura. En J. Espinosa de los Monteros , & U. Labarta (Edits.). España.
- Zohar, Yonathan. 1989. *Fish physiology and beochemistry*, 7(1), 395-405.
- Zohar, Yonathan., & Mylonas, Constantinos. 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, 197, 99 - 136.

Anexo 1

Valores de temperatura, concentración de oxígeno disuelto (OD) y salinidad (UPS), del agua de mar, utilizada en el ensayo de reproducción inducida en *Ariopsis seemanni*

FECHA	HORA	TEMP (°C)	OD (mg/l)		Sal. (UPS)
		Valor	HORA	Valor	Valor
19/02/2014					
	05:00 PM	29,5	06:00 PM	7,08	28,8
	09:00 PM	28,8	12:00 AM	7,26	28,8
20/02/2014					
	01:00 AM	28,3			
	07:00 AM	28,2	06:00 AM	7,06	28,7
	12:00 PM	28,8	12:00 PM	7,25	28,8
	06:00 PM	28,8	06:00 PM	7,18	28,8
	09:00 PM	28,7	12:00 AM	7,14	28,8
21/02/2014					
	03:00 AM	28,6			
	07:00 AM	28,5	06:00 AM	7,15	28,8
	12:00 PM	28,8	12:00 PM	7,18	28,8
	06:00 PM	28,8	06:00 PM	7,12	28,8
	07:00 PM	28,8			
	08:00 PM	28,7			
	09:00 PM	28,7			
	10:00 PM	28,7			
	11:00 PM	28,7			
	12:00 AM	28,4	12:00 AM	7,14	28,8
22/02/2014					
	01:00 AM	28,1			
	02:00 AM	28,0			
	03:00 AM	28,0			
	04:00 AM	27,9			
	05:00 AM	27,9			
	06:00 AM	27,9	06:00 AM	7,13	28,8
	07:00 AM	28,0			
	08:00 AM	28,1			
	09:00 AM	28,1			
	10:00 AM	28,2			
	11:00 AM	28,3			
	12:00 PM	28,3	12:00 PM	7,21	28,8
	01:00 PM	28,3			
	02:00 PM	28,3			

FECHA	HORA	TEMP (°C)	OD (mg/l)		Sal. (UPS)
		Valor	HORA	Valor	Valor
23/02/2014	03:00 PM	28,5			
	04:00 PM	28,6			
	05:00 PM	28,6			
	06:00 PM	28,6	06:00 PM	7,22	28,8
	07:00 PM	28,6			
	08:00 PM	28,5			
	09:00 PM	28,4			
	10:00 PM	28,4			
	11:00 PM	28,3			
	12:00 AM	28,3	12:00 AM	7,19	28,8
	01:00 AM	28,2			
	02:00 AM	28,2			
	03:00 AM	28,1			
	04:00 AM	28,1			
05:00 AM	28,0	06:00 AM	7,12	28,8	
06:00 AM	28,0				
07:00 AM	28,0				
08:00 AM	28,7				
09:00 AM	29,0				
10:00 AM	28,8				
11:00 AM	29,2	12:00 PM	7,18	28,8	

Anexo 2

Planteamiento prueba estadística Z, para establecer diferencias significativas proporción sexual de 1:1 hembras a machos

Para establecer si existen o no diferencias estadísticamente significativas, respecto a la proporcionalidad de 1:1 hembras y machos, se considera un planteamiento que la proporción de hembras y machos es igual (0.50 para cada sexo dentro de la muestra), haciendo un prueba estadística a un nivel de confiabilidad del 95%,

Se plantean las siguientes hipótesis:

H_0 : Proporción de hembras $p = P_0$

(Esto significa que la proporción de hembras es igual a 0.50 ($p=0.50$), siendo la misma para machos)

H_1 : Proporción de hembras $p \neq P_0$

(Esto significa que la proporción de hembras es diferente de 0.50 ($p \neq 0.50$), siendo también diferente a 0.50 la proporción de machos).

Se utiliza una prueba de proporciones para una muestra, utilizando el estadístico Z, definido por la siguiente fórmula propuesta

$$Z = \frac{p - P_0}{\sqrt{(p_0 * q_0)/n}}$$

Donde

p : proporción de hembras observada en la muestra

p_0 : Proporción de hembras propuesta igual a 0.50

q_0 : Proporción de machos propuesta de 0.50

El resultado del estadístico calculado es $Z = 1.11$

El resultado del estadístico calculado se contrasta con el valor de la tabla de la distribución normal $Z_{(0.025)} = 1.96$

Por lo anterior se concluye que no existen diferencias estadísticas significativas entre la proporción obtenida de la muestra de estudio, respecto a la proporción planteada de 1:1 hembras y machos