

**NO SALE A
DOMICILIO**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA
AMAZONIA PERUANA
BIBLIOTECA CENTRAL

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA



UNAP

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL
DE BIOLOGÍA Y ACUICULTURA**

**CAPACIDAD REPRODUCTIVA DEL HÍBRIDO PACOTANA (*Piaractus
brachypomus* (Cuvier, 1818) hembra X *Colossoma macropomum*
(Cuvier, 1818) macho) EN CONFINAMIENTO, MEDIANTE
INDUCCIÓN**

TESIS

BIÓLOGO

AUTORES:

Jorge Guillermo Babilonia Medina

Fernando Arévalo Núñez

Iquitos – Perú

DONADO POR:

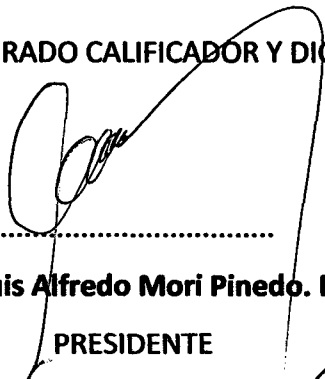
JORGE G. BABILONIA MEDINA

Iquitos, 28 de 01 de 2014



385

MIEMBROS DEL JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR



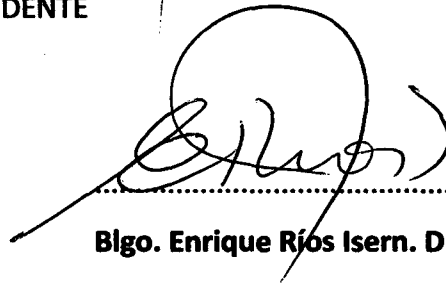
.....
Blgo. Luis Alfredo Mori Pinedo. Dr.

PRESIDENTE



.....
Blga. Emer. G. Pizango P. M.Sc

MIEMBRO



.....
Blgo. Enrique Ríos Isern. Dr.

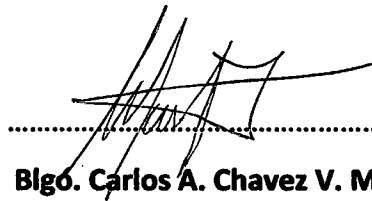
MIEMBRO

ASESORES



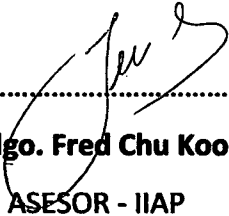
.....
Blgo. Fernando Alcántara Bocanegra. Dr.

ASESOR -UNAP



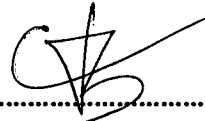
.....
Blgo. Carlos A. Chavez V. M.Sc

ASESOR- IIAP



.....
Blgo. Fred Chu Koo. M.Sc.

ASESOR - IIAP



.....
Blgo. Jesús Núñez Rodríguez. Dr

ASESOR-IRD/IIAP



Dirección de Escuela
Profesional de
Acuicultura - FCB

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Iquitos, 18 de diciembre de 2012

En la ciudad de Iquitos, a los dieciocho (18) días del mes de diciembre de 2012 y, siendo las 16:05 horas; se reunió en la sala de exposiciones del SECEDO-UNAP, el Jurado Calificador y Dictaminador de Tesis que suscribe, designado con RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 049-2012-DEFP-B-UNAP, presidido e integrado por Blgo. **LUIS ALFREDO MORI PINEDO**, Dr., Presidente; Blga. **EMER GLORIA PIZANGO PAIMA**, M.Sc., Miembro; y Blgo. **ENRIQUE RÍOS ISERN**, Dr., Miembro; para escuchar, examinar y calificar la sustentación y defensa de la tesis titulada: "**CAPACIDAD REPRODUCTIVA DEL HÍBRIDO PACOTANA (*Piaractus brechypomus* (Cuvier, 1818) hembra X *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) macho) EN CONFINAMIENTO, MEDIANTE INDUCCIÓN**" realizado por los bachilleres en Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Biológicas - Escuela de Acuicultura, **Jorge Guillermo Babilonia Medina** de la Promoción II-2007, graduado de bachiller con RESOLUCIÓN RECTORAL N° 2018-2008-UNAP y **Aévalo Nuñez Fernando** - Escuela de Biología de la Promoción II-2008, RESOLUCIÓN RECTORAL N° 1520-2009-UNAP; figurando como asesor: **Dr. FERNANDO ADAN ALCANTARA BOCANEGRA**.

Durante todo el desarrollo de la sustentación y defensa de la tesis, el Jurado Calificador y Dictaminador, considerando lo establecido en el nuevo Reglamento de Grados y Títulos, aprobado y puesto en vigencia mediante RESOLUCIÓN DECANAL N° 206-2012-FCB-UNAP; realizó la evaluación del desempeño de los bachilleres, considerando los criterios y el puntaje consignados en la tabla de valoración.

Culminado el acto, el Jurado Calificador y Dictaminador, con el puntaje alcanzado por los bachilleres y, aplicando los términos establecidos en la tabla de calificación; dio como veredicto que **LA SUSTENTACIÓN DE LA TESIS HA SIDO CALIFICADA COMO:** Apta quedando en consecuencia los candidatos aptos para ejercer la profesión de Biólogo Acuicultor y Biólogo, previo otorgamiento del Título Profesional por la autoridad universitaria competente y, su correspondiente inscripción al Colegio de Biólogos del Perú.

Finalmente, el Presidente del Jurado Calificador y Dictaminador levantó la sesión siendo las 17:40 horas y en fe de lo cual, todos los integrantes suscriben la presente Acta de Sustentación.


Luis Alfredo Mori Pinedo
PRESIDENTE


Emer Gloria Pizango Paima
MIEMBRO


Enrique Ríos Isern
MIEMBRO

DEDICATORIA

Este logro personal y profesional, es dedicado a las personas que más quiero y amo, contribuyendo directamente e indirectamente con este logro.

A mis padres Matilde y Julio, a mi abuelita Manuela, por su amor, confianza, comprensión y apoyo para realizar y culminar mi carrera profesional. A mi querida esposa Liz Cristina, que siempre estuvo en las buenas y mala, durante mi formación profesional y personal.

A mis hermanas y hermanos Karina, Julissa, Julieth, Julius, y Jules, a mis tres princesas Julissa, Adriana y Jurina, a la Sra. Carmen, por su cariño, apoyo, confianza y consejos sabios.

A mis suegros Zoila y Carlos, a mi cuñado y cuñada Aldo y Kati, por su apoyo y consejos.

Fernando Arévalo.

A mi padre Marcos siempre está presente en mi mente y corazón, este logro es también de él, gracias por su amor, por impulsarme y darme fuerzas para seguir adelante. Y a mi madre Antonia, por su amor, comprensión y apoyo para realizar y culminar mi carrera profesional.

A mis hermanos, Marcos, Marco, Juan y Nixon, y mis hermanas Judith y Jhemy.

A nuestro mi amigo don Manuel por su paciencia, apoyo y consejos

A mis compañeros de Acuicultura por sus consejos y ejemplos. Porque la vida es una constante lucha. A la nueva generación de Biólogos.

Jorge Babilonia

AGRADECIMIENTO

Al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana a través del Programa para el Uso y Conservación del Agua y sus Recursos **(AQUAREC)** por el financiamiento y facilidades brindadas para la realización del presente estudio, y muy en particular al Director del Programa el Ing. Salvador Tello Martín M.Sc.

A la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, a través de la **Facultad de Ciencias Biológicas** por la orientación y formación profesional.

A los asesores : **Dr. Fernando Alcántara Bocanegra, M.Sc. Fred Chu Koo, Dr. Jesús Núñez Rodríguez** y al **M.Sc. Carlos A. Chávez Veintemilla** por su apoyo invaluable, orientaciones y muy acertados aportes a lo largo del proceso de investigación.

Asimismo a todo el personal administrativo y técnico del Programa para el Uso y Conservación del Agua y sus Recursos **(AQUAREC)**, del IIAP.

A todas las personas que de una u otra manera contribuyeron a la realización y culminación del presente estudio.

