



UNAP



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
MAESTRÍA EN ACUICULTURA**

TESIS

**USO DEL EXTRACTO DE PITUITARIA DE PAICHE (EPP), EN LA
REPRODUCCIÓN INDUCIDA DE *Brycon amazonicus*
(Agassiz, 1829) “SÁBALO COLA ROJA”**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN
ACUICULTURA**

PRESENTADO POR: KEVIN MORGAN RUIZ TAFUR

ASESOR: BLGO. GERMÁN AUGUSTO MURRIETA MOREY, DR.

IQUITOS, PERÚ

2021



UNAP



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
MAESTRÍA EN ACUICULTURA**

TESIS

**USO DEL EXTRACTO DE PITUITARIA DE PAICHE (EPP), EN LA
REPRODUCCIÓN INDUCIDA DE *Brycon amazonicus*
(Agassiz, 1829) “SÁBALO COLA ROJA”**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN
ACUICULTURA**

PRESENTADO POR: KEVIN MORGAN RUIZ TAFUR

ASESOR: BLGO. GERMÁN AUGUSTO MURRIETA MOREY, DR.

IQUITOS, PERÚ

2021



UNAP

Escuela de Postgrado "JOSÉ TORRES VÁSQUEZ"
Oficina de Asuntos Académicos



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
059-2021-OAA-EPG-UNAP

Con Resolución Directoral N° 0693-2021-EPG-UNAP, se autoriza la sustentación de la Tesis denominada: "USO DEL EXTRACTO DE PITUITARIA DE PAICHE (EPP), EN LA REPRODUCCIÓN INDUCIDA DE *Brycon amazonicus* (Agassiz, 1829) "SABALO COLA ROJA", teniendo como jurados a los siguientes profesionales:

Blgo. Enrique Ríos Isern, Dr.	Presidente
Blgo. Luis García Ruiz, Mgr.	Miembro
Blga. Rossana Cubas Guerra, MSc.	Miembro
Blgo. German Augusto Murrieta Morey, Dr.	Asesor

A los ocho días del mes de octubre del 2021, a las 16:00 horas, en la modalidad virtual zoom institucional de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, se constituyó el Jurado Evaluador y dictaminador, para escuchar y evaluar la sustentación de la Tesis denominada: "USO DEL EXTRACTO DE PITUITARIA DE PAICHE (EPP), EN LA REPRODUCCIÓN INDUCIDA DE *Brycon amazonicus* (Agassiz, 1829) "SABALO COLA ROJA" presentado por el señor KEVIN MORGAN RUIZ TAFUR, como requisito para obtener el **Grado Académico de Maestro en Acuicultura**, que otorga la UNAP de acuerdo a la Ley Universitaria N° 30220 y el Estatuto de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

Después de haber escuchado la sustentación y luego de formuladas las preguntas, éstas fueron:

.....
.....
.....

El Jurado, después de la deliberación correspondiente en privado, llegó a las siguientes conclusiones, la sustentación es:

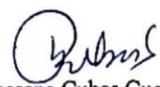
1. Aprobado como: a) Excelente () b) Muy bueno c) Bueno ()
2. Desaprobado: ()

Observaciones :

A Continuación, el Presidente del Jurado, da por concluida la sustentación, siendo las ^{18:30} del ocho de octubre del 2021; con lo cual, se le declara al sustentante ^{apto} para recibir el **Grado Académico de Maestro en Acuicultura**.

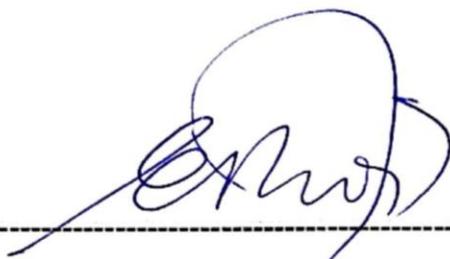

Blgo. Enrique Ríos Isern, Dr.
Presidente


Blgo. Luis García Ruiz, Mgr.
Miembro


Blga. Rossana Cubas Guerra, MSc.
Miembro


Blgo. German Augusto Murrieta Morey, Dr.
Asesor

TESIS APROBADA EN SUSTENTACIÓN PÚBLICA EL 08 DE OCTUBRE DEL 2021, EN MODALIDAD VIRTUAL ZOOM INSTITUCIONAL DE LA ESCUELA DE POSTGRADO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA, EN LA CIUDAD DE IQUITOS-PERÚ.



BLGO. ENRIQUE RIOS ISERN, DR.

PRESIDENTE



BLGO. LUIS GARCÍA RUIZ, MGR.

MIEMBRO



BLGA. ROSSANA CUBAS GUERRA, MSC.

MIEMBRO



BLGO. GERMÁN AUGUSTO MURRIETA MOREY, DR.

ASESOR

A mis hijos Albert y Neytan, a mi compañera de vida Almendra y a mis padres, Elva y Euclides por el apoyo en cada etapa de superación profesional.

AGRADECIMIENTO

Al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) en especial a la Dirección de Investigación en Ecosistemas Acuáticos Amazónicos (AQUAREC), por el apoyo logístico y financiero en la realización del presente trabajo de investigación.

A los grupos de manejo “Los catalanes”, “Los Leones” y “Los jaguares” pertenecientes a la Reserva Nacional Pacaya Samiria por brindarnos el apoyo durante las capturas de *Arapaima gigas* “paiche” en marco del Programa de Manejo y cuota de aprovechamiento.

A los señores, Italo Orbe Torres, Lidman Arimuya Paredes, Julio Sampaya Ruiz y Hugo Marichín Ayambo por el apoyo en la extracción y colecta de la pituitaria del paiche.

Al Blgo. Germán Augusto Murrieta Morey. Dr, investigador del IIAP, por su profesionalismo y valiosa ayuda en el buen direccionamiento de la tesis. Nuestro respeto y admiración.

Al Blgo Luciano A. Rodríguez Chu, investigador, responsable del laboratorio de reproducción artificial de peces amazónicos del IIAP-AQUAREC, por el apoyo técnico y logístico en la fase experimental de la tesis.

Al Blgo Alfonso Bernuy Rodríguez, por el apoyo y orientación en los trabajos de evaluación seminal y calidad espermática en la especie *Brycon amazonicus*, mil gracias por el apoyo incondicional.

A los profesionales: Clint chirinos y Rommel Reynel, por el apoyo en la colecta de datos, obtenidos durante los trabajos de inducción hormonal de *Brycon amazonicus*.

Al personal técnico de AQUAREC - IIAP tales como: Eder Montoya, Edwin Agurto, Roberto Flores, Reyner Guimaraes, Asunción Apuela y Lamberto Arévalo, por el apoyo durante los muestreos y ensayos de reproducción.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Carátula	i
Contracarátula	ii
Acta de sustentación	iii
Jurado	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de contenido	vii
Índice de tablas	viii
Índice de gráficos	ix
Índice de ilustraciones	x
Resumen	xi
Abstract	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO	3
1.1. Antecedentes	3
1.2. Bases teóricas	8
1.3. Definición de términos básicos	12
CAPÍTULO II. VARIABLES E HIPÓTESIS	14
2.1. Variables y su operacionalización	14
2.2. Formulación de la hipótesis	16
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	17
3.1. Tipo y diseño de la investigación	17
3.2. Población y muestra	18
3.3. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de datos	20
3.4. Técnicas de procesamientos y análisis de los datos	28
3.5. Aspectos éticos	28
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	29
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	36
CAPÍTULO VI. PROPUESTA	43
CAPÍTULO VII. CONCLUSIONES	44
CAPÍTULO VIII. RECOMENDACIONES	45
CAPÍTULO IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
ANEXOS	51
1. Instrumento de recolección de datos	
2. Base de datos de reproductores hembras de <i>B. amazonicus</i>	
3. Índice de espermiación y ovulación	
4. Análisis estadístico de la tasa de eclosión	
5. Tabla de operacionalización de Variables	

INDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1: Tratamientos utilizados en la presente investigación	18
Tabla 2: Biometría en reproductores de <i>Brycon amazonicus</i> "sábalo cola roja".	22
Tabla 3: Desempeño reproductivo de <i>Brycon . amazonicus</i> inducidos con EPP.	31
Tabla 4: Valores promedios de los parámetros físicos y químicos en la incubación de <i>Brycon amazonicus</i>	33

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Páginas
Gráfico 1: Porcentaje de respuesta hormonal en hembras de <i>Brycon. amazonicus</i> , con tres diferentes dosis de hipófisis de paiche	29
Gráfico 2: Tasa de eclosión en hembras de <i>Brycon. amazonicus</i> , con tres diferentes dosis de hipófisis de paiche	29
Gráfico 3: Grados horas en la reproducción de <i>Brycon. amazonicus</i> , con tres diferentes dosis de hipófisis de paiche	30
Gráfico 4: Porcentaje de respuesta hormonal en machos de <i>Brycon amazonicus</i> , con tres diferentes dosis de hipófisis de paiche.	31
Gráfico 5: Volumen seminal en <i>Brycon amazonicus</i> , con tres diferentes dosis de hipófisis de paiche	32
Gráfico 6: Concentración espermática en <i>Brycon amazonicus</i> , con tres diferentes dosis de hipófisis de paiche	32
Gráfico 7: Valores promedios de espermatozoides en <i>Brycon amazonicus</i> , con tres diferentes dosis de hipófisis de paiche.	33

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

		Páginas
Ilustración 1:	Unidades experimentales (tanques de mayólica)	17
Ilustración 2:	a. muestreo de reproductores de sábalo b. transporte de reproductores de <i>B. amazonicus</i>	19
Ilustración 3:	El círculo de amarillo muestra el lugar donde se desarrolló el experimento	19
Ilustración 4:	a. ovas de <i>Arapaima gigas</i> "paiche" b. testículo de <i>Arapaima gigas</i> .	20
Ilustración 5:	a. extracción de la pituitaria de paiche b. glándula pituitaria de paiche.	21
Ilustración 6:	a. macho de <i>Brycon amazonicus</i> con esperma y b. hembra de <i>Brycon amazonicus</i> grávida.	22
Ilustración 7:	Registro de horas grado	23
Ilustración 8:	a. incubadoras de flujo vertical (Woynarovich) y b. proceso de incubación de huevos fecundados de <i>Brycon amazonicus</i>	24
Ilustración 9:	a. evaluación del esperma en microscopio y b. muestra de esperma utilizado para conteo de espermatozoides	26
Ilustración 10:	a. muestra de semen de <i>Brycon amazonicus</i> y b. colecta de esperma de <i>Brycon amazonicus</i> con tubo milimetrado	26
Ilustración 11:	Procesos de aplicación de la hormona pituitaria de paiche en la reproducción inducida de <i>Brycon amazonicus</i> (a-j).	35

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la eficacia del extracto de pituitaria de paiche (EPP) en la inducción de *Brycon amazonicus* “sábalo cola roja”. Se utilizaron 27 parejas de *B. amazonicus* (1.94 ± 0.24 kg de peso y 50.78 ± 2.22 cm de longitud en machos y 2.28 ± 0.38 kg de peso y 49.32 ± 11.39 cm de longitud en hembras). Se aplicaron en dos dosis los inductores hormonales de EPP (el 10% y 90% del total), con intervalo de 12 horas. Tres dosis hormonales de EPP se aplicaron, en el caso de las hembras: T1: 3,0 mg/kg, T2: 4,0 mg/kg y T3: 5,5 mg/kg. En machos: T1: 0,5 mg/kg, T2: 1,0 mg/kg, T3: 1,5 mg/kg. Las hembras inducidas con EPP respondieron positivamente a la ovulación encontrando diferencias significativas ($P < 0.05$), siendo los T1 y T2 que alcanzaron los mejores índices de ovulación con 77.73 % y 88.87 % respectivamente, respecto a la tasa de eclosión también se encontraron diferencias siendo el T2 el mejor con 40.21 %. Los machos de *B. amazonicus* inducidos con EPP, respondieron positivamente a la espermiación obteniendo 88.87% siendo este valor igual para el T1 y T2, respecto a la calidad espermática, la variable volumen seminal mostro diferencias donde el T3 mostro mayor volumen con 20 ml en promedio, se observaron diferencias respecto a la concentración espermática y el espermatozoido teniendo que a mayor dosis de aplicación del EPP disminuye la concentración espermática y el espermatozoido. De acuerdo a los resultados obtenidos, se recomienda la dosis de 4.0 mg/kg de EPP (T2), ya que tuvo efectos positivos en la ovulación y tasa de eclosión. Por otro lado, todas las dosis respondieron a la espermiación pero la dosis de 0.5 mg/kg (T1) es la mejor por los altos valores de concentración espermática y espermatozoido.

Palabras clave: inducción, hipófisis, *Arapaima gigas*, *Brycon amazonicus*,

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the efficacy of paiche pituitary extract (EPP) in the induction of *Brycon amazonicus* "red-tailed tarpon". 27 pairs of *B. amazonicus* were used (1.94 ± 0.24 kg of weight and 50.78 ± 2.22 cm of length in males and 2.28 ± 0.38 kg of weight and $49.32 \pm 11, 39$ cm in length in females). The hormonal inducers of EPP (10% and 90% of the total) will be applied in two doses, with an interval of 12 hours. Three hormonal doses of EPP are applied, in the case of females: T1: 3.0 mg/kg, T2: 4.0 mg/kg and T3: 5.5 mg/kg. In males: T1: 0.5 mg/kg, T2: 1.0 mg/kg, T3: 1.5 mg/kg. The females induced with EPP responded positively to ovulation, finding significant differences ($P < 0.05$), with T1 and T2 reaching the best ovulation rates with 77.73% and 88.87% respectively, regarding the hatching rate, differences were also found. T2 the best with 40.21%. The males of *B. amazonicus* induced with EPP, responded positively to spermatiation, obtaining 88.87%, this value being the same for T1 and T2, with respect to sperm quality, the variable seminal volume showed differences where T3 showed greater volume with 20 ml in On average, differences were observed with respect to sperm concentration and spermatocrit, with a higher dose of EPP application decreasing sperm concentration and spermatocrit. According to the results obtained, the dose of 4.0 mg/kg of EPP (T2) is recommended, since it had positive effects on ovulation and hatching rate. On the other hand, all doses responded to spermiation but the dose of 0.5 mg/kg (T1) is the best due to the high values of sperm concentration and spermatocrit.

Keywords: induction, hypophysis, *Arapaima gigas*, *Brycon amazonicus*.

INTRODUCCIÓN

La reproducción es el proceso vital más importante de los organismos vivos solo así garantizamos la supervivencia y perpetuación de las especies, consecuentemente el control de los ciclos reproductivos de los peces sometidos a inducción hormonal en cautiverio se convierte en uno de los factores más importantes para asegurar el éxito de la acuicultura ^{1,2}.

En consecuencia, en décadas pasadas en diferentes países de Sudamérica como Brasil, Venezuela, Colombia y Perú se ha desarrollado e investigado la reproducción artificial habiendo alcanzado a la fecha importantes resultados con diferentes especies amazónicas entre ellas tenemos: *Colossoma macropomum* "gamitana"³, *Piaractus brachypomus* "paco"⁴ *Pseudoplatystoma punctifer* "doncella"⁵ y *Brycon amazonicus* "sábalo cola roja"^{6, 7}, bajo diferentes protocolos de inducción ya conocidos. El extracto pituitario de carpa (EPC), es la que mejores resultados ha alcanzado si se compara con hormonas análogos como el Conceptal y Ovaprim y ello ha llevado hacer considerada la de primera elección en la inducción hormonal de carácidos amazónicos², sin embargo la hormona EPC, presenta un alto costo, y a esto se suma que en la ciudad de Iquitos y sobre todo en la Amazonía peruana no se cuenta con una empresa establecida que se dedique a la venta de esta hormona por lo que nos vemos en la necesidad de obtener por importación.