ÍNDICE GENERAL

	pag
Miembros del jurado calificador y dictaminador	i
Asesores	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimiento	v
ÍNDICE GENERAL	vi
Lista de Tablas	viii
Lista de gráficos	x
Lista de Fotos	x
Resumen	xiii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
III. MATERIALES Y MÉTODOS	11
1. Área de estudio	11
2. Diseño experimental	11
2.1. Preparación del plantel de reproductores	11
2.2. Selección de reproductores	12
2.3. Inducción	13
2.4. Desove	13
2.5. Fecundación	14
	vi

2.6. Incubación	14
2.7. Tasa de fertilización	14
2.8. Recuento de larvas	15
2.9. Análisis de la calidad de agua	15
3. Procesamiento de la información	15
IV. RESULTADOS	16
1. Experimentos de inducción hormonal en los híbridos pacotana	16
2. Tasa de fertilización y eclosión de los huevos	23
3. Desarrollo embrionario del retrocruce del híbrido machó, con sus especies parentales. 2008 -2009	26
V. DISCUSIÓN	35
1. Capacidad reproductiva del híbrido pacotana	35
2. Tasa de fertilización y eclosión de los huevos	38
3. Desarrollo embrionario y viabilidad de las larvas	40
VI. CONCLUSIONES	42
VII. RECOMENDACIONES	43
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
IX. ANEXO	50

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición porcentual de la dieta para los reproductores dieta para los reproductores	12
Tabla 2. Peces seleccionados para el 1 ^{er} experimento de reproducción inducida	18
Tabla 3. Peces seleccionados para el 2 ^{do} experimento de reproducción inducida	19
Tabla 4. Peces seleccionados para el 3 ^{er} experimento de reproducción inducida	20
Tabla 5. Peces seleccionados para el 4 ^{to} experimento de reproducción inducida	21
Tabla 6. Peces seleccionados para el 5 ^{to} experimento de reproducción inducida	22
Tabla 7. Peces seleccionados para el 6 ^{to} experimento de reproducción inducida	23
Tabla 8. Tasa de fertilización (%), a las 6 (hpf) y 12 (hpf), durante el proceso de incubación de los huevos, en el retrocruce entre pacotanas machos con sus especies parentales. IIAP. 2008- 2009	24
Tabla 9. Descripción y tiempo del desarrollo embrionario del retrocruce del híbrido macho (pacotana) x "gamitana" <i>C. macropomum</i> , con temperatura promedio de 27.8°C. AQUAREC - IIAP. Iquitos - Perú. 2008	28
Tabla 10. Descripción y tiempo del desarrollo embrionario del retrocruce del macho híbrido (pacotana) x "paco" <i>P. brachypomus</i> , con temperatura promedio de 27.3°C. AQUAREC - IIAP. Iquitos - Perú. 2009	32

Tabla 11. Control de los parámetros físico-químicos del agua en los tanques de tratamiento de los reproductores (gamitana del tanque 8 A). 1 ^{er} experimento	51
Tabla 12. Control de los parámetros físico-químicos del agua en los tanques de tratamiento de los reproductores (paco del tanque 2 A). 1 ^{er} experimento	52
Tabla 13. Parámetros físico-químicos del agua durante la fase de incubación de huevos del retrocruce con pacotana (híbrido) x gamitana, <i>Colossoma macropomum</i> . IIAP, (14/08/08-15/08/08). 1 ^{er} experimento	53
Tabla 14. Parámetros físico-químicos del agua durante la fase de incubación de huevos del retrocruce con pacotana (híbrido) x paco, <i>Piaractus brachypomus</i> . IIAP, (14/08/08-15/08/08). 1 ^{er} experimento	54
Tabla 15. Control de los parámetros físico-químicos del agua en los tanques de tratamiento de los reproductores (paco). 6 ^{to} experimento	55
Tabla 16. Parámetros físico-químicos del agua durante la fase de incubación de huevos del retrocruce con pacotana (híbrido) x paco, <i>Piaractus brachypomus</i> . IIAP. 18/08/09. 6 ^{to} experimento	56
Tabla 17. Viabilidad de los huevos, en los experimentos de los retrocruces entre pacotanas machos con sus especies parentales	57
Tabla 18. Lista de los híbridos pacotana	58

LISTA GRÁFICOS

Gráfico 1. Porcentaje de Fertilización, a las 6 horas post-fertilización (hpf), durante el proceso de incubación de los huevos en el retrocruce entre pacotanas machos con sus especies parentales	25
Gráfico 2. Porcentaje de Fertilización, a las 12 horas post-fertilización (hpf), durante el proceso de incubación de los huevos en el retrocruce entre pacotanas machos con sus especies parentales	25
Gráfico 3. Evolución de la viabilidad de huevos del retrocruce del híbrido con las especies parentales	59

LISTA DE FOTOS

Foto 1. Semen del híbrido pacotana	16
Foto 2. Presencia de ovocitos de dos hembras híbridas	16
Foto 3. Retrocruce del híbrido macho (pacotana) x "gamitana" <i>Colossoma macropomum</i> . Periodo de cigoto: Huevo con una célula (a); periodo de clivaje: 2 blastomeros (b), 4 blastomeros (c), 8 blastomeros (d) y 64 blastomeros (e) y estadio de mórula (f)	29

Foto 4. Retrocruce del híbrido macho (pacotana) x "gamitana" *Colossoma macropomum*. Periodo de bástula: Estadío de transición alto- ovoide (a), estadío de domo (b y c); periodo de gástrula: 60% Epibolia, Formación del anillo germinal (d), 70% epibolia (e), 90% epibolia, inicio del cierre del blastoporo (f) **29**

Foto 5. Retrocruce del híbrido macho (pacotana) x "gamitana" *Colossoma macropomum*. Periodo de organogénesis y segmentación: Inicio del desarrollo de la región cefálica (a), surgimiento de los primeros somitos (b), desarrollo de la región caudal (c), desprendimiento de la aleta caudal completa y movimiento constante (d), eclosión del huevo conteniendo la larva (e) **30**

Foto 6. Retrocruce del macho híbrido (pacotana) x "paco" *Piaractus brachypomus*. Periodo clivaje: Formación de ocho células (a), huevo con 64 células (b); periodo de blástula: Diferenciación del polo vegetal y animal (c); periodo de gástrula: 40% Epibolia (d) y inicio del cierre del blastoporo con 60% epibolia (e); periodo de organogenesis y segmentación: Aparición de los primeros somitos (f). **33**

Foto 7. Retrocruce del macho híbrido (pacotana) x “paco” <i>Piaractus brachypomus</i>.	
Periodo de Organogénesis y segmentación: Distinción de la región cefálica de la caudal (a), rudimentos de la columna vertebral (b), inicio de la separación de la región caudal del saco vitelino (c), desarrollo de la aleta caudal (d), embrión en constante movimiento en la envoltura por el corion (e); eclosión del huevo conteniendo la larva (f)	33
Foto 8. Malformaciones de embriones del retrocruce del híbrido macho con sus especies parentales	34
Foto 9. Área de Estudio “Programa para el Uso y Conservación del Agua y sus Recursos –AQUAREC	60
Foto 10. Biopsia a una pacotana hembra	60
Foto 11. Inoculación intraperitoneal	60
Foto 12. Pesado de óvulos de paco	60
Foto 13. Extracción de semen del híbrido macho	61
Foto 14. Incubadoras tipo Woynarovich de 40 l	61
Foto 15. Recolección de huevos en formol al 5%	61
Foto 16. Sistema de recirculación del agua	61
Foto 17 y 18. Pacotanas con gónadas aparentemente normales	62
Foto 19. Multiparámetro YSI 55, temperatura y oxígeno	62
Foto 20. Equipo La Motte AQ-2	62
Foto 21. Potenciómetro STD para pH	62

I. INTRODUCCIÓN

El creciente desarrollo de la acuicultura en el Perú, debido a los avances en la investigación en la reproducción de peces amazónicos, ha permitido obtener mayor cantidad de semilla para la piscicultura, como por ejemplo las especies *Piaractus brachypomus*, paco y *Colossoma macropomum*, gamitana, que se cuenta con el paquete tecnológico para su cultivo; estas dos especies pertenecen a la misma familia (Characidae) que son susceptibles de mejoramiento genético, que resultan de interés comercial en aumentar la productividad, mejorar la resistencia a las enfermedades, fijar determinados caracteres y la obtención de animales estériles; una de las vías utilizadas para hacer efectivas esas mejoras genéticas es la hibridación (Martino, 2002); como es el caso del híbrido pacotana (*Piaractus brachypomus* x *Colossoma macropomum*), que tiene un mejor crecimiento que sus especies parentales (Sandoval, 2006)

Es así que, a partir de especies comerciales susceptibles de ser cultivadas se realizaron cruces de *Colossoma macropomum* x *Mylossoma duriventris* (Kossowski et al., 1980); *Piaractus brachypomus* x *Colossoma macropomum* (Guerra et al., 1992); *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus* (Botero et al., 2004); hibridación del cruce *Calophysus macropterus* x *Leiarius marmoratus*, *C. macropterus* x *Pimelodus blochii*, *C. macropterus* x *Pseudoplatystoma fasciatum* y *P. fasciatum* x *P. blochii* (Kossowski, 2001). Porto et al. (2008), mencionan que en

Brasil se han realizado hibridaciones de los cruces de las especies, *Colossoma macropomum* x *Piaractus mesopotamicus*, *Piaractus brachypomus* x *Piaractus mesopotamicus*, *Leporinus elongatus* x *Leporinus macrocephalus*, *Pseudoplatystoma fasciatum* x *P. corruscans*, *P. fasciatum* x *Phractocephalus hemioliopus* y *P. corruscans* x *Hemiosorubim platyrhynchus*.

La hibridación interespecífica permite el acercamiento de las características de selectividad entre gametos, el desarrollo y la fisiología del híbrido. Se conoce también, que la hibridación interespecífica es utilizada en la búsqueda de efectos heteróticos, así como en la investigación de condiciones favorables de genotipos que controlen rangos y rendimientos que varían ampliamente dentro de una especie (FAO/PNUMA, 1984)

En cuanto al problema de los híbridos en los ambientes acuáticos naturales, recientemente, estudios genéticos se han realizado para detectar la presencia de estos organismos en las aguas continentales (Almeida *et al.*, 1996; Porto *et al.*, 2008; Hashimoto *et al.*, 2009 a).

Investigaciones demuestran, que el híbrido producto del cruce de *Colossoma macropomum* (hembra) por *Piaractus brachypomus* (macho) y el híbrido F2 retrocruzado de híbrido F1 hembra por macho de sus especies parentales tienen cromosomas diploides $2n=54$ (Martino, 2004); similar que el híbrido *Colossoma*

macropomum x Mylossoma duriventris y sus progenitores (Kossowski *et al.*, 1983).

Asimismo, los híbridos presentan evidencias de madurez de sus gónadas tanto en hembras como machos (Bermudez, 1984, citado por Martino, 2002); debido a esto, Martino (2002), logró el desove parcial del híbrido *Colossoma macropomum* X *Piaractus brachypomus*. Además, los híbridos presentan una amenaza para las poblaciones de las especies parentales (Calcagnotto *et al.*, 1999; Ponzetto *et al.*, 2011).

Los experimentos de reproducción controlada, en laboratorio, pueden demostrar y/o desechar la posibilidad de hibridación en el medio natural entre pacotanas y sus especies parentales, en este sentido, el presente trabajo tuvo como objetivos determinar la capacidad reproductiva del híbrido pacotana (paco ♀ y gamitana ♂) y su desarrollo ontogénico. Con la finalidad de evaluar el riesgo planteado por esta hibridación entre las dos especies y proponer los datos necesarios para evaluar la necesidad de regulación de su cultivo en la Amazonía peruana.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Kossowski et al. (1980), obtuvieron híbridos del cruce de *Colossoma macropomum* (hembra) y *Mylossoma duriventris* (macho), en el cual, las larvas tenían longitudes intermedias comparadas con las larvas de las especies puras. Las larvas del híbrido median 3 mm, resultando ser menores a *C. macropomum* que tienen 3.6 mm. y mayores a *M. duriventris* que tienen 2.7 mm.

Guerra et al. (1992), realizaron el cruce intergenérico entre “paco” *Piaractus brachipomus* (hembra) X “gamitana” *Colossoma macropomum* (macho). El híbrido “pacotana” presentaba caracteres intermedios entre los progenitores y fenotípicamente se asemeja más a la gamitana, siendo la aleta adiposa de naturaleza blanda, el carácter más saltante.

Kossowski et al. (1983), estudiaron el cariotipo del híbrido de *Colossoma macropomum* x *Mylossoma duriventris* y sus progenitores. Tanto en los progenitores como en el híbrido, el número diploide de cromosomas fue de cincuenta y cuatro ($2n=54$), el híbrido presentaba un promedio de 18 cromosomas metacéntricos y 35 submetacéntricos y 1 acrocéntrico y en *Colossoma macropomum* se observó 9 pares metacéntricos y 18 pares de submetacéntricos, en *Mylossoma duriventris* además de 9 pares de metacéntricos y 18 pares de submetacéntricos y de 17 pares de submetacéntricos, se observó un par de

acrocéntricos. Dando a conocer que el híbrido, producto del cruce de las dos especies trabajadas, también tienen cromosomas diploides al igual que sus progenitores.

Calcagnotto et al. (1999), determinaron los perfiles de electroforesis para pacu (*Piaractus mesopotamicus*), tambaqui (*Colossoma macropomum*) y sus intercambios recíprocos de los híbridos “tambacu” y “Paqui”. Asimismo, ellos diagnosticaron mediante marcadores electroforéticos en base a tres presuntos loci (EST *, * SOD y TF *) y cuatro isohemoglobinas. La eficiencia de caracterización morfológica de pacu era equivalente a la obtenida utilizando métodos electroforéticos (100%) pero inferior en el caso de tambaqui (98,8%), “tambacu” (98,7%) y “Paqui” (82,6%); dando a conocer que estos híbridos representan una amenaza potencial para las poblaciones silvestres de sus especies parentales, ya que solamente el 4% de los híbridos “tambacu” muestran zigotos estériles y/o de baja fertilidad.

Kossowski (2001), realizó la hibridación del bagre zamurito, *Calophysus macropterus*, con otras especies de bagres pimelodidos logrando los híbridos producto del cruce de *Calophysus macropterus* X *Leiarius marmoratus*, *C. macropterus* X *Pimelodus blochii* y *C. macropterus* X *Pseudoplatystoma fasciatum*. Además incluyó un cruce de *P. fasciatum* X *P. blochii*. Todos los cruces efectuados, con la finalidad de ver la compatibilidad y el desempeño en el crecimiento. Manifiesta que el cruce *C. macropterus* X *L. marmoratus*, tuvo la mejor viabilidad

sobre los demás híbridos logrados. Los resultados en crecimiento comparativo mostraron que el híbrido *C. macropterus* X *L. marmoratus*, tuvo el mejor desempeño en crecimiento.

Bermúdez (1984), citado por **Martino (2002)**, sobre los estudios de hibridación entre *Colossoma macropomum* X *Piaractus brachypomus*, reportó evidencias de madurez en los híbridos tanto en hembras como en machos, observando la presencia de gónadas representadas por dos ovarios de moderado desarrollo y con óvulos con diámetro superior al de ambas especies puras, así como emisión de semen durante la captura de uno de los machos “supuestamente híbrido”.

Martino (2002), logró el retrocruce de hembras híbridas (*Colossoma macropomum* X *Piaractus brachypomus*) con machos de especies parentales, teniendo desoves parciales. Los machos híbridos (F1) no aportaron líquido seminal, no coincidió su periodo de espermiación con la madurez de los ovocitos de las hembras.

Gil et al. (2003), evaluaron la relación ARN/ADN como índice de condición fisiológica durante el desarrollo embrionario del híbrido proveniente del cruce de cachama (*Colossoma macropomum*) y morocoto (*Piaractus brachypomus*). Todo el proceso de desarrollo embrionario, desde la fertilización hasta la eclosión, se realizó en 12 horas y 20 minutos a 29.5 °C, con una concentración mínima de oxígeno de 6.0 ppm y un pH de 7.5 que permaneció constante durante todo el proceso.

Compararon los resultados obtenidos de ARN, ADN y el índice ARN/ADN, tanto para el híbrido como para la cachama, en las diferentes fases de vida y entre ellos, observó que en las primeras etapas de vida, el contenido de ARN fue superior para el híbrido que en la cachama. Esta variación del ARN pudiese estar reflejada a la actividad metabólica asociada con la síntesis proteica, desde la primera división celular, observaron una pequeña disminución de la concentración de ARN posiblemente, esto se deba al agotamiento progresivo del alimento endógeno proporcionado por el saco vitelino.

Aliaga et al. (2004), estudiaron la variabilidad genética de *Colossoma macropomum* y *Piaractus brachypomus*; el análisis de ocho y seis intrones en *Colossoma macropomum* y *Piaractus brachypomus* respectivamente, muestra que ambas especies están totalmente diferenciadas ($F_{st} 0.73$, $p < 1\%$) sin introgresión entre ellas en el medio natural, con un índice de diversidad genética de 0.29 y 0.20, respectivamente. *Colossoma macropomum*, presenta una fuerte estructuración genética entre sus poblaciones geográficas. La diferencia genética está en relación con el aislamiento por distancia y no así con las diferencias ecológicas entre los ríos de aguas claras, negras o blancas. Por otro lado, *Piaractus brachypomus* presenta diferencias significativas ($F_{st} 0.106$, $p < 5\%$) entre las poblaciones del Mamoré-Isiboro y Beni-Cachuela Esperanza, lo que indica que en la zona estudiada no hay híbridos "naturales".

Bastardo & Ravelo (2004), evaluaron hematológicamente el aporte de hierro que obtiene el cachamote (*Colossoma macropomum x Piaractus brachypomus*) del hígado y la harina de sangre de res (vacas) como fuentes naturales de hierro, para corregir la anemia causada por la deficiencia nutricional de este mineral durante el proceso de cultivo. Determinaron los valores sanguíneos del porcentaje de hematocrito, concentración de hemoglobina y el número de eritrocitos, para evaluar la eficiencia de los tratamientos aplicados durante quince días. Resultó más eficiente el control de anemia suministrando hígado de res como alimento complementario en cachamotos cultivados en jaulas flotantes.