Ante lo expuesto la tendencia actual es la búsqueda de otras hormonas con ventajas fisiológicas y económicas que se conviertan en alternativa o sustituto y la hipofización con especies nativas de la zona despiertan interés más aun de tratarse su obtención de uno de los peces más grandes de agua dulce del mundo como es el *Arapaima gigas* "paiche" y esto ha tomado interés en aprovechar las pituitarias o hipófisis del paiche provenientes de la piscicultura o de las cuotas de manejo de la Reserva Nacional Pacaya Samiria (RNPS) que se estima de 200 a 400 ejemplares que son sacrificados anualmente⁸ y que hasta la fecha no se le dio ningún uso a su hipófisis, convirtiéndose en una alternativa muy interesante su utilización y validación como inductor hormonal en los centros de reproducción de peces amazónicos.

Bajo ese contexto el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo general: Determinar la eficacia del extracto de pituitaria de paiche (EPP) en la reproducción inducida de *Brycon amazonicus* “sábalo cola roja”, en Iquitos, Perú.

En cuanto a los objetivos específicos correspondieron a determinar la eficacia de tres dosis del extracto de pituitaria de paiche (EPP), en la estimulación de la ovulación final de *B. amazonicus* “sábalo cola roja”, determinar la eficacia de tres dosis del extracto de pituitaria de paiche (EPP), en la tasa de eclosión y desempeño reproductivo de *B. amazonicus* , determinar la eficacia de tres dosis del extracto de pituitaria de paiche (EPP), en la estimulación de la espermiación *B. amazonicus*, determinar la eficacia de tres dosis del extracto de pituitaria de paiche, en la calidad espermática de *B. amazonicus*, registrar los parámetros de calidad de agua durante la incubación de los huevos de *B. amazonicus* y finalmente Desarrollar un protocolo para la aplicación del extracto de pituitaria de paiche, en la reproducción inducida de *B. amazonicus*.

Lo cual busca generar información científica para desarrollar la tecnología ideal del uso de la hipófisis o pituitaria de paiche en la reproducción inducida de *B. amazonicus* “sábalo cola roja”.

CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

1.1.1. Estudios de reproducción artificial con extracto de pituitaria de especies ícticas amazónicas.

En **2014**, se realizó un estudio cuyo propósito fue determinar el efecto de dos concentraciones de pituitaria de las especies *Anodus elongatus* “yulilla”, *Prochilodus nigricans* “boquichico”, y *Potamorhina latior* “yahuarachi”, a reproductores de *Piaractus brachypomus* “paco”. Las dosis suministradas de cada pituitaria fueron de 2.5 y 5.0 mg/kg de peso en hembras y los machos de 1.0 y 1.5 mg/kg. Después de realizado las inducciones hormonales se procedieron a liberar a las parejas al no desovar, sin embargo en la dosis de 2.5 mg/Kg de pituitaria de las tres especies utilizadas en el estudio, mostraron una leve respuesta al inductor hormonal dado que se pudo notar signos de dilatación de la parte ventral del pez, además de la migración del núcleo. En las hembras inducidas con pituitaria de “boquichico” con la dosis de 5.0 mg/Kg no llegaron a desovar observándose al final prolapso posiblemente por la sobredosis de la hormona, observándose endurecimiento abdominal. Concluyendo que esta especie no respondió favorablemente frente a las dosis determinadas⁹.

En **2010**, se evaluó la eficiencia hormonal de la pituitaria o hipófisis de *Prochilodus mariae* “coporo”, como agente inductor sustituto, en la reproducción inducida de la misma especie. La especie donadora fue mantenida y evaluada en estanques con el objetivo de conocer el índice gonadosomático; extracción de la pituitaria, deshidratación, almacenaje y prueba del material. Para conocer la efectividad de la hormona utilizaron tanques circulares de 3,000 litros, con tres parejas de *P. mariae* “coporo”, utilizando 2 tratamientos, un testigo y con 4 repeticiones. El primero consistió en la inoculación de la hormona de Carpa (2 mg kg⁻¹), el segundo con hipófisis de coporo (2 mg kg⁻¹) y el testigo con suero fisiológico (1 ml). Se extrajeron y almacenaron un total de 107 glándulas de 127 ejemplares utilizados, con un

porcentaje de pérdida del 15%. Los resultados del bioensayo muestran que los dos tratamientos con extractos hormonales dieron resultados positivos en inducir el desove del coporo y no difieren significativamente al comparar las medias de eficiencia $\alpha=0,05$. En conclusión es factible la sustitución del material hormonal importado de Carpa como agente inductor de las especies reofilicas, por extractos hipofisarios homoplásticos en la reproducción de inducida del coporo¹⁰.

En **2010**, se hizo una investigación utilizando como inductor hormonal el extracto de hipófisis o pituitaria de *Geophagus proximus* "bujurqui" provenientes de la pesca, en la reproducción inducida de *Piaractus mesopotamicus*. Al final del estudio obtuvieron resultados positivos donde algunas hembras respondieron al tratamiento liberando sus ovocitos en promedio 1,880 ovocitos/gramo, en el caso de los machos se dio la espermiación pero de todas maneras evaluar otras dosis para mejorar el volumen y la productividad del esperma no descartan. Los autores concluyen que hubo una respuesta positiva en la reproducción inducida utilizando extracto hipofisario de *G. proximus* y que esta podría ser una alternativa viable y eficaz para su uso de su hipófisis en la reproducción inducida de *P. mesopotamicus*¹¹.

1.1.2. Estudios de reproducción inducida en peces con la hormona hipófisis de carpa y otras hormonas de origen sintético.

En **2018**, se utilizaron tres inductores hormonales (EPC: 5 mg/kg en hembras y 2 mg/kg en machos, Conceptal: 2.5 ml/kg en hembras y 1.5 ml/kg en machos y Ovaprim: 0.50 ml/kg en hembras y 0.25 ml/kg en machos) en reproductores de *Brycon cephalus* donde se utilizó en dos dosis de inductores hormonales (dosis inicial del 10% del total y dosis final o desencadenante del 90% en un intervalo de 12 horas de diferencia, los resultados de esta investigación mencionan que las hembras solo respondieron positivamente a la ovulación con la hormona extracto de pituitaria de carpa (EPC), con índices de ovulación del 66.6%, tasas de fertilización promedio de $78.6 \pm 4\%$, desove promedio de 195 ± 72 g por hembra y la eclosión ocurrió entre las 10 a 12 horas post

fecundación. En el caso de los machos con respecto a la influencia de las tres hormonas utilizadas sobre la espermiación y calidad espermática el EPC mostros mejores resultados positivos en la espermiación, además los volúmenes fueron mayores, así como en espermatozoides. Finalmente, los autores validan el uso del inductor hormonal extracto pituitario de carpa en la ovulación y espermiación de *B. cephalus* “sábalo cola roja”⁷.

En el año 2015, con la especie *Brycon cephalus* probaron tres tratamientos de la hormona Ala6, Pro9Net-mGnRH + metoclopramide (Ovopel), en las siguientes dosis: [$\frac{1}{3}$ pellet/kg (T1), $\frac{2}{3}$ pellet/kg (T2) and $1\frac{1}{3}$ pellet/kg (T3)] y un grupo control (T0), que solo recibió aplicaciones de solución fisiológica (0.9% NaCl). Todos los tratamientos se aplicaron en una sola dosis. Evaluaron la influencia de las diferentes dosis en la espermiación y calidad espermática de *B. cephalus*, al final del experimento el T3 mostró el volumen seminal más alto (4.66 ± 1.52 ml) y fue significativamente diferente en comparación con T1, T2 y T0, en relación a la motilidad espermática, T2 y T3 fueron significativamente superiores. Sin embargo, con los parámetros seminales de concentración espermática, pH y osmolalidad no se evidencio diferencia significativa entre tratamientos¹².

En un estudio realizado el año 2014 en la ciudad de Iquitos, utilizaron el extracto de pituitaria de carpa (EPC) en la reproducción inducida de *Brycon amazonicus* “sábalo cola roja”, durante los ensayos experimentales utilizaron 13 hembras y 16 machos al final de todo el proceso de inducción todas las hembras desovaron y solo 5 tuvieron fertilidad negativa. El desove ocurrió a las 5.68 ± 0.53 horas, a una temperatura del agua de 28.12 ± 0.61 °C, lo cual equivale a 159.01 ± 14.5 horas-grado. Las hembras que se utilizaron en el estudio tuvieron como peso promedio $2,310 \pm 143,2$ g, un promedio de $1497,60 \pm 14,57$ óvulos/gramo; la tasa de fertilización fue $68,80 \pm 1,9\%$ y la eclosión fue $53,59 \pm 8,7\%$ ¹³.

El 2006, realizaron un estudio en la reproducción artificial en *Brycon amazonicus* en la ciudad de Colombia, donde utilizaron cinco tratamientos: tres con la hormona mGnRH-a (análogo de mamífero del factor liberador de gonadotropinas) con las dosis (10, 15, y 20 µg/kg en una sola dosis), uno con

extracto de pituitaria de carpa EPC (4.4 mg/kg en dos aplicaciones) y un tratamiento control donde se aplicó solución salina (0.9%). Se evaluaron las variables cuantitativas y cualitativas (volumen, concentración espermática, el espermatocono, la tasa de fertilidad, porcentaje de espermatozoides, motilidad y tiempo de activación) del esperma de *B. amazonicus*. Al final del experimento concluyeron que la hipófisis de carpa, influye en la fluidez del esperma, aumentando el volumen y disminuyendo la concentración espermática por otro lado la hormona mGnRH-a, no produce ningún cambio cualitativo y cuantitativo en el esperma del *B. amazonicus* ¹⁴.

En un estudio realizado el año 2006, evaluaron el uso de las hormonas extracto de pituitaria de carpa (EPC) y el análogo de mamífero de la hormona liberadora de gonadotropinas (mGnRH-a) en la maduración final y ovulación del *Brycon amazonicus*. Probaron ocho tratamientos: seis con mGnRH-a (10, 15 y 20 µg/kg en una sola aplicación y 10, 15 y 20 µg/kg en dos aplicaciones del 10 y 90%, respectivamente) una con EPC (5.5 mg/kg en dos aplicaciones, 10 y 90% en un intervalo de 12 horas) además un control de solución salina al 0.9%. Al final del experimento el 83.3% de las hembras inducidas con EPC desovaron a las 6.7 ± 0.14 horas y a una temperatura de incubación de 26.9 ± 0.18 °C, el número de huevos en promedio por hembra fue 117.6 ± 6.8 g y 1469.6 ± 34.1 huevos por gramo. La tasa de fertilidad en promedio fue de $55.3 \pm 6.1\%$. Es importante mencionar que las hembras inducidas con mGnRH-a y solución salina no desovaron ¹⁵.

Arias y colaboradores el año 2006 realizaron un estudio sobre los indicadores del ciclo reproductivo del *Brycon amazonicus*, en cautiverio. En el estudio evaluaron los índices gonadosomático, hepatosomático y de grasa vicesorosomática, desarrollo gonadal y estos fueron relacionados durante los muestreos mensuales con los valores de factor de condición, diámetro ovocitario y pluviosidad. Concluyendo al final del estudio que la época de reproducción de *B. amazonicus* se inicia en la época de lluvias al igual que en la naturaleza ¹⁶.

En otra investigación desarrollado en Colombia, evaluaron la efectividad de la hormona extracto pituitaria de carpa (EPC), en la reproducción inducida y

producción de alevinos de *Brycon henni*, con la finalidad de determinar el tiempo de latencia utilizando la hormona EPC. En el experimento utilizaron 20 parejas de reproductores en dos dosis de EPC (0.5 + 5.0 mg/kg de peso corporal). De los resultados mencionan que de las ocho hembras que desovaron solo dos fueron exitosas, obteniendo en promedio 136.2 gramos de desove. De estos se extrajeron, fertilizaron e incubaron 1421 huevos mostrando una sobrevivencia de embrión a larva de 25% y de larva a alevino de 35.7% ¹⁷.

El año 2001, en un estudio seleccionaron y caracterizaron reproductores hembras de *Brycon cephalus* para inducir a la reproducción, para ello seleccionaron por medio caracteres externos (vientre abultado y papila urogenital sobresaliente y rojiza) y fueron caracterizados a través de morfología de los ovocitos es decir por medio de la distribución de frecuencia porcentual del diámetro de los ovocitos además de observaciones estructurales y finalmente del factor de condición Kn, como método alternativo. Las hembras de *B. cephalus* fueron distribuidos en tres grupos. El primer grupo (A) presento altos índices de fertilización y la distribución de frecuencia porcentual del diámetro de los ovocitos con dos modas distintas una de 939.0 μm y la otra de 1001.6 μm y factor de condición mayor a 1. Mientras el segundo grupo (B) las tasas de fertilización fueron bajas en comparación al grupo anterior (A) y la moda del diámetro de los ovocitos fue 1001.6 μm y el factor de condición próximo a 1 y finalmente el grupo (C) que también respondieron a la aplicación hormonal presentaron ovocitos mayores con diámetros del ovocito alrededor de 970.3 y 1032.9 μm y el factor de condición menores a 1 ¹⁸.

1.1.3. Estudios sobre protocolos de extracción de pituitaria en peces amazónicos.

El año 2017 en un estudio en Brasil, tuvo como objetivo principal realizar y documentar todos los procesos de colecta y extracción de la hipófisis o pituitaria de *Colossoma macropomum* "gamitana", con la finalidad que se convierta en una herramienta auxiliar en estudios que involucran trabajos de reproducción inducida de peces, en ello consideraron fotografías y descripción

paso a paso de cada proceso hasta llegar finalmente a localizar la pituitaria o hipófisis de la gamitana siendo esta la especie más cultivada y estudiada en países de Sudamérica ¹⁹.

1.2. Bases teóricas

2.2.1. Aspectos generales de *Brycon amazonicus*.

Brycon amazonicus es un pez reofílico de la cuenca del río Amazonas está presente en Brasil, Colombia, Bolivia, Guyana, Venezuela y Perú donde es llamado comúnmente “sábalo cola roja” es de hábitos omnívoros, tiene un cuerpo alargado y comprimido, cabeza ancha ligeramente convexo de agradable sabor, llevándolo a tener gran demanda en los mercados²⁰.

2.2.2. Piscicultura de *Brycon amazonicus* en la región Loreto.

Las bondades que presenta esta especie al ser cultivada en estanques son: rápido crecimiento, fácil aceptación de alimento balanceado, fácil manejo en cautiverio y alta demanda por el poblador amazónico para su consumo. La disminución de poblaciones naturales ha despertado interés en su crianza al hecho de ser considerada una especie con alto potencial para la piscicultura amazónica en la región Loreto, en la actualidad esta especie puede ser reproducida en cautiverio gracias al uso de diferentes hormonas sean de origen homoplásticos (hipófisis de peces) y heteroplásticos (de otro origen que no sea peces) como el Ovaprim mostrando diferentes resultados^{7, 20}.

2.2.3. Reproducción de peces

La reproducción es el proceso biológico más importante de los seres vivos ya que solo así garantizamos la supervivencia de la especie, los recursos pesqueros actualmente vienen agotándose por múltiples actividades que se desarrollan y ante ello la acuicultura surge como una actividad de gran interés por que ayuda a minimizar el impacto hacia los peces²¹. En la actividad acuícola uno de los procesos más importantes que se desarrolla es la reproducción inducida y alcanzar ello garantiza obtener importantes y constantes volúmenes de producción². Por décadas se ha venido estudiando

la reproducción inducida y en el paso de los años hasta la actualidad la técnica se fue perfeccionando alcanzando importantes avances de protocolos de inducción hormonal con especies como *Colossoma macropomum*, *Piaractus brachypomus*, *Pseudoplatystoma fasciatum* y *Brycon amazonicus* en diferentes países de Sudamérica. En este capítulo conoceremos aspectos generales relacionados a la inducción hormonal en peces.