Botero et al. (2004), observaron el desarrollo embrionario de cigotos híbridos obtenidos por cruzamiento de *Piaractus brachypomus* (macho) y *Colossoma macropomum* (hembra), donde, una vez fertilizado el huevo, inicia su hidratación y el corion se comienza a separar del vitelo, a los 8 minutos, se forma el blastodisco y aparece el espacio perivitelinico, mórula a 1:45 horas; blástula a 2:40 horas; período de gástrula 5:45 horas; ocurrencia de la epibolia y del tubo ectodermal (diferenciación de cabeza y cola) 10:05 horas y se da el engolfamiento del vitelo. A las 11 horas se inicia la segmentación seguida rápidamente por faringulación que corresponde al desarrollo de somitos (rudimentos de la columna vertebral), burbujas cerebrales, diferenciación de órganos básicos, vesícula óptica y los segmentos de los mesodermos; a las 17:10 horas se diferencia claramente el saco

vitelino, se distingue los somitos. A las 19 horas sucede la eclosión de los huevos conteniendo las larvas.

Martino (2004), reportaron diferencias en los cariotipos de los dos híbridos; del híbrido F1 de *Colossoma macropomum* (hembra) por *Piaractus brachypomus* (macho) y el híbrido F2 retrocruzado de híbrido F1 hembra por macho de sus especies parentales. Utilizado tejido renal para la obtención de metafases mitóticas. En las tres especies en número diploide de cromosomas fue 54 ($2n=54$). En el cariotipo tanto del morocoto como las dos especies de híbridos, cuando se usa coloración convencional de Giemsa, no se observan diferencias. La mayoría de las metafases analizadas presentaban $2n=54$ cromosomas, aparentemente, con cariotipos constituidos por 10 pares de metacéntricos y 17 pares de submetacéntricos, no fueron observadas diferencias cromosómicas entre especies en el aspecto morfológico.

Kossowski (1994), citado por **Lubes (2005)**, realizó un estudio para determinar la posible fertilidad de hembras provenientes del cruce de estas dos especies y su retrocruce con los padres, observando que existe una fertilidad gonádica, gamética y zigótica en las hembras del híbrido producto del cruce de *Pseudoplatystoma fasciatum* (hembra) x *Leiarius marmoratus* (macho) en su primera generación (F_1) que conduce a la obtención de una progenie viable aparentemente normal cuando se retrocruza con uno de sus progenitores, *L. marmoratus* y con *P. fasciatum*. El

retrocruce presenta aparentemente una viabilidad escasa hasta el estadio de larvas, las cuales sobreviven sólo unos pocos días.

Faustino et al. (2007), Analizaron la morfometría de los óvulos del cruce de hembras de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) x machos de cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*), los óvulos presentaron forma esférica y coloración amarillenta. Las principales fases del desarrollo embrionario, la formación de 2, 4, 8, 16, 32 y 64 blastómeros, mórula, blástula, gástrula y eclosión de la larva fue a las 13 horas post-fertilización (hpf) a 28 °C en el primer experimento y en el segundo experimento 14 hpf a 27 °C.

Ponzetto et al. (2011), obtuvieron híbridos del cruzamiento de matrinxã (*Brycon amazonicus*) x piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) y matrinxã (*Brycon amazonicus*) x piraputanga (*Brycon hilarii*), con el fin de verificar la tasa de eclosión de los huevos y sobrevivencia de la larvas; teniendo diferencias en la tasa de sobrevivencia de 1.7 y 53.7 % en los cruces interespecificos y el cruce intraespecifico de matrinxã (*Brycon amazonicus*) respectivamente. Comprobando la viabilidad de los híbridos del género *Brycon*, lo que representa un potencial de contaminación genética de las poblaciones de las especies naturales.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1 Área de Estudio.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Reproducción de Peces del Programa para el Uso y Conservación del Agua y sus Recursos (AQUAREC) (**Anexo: Foto 9**), del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana- IIAP, localizado en el Centro de Investigaciones de Quistococha cercano a la comunidad de Quistococha en el Km 4.5 de carretera Iquitos-Nauta, entre las coordenadas geográficas 03° 48', 48.9" S y 73°19', 2" W, con una altitud de 128 msnm, en el Departamento de Loreto.

2 Diseño Experimental.

Se realizó la inducción de los híbridos machos y hembras; y de las especies parentales, en las cuales se cruzaron los machos híbridos con sus especies parentales. En este trabajo de investigación se realizaron los retrocruces de machos híbridos con las hembras de las especies puras, *Colossoma macropomum* "gamitana" y *Piaractus brachypomus* "paco".

2.1. Preparación del plantel de reproductores.

La formación de los reproductores, se realizó en un estanque de tierra de 2745 m² dividido en cuatro corrales; los híbridos (pacotanas) fueron puestos en el corral "B" de 990 m². Los reproductores de paco y gamitana en el corral "A" de 990 m², y

corral "C" de 990 m² respectivamente. La alimentación de estos reproductores fue con alimento extrusado con 22 % de proteína bruta (**Tabla 1**), con una tasa de alimentación de 2.0% de la biomasa total. Se alimentaron dos veces al día, a las 08:00 y 14: 00 horas. Se contó con 30 pacotanas de 4 a 5 años de edad con peso promedio de 3.89 kg y 58.68 cm. de longitud; 30 pacos de 6 a 8 años de edad con pesos de 5 a 8 kg con longitudes de 50 a 80 cm y 102 gamitanas, reproductoras, de edades entre 8 a 10 años, con pesos de 7 a 14 Kg, con longitudes entre 75 a 100 cm.

Tabla 1. Composición porcentual de la dieta para los reproductores

Insumos	(%)
Maíz	45.00
Harina de pescado	9.20
Torta de soya	16.43
Polvillo de arroz	20.00
Fosfato monodivale	0.37
Antihongo	0.15
Premix acuicultura	0.123
Cloruro de colina	0.10
Antioxidante	0.02
L-lisina	0.02
Subproducto de trigo	8.20
Sal	0.35
Vitamina C	0.02
Vitamina E	0.02
Total	100.00

2.2. Selección de Reproductores.

Para la selección de reproductores se observaron los caracteres externos de madurez sexual y se realizaron biopsias en las hembras mediante la técnica de canulación para examinar la posición del núcleo de los ovocitos, antes de la inducción hormonal (**Anexo: Foto 10**). En los machos se realizó una leve presión

abdominal para determinar la presencia o ausencia de semen. Luego fueron colocados en tanques de 1.5 x 0.8 x 0.8 m recubiertos de mayólica en sus paredes interiores. En cada tanque se colocó una pareja, manteniéndose una renovación de agua y aireación constantes.

2.3. Inducción.

Para la inducción hormonal en las pacotanas hembras, se utilizó la hormona Conceptal, con dosis totales de 2.6 ml/Kg p.v. y extracto de pituitaria de carpa (EPC), con dosis totales de 5 mg /Kg p.v. En los machos solo utilizó Conceptal, con dosis de 1ml/Kg p.v., tanto los machos como hembras recibieron la dosis total en dos partes, en intervalo de 12 horas. Las hembras recibieron la primera dosis equivalente al 10% (estimulante) y la segunda dosis equivalente al 90% (desencadenante). Los machos recibieron la primera dosis el 50% y en la segunda dosis el 50% restante. Las inyecciones se realizaron con jeringas hipodérmicas de 1 cm³ y 5 cm³. La vía de inoculación fue intraperitoneal (**Anexo: Foto 11**).

2.4. Desove.

Al cumplirse las horas grado de desove, se capturó a la hembra con cuidado. Los óvulos se recibieron en 2 bandejas pequeñas de plástico de 2 litros. Se pesaron 20 g de óvulos de ambas especies en bandejas de plástico (**Anexo: Foto 12**), para luego ser fertilizados con el esperma del híbrido macho (Pacotana).

2.5. Fecundación.

Finalizado el desove, se capturó al macho híbrido (pacotana), para obtener esperma ejerciendo ligera presión a la altura de la posición de los testículos (**Anexo: Foto 13**), teniendo cuidado de no contaminarlo con orina. El esperma se recolectó en tubos de 5 ml, se mezcló con los óvulos en seco, con una pluma. La tasa de fertilización, se determinó tomando una pequeña muestra de huevos de cada incubadora (donde se calculó los huevos fertilizados, con respecto a los no viables) según Andriasheva (1977), citado por (Kossowski, 1980).

2.6. Incubación.

Se utilizó incubadoras tipo Woynarovich de 40 litros cada una (**Anexo: Foto 14**); previamente limpiadas, las cuales tenían un flujo constante de agua de 1 litro por minuto.

2.7. Tasa de fertilización

Se evaluó cada 6 horas post-fertilización (hpf), para ello se tomó tres alícuotas de 200 ml en las cuales se contaron los óvulos fecundados e hidratados y los no fecundados, indicando el tiempo desde la fertilización (ejemplo 10 horas post-fertilización=10 hpf). El resultado se expresó en porcentaje.

Para el **desarrollo embrionario** se tomó una muestra de 20 huevos cada hora y se fijó en formol al 5%, en tubos Eppendorf (**Anexo: Foto 15**), para la observación al

estereoscopio y análisis. Se captó fotos de cada etapa de desarrollo embrionario.

También se anotó el tiempo de eclosión.