2.2.4. El ambiente y el proceso reproductivo

La reproducción de peces está controlada por diversos factores como: ambientales, sociales, neurales, endocrinos y nutricionales. En las regiones tropicales la reproducción de los peces está ligado a la estación de las lluvias donde al parecer la temperatura juega un papel importante en el desarrollo gonadal²². El fotoperiodo y las lluvias alteran el nivel de las aguas de los ríos, facilitando el desplazamiento migratorio de los reproductores de este modo en las regiones tropicales la estación de lluvia es determinante para el inicio de la maduración reproductiva de los peces como fue demostrado en especies como *Semaprochilodus insignis*, *Semaprochilodus taeniurus*, *Colossoma macropomum* y *Brycon* sp²³.

2.2.5. Reproducción en cautiverio

Los peces de interés en la acuicultura sufren una especie de disfunción reproductiva este trastorno resulta probablemente del estrés inducido en cautiverio²⁴, y a esto se suma la falta de estímulos ambientales para poder alcanzar la maduración final de los ovocitos, ovulación y desove. Este fenómeno que ocurre a los peces en cautiverio hace que la hipófisis no libere gonadotropinas (GtH siendo esta hormona la encargada de desencadenar el desove y la espermiación¹. Consecuentemente ante este problema mencionado se hace necesario la inducción hormonal como única alternativa para obtener alevinos en beneficio de la actividad acuícola.

2.2.6. Bases hormonales de la reproducción de peces

Los factores endocrinos son los principales agentes que actúan en el desarrollo gonadal de los peces a pesar de la influencia de los factores ambientales. El sistema endocrino de los peces está relacionado al sistema nervioso y juntos trabajan coordinando el proceso reproductivo. La recepción de estímulos ambientales y de hormonas sintéticas por los receptores sensoriales desencadena una lluvia de eventos en un eje que envuelve órganos como el hipotálamo, la pituitaria y las gónadas a través de la liberación de hormonas principalmente esteroides².

2.2.7. Gonadotropinas en peces

En estudios han demostrado la evidencia de que los peces elaboran dos tipos distintos de hormonas gonadotrópicas. La acción ovulatoria se adscribe únicamente a una de ellas cuyo contenido de glucoproteína es alto²⁵. Y la otra tiene glucoproteína bajo y se cree que actúa en la Vitelogénesis^{26, 27}. Al comprobarse la existencia de estas hormonas en los peces condujo posteriormente al desarrollo de protocolos de inducción hormonal para inducir la reproducción en cautiverio y dar inicio a la técnica de hipofización²⁸.

2.2.8. Hipofización

Consiste en el uso de la hipófisis o glándula pituitaria en extractos con la finalidad de inducir la maduración final, ovulación y desove de los peces. Al inicio las glándulas eran recolectadas en cualquier época del año de peces adultos de diferentes sexos; más tarde, se descubrió que pituitarias extraídas durante la época de desove natural eran más efectivas por que contenían mayor cantidad de hormonas gonadotropinas principalmente la hormona luteinizante²⁹. La conservación de la hipófisis de peces consiste en almacenar en acetona y cambiarlos cada ocho horas por un tiempo de 24 horas para su deshidratación seguidamente son triturados en suero fisiológico e inmediatamente se procede a inyectar al pez de interés recomendándose para peces tropicales una dosis de 5,5 a 5,75 mg/kg del peso corporal

administradas con un intervalo de 12 horas y con dos inyecciones, destacando la hipófisis de carpa la que mayor uso ha dado en la reproducción inducida de peces.

2.2.9. Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y análogos (GnRHL)

Los métodos modernos de inducción hormonal se han centrado en el uso de hormonas liberadoras de gonadotropinas (GnRH), que realizan el control de la glándula pituitaria en su producción de gonadotropinas (LH y FSH o GtH-I y GtH-II) ^{30, 31}. Con el uso de análogos sintéticos (LH-RHa y GnRHa) que según investigaciones dieron resultados positivos en la ovulación se empezó a tomar interés y masificar su uso³², probando su uso en numerosas especies como como la carpa³³; salmónidos^{34, 35}. Una inyección de GnRH produce un incremento en los niveles plasmáticos de GtH en muchos peces, pero por un tiempo corto. La corta vida de las GnRH es por la acción de endopeptidasas que se encuentran en la hipófisis, hígado y riñón³⁶.

1.3. Definición de términos básicos

Reproducción inducida: es el conjunto de técnicas o métodos que sustituyen a los procesos naturales de reproducción².

Inducción hormonal: uso de una hormona sintética con la finalidad de estimular la ovulación o espermiación².

Hipofisación: Inyección de extractos de hipófisis o pituitaria a peces de interés en la acuicultura².

Dosificación: Es la cantidad de sustancia a utilizar que dependerá del origen del producto y del peso de animal fundamentalmente².

Biopsia ovárica: Es la extracción de algún tejido en este caso ovocitos introduciendo una cánula por el conducto ovopositor de las hembras para observar la posición del núcleo de los ovocitos².

Desove: Es la acción y efecto de liberar ovocitos o esperma en gran parte de los peces que presentan fecundación externa².

Madurez: Es la fase final del proceso de maduración donde el pez alcanza la capacidad de poder reproducirse².

Espermiación: liberación de espermatozoides al exterior².

Ovulación: Es un proceso reproductivo comienza con la ruptura folicular y la expulsión del oocito².

Fecundación: Es el proceso sexual que consiste en la unión de los productos gonadales es decir óvulos y espermatozoides².

Vitelogénesis: Este proceso se caracteriza por el crecimiento del oocito y esto se debe por la presencia de material nutritivo es decir vitelo en el interior del ooplasma².

Incubación: Este proceso exclusivo de peces ocurre en incubadoras de fibra de vidrio de forma cónica que tiene flujo vertical y que permite controlar los parámetros ambientales que permiten que los huevos fecundados completan todo su desarrollo embrionario hasta la eclosión y finalmente se convierten en larvas³⁷.

Glándula: órgano encargado de producir y liberar sustancias necesarias para el vital funcionamiento del organismo².

Hormona: es una sustancia química producida por alguna parte del cuerpo y cuyo objetivo es regular la función de un determinado órgano².

Pituitaria o hipófisis: Es una glándula endocrina y compleja situado en la base del cráneo controla la actividad de otras glándulas, regula las funciones del organismo como el desarrollo y la actividad sexual².

Gonadotropinas: Son distintas hormonas secretadas por la hipófisis que intervienen directamente en la reproducción, haciendo que se elabore y segregue la hormona luteinizante y la hormona folículoestimulante¹.

Hormona luteinizante (LH): es una hormona gonadotrópica producida por la hipófisis o glándula pituitaria actuando en el caso de los machos regulando la secreción de testosterona y en las hembras la secreción de progesterona controlando la maduración de los folículos¹.

Hormona folículoestimulante (FSH): hormona gonadotrópica producida por la hipófisis. En las hembras produce la maduración de los ovocitos y en los machos la producción de espermatozoides esta hormona junto a la hormona luteinizante trabajan sinérgicamente en los procesos reproductivos¹.

CAPÍTULO II: VARIABLES E HIPÓTESIS

2.1. Variables y su operacionalización

Unidad de investigación: *Brycon amazonicus*

Variables:

Variables independientes

Tratamientos con extractos de pituitaria de paiche, para la reproducción inducida de sábalo cola roja, *B. amazonicus*:

En hembras: ovulación

- T1: 3,0 mg/kg
- T1: 4,0 mg/kg
- T1: 5,5 mg/kg

En machos: Espermiacion

- T1: 0,5 mg/kg
- T1: 1,0 mg/kg
- T1: 1,5 mg/kg

Variables dependientes:

Está directamente relacionado con el efecto que produce los diferentes tratamientos de extracto de pituitaria de paiche en la reproducción de *B. amazonicus*, sábalo cola roja en los siguientes parámetros

- Diámetro de los ovocitos
- Fecundidad relativa
- Tasa de fecundación
- Tasa de eclosión
- Volumen seminal
- Concentración espermática
- Espermatozoides

Definición conceptual

Con respecto a la variable independiente se utilizó tres tratamientos diferentes del extracto de pituitaria de paiche en la reproducción inducida de *B. amazonicus* y con respecto a las variables dependientes estos fueron producto del efecto de estas dosis de extracto de pituitaria de paiche durante la incubación de los huevos y sobre la calidad espermática de *B. amazonicus*

Definición operacional:

Utilizamos diferentes dosis de extracto de pituitaria de paiche para así conocer el efecto en la reproducción inducida de sábalo cola roja en la ovulación y espermiación además se evaluó el diámetro de los ovocitos, la tasa de fecundación y eclosión durante el proceso de incubación de los ovocitos fecundados y por último se estudió la calidad espermática conociendo el volumen seminal, el espermatozoides y concentración espermática por efecto de las diferentes dosis de extracto de pituitaria de paiche.

Indicador:

Para la variable independiente los indicadores fueron presencia y ausencia. Y para las variables dependientes fue la tasa de fecundación, fecundación eclosión, espermatozoides en porcentaje (%), líquido seminal en volumen (ml) y diámetro de los ovocitos en milímetro (mm).

Instrumento:

Fueron los cuadernos de apuntes, además de fichas para ensayos reproductivos propias del lugar donde se desarrolló la investigación

2.2. Formulación de la hipótesis

- El extracto pituitario de paiche (EPP) influye positivamente en la reproducción inducida de *Brycon amazonicus* “sábalo cola roja”.
- El extracto pituitario de paiche (EPP) no influye positivamente en la reproducción inducida de *Brycon amazonicus* “sábalo cola roja”

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de la investigación

3.1.1. Tipo de investigación

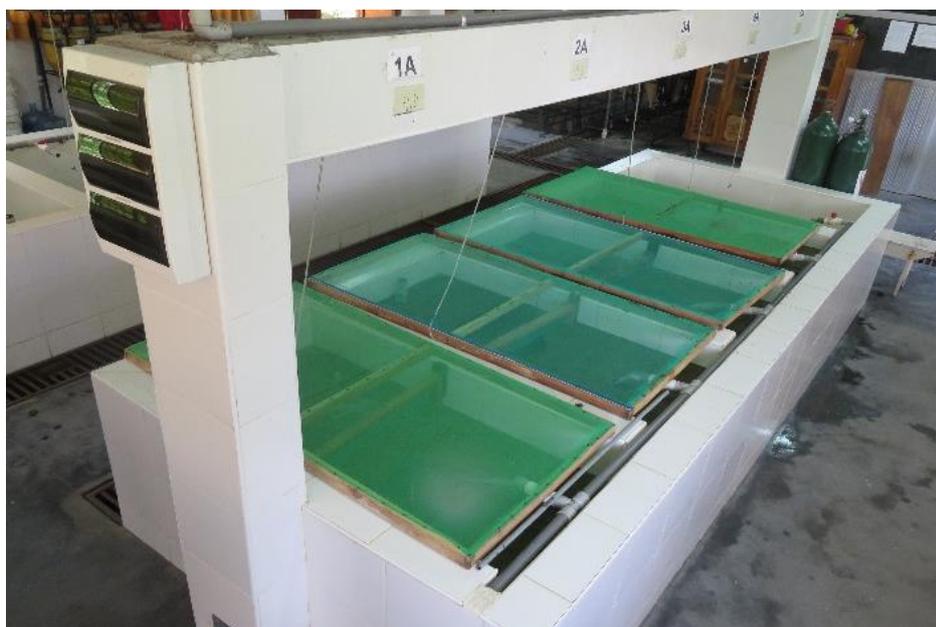
La investigación es tipo experimental, se utilizó un diseño completamente al azar que consto con tres tratamientos experimentales en diferentes concentraciones de extracto pituitario de paiche y su efecto en la ovulación y espermiación de *Brycon amazonicus* “sábalo cola roja”.

3.1.2. Diseño de la investigación

Unidades experimentales

Dentro de las instalaciones del laboratorio de reproducción inducida de peces del CIFAB, se utilizó 06 tanques rectangulares de cemento revestidas de mayólica color blanco con dimensiones de 0,75 x 0,7 x 0,9 m y volumen de 500 litros (Ilustración 1), donde se colocó las parejas de reproductores de *B. amazonicus* para realizar los ensayos reproductivos utilizando el extracto de pituitaria de paiche con tres tratamientos y tres repeticiones.

Ilustración 1. Unidades experimentales (tanques de mayólica)



Diseño estadístico

Para esta investigación se utilizó un diseño experimental al azar, con tres tratamientos: T1=extracto de pituitaria de paiche, administrado en dosis de: 3,0 mg/kg en hembras y 0,5 mg/kg en machos; T2=extracto de pituitaria de paiche, administrado en dosis de: 4,0 mg/kg en hembras y 1,0 mg/kg en machos y T3= extracto de pituitaria de paiche, administrado en dosis de: 5,5 mg/kg en hembras y 1,5 mg/kg en machos. A esto se suma tres replicas por cada tratamiento, en un esquema factorial de 3x3 (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos utilizados en la presente investigación

Tratamiento con EPP	repeticiones			Dosis hormonal		Hembras		Machos		Intervalo
				Hembra	Macho	1ra	2da	1ra	2da	
T1	T1R1	T1R2	T1R3	3.0 mg/kg	0.5 mg/kg	10%	90%	50%	50%	12 h
T2	T2R1	T2R2	T2R3	4.0 ml/kg	1.0 ml/kg	10%	90%	50%	50%	12 h
T3	T3R1	T3R2	T3R3	5.5 ml/kg	1.5 ml/kg	10%	90%	50%	50%	12 h

Tiempo del estudio

El periodo de duración de los ensayos experimentales fue de 100 días, los resultados que se obtuvieron nos permitió llegar a los objetivos planteados en el presente estudio.

3.2. Población y muestra

Para los ensayos reproductivos se utilizó 54 peces de la especie *B. amazonicus* "sábalo cola roja", que conformaron 27 parejas (9 parejas por cada tratamiento experimental) pertenecientes a una población de 120 individuos las cuales se encontraron en el estanque N° 11 del Centro de Investigaciones Fernando Alcántara Bocanegra (CIFAB), las cuales ya se encuentran adaptados a los trabajos de piscicultura (Ilustración 2).

Ilustración 2. a. muestreo de reproductores de sábalo b. transporte de reproductores de *Brycon amazonicus*.



3.2.1. Área de estudio

La investigación se desarrolló en las instalaciones del Centro Investigaciones Fernando Alcántara Bocanegra (**CIFAB**) perteneciente a la Dirección de Investigación en Ecosistemas Acuáticos Amazónicos (AQUAREC) del Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP). Situado al margen derecho del Kilómetro 4.5 de la Carretera Iquitos-Nauta, al sur oeste de la ciudad de Iquitos. Políticamente pertenece al distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas, departamento de Loreto. Geográficamente se encuentra entre las coordenadas: 18M, 686452 E y 9577874 S. (Ilustración 3), Imagen Satelital cortesía de Google Earth ver. 6.1.0.5001.

Ilustración 3. El círculo de amarillo muestra el lugar donde se desarrolló el experimento



3.3. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Obtención de la glándula pituitaria de Paiche

La glándula pituitaria de paiche utilizado en esta investigación fue obtenida de reproductores de paiche mayores de 160 centímetros de longitud total. Se colectaron en la quebrada Yarina de la Reserva Nacional Pacaya Samiria en marco del programa de manejo pesquero de la especie *Arapaima gigas* durante el mes de julio-setiembre del año 2019. La extracción de la hipófisis o glándula pituitaria se llevó a cabo de acuerdo al manual publicado por el IIAP y el informe técnico sobre propagación artificial elaborado por Woynarovich ³⁷, ³⁸. Al momento de la extracción de la glándula in situ se colecto las glándulas de peces que presentaban gónadas en avanzado estado de madurez sexual - estadio III, IV y V³⁹, con la finalidad de alcanzar alta concentración de hormonas (Ilustración 4).