2.8. Recuento de larvas.

Se realizó el conteo de todas las larvas que presentaban movimiento, en cada una de las incubadoras.

2.9 Análisis de la calidad de agua.

Se registraron los parámetros físico-químicos del agua, en cada tanque de tratamiento de los reproductores y en las incubadoras. Se analizó la calidad del agua utilizando el lector multiparámetros de marca YSI MP556 para medir la temperatura y el oxígeno; y el pH medido con un Potenciómetro STD. Para medir amonio y nitritos se utilizó el kit NH_3 y NO_2 del equipo La Motte. Los parámetros fueron los siguientes:

Físicos: Temperatura del agua cada hora

Químicos: pH, oxígeno disuelto del agua, cada hora; amonio y nitritos cada 5 horas.

3. Procesamiento de la información.

Toda la información obtenida se procesó en hojas de Microsoft Excel para su análisis. Toda la información obtenida, fue analizada en el programa SPSS Versión

18.

IV. RESULTADOS

1. Experimentos de inducción hormonal en los híbridos pacotana.

En el mes de agosto del 2008, se observó la época de la maduración gonadal en los reproductores híbridos, en los híbridos machos se pudo notar la presencia de semen (**foto 1**) y en las hembras híbridas los ovocitos (**foto 2**), que presentaron un color amarillo cremoso; la condición predominante de los ovocitos al ser sometidos al líquido AFA, se distinguió la vesícula germinal en posición excéntrica y central en algunas hembras en la preselección antes de la inducción, pero en los experimentos de inducción hormonal se seleccionaron solo hembras que presentarán sus ovocitos en posición excéntrica



Foto 1. Semen del híbrido pacotana.



Foto 2. Presencia de ovocitos de dos hembras híbridas

Primer experimento de reproducción inducida

En la **tabla 2**, se muestra los peces empleados en el primer experimento de las cuales se indujeron dos hembras híbridas y dos machos con códigos de microchip 24452 y 26938, de los cuales, sólo el primero logró expulsar 2ml de esperma y el segundo macho no se utilizó debido a que las dos hembras híbridas inducidas con Conceptal no desovaron. El desove de las hembras parentales *Colossoma macropomum* y *Piaractus brachypomus* se produjo una hora después de la obtención de semen, de lo cual se pesó 20 g de óvulos de cada una de ellas para ser mezclados con 1 ml de esperma del híbrido, diluido en 1 ml de suero fisiológico al 0.5% NaCl. Al final de todo el proceso de incubación, la eclosión ocurrió a las 16 horas a 27.88°C, se obtuvieron 9 larvas del retrocruce con *Colossoma macropomum*; y la eclosión del retrocruce con *Piaractus brachypomus* sucedió a 27.81 °C, solo se consiguió 5 larvas a partir de los 20 gramos de óvulos, las mismas que fueron colocadas en dos cubetas de 40 l del sistema de recirculación (**Anexo: Foto 16**), además se observaron malformaciones en los embriones. Las larvas obtenidas murieron 27 horas post-eclosión.

Tabla 2. Peces seleccionados para el 1^{er} experimento de reproducción inducida.

Peces	Sexo	Chip	Peso (Kg)	Long. (cm)	Hormona	Desove del híbrido
paco	♀	30098	4.6	59	Conceptal	
paco	♀	7F7F181824	4.2	56	Conceptal	
pacotana	♀	26212	5	61	Conceptal	negativo
pacotana	♀	31182	5	60	Conceptal	negativo
gamitana	♀	-	9.4	76	EPC	
gamitana	♀	26316	8.8	70	EPC	
paco	♂	-	4.4	59	Conceptal	
paco	♂	21608	3.6	57	Conceptal	
pacotana	♂	24452	3.6	56	Conceptal	
pacotana	♂	26938	3.8	58	Conceptal	
gamitana	♂	21950	6	67	Conceptal	
gamitana	♂	435D334524	6.5	69	Conceptal	
gamitana	♂	-	7.2	74	Conceptal	

13/08/2008

Segundo experimento de reproducción inducida

Un segundo experimento fue efectuado el 7 de setiembre con una pareja de híbridos, debido a que fueron las más aptas para la reproducción inducida. En este experimento se empleó como inductor hormonal, el extracto de pituitaria de carpa en la hembra híbrida, resultando la ovulación negativa como se aprecia en la tabla 3, sin embargo, el macho híbrido aportó semen obteniéndose 4 ml de semen, el cual se utilizó para fertilizar dos hembras de las especies parentales de *Colossoma macropomum* de 8.6 Kg y *Piaractus brachipomus* de 4 Kg. Posterior al proceso de

incubación, con los huevos del retrocruce del híbrido con las especies parentales, no se obtuvieron larvas, de igual forma se pudo apreciar el desarrollo embrionario y malformaciones en los embriones.

Tabla 3. Peces seleccionados para el 2^{do} experimento de reproducción inducida.

Peces	Sexo	Chip	Peso (Kg)	Long (cm)	Hormona	Desove del híbrido
paco	♀	28185	4.6	58	Conceptal	
paco	♀	26188	4	54	Conceptal	
gamitana	♀		15	82	EPC	
gamitana	♀		11.8	80	EPC	
gamitana	♀		8.6	73	EPC	
pacotana	♀	27077	5.2	60	EPC	negativo
paco	♂	7F7D352971	3.8	51	Conceptal	
paco	♂	7F7F182A36	3.7	5.3	Conceptal	
gamitana	♂		9	75	Conceptal	
gamitana	♂		9	73	Conceptal	
gamitana	♂		7	68	Conceptal	
pacotana	♂	21928	4	57	Conceptal	

07/09/08

Tercer experimento de reproducción inducida

En el mes de setiembre se realizó el tercer experimento con una pareja de híbridos, de igual forma se empleó, el extracto de pituitaria de carpa en la hembra híbrida, resultando la ovulación negativa como se distingue en la tabla 4, se consiguió extraer un 1 ml de semen para fertilizar con los óvulos dos hembras de las especies parentales de *Colossoma macropomum* de 9.9 Kg y *Piaractus brachypomus* de 5 Kg.

De igual forma no hubo eclosión de los huevos conteniendo las larvas; y se observó malformaciones en los embriones.

Tabla 4. Peces seleccionados para el 3^{er} experimento de reproducción inducida.

Peces	Sexo	Microchip	Peso (Kg)	Long (cm)	Hormona	Desove del híbrido
pacotana	♀	7F7F182A36	6.6	66	EPC	negativo
pacotana	♂	29785	4	56	Conceptal	
gamitana	♀		9.9	74	EPC	
gamitana	♂	25892	6.6	69	Conceptal	
gamitana	♀		13.4	85	EPC	
gamitana	♂		7.8	72	Conceptal	
paco	♀		5	56	Conceptal	
paco	♂	21705	4.6	58	Conceptal	
Paco	♀		3.8	51	Conceptal	
paco	♂	7F7F18710F	5	60	Conceptal	

29/09/08.

Cuarto experimento de reproducción inducida

En este experimento, también se empleó, el extracto de pituitaria de carpa en la hembra híbrida, resultando la ovulación negativa como se percibe en la tabla 5, En este caso fue el macho que se utilizó en el segundo experimento, solo el semen del macho híbrido se utilizó para fertilizar con 20 gramos de los óvulos de cada una de las dos hembras de las especies parentales de *Colossoma macropomum* de 9 Kg y

Piaractus brachypomus de 4 Kg. De igual forma no hubo eclosión de los huevos conteniendo las larvas; y se observó malformaciones en los embriones.

Tabla 5. Peces seleccionados para el 4^{to} experimento de reproducción inducida

Peces	Sexo	chip	Peso(Kg)	Long (cm)	Hormona	Desove del híbrido
paco	♀		4.6	58	Conceptal	
paco	♀		4	54	Conceptal	
gamitana	♀		9	75	EPC	
gamitana	♀		15	82	EPC	
gamitana	♀		11.8	80	EPC	
pacotana	♀	26212	4.9	60	EPC	negativo
paco	♂		4	58	Conceptal	
paco	♂		3.8	51	Conceptal	
gamitana	♂		9	75	Conceptal	
gamitana	♂		9	73	Conceptal	
gamitana	♂		7	68	Conceptal	
pacotana	♂	21928	4	59	Conceptal	

06/11/08.

Quinto experimento de reproducción inducida

En la tabla 6, se muestran los resultados de las dos hembras híbridas, utilizadas en el mes de enero, con cuatro machos de las especies parentales, *Colossoma macropomum* y *P. brachypomus*. En este caso ninguna de las hembras híbridas inducidas con Conceptal desovó; por ende, no se utilizaron los machos de las especies parentales.

Tabla 6. Peces seleccionados para el 5^{to} experimento de reproducción inducida.

Peces	Sexo	Microchip	Peso (Kg)	Long (cm)	Hormona	Desove del híbrido
pacotana	♀	31182	5.6	64	Conceptal	negativo
pacotana	♀	411B23065D	4	58	Conceptal	negativo
gamitana	♂	411B3B035F	8.2	78	Conceptal	
paco	♂	22859	3.6	58	Conceptal	
gamitana	♂	Sin chip	9.2	77	Conceptal	
paco	♂	7F7F18710F	4.2	60	Conceptal	

16/01/09.

Sexto experimento de reproducción inducida

En este experimento el desove fue negativo, como se puede observar en la tabla 7, se realizó el retrocruce del híbrido macho (chip 24452), con paco, *Piaractus brachypomus* de 5 kg, se mezclaron 20g de óvulos, fertilizándoles con 0.8 ml de esperma. La eclosión de los huevos conteniendo las larvas duro 17 horas a 27.36 °C, se obtuvieron tres larvas, además se observaron malformaciones en los embriones. Las larvas sólo vivieron 3 días.

Tabla 7. Peces seleccionados para el 6^{to} experimento de reproducción inducida

Peces	sexo	chip	Peso (Kg)	Long (cm)	Hormona	Desove del híbrido
paco	♀		3.8	50	Conceptal	
paco	♂		4.2	61	Conceptal	
paco	♀		5	54	Conceptal	
paco	♂		4.2	54	Conceptal	
paco	♀		3.8	54	Conceptal	
paco	♂		3.8	54	Conceptal	
gamitana	♀		7.2	68	EPC	
gamitana	♂		4.2	62	Conceptal	
gamitana	♀		5	62	EPC	
gamitana	♂		5.2	65	Conceptal	
pacotana	♀	27077	7	68	Conceptal	negativo
pacotana	♂	21928	4.3	60	Conceptal	
pacotana	♀	7F7F1823DF	6	66	EPC	negativo
pacotana	♂	24452	4	57	Conceptal	

18/08/2009.

2. Tasa de fertilización y eclosión de los huevos.

En la **Tabla 8**, se muestra en porcentaje la tasa de fertilización del cruce de los híbridos machos (Pacotana) con las especies parentales hembras. El retrocruce con las "gamitanas" *Colossoma macropomum*, la tasa promedio de fertilización a las 6 hpf y 12 hpf, fue de $69.69 \pm 17.72\%$ y $38.13 \pm 10.47\%$ para ambas horas post-fertilización (hpf). Con los "pacos" *Piaractus brachypomus*, la tasa de fertilización a las 6 hpf, fue de $62.8 \pm 14.63\%$ y a las 12 hpf, con $34.98 \pm 8.22\%$.

No obstante, en los experimentos donde se obtuvieron larvas, luego del proceso de incubación, en el primer retrocruce con gamitana la tasa de fertilización a las 6 hpf fue de 86.15 % y a las 12 hpf de 51.33 % y en el retrocruce con paco la tasa de fertilización entre las 6 hpf y 12 hpf fue de 75.64 % y 25.74% respectivamente; el en sexto retrocruce con Paco, a las 6 hpf fue de 80.85% y a las 12 hpf de 40.61% (gráficos 1, 2 y ver anexo: gráfico 3). Como se observa, hubo una buena tasa de fertilización a las 6 hpf, disminuyendo a las 12 hpf.

La tasa de eclosión para el primer experimento con gamitana y paco fue de 0.045 y 0.025 % respectivamente; en el sexto experimento con el retrocruce con paco la tasa de eclosión fue de 0.015 %. En el segundo, tercero y cuarto experimento la tasa de eclosión fue cero, debido a que no hubo eclosión de los huevos conteniendo las larvas.

Tabla 8. Tasa de fertilización (%), a las 6 (hpf) y 12 (hpf), durante el proceso de incubación de los huevos, en el retrocruce entre pacotanas machos con sus especies parentales. IIAP. 2008-2009.

	N	Mínimo	Máximo	Media	D. estándar
Gamitana. 6 hpf	4	53.97	86.15	69.69	17.72
Gamitana. 12 hpf	4	26.47	51.33	38.13	10.47
Paco. 6 hpf	5	47.69	80.85	62.8	14.63
Paco. 12 hpf	5	25.74	45.97	34.98	8.22

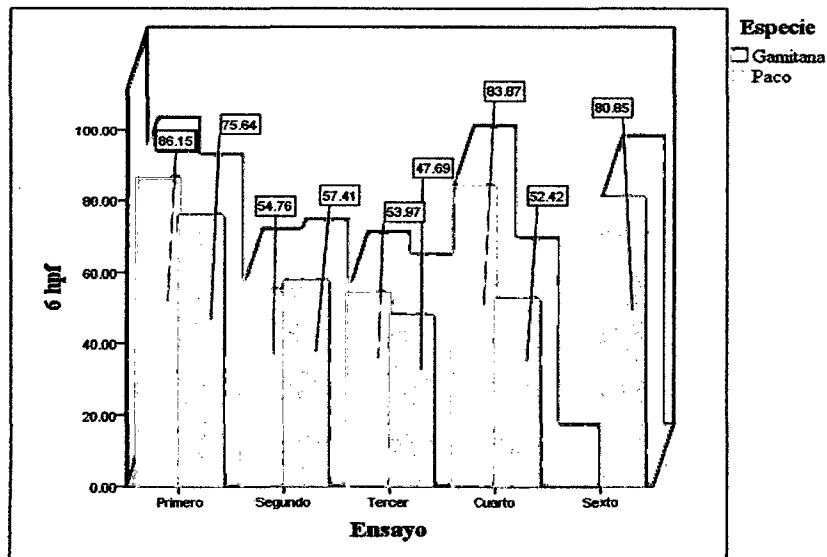


Gráfico 1. Porcentaje de Fertilización, a las 6 horas post-fertilización (hpf), durante el proceso de incubación de los huevos en el retrocruce entre pacotanas machos con sus especies parentales.

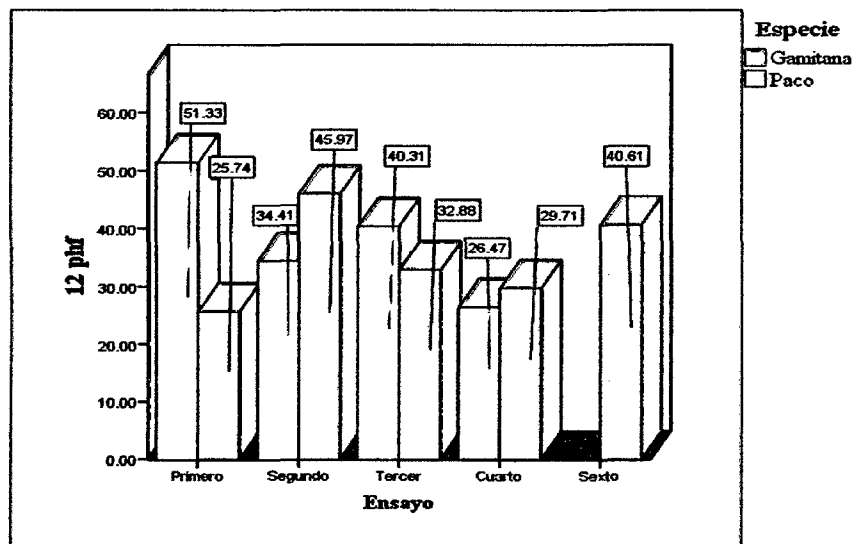


Gráfico 2. Porcentaje de Fertilización, a las 12 horas post-fertilización (hpf), durante el proceso de incubación de los huevos en el retrocruce entre pacotanas machos con sus especies parentales.

3. Desarrollo embrionario del retrocruce del híbrido macho, con sus especies parentales. 2008-2009.

Desarrollo embrionario del retrocruce del híbrido macho (pacotana) x "gamitana" *Colossoma macropomum*.

La temperatura media durante la incubación fue de $27.8 \pm 0.46^{\circ}\text{C}$, con nivel de oxígeno de $5.25 \pm 0.18 \text{ mg/l}$ y el pH $6.52 \pm 0.24 \text{ UI}$; y niveles amonio $<0.2 \text{ mg/l}$ y nitritos $<0.05 \text{ mg/l}$. El desarrollo embrionario del retrocruce, se puede distinguir en la **tabla 9 y fotos 3, 4 y 5**).

El periodo de **cigoto** se observó a los 20 minutos o las 0.33 horas post-fertilización (hpf), con la formación de 1 célula (foto 3a). A las 0.95 (hpf), en el periodo de clivaje, se observó 2 blastómeros (foto 3b); a las 1.02 hpf, 4 blastómeros en arreglo de 2x2 (foto 3c); transcurrido 1.22 hpf, 8 blastómeros (foto 3d); a las 1.68 hpf y las 2.18 hpf, se observó 64 blastómeros y el estadio de mórula en las fotos 3e y 3f respectivamente.

El periodo **blástula** o periodo de cresta o moño, con el estadio de transición alto-ovoide a las 3.68 hpf (foto 4a); entre las 4.52 y 5.13 hpf, el estadio de domo, en las fotos 4b y 4c respectivamente. El periodo de **gastrulación**, se inició a las 6.65 hpf, con la formación del anillo germinal en el embrión con un 60% epibolia (foto 4d) y 70% epibolia (foto 4e); el inicio del cierre del blastoporo con 90% de epibolia a las 8.16 hpf (foto 4f).