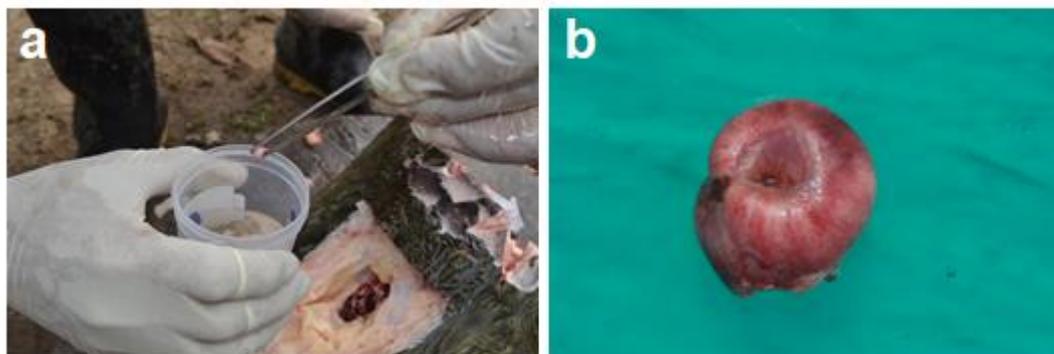
Ilustración 4. a. ovas de *Arapaima gigas* "paiche" b. testículo de *Arapaima gigas*



Técnica de extracción y conservación de las pituitarias de paiche

Luego de haber sacrificado ejemplares de paiche, localizado y extraído la pituitaria de paiche procedimos a su deshidratación sumergiéndola en acetona pura por 48 horas cambiándole el líquido a las 8, 12 y 24 horas (Ilustración 5). Para su almacenamiento definitivo se dejó secar con una toalla de papel y se guardó las glándulas secas en frascos de vidrio para su conservación final. Es importante mencionar que todo el proceso de extracción y conservación de las pituitarias de paiche están en base al manual publicado por el instituto de Investigaciones de la Amazonía peruana ³⁸.

Ilustración 5. a. extracción de la pituitaria de paiche b. glándula pituitaria de paiche.



Selección de reproductores de sábalo cola roja

Se seleccionó 27 reproductores hembras que presentaron el vientre abultado y la papila rojiza y esto se complementó realizando biopsia ovárica a través de una cánula para obtener una muestra de ovocitos los cuales fueron sumergidos en solución serra y con la ayuda de un microscopio se observó a posición del núcleo seleccionando solo aquellos que tuvieron el mayor porcentaje de núcleo en migración⁴⁰. En los tres ensayos realizados en el mes de noviembre se tiene que más del 30% de los ovocitos tenían núcleo en migración.

Y en el caso de los machos fueron seleccionados 27 reproductores que emitieron esperma al leve contacto en el abdomen, estos presentaban líquido seminal viscoso de color blanco y de aspecto lechoso (Ilustración 6).

Ilustración 6. a. macho de *Brycon amazonicus* con esperma y b. hembra de *Brycon amazonicus* grávida.



Biometría de los reproductores de *Brycon amazonicus*.

Se utilizaron reproductores de *B. amazonicus* “sábalo cola roja” de cuatro años de edad los machos pesaron en promedio 1.94 ± 0.24 kg, y las hembras 2.28 ± 0.38 kg. La longitud en el caso de los machos fueron 50.78 ± 2.22 cm y las hembras 49.32 ± 11.39 cm (Tabla 2).

Tabla 2. Biometría en reproductores de *Brycon amazonicus* “sábalo cola roja”.

valores	MACHOS		HEMBRAS	
	Peso (kg)	Longitud (cm)	Peso (kg)	Longitud (cm)
valor promedio	1.94	50.78	2.28	49.32
desviación estándar	0.24	2.22	0.38	11.39
valor mínimo	1.38	47	1.92	0.78
valor máximo	2.54	57	3.32	57

Desempeño reproductivo en hembras

Registro de Horas/grado

Al finalizar las inducciones es decir la primera y segunda dosis se comenzó a registrar la temperatura cada hora con la finalidad de estimar las horas/grado o el “tiempo de latencia” (Ilustración 7).

Ilustración 7. Registro de horas grado



Índice de ovulación

Se calculó dividiendo el total de hembras que ovulan entre el número total de hembras tratadas⁴¹.

Índice de ovulación = total de hembras ovuladas/total de hembras tratadas.

Fecundidad

Para determinar la fecundidad total o absoluta primero pesamos la cantidad de ovocitos desovados, seguidamente cogimos una muestra de aproximadamente 1 gramo y fijamos en formol al 5% e hicimos su conteo en laboratorio. Para encontrar la fecundidad de cada hembra tratada se usó la fórmula de⁴²:

$$F=n*G/g$$

Donde:

F = Fecundidad (número de ovocitos desovados por hembra)

n = Número de ovocitos en la submuestra

G= Peso (g) de los ovocitos desovados por hembra

g = Peso (g) de la submuestra

Fecundación

Durante este proceso estuvimos atentos a los indicios de desove una vez identificado levantamos a la hembra y con las manos ejercimos una leve presión en la cavidad abdominal recibiendo los ovocitos en un recipiente de

plástico y pesando el total de ovocitos desovados. En el caso de los machos también ejercimos una presión leve con las manos para obtener el esperma cuidando de no contaminar la muestra con algún tipo de líquido durante el proceso. Finalmente se mezcló los productos sexuales en seco con la ayuda de una pluma cerca de 1 min aproximadamente, una vez finalizado la mezcla se adiciono agua con la finalidad de alcanzar la fecundación.

Incubación de huevos de *Brycon amazonicus*

Para esta fase que permitió el desarrollo embrionario de *B. amazonicus* se usó incubadoras tipo Woynarovich de forma cónica y cuyo material es de fibra de vidrio con flujo vertical de 40 litros de capacidad, cada incubadora tuvo aireación permanente y un flujo ascendente de agua (Ilustración 8). Por otra parte, para calcular el número de huevos incubados se empleó el método volumétrico que consistió en medir 10 ml de agua en una probeta graduada de 30 ml y por desplazamiento del volumen de agua se estimó el número promedio de huevos hidratados en 10 ml realizando como mínimo 3 réplicas⁴³.

Ilustración 8. a. incubadoras de flujo vertical (Woynarovich) y b. proceso de incubación de huevos fecundados de *Brycon amazonicus*.



Determinación de la tasa de eclosión de los huevos de *Brycon amazonicus*

La tasa de eclosión (%) se calculó relacionando el número de larvas viables de muestras con el total de óvulos no eclosionados⁴⁴.

El número de larvas obtenidas se estimó por medio del método volumétrico con la siguiente ecuación:

$$N = V\sum ni/k$$

Dónde:

V = volumen del agua con larvas;

ni = es el número de larvas en la muestra;

k = es el número de muestras y

N = número total de larvas

Desempeño reproductivo en machos

Espermiación en *Brycon amazonicus* con EPP

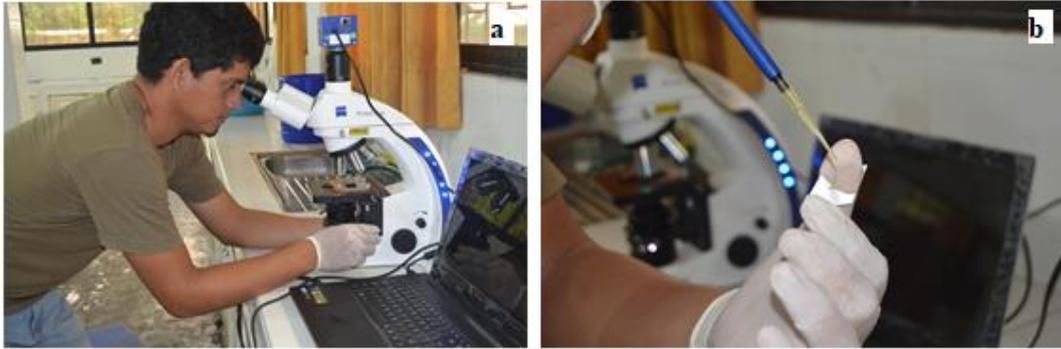
La espermiación fue calculado en términos de porcentaje de acuerdo al número de machos que evacuaron es decir que emitieron esperma en respuesta a diferentes dosis de extracto de pituitaria de paiche multiplicado por 100 y dividido por el número total de machos tratados.

Porcentaje de espermiación = total de machos evacuados x 100/total de machos tratados.

Evaluación de la calidad espermática en *Brycon amazonicus* con EPP

Después de aplicada la hormona extracto de pituitaria de paiche en machos seleccionados de la especie *B. amazonicus* se procedió a ejercer una simple presión en la cavidad abdominal para obtener el semen que procedimos a estudiar la calidad del esperma a través de las siguientes variables espermáticas (Ilustración 9).

Ilustración 9. a. evaluación del espermatozoides en microscopio y b. muestra de espermatozoides utilizado para conteo de espermatozoides



Volumen:

El semen obtenido de los machos se midió directamente dentro de un tubo aforado milimetrado y esto sirvió para calcular la cantidad el número total de espermatozoides presentes en la muestra de cada macho tratado (Ilustración 10).

Ilustración 10. a. muestra de semen de *Brycon amazonicus* y b. colecta de espermatozoides de *Brycon amazonicus* con tubo milimetrado.



Color:

Esta característica nos permitió conocer indirectamente la concentración espermática del semen de los peces.

La concentración espermática

Es el número de espermatozoides por unidad de volumen expresado en millones de espermatozoides por μL o por ml. Para hacer los cálculos

utilizamos una cámara de Neubauer lo cual ha sido utilizado con éxito en animales domésticos⁴⁵ y en peces⁴⁶. El proceso constituyo en diluir el semen a través de micropipetas y luego se coloca una gota en la cámara Neubauer, se sigue con el recuento individual de los espermatozoides localizados en cinco (0,2 mm²) de los 25 subcuadros del cuadro central (1,0 mm²), Una vez contados los espermatozoides, la concentración espermática se calculó usando la siguiente formula:

$$CE = n / (A \times P \times D)$$

Donde:

CE = concentración espermática (número de espermatozoides. μ L⁻¹)

n = número promedio de espermatozoides contados en los cinco subcuadros de las dos cuadrículas.

A = área de la cámara de Neubauer contada (generalmente 0.2 mm²)

P = profundidad de la cámara (0,1 mm)

D = dilución del semen (por ejemplo 1/1200, en Brycon)

Espermatocrito:

Es la relación entre el volumen de las células empacadas y el volumen total de la columna de semen centrifugado multiplicado por 100 y expresado en porcentajes⁴⁷.

Movilidad espermática:

Los espermatozoides de los peces son inmóviles y solo se activan en pleno contacto con algún material acuoso y en el caso de la reproducción inducida se suele utilizar agua destilada para determinar el tiempo de activación. A la muestra de semen se coloca una gota de agua y se cronometró el tiempo que permanecen en movimiento.

Monitoreo de la calidad de agua en la incubación

Durante los ensayos reproductivos, registramos la temperatura (°C), el pH, conductividad eléctrica, solidos totales disueltos y oxígeno disuelto (mg/l) con un Multiparametro HANNA HI 9829. También se registró el amonio, del agua

con un AQ-2 de Kit LaMotte. Con una frecuencia de registro de datos al inicio, durante y al finalizar el proceso de incubación de los óvulos de *Brycon amazonicus*.

3.4. Técnicas de procesamientos y análisis de los datos

La información que se obtuvo durante los ensayos reproductivos con el uso de pituitaria de Paiche en la ovulación y espermiación nos sirvió para realizar un análisis de varianza (ANOVA), utilizando el programa estadístico SigmaPlot® versión 11,0 y se empleó la prueba de post análisis o Prueba de Tuckey donde se encontró diferencias significativas. El criterio de significancia fue de $p < 0,05$, y se verificó previamente la normalidad (Test de Shapiro-Wilk).

3.5. Aspectos éticos

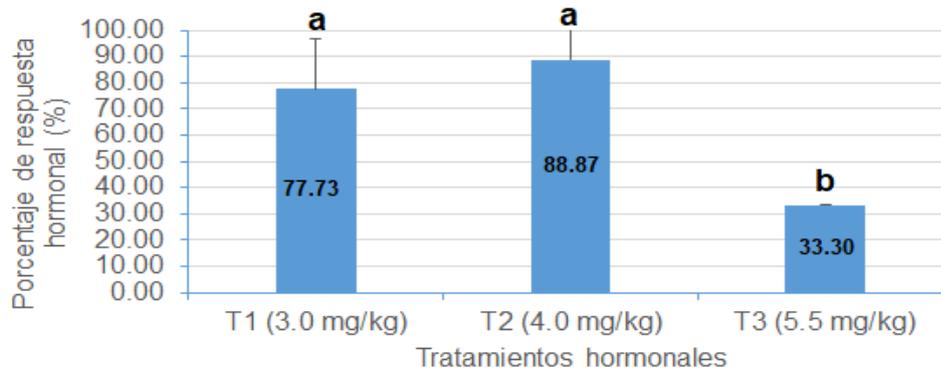
La información que se generó en este estudio es confidencial, respetando estrictamente los aspectos éticos universales e institucionales concerniente a las referencias bibliográficas y derechos de autoría y finalmente durante los ensayos reproductivos es decir la manipulación de los ejemplares de *B. amazonicus*, sábalo cola roja no eran sometidos a malos manejos que atente contra la vida de los ejemplares.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Índice de Ovulación.

En el gráfico 1, al inducir a hembras de *Brycon amazonicus* tres diferentes dosis de extracto de pituitaria de Paiche (EPP), se obtuvo los siguientes porcentajes de respuesta hormonal en el desove: T1: 77.73 %, T2: 88.87 % y T3: 33.30 %. Al realizar el análisis de varianza (ANOVA), se determinó que si existen diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$), fijando el T1 y T2 son iguales y el T3 es diferente a ellos.

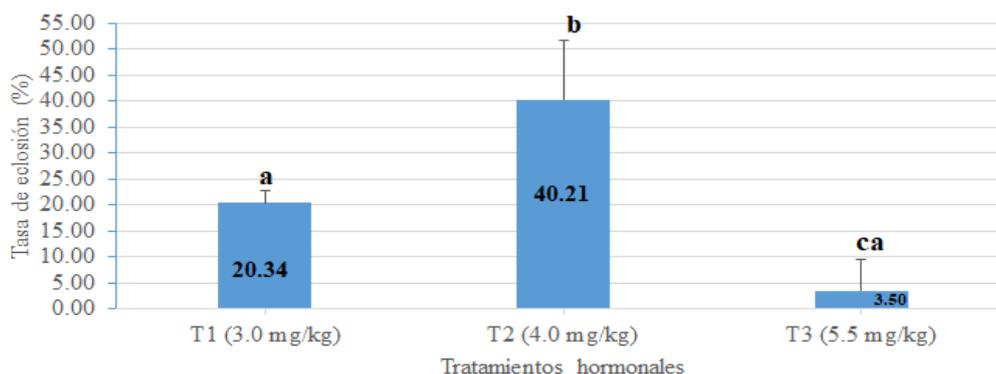
Gráfico 1. Porcentaje de respuesta hormonal en hembras de *Brycon amazonicus*, con tres diferentes dosis de hipófisis de Paiche.



4.2. Tasa de eclosión

Respecto a la variable tasa de eclosión al utilizar tres diferentes dosis de EPP en la inducción de *Brycon amazonicus* obtuvimos los siguientes resultados: T1 (3.0 mg/kg): 20.34 %, T2 (4.0 mg/kg): 40.21 % y T3 (5.5 mg/kg) 3.50 %. Según el análisis de varianza, encontramos diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$), siendo el T2 el mejor (Gráfico 2).

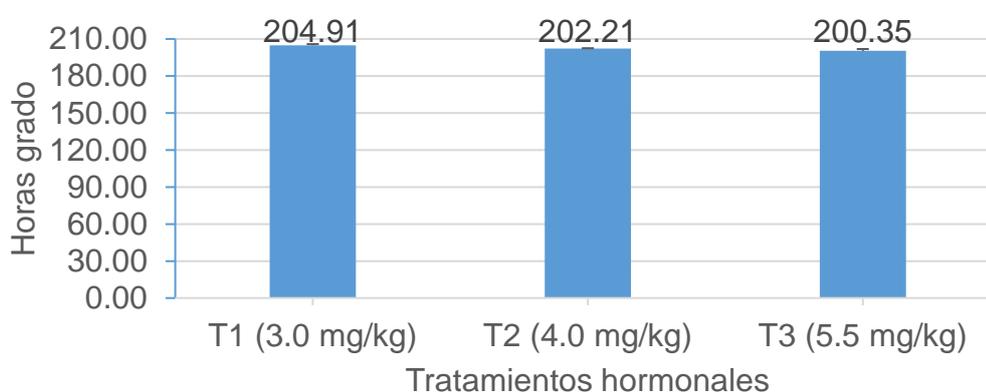
Gráfico 2. Tasa de eclosión en hembras de *Brycon amazonicus*, con tres diferentes dosis de hipófisis de paiche.



4.1. Grados-horas en la reproducción de *Brycon amazonicus*.

Los resultados muestran que en promedio las horas grado en la reproducción de *Brycon amazonicus* producto de las tres diferentes dosis del extracto de hipófisis de paiche, son 204.91, 202.21 y 200.35, para los tratamientos T1 (3.0 mg/kg), T2 (4.0 mg/kg) y T3: 5.5 mg/kg, respectivamente, es decir el desove ocurrió entre las 5 horas y 6 horas después de la segunda dosis de inducción hormonal (Gráfico 3).

Gráfico 3. Grados horas en la reproducción de *Brycon amazonicus*, con tres diferentes dosis de hipófisis de paiche



4.2.1. Desempeño reproductivo en hembras de *Brycon amazonicus* con EPP.

En la tabla 3, se observa el desempeño reproductivo de 8 hembras que alcanzaron la eclosión final. El desove ocurre en promedio a las 5.4 horas, el peso promedio del desove es 189.5 g y esto representa el 9.0% del peso total de la especie *Brycon amazonicus*. La fecundidad absoluta en promedio es 230,181 ovocitos y el número de óvulos por gramo fue de 1267.2.

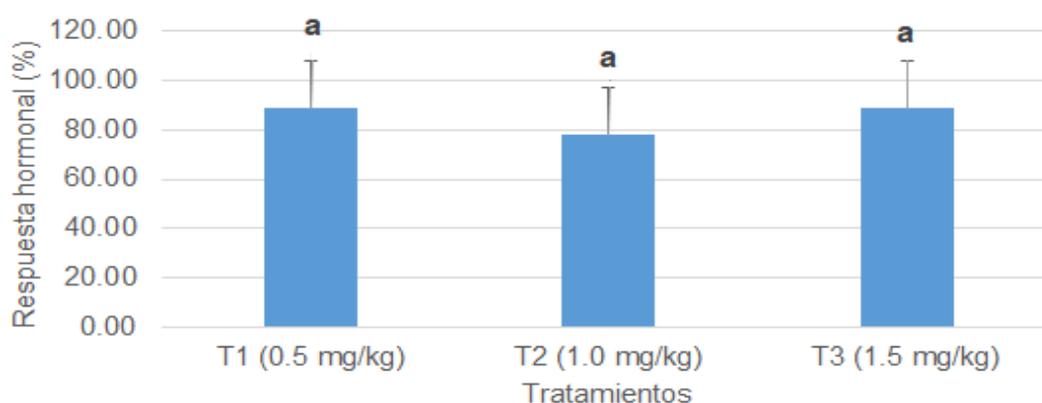
Tabla 3. Desempeño reproductivo de *Brycon amazonicus* inducidos con EPP.

N°	Peso de las hembras (g)	Hora de desove (h)	Peso del desove (g)	Relación peso del desove y peso total (%)	N° promedio de óvulos/1 g. de desove	N° total de ovocitos desovados	larvas/madre
1	2160	5.05	290	13.4	1129.38	327520	70274
2	2430	5.31	149	6.1	1583.17	235892	60450
3	1940	5.46	178	9.2	1194.12	212553	41208
4	2225	5.42	212	9.5	854.28	181048	19030
5	1920	5.55	228	11.9	1173.57	267573	101459
6	2120	5.01	189	8.9	891.79	168548	88665
7	2065	6	140	6.8	1786	250040	55215
8	2010	5.65	130	6.5	1525.2	198276	50235
x	2108.8	5.4	189.5	9	1267.2	230181	60817

4.3. Espermiación en *Brycon amazonicus* con EPP

Al inducir a reproductores machos de *Brycon amazonicus* tres diferentes dosis de extracto de pituitaria de Paiche (EPP), obtuvimos los siguientes porcentajes de respuesta hormonal (espermiación): T1 (0.5 mg/kg): 88.87 %, T2 (1.0 mg/kg): 77.73 % y T3 (1.5 mg/kg) 88.87 % (Gráfico 4). Al realizar el análisis de varianza (ANOVA), determinamos que no existen diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$).

Gráfico 4. Porcentaje de respuesta hormonal en machos de *Brycon amazonicus*, con tres diferentes dosis de pituitaria de paiche.

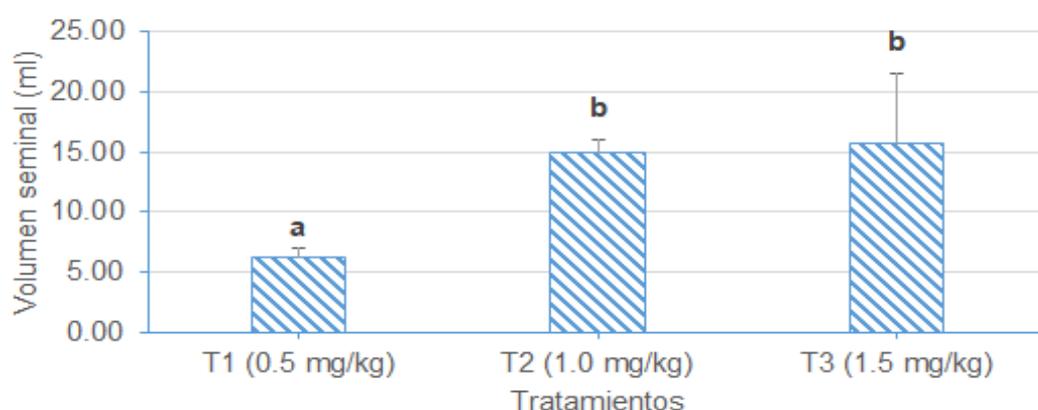


Calidad espermática en *Brycon amazonicus* con EPP

Normalmente el espermatozoide tuvo una coloración blanco marfil. El tiempo que permanecen en movimiento para nuestro estudio fue de 43.3 segundos.

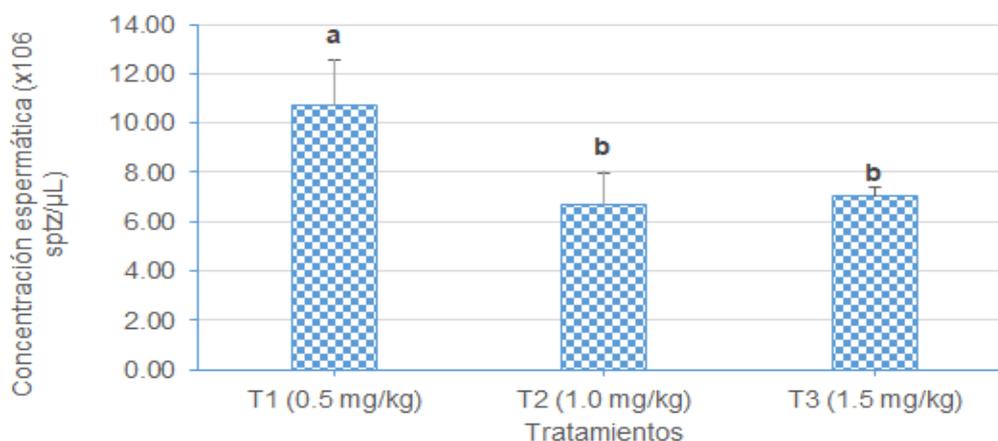
Respecto a la variable **volumen seminal** producto de la inducción con hipófisis de paiche a *Brycon amazonicus*, se obtuvo diferentes volúmenes. Al realizar el análisis de varianza, se determinó que si muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). Comprobándose que el T1 con la dosis de 0.5 mg/kg de EPP obtuvo menor volumen (6.17 ± 0.76 ml) y es diferente a las demás dosis (tratamientos) que mostraron mayor volumen (Gráfico 5).

Gráfico 5. Volumen seminal en *Brycon amazonicus*, con tres diferentes dosis de pituitaria de Paiche.



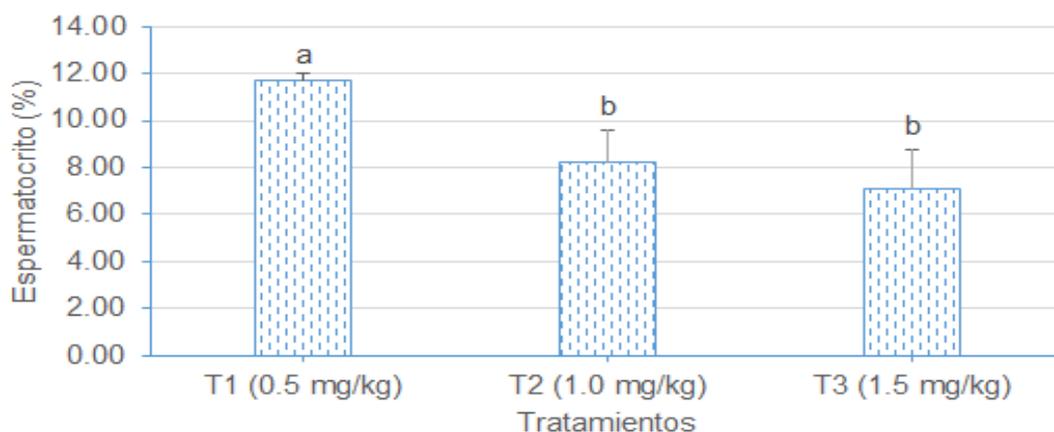
Referente a la variable **concentración espermática** obtuvimos los siguientes valores promedios T1 (0.5 mg/kg): 10.73 ± 1.83 T2 (1.0 mg/kg): 6.69 ± 1.29 y T3 (1.5 mg/kg): 7.03 ± 0.34 (Gráfico 6), según el ANOVA aplicado comprobamos que si existen diferencias significativas siendo el T1 diferente a los demás tratamientos ($p < 0.05$).

Gráfico 6. Concentración espermática en *Brycon amazonicus*, con tres diferentes dosis de pituitaria de Paiche.



En el Gráfico 7, se analizó el último parámetro conocido como **espermatocrito** donde se obtuvo los siguientes valores medios: T1 con $11.73 \pm 0.31 \%$, T2: con $8.20 \pm 1.39 \%$ y T3: $7.10 \pm 1.65 \%$ y haciendo el ANOVA se determinó que si existen diferencias significativas entre los tratamientos, donde el T2 y T3 son iguales y el T1 es diferente a ellos ($p < 0.05$).

Gráfico 7. Valores promedios de espermatocrito en *Brycon amazonicus*, con tres diferentes dosis de pituitaria de Paiche.



4.3.1. Parámetros físicos químicos del agua durante la incubación de huevos de *Brycon amazonicus*

En la tabla 4, se muestran los valores promedios de los principales parámetros físicos y químicos del agua registrados cada 3 horas post fecundación (hpf) durante la incubación de la especie *Brycon amazonicus*. Solo el amonio fue medido al inicio registrando 0.0 mg/L y al final 0.09 mg/L.

Tabla 4. Valores promedios de los parámetros físicos y químicos en la incubación de *Brycon amazonicus*.

	Temperatura del agua (°C)	pH	Conductividad Eléctrica ($\mu\text{S} / \text{cm}$)	Sólidos Totales Disueltos (mg/L)	oxígeno disuelto (mg/L)
0 hpf	27.41 ± 0.16	7.17 ± 0.41	74.8 ± 55.4	37.00 ± 3.08	7.75 ± 0.80
3 hpf	27.38 ± 0.10	7.27 ± 0.08	70.6 ± 2.07	35.40 ± 0.89	7.53 ± 0.80
6 hpf	27.31 ± 0.11	7.36 ± 0.10	70.2 ± 0.48	35.20 ± 0.45	7.73 ± 0.87
9 hpf	27.31 ± 0.02	7.30 ± 0.03	69.67 ± 0.58	34.67 ± 0.58	7.93 ± 1.23
12 hpf	27.29 ± 0.02	7.30 ± 0.05	69.33 ± 1.15	34.67 ± 0.59	7.68 ± 0.39

4.4. Protocolo de aplicación de la hipófisis o pituitaria de paiche en la reproducción inducida de *Brycon amazonicus*

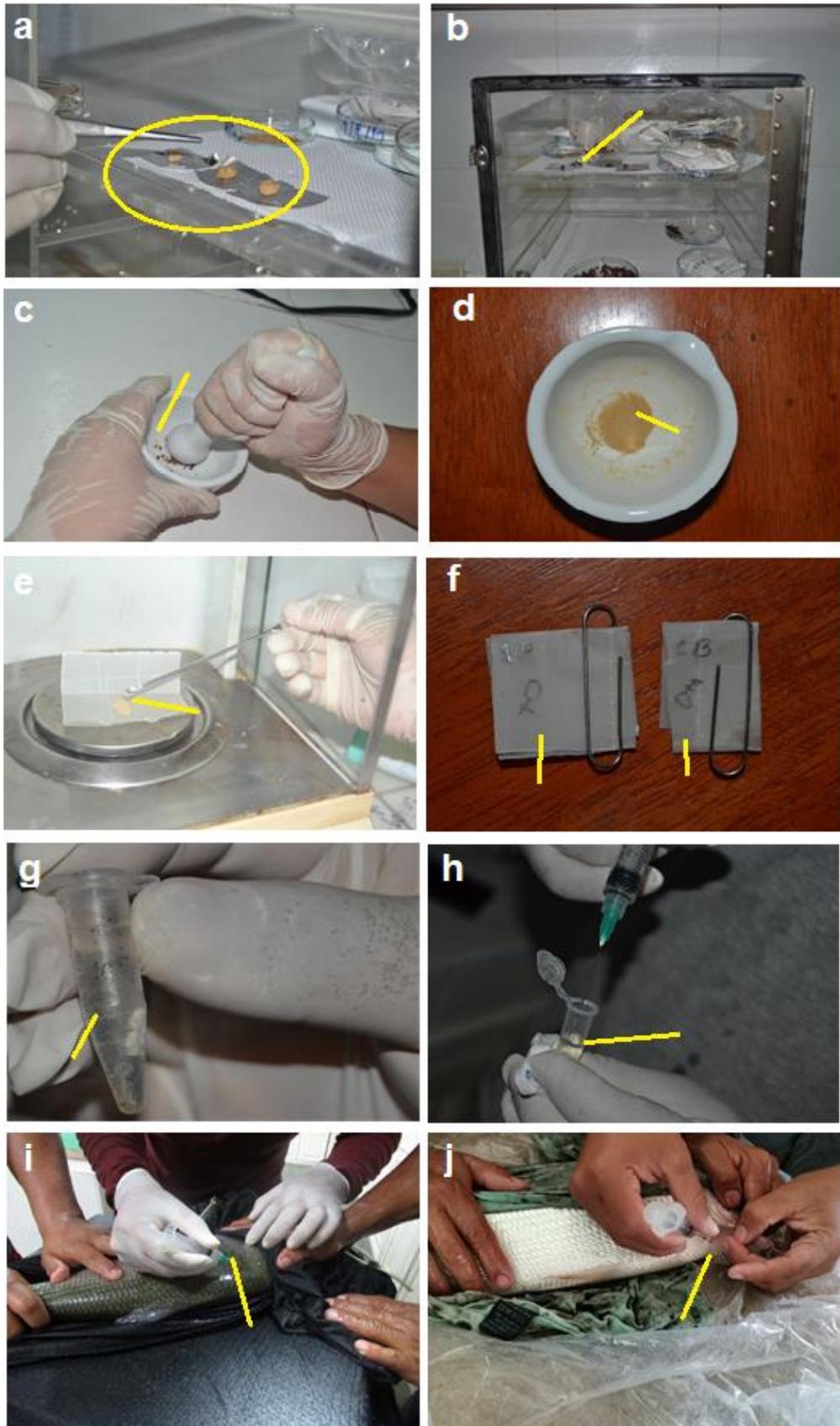
A. PREPARACIÓN DE LA PITUITARIA O HIPÓFISIS DEL PAICHE.