En el periodo **segmentación y organogénesis**, a las 9.38 hpf, la distinción de la región cefálica de la caudal (foto 5a); entre las 11.22 y 14.50 hpf, la aparición de los primeros somitos y el desarrollo de la región caudal en las fotos 5b y 5c respectivamente. A las 15.05 hpf (fotos 5d), se muestra la actividad cardíaca y la separación completa de la aleta caudal del saco vitelino, se observaron los otolitos dentro de la cápsula ótica, los lóbulos cerebrales, narinas y el cristalino del ojo; el embrión se mueve constantemente sobre su propio eje. La eclosión del huevo conteniendo la larva, aconteció a las 16.68 hpf (foto 5e).

Tabla 9. Descripción y tiempo del desarrollo embrionario del retrocruce del híbrido macho (pacotana) x "gamitana" *C. macropomum*, con temperatura promedio de 27.8 °C. AQUAREC - IIAP. Iquitos - Perú. 2008.

Período	Tiempo (hpf)	Descripción	Foto
Cigoto	0.33	Estadio de 1 célula	3a
Clivaje	0.95	2 blastómeros disposición de 1x1	3b
	1.02	Estadio de 4 blastómeros	3c
	1.22	8 blastómeros en disposición de 4x4	3d
	1.68	64 blastómeros	3e
	2.18	Estadio de mórula	3f
Blástula	3.68	Estadio de transición alto-ovoide	4a
	4.52	Estadio de domo	4b
	5.13	Estadio de domo	4c
Gástrula	6.65	60 % epibolia, formación del anillo germinal	4d
	7.03	70% epibolia	4e
	8.16	90% epibolia , inicio del cierre blastoporo	4f
segmentación y organogénesis	9.38	Distinción de la región cefálica de la caudal	5a
	11.22	Aparición de los primeros somitos	5b
	14.50	Desarrollo de la región caudal	5c
	15.05	Desprendimiento de la aleta caudal completo, cápsula óptica, primeros movimientos.	5d
Eclosión	16.58	Eclosión del huevo conteniendo la larva	5e

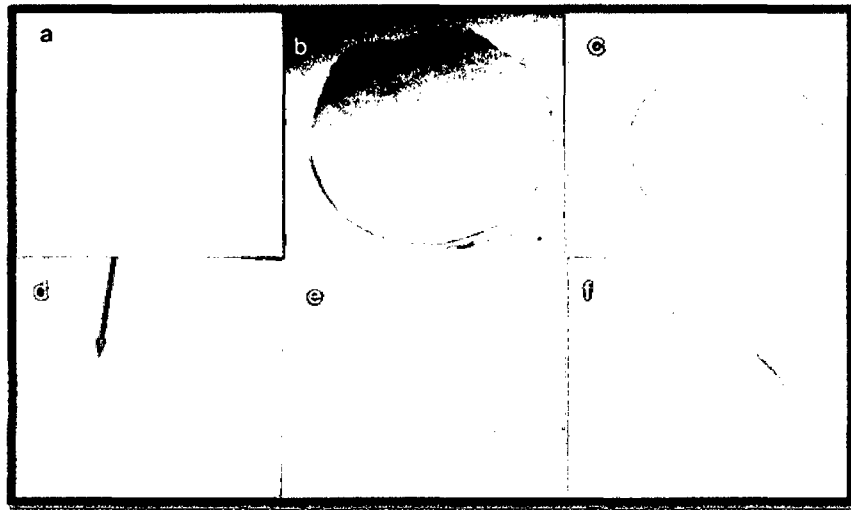


Foto 3. Retrocruce del híbrido macho (pacotana) x "gamitana" *Colossoma macropomum*. Periodo de cigoto: Huevo con una célula (a); periodo de clivaje: 2 blastomeros (b), 4 blastomeros (c), 8 blastomeros (d) y 64 blastomeros (e) y estadio de mórula (f).

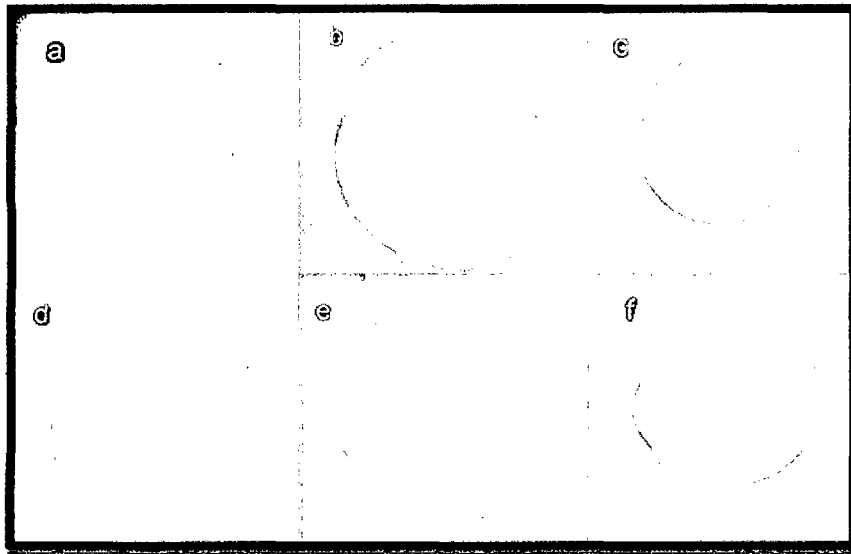


Foto 4. Retrocruce del híbrido macho (pacotana) x "gamitana" *Colossoma macropomum* Periodo de blástula: Estadío de transición alto- ovoide (a), estadío de domo (b y c); periodo de gástrula: 60% Epibolia, formación del anillo germinal (d), 70% epibolia (e), 90% epibolia, inicio del cierre del blastoporo (f).

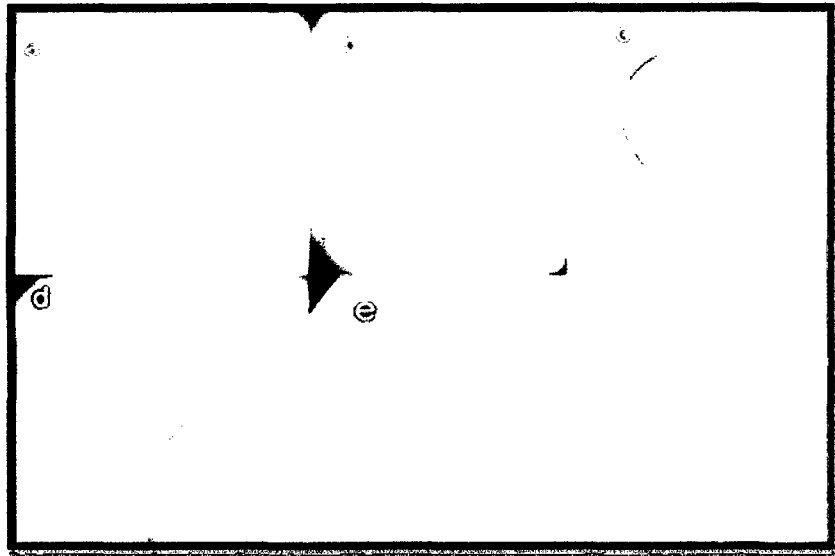


Foto 5. Retrocruce del híbrido macho (pacotana) x "gamitana" *Colossoma macropomum*. Periodo de organogénesis y segmentación: Inicio del desarrollo de la región cefálica (a), surgimiento de los primeros somitos (b), desarrollo de la región caudal (c), desprendimiento de la aleta caudal completa y movimiento constante (d), eclosión del huevo conteniendo la larva (e).

Desarrollo embrionario del retrocruce del macho híbrido (pacotana) x "paco"

***Piaractus brachypomus*.**

La temperatura media durante la incubación fue de 27.3 ± 0.47 °C, con nivel de oxígeno de 6.46 ± 0.44 mg/l, pH 6.30 ± 0.11 UI; y niveles amonio <0.2 mg/l y nitritos <0.05 mg/l. El desarrollo embrionario del retrocruce. (Tabla 10 y Foto 6 y 7).

A las 0.7 hpf, en el periodo de **clivaje**, se observó 8 blastómeros, en arreglo de 4x2 (foto 6a); transcurrido 1.95 hpf, la formación de 64 blastómeros en disposición de 4x16 (foto 6b). El periodo **blástula**, la formación del polo vegetal y animal a las 2.97

hpf (foto 6c). A las 4.95 hpf se inicia la formación del anillo germinal en el embrión con un 40% epibolia (foto 6d) y el inicio del cierre del blastoporo con 60% de epibolia a las 5.92 hpf (foto 6e), todo esto en el periodo de **gastrulación**.