- Los extractos de pituitaria o hipófisis de paiche debidamente conservadas son retirados y colocados en un desecador por un máximo de dos días para la absorción de humedad (**Ilustración 11 a y 11b**).
- Realizar la trituración de las hipófisis o pituitarias de paiche con un mortero y pilón hasta dejarlo en partículas muy finas. (**Ilustración 11c y 11d**).
- Luego estos extractos de la hormona son pesados en balanza analítica de acuerdo al peso de los reproductores de sábalo y colocados en papel canson y rotulados (**Ilustración 9e y 9f**).

B. PROCESO DE INYECCIÓN DEL EPP EN REPRODUCTORES DE *Brycon amazonicus* “sábalo cola roja”

- Se recomienda utilizar según nuestro resultados las de 4 mg/kg de peso corporal en hembras y 0.5 mg de peso corporal en machos de *Brycon amazonicus*.
- Seguidamente la dosis de la hormona pituitaria de paiche es colocado en un recipiente de plástico de 2 ml (**Ilustración 9g**).
- Agregamos 1.5 ml de suero fisiológico dentro del recipiente y agitamos por un minuto (**Ilustración 9g**).
- Luego con una jeringa de 3 ml absorbemos toda, la mezcla quedando listo para ser utilizado en las inducciones (**Ilustración 9h**).
- Finalmente inyectamos la hormona pituitaria de paiche en la zona intraperitoneal o muscular (**Ilustración 9i y 9j**).

Ilustración 11. Procesos de aplicación de la hormona pituitaria de paiche en la reproducción inducida de *Brycon amazonicus* (a-j).



CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

5.1. Tratamientos hormonales con extracto de pituitaria de paiche (EPP)

Los mejores índices de ovulación (88.7%) y tasa de eclosión (40.21%) se obtuvieron con la dosis de 4 mg/kg de extracto de pituitaria de paiche (EPP) en la reproducción inducida de *Brycon amazonicus* que corresponde al tratamiento 2. En el caso de los reproductores machos de *B. amazonicus* la dosis mejor en la espermiación y calidad espermática fue de 0.5 mg/kg de EPP que corresponde al tratamiento 1. Estos efectos positivos obtenidos se deben probablemente a que las dosis utilizadas tanto en hembras como en machos han tenido la concentración necesaria de hormonas gonadotropinas y dentro de ella destaca la hormona Luteinizante (LH) presente en la pituitaria de paiche que desencadenaron una serie de procesos fisiológicos a nivel eje cerebro-hipotálamo-gónadas², haciendo que como producto final se obtenga el desove y la espermiación en la especie *B. amazonicus* con EPP.

Este estudio se convierte en la primera investigación en probar su eficacia, ya que habiendo realizado una búsqueda exhaustiva en las diferentes fuentes científicas no hemos encontrado trabajo similar donde utilicen pituitaria de paiche con la especie *B. amazonicus* “sábalo cola roja” objeto de estudio y tampoco en otras especies amazónicas utilizadas ampliamente en la reproducción inducida como es: *Colossoma macropomum* “gamitana”, *Piaractus brachipomus* “paco”, *Prochilodus nigricans* “boquichico” y *Pseudoplatystoma punctifer* “doncella”. Sin embargo hemos encontrado investigaciones que utilizan la hipófisis o pituitaria de otras especies amazónicas tal es el caso que en el año 2010 probaron la eficiencia hormonal de la hipófisis de *Prochilodus mariae* como agente inductor sustitutorio en la reproducción inducida de la misma especie, los resultados del experimento fueron positivos con 58.3% en inducir el desove de *Prochilodus mariae*¹⁰. En otro estudio en el mismo año 2010 utilizaron como inductor hormonal el extracto de pituitaria de *Geophagus proximus* “bujurqui” en la reproducción inducida de *Piaractus mesopotamicus*, donde obtuvieron resultados positivos donde el 16.7% de las hembras tratadas alcanzaron la ovulación final¹¹. Y en

nuestra región Loreto específicamente la ciudad de Iquitos solo se hizo un estudio el año 2014 donde utilizaron como inductor hormonal los extractos de las pituitarias de *Anodus elongatus* “Yulilla”, *Prochilodus nigricans* “Boquichico”, y *Potamorhina latior* “Yahuarachi”, a reproductores de *Piaractus brachypomus* “Paco”, al final de todo el experimento las dosis utilizadas de 2.5 mg/Kg y 5.0 mg/Kg no tuvo efecto positivo en el desove final de hembras grávidas de *Piaractus brachypomus*⁹.

Por otro lado existen varios estudios donde utilizaron la hormona de amplio uso en la reproducción artificial de peces y sobre todo amazónicas y que no utiliza la pituitaria de una especie amazónica si no una especie originaria de Europa occidental como es la hipófisis de carpa. En ese sentido en un estudio de inducción hormonal con la especie *Brycon cephalus* todas las hembras llegaron a desovar u ovular (100%), con la hormona pituitaria de carpa en la dosis de 5.5 mg/kg además obtuvieron una tasa de eclosión de 53.39% y fecundidad relativa de 1497.60 óvulos/g¹³. En el año 2018 con la misma especie otro autor obtuvo una ovulación del 66.6% de las hembras tratadas y una tasa de eclosión en promedio de 81.38% y una fecundidad relativa de 1,273 ± 29 óvulos/g⁷. Y en un estudio realizado en Colombia con la hormona extracto de pituitaria de carpa (EPC) en la especie *Brycon amazonicus* donde el 83.3% de las hembras inducidas desovaron y obtuvieron una tasa de eclosión del 51% y fecundidad relativa de 1468.6 ± 34.3 óvulos/g¹⁵.

Es importante mencionar que los mejores resultados en la reproducción artificial de peces amazónicos se han conseguido con hipófisis de peces siendo el proceso conocido como Hipofización ampliamente usado en la reproducción artificial de peces en la región neotropical^{2, 3, 38}. En este estudio resaltamos una vez más los buenos resultados obtenidos con la hipófisis o pituitaria de paiche, además que es una especie nativa de la zona y no se tendría que importar como pasa con el extracto de pituitaria de carpa (EPC) que tiene un alto costo en el mercado.

Respecto a la dosis menor de 3 mg/kg de EPP que corresponde al tratamiento 1 de nuestro estudio las hembras alcanzaron el desove, es decir hubo una

respuesta positiva pero la tasa de eclosión fue de 20.34% es decir bajo en comparación a los demás tratamientos quizás esto se deba a que la dosis de concentración de la pituitaria de paiche no fue lo suficiente ^{37, 38}, y esto se puede corroborar con lo utilizado el año 2014 con la dosis menor de 2.5 mg/Kg las hembras tratadas con pituitarias de *Anodus elongatus* “yulilla”, *Prochilodus nigricans* “boquichico”, y *Potamorhina latior* “Yahuarachi”, a reproductores de *Piaractus brachypomus* “paco”, las hembras no desovaron sin embargo, se pudo notar signos de dilatación de la parte ventral del pez, además de la migración del núcleo⁹. Y con la dosis mayor de 5.5 mg/kg de EPP que pertenece al tratamiento 3 utilizado en nuestro estudio, algunas hembras prolapsaron y la tasa de eclosión fue de 2.34%, corroborando estos resultados tenemos que en un estudio realizado en el año 2010 con su dosis mayor de 5.0 mg/Kg de las pituitarias de las especies amazónicas: de *Anodus elongatus* “yulilla”, *Prochilodus nigricans* “boquichico”, y *Potamorhina latior* “yahuarachi”, a reproductores de *Piaractus brachypomus* “paco”, no llegaron a desovar observándose al final prolapso posiblemente por la sobredosis de hormona usado, además observaron endurecimiento abdominal no respondiendo favorablemente a sus dosis planteadas⁹.

Respecto a los parámetros de calidad de agua en la incubación de huevos de *Brycon amazonicus* utilizando el extracto de pituitaria de paiche no hemos encontrado trabajos similares a nuestro estudio ni utilizando en otras especies en la inducción pero si hemos encontrado literatura con otros tipos de hormonas donde evalúan la calidad de agua en la incubación de huevos de sábalo cola roja. Donde ⁷, menciona los valores de calidad de agua durante la incubación de huevos de *Brycon cephalus* utilizando tres clases de hormonas fueron: temperatura: 28.8 ± 0.12 °C, oxígeno disuelto 6.07 ± 0.12 mg/l y el pH 6.44 ± 0.08 , mientras tanto en otro estudio, los parámetros físico químicos del agua presentaron pequeña variación, con valores promedios de 27.6 ± 0.1 °C de temperatura, 7.9 ± 0.4 mg/l de oxígeno disuelto y 6.5 ± 0.1 de pH; habiendo ellos utilizado el EPC y mGnRH-a en *B. amazonicus* con el fin determinar la maduración final y ovulación¹⁴. Siendo estos valores que se mencionan cercanos a lo registrado en nuestro estudio solo con ligeras variaciones.

En otro estudio mencionan ¹³, los parámetros en la incubación de huevos de *Brycon cephalus* utilizando EPC fueron: $28.3 \pm 0,37$ °C, con nivel de oxígeno $5.46 \pm 0,34$ mg/L y pH $6.20 \pm 0,16$ UI. Frente a lo expuesto podemos observar ligeras variaciones respecto a los valores de calidad de agua en la incubación de huevos de especies amazónicas y esto podemos corroborar en el libro de reproducción de peces en el trópico², donde mencionan que los valores recomendados en la incubación respecto a la temperatura es 27° C, y a menores valores de temperatura menor será el proceso de incubación.

Respecto al oxígeno disuelto en la incubación los valores de 5 y 6 mostraron mejores tasas de eclosión en la especie *Brycon erythropterum* utilizando EPP en sus ensayos experimentales ⁴⁸. En otro estudio observaron que concentraciones menores a 3 mg/l de oxígeno disuelto disminuyen hasta un 30% la tasa de eclosión ³. Mientras que en nuestro estudio estuvieron en 7.5 mg/l con ligeras variaciones. En los centros de reproducción de peces tropicales la incubación suele realizarse entre valores de 5 y 7 mg/l de oxígeno ^{49,50}, debido a que bajas concentraciones tienen efecto letal sobre los embriones ^{3, 48}.

Los machos de *Brycon amazonicus* “sábalo cola roja” criados en cautiverio alcanzaron a producir esperma en este estudio y esto se evidenció durante la evaluación y selección de estos reproductores en campo en los meses de octubre y noviembre, además evidenciamos semen fácilmente al realizar una ligera presión en la cavidad abdominal y al llevar a estos al laboratorio y utilizar como inductor hormonal el extracto de pituitaria de paiche (EPP), con las tres diferentes dosis evidenciamos que se produce la espermiación pero el volumen y la calidad del esperma son diferentes. En otros estudios que trabajaron en la reproducción inducida en la misma especie es decir *B. amazonicus*, pero teniendo como inductor hormonal el extracto de pituitaria de carpa (EPC) también mencionan que los machos produjeron esperma sin necesidad de inducir solo al realizar leve presión en el abdomen e incluso antes de utilizar el inductor hormonal en los experimentos estos ya presentaban semen ^{2, 7}. Los machos no solo del género *Brycon* incluso especies como *Colossoma macropomum* “gamitana”, *Piaractus brachipomus*

“paco”, y *Pseudoplatystoma punctifer* “doncella” también expulsan esperma sin la necesidad de inducirlos hormonalmente ^{2,3}.

Sin embargo las disfunciones reproductivas que ocurren en las especies debido principalmente a las condiciones de cautiverio que son criadas limitan que el semen producido sea de calidad y el volumen no sea suficiente⁴⁷, incluso en un estudio realizado en machos de la especie *Paralichthys dentatus* “lenguado marino” capturados en el medio natural durante la estación reproductiva y trasladados a cautiverio, produjeron esperma con ausencia de espermatozoides móviles y semen muy viscoso que no permitió mezclarse adecuadamente con el agua y por lo tanto fue incapaz de fertilizar los ovocitos⁵¹, por otro lado estudiando reproductores machos de *Brycon amazonicus* inducidos con pituitaria de carpa observaron un aumento con respecto al volumen obteniendo valores de 9.6 ml y sin el uso de ningún inductor hormonal produjo 1.8 ml ⁴⁵. Si esto lo llevamos a escala comercial esta producción de semen sería inadecuada para satisfacer los procesos de seminación artificial⁴⁵. Así que para estimular la espermatogénesis y aumentar el líquido seminal y la calidad espermática, un proceso de inducción hormonal debe ser lo ideal ⁴⁷ y en nuestro estudio con la aplicación del extracto de pituitaria de paiche en la reproducción inducida de *B. amazonicus* recomendamos su uso en la dosis de 0.5 mg/kg de EPP para machos.

La seminación artificial es clave para garantizar el éxito en la producción de alevinos producto de la técnica de reproducción inducida en peces. La cantidad y calidad de semen que producen los peces depende de muchos factores desde el tipo de especie, época del año, tipo de hormona, tiempo de latencia y hasta de la habilidad de la persona que manipula estos ejemplares ⁴⁶, en ese sentido en nuestro estudio a mayor dosis de la hormona extracto de pituitaria de paiche (EPP) obtuvimos mayor volumen seminal, donde el tratamiento 1 con la dosis de 0.5 mg/kg dio un volumen de 6.17 ± 0.76 ml, y con la dosis mayor que corresponde al tratamiento 3 (1.5 mg/kg), fue de 15.67 ± 5.86 ml de esperma. Haciendo búsqueda de literatura científica no encontramos estudios similares al nuestro donde empleen la pituitaria de paiche en la espermiación de *Brycon amazonicus* y otras especies con

potencial acuícola en amazonía, sin embargo en un estudio donde emplearon un inductor hormonal diferente como es la pituitaria de carpa encontraron que a mayor uso de la pituitaria de carpa en la espermiación de las especies *Brycon siebenthalae* y *Rhamdia sebae* obtuvieron mayor volumen de semen ⁴⁷ y en un estudio realizado el año 2015 probaron diferentes dosis de la hormona ovopel en la espermiación de *Brycon cephalus* y también encontraron que a mayor dosis empleada obtuvieron mayor volumen de esperma ¹², evidenciando que las hormonas inducen la mayor producción de esperma en los peces.

Con respecto a la concentración espermática y a los valores de espermatozoides en nuestro estudio con la menor dosis de 0.5 mg/kg (T1) obtuvimos 10.73 ± 1.83 ($\times 10^6$ spz/ μ L) y con la mayor dosis de 1.5 mg/kg fue 7.03 ± 0.34 ($\times 10^6$ spz/ μ L) y con el espermatozoides también experimentamos lo mismo donde con el tratamiento 1 obtuvimos 11.73 % y con la dosis mayor fue de 7.10 %, lo cual significa que a mayor dosis de la hormona extracto de pituitaria de paiche (EPP) empleado menor fueron los valores encontrados de concentración espermática y de espermatozoides resultados similares también fueron reportados por ⁴⁷, donde utilizaron como inductor hormonal el extracto de pituitaria de carpa en *Brycon siebenthalae* y *Rhamdia sebae*, encontrando menor concentración espermática y espermatozoides al final del experimento.

Además en otro estudio desarrollado el año 2012, observaron que *Pseudoplattystoma reticulatum* luego de la inducción hormonal con EPC con una dosis de 2.5 mg/kg produjeron la reducción de la concentración espermática en 50 % al igual que el espermatozoides ⁵³, este hecho también fue observado en *Salminus maxillosus* ⁵⁴, donde se produjo una reducción de alrededor del 18% en la concentración espermática después de haber inducido con EPC, sin embargo en un estudio desarrollado en la ciudad de Iquitos utilizando EPC aumento el volumen seminal pero disminuyó la concentración espermática y el espermatozoides mientras que utilizando la hormona ovaprim en el mismo estudio los machos de *Brycon cephalus* experimentaron un aumento de la concentración espermática mientras que las

otras variables como espermatocrito y volumen seminal se vieron disminuidos
7.

Finalmente determinamos que el extracto de pituitaria de paiche utilizado en nuestro estudio con la especie *Brycon amazonicus* a mayor dosis empleada inducen la producción de esperma en cuanto a volumen pero disminuyen la calidad seminal reduciendo los valores de concentración espermática y espermatocrito. Este mismo fenómeno que se menciona también experimenta el uso del extracto de pituitaria de carpa y el ovaprim en la especie *Brycon amazonicus* y otras especies diferentes que fueron utilizados en otros estudios tal como se mencionan en párrafos arriba.

CAPÍTULO VI: PROPUESTA

Que en la ciudad Iquitos se instale una planta de procesamiento o un laboratorio donde se elabore extractos de pituitarias de especies amazónicas empezando con el paiche e ir incluyendo en el tiempo otras especies de gran porte presente en nuestros ríos amazónicos y procedentes de estanques de cultivo también. Con el fin de comercializar dichas hormonas a las instituciones públicas, privadas o empresas que realizan o trabajan la reproducción artificial, empezando por el mercado local y poco a poco ir produciendo a gran escala e ir cubriendo el territorio nacional.

Que las asociaciones de pescadores artesanales que trabajan con programas de manejo pesquero en la Amazonía peruana abastezcan de la hipófisis del paiche y de otras especies amazónicas, previa capacitación por especialistas en la materia, en la obtención de las hipófisis en campo. En consecuencia esto permitirá generar recursos económicos a los pobladores locales, mejorando sus calidades de vida y sobre todo contribuir con el desarrollo sostenible de la piscicultura en la Amazonía.

CAPITULO VII: CONCLUSIONES

La dosis hormonal de 4.0 mg/kg del EPP (Tratamiento 2), fue la mejor respecto al porcentaje de respuesta hormonal con 88.87% en la ovulación final de *Brycon amazonicus* “sábalo cola roja”.

El tratamiento dos (T2), con la dosis de 4.0 mg/kg de EPP es la que mejores resultados mostró con una tasa de eclosión del 40.21% en la reproducción inducida de *Brycon amazonicus*.

El tratamiento uno (T1) con la dosis de 0.5 mg/kg de EPP, es la dosis recomendable en la espermiación de *Brycon amazonicus*, con un porcentaje de respuesta hormonal del 88.87 %.

La dosis de 0.5 mg/kg (T1) del EPP es la que mejores resultados mostró respecto a los principales parámetros de calidad espermática evaluados en la reproducción inducida de *Brycon amazonicus*.

Se muestra un protocolo sencillo de preparación y aplicación del extracto de pituitaria de paiche (EPP) en la inducción de *Brycon amazonicus*.

Los parámetros físicos y químicos del agua, se mantuvieron constantes en todo el proceso de incubación hasta la eclosión de *Brycon amazonicus*.

CAPITULO VIII: RECOMENDACIONES

Que los centros de reproducción inducida de peces amazónicos, en adelante utilicen la pituitaria de paiche en la inducción de *Brycon amazonicus* “sábalo cola roja” y de esta forma ir no dependiendo de la importación de la hipófisis de carpa.

En base a los resultados obtenidos en la presente investigación, recomendamos que se realicen otros estudios con otras especies como: *Piaractus brachypomus* “paco” y *Pochilodus nigricans* “boquichico” sobre el uso y validación con la glándula pituitaria de paiche.

En el futuro los trabajos de investigación que se desarrollen incluyan estudios para conocer el perfil y valores hormonales del extracto de pituitaria o hipófisis de paiche, además que se realicen en las especies que serán inducidas.

Que los trabajos en adelante relacionados al uso del extracto de pituitaria de paiche (EPP), utilicen dosis diferentes teniendo como base los resultados positivos encontrados en nuestro estudio con *Brycon amazonicus* “sábalo cola roja”.

Que alguna entidad estatal o privada en el futuro empiece a procesar y transformar la pituitarias o hipófisis del paiche, tomando en cuenta en primer lugar un análisis de costo- beneficio y de esta forma darle valor agregado y convertirlo en un producto clave y esté disponible para su uso en los centros que trabajan en la reproducción inducida de peces.

CAPITULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zohar, Y., Mylonas, C.C., 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture* 197, 99–136.
2. Daza, V.; Landines, M.; Sanabria, A. 2005. Reproducción de los peces en el trópico. Ministerio de Agricultura de Colombia - Instituto Colombiano de Desarrollo Rural, Universidad Nacional de Colombia – Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Bogotá D.C. – Colombia. 246 pp.
3. Alcántara, F. 1985. Reproducción inducida de gamitana *Colossoma macropomum* (Cuvier 1985). Disertación Doctoral. Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.
4. Verdi-Olivares, L., F. Alcántara-Bocanegra, L. Rodríguez-Chu, F. Chu-Koo, P. Ramírez-Arrarte y S. Tello-Martín. 2014. Validación del Protocolo de Reproducción de *Colossoma macropomum*, *Piaractus brachypomus* y *Prochilodus nigricans* en Condiciones Controladas. *Ciencia Amazónica*. 4 (1): 54 – 59.
5. Padilla P., P.P; Alcantara, B.F.; Ismiño Orbe. Reproducción inducida de doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* y desarrollo embrionario –larval. *FOLIA AMAZÓNICA VOL. 12 (1-2) – 2001*.
6. Arias C., J. A.; Zaniboni-Filho, E.; Aya, B.E. 2006. Indicadores del ciclo reproductivo del yamú *Brycon amazonicus*, en cautiverio. *Revista ORINOQUIA - Universidad de los Llanos - Villavicencio, Meta. Colombia. Volumen 10 - N° 2. 12pp*.
7. Ayarza R., Jorge A.; Lozano A., Fabiola N. 2018. Generación y validación de protocolos de inducción hormonal para *Brycon cephalus* (Günther, 1869) “sábalo cola roja” en ambientes controlados. Tesis para optar el grado académico de Maestro en Acuicultura. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana Facultad de Ciencias Biológicas Maestría en Acuicultura. Iquitos, Perú. 79pp.
8. PRODUCE, 2017. Anuario estadístico pesquero y acuícola. Ministerio de la producción (PRODUCE). Lima. 205 pp.
9. Del Risco Orbe R.M. 2014. efecto de dos concentraciones de pituitaria de *Prochilodus nigricans* “boquichico”, *Potamorhina latior* “yahuarachi”, *Anodus elongatus* “yulilla” sobre la liberación y viabilidad de productos gonádicos de *Piaractus brachypomus* “paco”. Tesis para optar el grado académico de magister en ciencias con mención en Acuicultura. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana Facultad de Ciencias Biológicas Maestría en Acuicultura. Iquitos, Perú. 52pp.
10. González, J; G. Hernández; O. Messia y A. Pérez. 2010. Extracto hipofisario de Coporo, *Prochilodus mariae* como agente inductor

sustitutivo en la reproducción de su misma especie. INIA- CENIAP, Departamento Acuicultura y Pesca. Zootecnia Trop., 28(1): 25-32.

11. Branco, G. S.; A. Santos; L. Jesus, J. Senhorini; A. Ninhaus-Silveira y R. Veríssimo-Silveira. 2010. Desempenho reprodutivo de fêmeas de *Piaractus mesopotamicus* induzidas com hipófises de *geophagus proximus* provenientes da pesca profissional no rio paraná. Laborrio de Ictiologia Neotropical – Dep. Biologia e Zootecnia.
12. Bashiy-Silva, C., Costa, R. da S., Ribeiro, D. de C., Senhorini, JA, Veríssimo-Silveira, R. y Ninhaus-Silveira, A. (2015). Inducci hormonal de *Brycon cephalus* (Characiformes, Characidae) a la espermiación utilizando D-ala6, pro9net-mGnRH + metoclopramida. Zygote, 24 (03), 319-325. doi: 10.1017 / s0967199415000210
13. Babilonia, M; J. Flores; M. y Chuquipiondo . Carlos. 2010. Reproducción inducida del sábalo cola roja *Brycon cephalus* Günther, 1869”. Amazonía Peruana: Iquitos. IMARPE Informe., 41(1-4): 197-201, 2004.
14. Pardo-Carrasco, S.C., Zaniboni-Filho, E., Arias-Castellanos, J.., Suárez-Mahecha, H., Atencio-García, V.J. & Cruz-Casallas, P.E. (2006). Evaluation of milt quality of the yamú *Brycon amazonicus* under hormonal induction. Rev. Colom. Cinc. Pecu. 19, 1–2.
15. Pardo-Carrasco, S.C., Arias-Castellanos, J.., Suárez-Mahecha, H., Cruz-Casallas, P.E; Vasquez-Torres, W., Atencio-García, V.J. &, Zaniboni-Filho, E., (2006). Inducción a la maduración final y ovulación del yamu *Brycon amazonicus* con EPC y mGnRH-a. Rev. Colom. Cinc. Pecu. 19, 1–2
16. Arias, C.J.A.; Zaniboni-Filho, E.; Aya, B. E. (2006). Indicadores del ciclo reproductivo del yamú *Brycon amazonicus*, cautiverio. Rev Orinoquia. 10, 24-34.
17. Lenis, G.A., Restrepo, L.F., Rivera, J.C., Monsalve, F. & Cruz-Casallas, P.E. (2009). Reproducción inducida y producción de alevinos de Sabaleta *Brycon henni*: determinación del tiempo de latencia utilizando extracto de hipófisis de carpa. Rev. Colomb. Cinc. Pecu. 22, 143–55.
18. ROMAGOSA, E.; NARAHARA, M. & FENERICH-VERANI, N. (2001). Seleo e caracterização de fmeas de matrinx, *Brycon cephalus*, induzidas a reprodução. Boletim do Instituto de Pesca, 27(2):139- 147.
19. Almeida F. y V. Ribeiro. 2017. Coleta de hipfise de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Embrapa Amaznia Ocidental. Comunicado técnico, 132. 6 p.
20. Arias CJA. Estado actual del conocimiento sobre el yamú, *Brycon amazonicus*. Rev Col Cienc Pec Vol. 19:2, 2006.

21. FAO, 2018. El estado mundial de la pesca y la acuicultura, oportunidades y desafíos 2014. Examen Mundial de la Pesca y la Acuicultura, Parte 1: Situación y tendencias. Organización Mundial de las Naciones Unidas – FAO. Roma. 250pp.
22. Richter, C.J.J.; W.J.A.R. Viveen; E.H. Eding; M. Sukkel; A.J. Rothuis; M.F.P.M. Van Hoof; F.G.J. Van Den Berg Y P.G.W.J. Van Oordt. 1987. The significance of photoperiodicity, water temperature and an inherent endogenous rhythm for the production of viable eggs by African catfish, *Clarias gariepinus*, kept in subtropical ponds in Israel and under Dutch hatchery condition. *Aquaculture*, 63: 169-183.
23. Val, A. Y A. Honczaryk, CRIANDO PEIXES NA AMAZONIA. INPA, MANAUS, 1995, 160p.
24. Van der Kraak G., Pankhurst N.W., Peter R.E., Lin H.R. 1989. Lack of antigenicity of human chorionic gonadotropin in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and goldfish (*Carassius auratus*). *Aquaculture* 78: 81–86.
25. Farmer, S.W. y Papkoff, H. 1977. A teleost (*Tilapia mossambica*) gonadotropin that resembles luteinizing hormone. *Life Sci. (E.U.)*, 20,1227-1232. Donaldson E.M., 1973. Reproductive endocrinology of fishes. *Am. Zool.* 13: 909 - 927.
26. Idler, D.R., Bazar, L.S. y Hwang, S.J. 1975. Fish gonadotropin(s). III. Evidence for more than one gonadotropin in chum salmon pituitary glands. *Endocr. Res. Commun.* 2, 237-249.
27. Ng, T.B. y Idler, D.R 1978. 'Big' and 'little' forms of plaice vitellogenic and maturational hormones. *Gen. Comp. Endocrinol. (E.U.)*, 34, 408-420.
28. Houssay, B.A. 1931. Action sexuelle de l'hypophyse sur les poissons et les reptiles. *C. P. Soc. Biol.* 106, 377-378. (En frances).
29. Zohar Y., Goren A., Tosky M., Pagelson G., Leibovitz D., Koch Y. 1989. The bioactivity of gonadotropin-releasing hormones and its regulation in the gilthead seabream, *Sparus aurata*: in vivo and in vitro studies. *Fish. Physiol. Biochem.* 7:59 - 67.
30. Montero M, S Dufour. 1996. Gonadotropin-releasing hormones (GnRH) in fishes: evolutionary data on their structure, localization, regulation and function. *Zoological Studies* 35, 149-160.
31. Patino R. 1997. Manipulations of the reproductive system of fishes by means of exogenous chemicals. *The Progressive Fish-Culturist* 59, 118-128.
32. Zohar Y. 1988. Gonadotropin releasing hormone in spawning induction in teleosts: basic and applied considerations. In: Zohar, Y., Breton, B. (Eds.),

Reproduction in Fish: Basic and Applied Aspects in Endocrinology and Genetics. INRA Press, Paris, pp. 47 – 62.

33. Davy FB, A Chouinard 1980. Induced fish breeding in Southeast Asia. Report of a workshop held in Singapore, IDRC-178e, Pp 48.
34. Billard R, B Breton. 1985. Control of reproduction and fish farming. In: Lofts B, Holmes WN (eds). Comparative endocrinology. Hong Kong, Hong Kong University Press, Pp 1221-1229.
35. Kitahashi T, D Alok, H Ando, M Kaeriyama, Y Zohar, H Ueda, A Urano. 1998a. GnRH analog stimulates gonadotropin II gene expression in maturing sockeye salmon. Zool Sci 15, 761-765.
36. Peter RE, KL Yu. 1997. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. Rev Fish Biol Fisher 7, 173-197.
37. Woynarovich, E. 1977. La Propagación de Peces. Informe Técnico N° 72. Venezuela. 48 p.
38. Rodríguez, L.; Ruiz-Tafur, K.; Satalaya, H.; Alván-Aguilar, M.; Chirinos, C.; Fernández-Méndez, C.; Ismiño, R.; Murrieta, M. 2020. Manual de extracción, procesamiento y uso de la hipófisis de paiche en la reproducción inducida de peces amazónicos. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. (IIAP). Iquitos, Perú, 42 pp.
39. Nuñez J & Duponchelle F. 2009. Towards a universal scale to assess sexual maturation and related life history traits in oviparous teleost fishes. Fish Physiology and Biochemistry, 35: 167 - 189
40. Pickford, G. E., AND ATZ, J. W. (1957). "The Physiology of the Pituitary Gland of Fishes." N. Y. Zool. Sot., N. Y.
41. Garza, G. & Rodríguez, M. (1985). Técnicas para la reproducción inducida de *Cyprinus carpio* specularis. México. Universidad Autónoma Metropolitana, 10 pp.
42. Kestemont, P. (1988). Effects of hormonal treatments on induced ovulation in Gudgeon, *Gobio gobio*. Aquaculture, 68:373-385.
43. Laevastu, T. (1980). Manual y métodos de biología pesquera. Editorial Acribia, Madrid, 243 pp.
44. Reys, P.; Sabino, J. & Galetti, M. (2008). Frugivory by the fish *Brycon hilarii* (Characidae) in western Brazil. Acta Oecologica, 35: 136–141.
45. Pardo-Carrasco, S.; Suarez-Mahecha, H.; Muñoz-Lara, D.; Arias-Castellanos, J. & Gil, G. (2002). Inducción de la ovulación y del desove del yamú, *Brycon siebenthalae*, con implantes de mGnRH-a. Boletim do Instituto de Pesca, 28(1): 19-24.

46. Sorensen, Jr., A. M. 1992. Reproducción Animal, Principios y Prácticas. Mexico. McGraw-Hill. 539 p.
47. Cruz–Casallas, P. & Velasco, Y. (2005). Determinación de características seminales y seminación artificial en peces. En Reproducción de peces en el trópico. Editores Daza, V; Landines, M & Sanabria, A. Instituto colombiano de desarrollo rural. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Págs. 175 – 195.
48. Ruiz M., Jofred J.; Zavaleta F., K. 2018. Determinación del nivel óptimo de oxígeno disuelto en la incubación de huevos de *Brycon erythropterus* (Cope 1872), “sábalo cola roja” en el IIAP Loreto. Tesis para optar el título profesional de biólogo Acuicultor. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana Facultad de Ciencias Biológicas. Iquitos, Perú. 61pp.
49. Dabrowski, K., Rinchar, J., Ottobre, S., Alcántara, B., Padilla, P., Ciereszco, A.. Effect of oxygen saturation in water on reproductive performance of pacu, *Piaractus brachipomus*. Journal of the world aquaculture Society. 2003.
50. D. F. Alderdice, C. R. Forrester. Effect of salinity, temperature and dissolved oxygen of the pacific god (Gaduz macrocephalus). 28. 1971;883-902.
51. Berlinsky, DL, William, KV, Hodson, RG y Sullivan, CV (1997), Desove inducido por hormonas de la platija de verano *Paralichthys dentatus*. Revista de la Sociedad Mundial de Acuicultura, 28: 79-86. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1997.tb00964.x>
52. Mylonas, C.C., Fostier, A. & Zanuy, F. (2010). Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. General and Comparative Endocrinology 165, 516–34.
53. Streit Junior, D.P., Sirol, R.N., Ribeiro, R.P., Digmayer, M., Gallo, J.M., Moraes, G.V. & Povh, J.A. (2012). Parâmetros seminais de reprodutores de *Pseudoplatystoma reticulatum*, em cativo, pré e pós-indução hormonal. Rev. Bras. Reprod. Anim. 36, 188–93.
54. Streit Junior, D. P., Sirol, R.N., Ribeiro, R.P., Moraes, G.V., Vargas, L.D.M., Watanabe, A.L. (2008). Qualitative parameters of the piapara semen (*Leporinus elongatus* Valenciennes, 1850). Brazilian J. Biology 68, 373–7.

ANEXOS

Anexo 1: Instrumento de recolección de datos

Base de datos de reproductores machos de *B. amzonicus*

Tratamiento	Repetición	Sexo	Peso (kg)	Longitud (cm)	DOSIS (0.5 mg/Kg de P.V)		Cantidad de hormona utilizada (mg)	Efecto
					DE(50%)	DD (50%)		
0.5 mg/kg	1°	M	2.54	55	0.64	0.64	1.28	Positivo
		M	2.18	50	0.55	0.55	1.10	Positivo
		M	2.1	50	0.53	0.53	1.05	Positivo
	2°	M	1.565	57	0.39	0.39	0.78	Positivo
		M	1.815	51	0.45	0.45	0.90	Positivo
		M	1.93	52	0.48	0.48	0.96	Positivo
	3°	M	1.85	52	0.47	0.47	0.93	Positivo
		M	2	50	0.50	0.50	1.00	Positivo
		M	2.2	51	0.55	0.55	1.10	negativo
	Promedio			2.0	52.13	0.50	0.50	1.01
Tratamiento	Repetición	Sexo	Peso (kg)	Longitud (cm)	DOSIS (1.5 ml/Kg de P.V)		Cantidad de hormona utilizada (ml)	Efecto
					DE(50%)	DD (50%)		
1.0 mg/kg	1°	M	1.97	48	0.99	0.99	1.98	Positivo
		M	2.06	50	1.03	1.03	2.06	Positivo
		M	1.99	49	0.99	0.99	1.98	Positivo
	2°	M	2.10	54	1.05	1.05	2.10	Positivo
		M	1.66	51	0.83	0.83	1.66	Positivo
		M	1.88	48	0.94	0.94	1.88	negativo
	3°	M	1.85	47	0.93	0.93	1.85	negativo
		M	1.66	50	0.83	0.83	1.66	Positivo
		M	1.90	49	0.95	0.95	1.90	Positivo
	Promedio			1.90	49.63	0.95	0.95	1.90
Tratamiento	Repetición	Sexo	Peso (kg)	Longitud (cm)	DOSIS (1.5 ml/Kg de P.V)		Cantidad de hormona utilizada (ml)	Efecto
					DE(50%)	DD (50%)		
1.5 mg/kg	1°	M	2.14	51	1.61	1.61	3.22	Positivo
		M	2.18	53	1.63	1.63	3.26	negativo
		M	2.10	51	1.58	1.58	3.16	Positivo
	2°	M	1.70	50	1.27	1.27	2.54	Positivo
		M	1.38	48	1.04	1.04	2.08	Positivo
		M	1.65	49	1.23	1.23	2.46	Positivo
	3°	M	2.00	52	1.50	1.50	2.99	Positivo
		M	2.00	52	1.50	1.50	3.00	Positivo
		M	1.94	51	1.46	1.46	2.92	Positivo
	Promedio			1.90	50.78	1.42	1.42	2.85

Anexo 2: Base de datos de reproductores hembras de *B. amazonicus*

Tratamiento	Repetición	Sexo	Peso (kg)	Longitud (cm)	DOSIS (3.0 mg/Kg de P.V)		Cantidad de hormona utilizada (mg)	Efecto
					DE (10%)	DD (90%)		
3.0 mg/kg	1°	H	2.43	53.00	0.73	6.56	7.29	Positivo
		H	2.16	47.00	0.65	5.83	6.48	Positivo
		H	3.15	52.00	0.95	8.51	9.46	Positivo
	2°	H	2.32	54.00	0.69	6.26	6.95	negativo
		H	2.25	54.00	0.67	6.06	6.73	Positivo
		H	3.32	52.00	0.99	8.95	9.94	Positivo
	3°	H	2.385	53	0.72	6.43	7.15	negativo
		H	2.065	56	0.62	5.57	6.19	Positivo
		H	2.1	47.5	0.63	5.67	6.30	Positivo
	Promedio		2.5	52.63	0.75	6.77	7.52	-
Tratamiento	Repetición	Sexo	Peso (kg)	Longitud (cm)	DOSIS (4.0 ml/Kg de P.V)		Cantidad de hormona utilizada (ml)	Efecto
					DE (10%)	DD (90%)		
4.0 mg/kg	1°	H	1.94	48	0.78	6.98	7.76	Positivo
		H	2.81	57	1.12	10.10	11.22	Positivo
	2°	H	1.97	50	0.78	7.09	7.87	Positivo
		H	2.12	52	0.85	7.63	8.48	Positivo
		H	1.92	50	0.77	6.91	7.68	Positivo
	3°	H	2.00	49	0.80	7.20	8.00	Positivo
		H	2.21	51	0.88	7.94	8.82	Positivo
		H	1.95	50	0.83	7.00	7.83	negativo
	H	2.20	51	0.88	7.92	8.80	Positivo	
	Promedio		2.11	50.88	0.85	7.61	8.46	-
Tratamiento	Repetición	Sexo	Peso (kg)	Longitud (cm)	DOSIS (5.5 ml/Kg de P.V)		Cantidad de hormona utilizada (ml)	Efecto
					DE (10%)	DD (90%)		
5.5 mg/kg	1°	H	2.17	49	1.19	10.74	11.93	negativo
		H	2.10	48	1.15	10.75	11.95	Positivo
		H	2.06	49	1.13	10.17	11.30	negativo
	2°	H	2.23	51	1.22	11.01	12.23	Positivo
		H	2.20	50	1.21	10.89	12.10	negativo
		H	2.37	53	1.30	11.73	13.03	negativo
	3°	H	2.03	52	1.11	9.89	11.00	negativo
		H	2.02	51	1.11	9.99	11.10	Positivo
		H	2.08	52	1.14	10.27	11.41	negativo
	Promedio		2.14	50.56	1.17	10.60	11.78	

Anexo 3: Índice de espermiación y ovulación.

índice de espermeación							
	T1 (0.5 mg/kg)	T2 (1.0 mg/kg)	T3 (1.5 mg/kg)	FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
r1	100.00	66.60	66.60	Tratamentos	2	247.902	123.951
r2	100.00	66.60	100.00	Erro	6	22.3 e+02	371.853
r3	66.60	100.00	100.00				
x	88.87	77.73	88.87	F =	0.3333		
ds	19.28349899	19.28349899	19.28349899	(p) =	0.7315		

]

ools Graph Statistics Transforms Toolbox Pharmacology Window Help

50%

U x² x₂

One Way Analysis of Variance lunes, Junio 07, 2021, 23:37:42

Data source: Data 1 in Notebook8

Normality Test: Passed (P = 0.830)

Equal Variance Test: Passed (P = 1.000)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	77.733	19.283	11.133
Col 2	3	0	88.867	19.283	11.133
Col 3	3	0	33.300	0.000	0.000

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	5185.927	2592.963	10.460	0.011
Residual	6	1487.413	247.902		
Total	8	6673.340			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = 0.011).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.854

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
Col 2 vs. Col 3	55.567	3	6.113	0.012	Yes
Col 2 vs. Col 1	11.133	3	1.225	0.679	No
Col 1 vs. Col 3	44.433	3	4.888	0.031	Yes

Anexo 4: Análisis estadístico de la tasa de eclosión

One Way Analysis of Variance viernes, Noviembre 20, 2020, 23:20:29

Data source: Data 1 in Notebook1

Normality Test: Passed (P = 0.591)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.130)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	20.337	2.502	1.444
Col 2	3	0	40.210	11.428	6.598
Col 3	3	0	3.503	6.068	3.503

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	2025.690	1012.845	17.494	0.003
Residual	6	347.375	57.896		
Total	8	2373.065			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = 0.003).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.980

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
Col 2 vs. Col 3	36.707	3	8.356	0.003	Yes
Col 2 vs. Col 1	19.873	3	4.524	0.043	Yes
Col 1 vs. Col 3	16.833	3	3.832	0.078	No

10.5 Análisis estadístico de la calidad espermática

- 1 -	- 2 -	- 3 -
7.000	15.000	9.000
6.000	14.000	20.000
5.500	16.000	18.000

Teste ANOVA: um critério

Arquivo Editar Gráfico

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
Tratamentos	2	168.722	84.361
Erro	6	71.833	11.972
F =		7.0464	
(p) =		0.0269	
Média (Coluna 1) =		6.1667	
Média (Coluna 2) =		15.0000	
Média (Coluna 3) =		15.6667	
Tukey:	Diferença	Q	(p)
Médias (1 a 2) =	8.8333	4.4218	< 0.05
Médias (1 a 3) =	9.5000	4.7555	< 0.05
Médias (2 a 3) =	0.6667	0.3337	ns

One Way Analysis of Variance

martes, Setiembre 01, 2020, 13:57:15

Data source: Data 1 in Notebook3

Normality Test: Passed (P = 0.758)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.378)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	10.733	1.834	1.059
Col 2	3	0	6.693	1.288	0.743
Col 3	3	0	7.027	0.345	0.199

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	30.172	15.086	8.804	0.016
Residual	6	10.281	1.713		
Total	8	40.453			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = 0.016).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.779

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
Col 1 vs. Col 2	4.040	3	5.346	0.022	Yes
Col 1 vs. Col 3	3.707	3	4.905	0.031	Yes
Col 3 vs. Col 2	0.333	3	0.441	0.948	No

One Way Analysis of Variance

martes, Setiembre 01, 2020, 14:52:07

Data source: Data 1 in Notebook12

Normality Test: Passed (P = 0.060)

Equal Variance Test: Passed (P = 0.709)

Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
Col 1	3	0	11.733	0.306	0.176
Col 2	3	0	8.200	1.389	0.802
Col 3	3	0	7.100	1.646	0.950

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	35.162	17.581	11.143	0.010
Residual	6	9.467	1.578		
Total	8	44.629			

The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = 0.010).

Power of performed test with alpha = 0.050: 0.878

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor:

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
Col 1 vs. Col 3	4.633	3	6.389	0.010	Yes
Col 1 vs. Col 2	3.533	3	4.872	0.032	Yes
Col 2 vs. Col 3	1.100	3	1.517	0.563	No

Anexo 5: Tabla de operacionalización de variables

Variables y definición	Indicadores	Indicador	Índices
<p><u>Variables independientes</u></p> <p>Dosis de extractos de pituitaria de paiche (EPP): T1, T2 y T3 para machos y hembras.</p>	<p>En Hembras: ovulación</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ T1: 3,0 ▪ T2: 4,0 ▪ T3: 5,5 	mg/kg	Presencia y ausencia Índice de ovulación
	<p>En machos: espermiación.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ T1: 0,5 ▪ T2: 1,0 ▪ T3: 1,5 	mg/kg	Presencia y ausencia Porcentaje de respuesta hormonal
<p><u>Variables dependientes:</u></p> <p>Respuesta a las dosis del extracto de pituitaria de paiche (EPP)</p>	<p>En Hembras: ovulación</p>	<ul style="list-style-type: none"> • H ° • Número de ovocitos • % 	<ul style="list-style-type: none"> • Tasa de eclosión • Horas grados • Fecundidad • desempeño reproductivo
	<p>En machos: espermiación.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Percepción visual • ml • x106 sptz/μL • % • s 	<ul style="list-style-type: none"> • Color • movilidad espermática • Volumen • Concentración espermática • espermatozooto
<p>Parámetros de calidad de agua</p>	<p>físicos y químicos</p>	<ul style="list-style-type: none"> • °C • ml/L • UI • μS / cm • mg/L) 	<ul style="list-style-type: none"> • temperatura • oxígeno disuelto • pH • conductividad eléctrica • solidos totales disueltos