En el periodo **segmentación y organogénesis**, a las 7.95 hpf, la aparición de los primeros somitos (foto 6f); las 9.03 hpf, la distinción de la región cefálica de la caudal (foto 7a). El rudimento de la columna vertebral a las 12.02 (foto 7b); a las 12.95 hpf (foto 7c), se muestra el inicio de la actividad cardíaca y la separación de la región caudal del saco vitelino. A las 14.87 hpf, desarrollo de la aleta caudal, cápsula ótica, con los primeros movimientos (foto 7d); y a las 15.95 hpf, se observaron los otolitos dentro de la cápsula ótica, los lóbulos cerebrales, narinas y el cristalino del ojo, el embrión se mueve constantemente sobre su propio eje (foto 7e) y la eclosión del huevo conteniendo la larva, ocurrió a las 16.57 hpf (foto 7f).



385

Tabla 10. Descripción y tiempo del desarrollo embrionario del retrocruce del macho híbrido (pacotana) x "paco" *P. brachypomus*, con temperatura promedio de 27.3 °C.

AQUAREC - IIAP. Iquitos - Perú. 2009.

Período	Tiempo (hpf)	Descripción	Foto
Clivaje	0.7	8 blastómeros en disposición de 4x2	6a
	1.95	64 blastómeros en disposición de 4x16	6b
Blástula	2.97	Polo vegetativo y animal	6c
Gástrula	4.95	Comienzo de la gastrulación, 40% epibolia, formación del escudo embrionario	6d
	5.92	Inicio del Cierre del blastoporo, epibolia 60%	6e
segmentación y organogénesis	7.95	Aparición de los primeros somitos	6f
	9.03	Distinción de la región cefálica de la caudal	7a
	12.02	Rudimentos de columna vertebral	7b
	12.95	Inicio de la separación de la región caudal del saco vitelino	7c
	14.87	Desarrollo de la aleta caudal, cápsula ótica, primeros movimientos.	7d
	15.95	otolitos, lóbulos cerebrales, narinas y el cristalino del ojo, el embrión se mueve constantemente sobre su propio eje	7e
Eclosión	16.57	Eclosión del huevo conteniendo la larva	7f

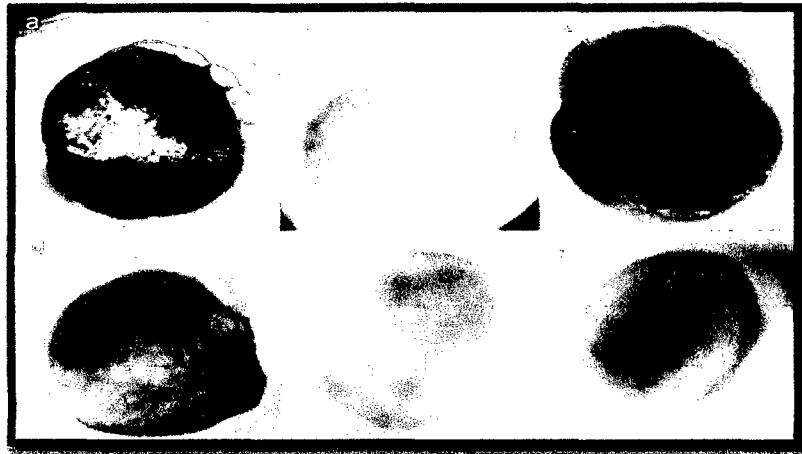


Foto 6. Retrocruce del macho híbrido (pacotana) x "paco" *Piaractus brachypomus*. Periodo clivaje: Formación de ocho células (a), huevo con 64 células (b); periodo de blástula: Diferenciación del polo vegetativo y animal (c); periodo de gástrula: 40% Epibolia (d) y inicio del cierre del blastoporo con 60% epibolia (e); periodo de organogenesis y segmentación: Aparición de los primeros somitos (f).



Foto 7. Retrocruce del macho híbrido (pacotana) x "paco" *Piaractus brachypomus*. Periodo de Organogénesis y segmentación: Distinción de la región cefálica de la caudal (a), rudimentos de la columna vertebral (b), inicio de la separación de la región caudal del saco vitelino (c), desarrollo de la aleta caudal (d), embrión en constante movimiento en el corion (e); eclosión del huevo conteniendo la larva (f).

Malformaciones de los embriones en el retrocruce del híbrido con sus especies parentales.

En proceso de incubación del 1^{er}, 2^{do}, 3^{ero}, 4^{to} y 6^{to} experimento, en el desarrollo embrionario, después que habían eclosionado los huevos conteniendo las larvas de las especies parentales, entre las 16 y 19 hpf, se observó en todos los experimentos embriones malformados (Foto 8). El desarrollo máximo fue hasta embrión en estado avanzado con latidos del corazón y movimiento lento de la musculatura del embrión dentro del huevo.

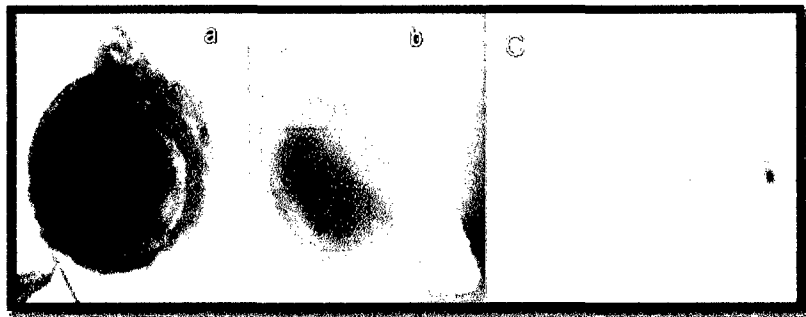


Foto 8. Malformaciones de embriones del retrocruce del híbrido macho con sus especies parentales.

V. DISCUSIÓN

1. Capacidad reproductiva del híbrido pacotana.

La capacidad reproductiva entre híbridos en nuestro trabajo fue nula, se observó la presencia de ovocitos en las hembras y al ser inducidas con dos tipos de hormonas, los resultados al desove fueron negativos, debido a que las hembras híbridas, no desovaron.

Sin embargo, **Martino (2002)**, logró el desove del híbrido gamipaco (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) con desoves parciales, asimismo, menciona que el período de espermiación no coincidió con la maduración de los ovocitos de las hembras y en la cual los híbridos machos no aportaron semen, persistiendo la incógnita de la fertilidad y sobre la posibilidad de obtener una generación F2 viable. De igual forma, en este experimento no hubo la sincronización de la época de maduración gonadal de las hembras híbridas con los machos.

En este trabajo, a partir de los machos se obtuvo esperma que causó la impresión de ser óptimo para reproducción gracias a la motilidad que presentaban los espermatozoides (5 minutos). Sin embargo, pese a que se obtuvo la fertilización de los óvulos de sus especies parentales, no todos estos huevos consiguieron tener un adecuado desarrollo embrionario. En tal sentido, **Rivera (2003)**, expresa que en la biología evolutiva, en los mecanismos postzigóticos, tiene lugar en la fecundación y

la formación de cigotos híbridos, pero estos no son viables o dan lugar a híbridos débiles o estériles, porque sus gónadas se desarrollan anormalmente.

El híbrido “pacotana” presentó gónadas aparentemente normales, tanto los machos como las hembras, la cual se verificó sacrificándose 3 ejemplares (**Anexo: Fotos 17 y 18**). Al respecto, **Klug et al. (2008)**, mencionan que los híbridos F1 son normales, vigorosos y fértiles, pero en un F2, hay muchos individuos débiles o estériles.

Cabe mencionar que el híbrido pacotana representa un peligro en los ecosistemas acuáticos tanto para sus especies parentales como para las demás, debido a que presentan un rápido crecimiento, presentan productos sexuales aparentemente normales para reproducción, lo cual podría traer consigo entrecruzamiento con resultados genéticos anormales o también llamado malformación genómica; en ese sentido, **Zaniboni (2010)**, afirma que los híbridos no tienen garantía de esterilidad reproductiva; así, parte de estos peces pueden reproducirse, incluso ocurriendo el cruzamiento con las especies parentales, tornándose una fuente preocupante de impacto sobre la conservación de la variabilidad genética de los stock naturales. Esto podría ocurrir en la Amazonía Peruana, al escaparse las pacotanas de algunas instalaciones acuícolas cercanas a los ríos o cultivos en jaulas flotantes en los ambientes acuáticos (ríos, quebradas y cochas).

Asimismo, **Senhorini et al. (2009)**, citado por **Ashikaga et al. (2010)**, mencionan que varios ejemplares híbridos han sido capturados en aguas continentales producto de escapes de las piscifactorías. Al respecto, **Orsi & Agostinho (1999)**, reportaron escapes de 9 híbridos tambacu (*Colossoma macropomum* x *Piaractus mesopotamicus*), en los ambientes acuáticos del río Paraná en Brasil. La presencia de estos híbridos en los ambientes acuáticos naturales pueden representar una gran amenaza para la conservación de especies nativas, puede afectar a la modificación del genoma de estas especies puede causar la llamada contaminación genética de las poblaciones silvestres, debido a que estos pueden tener un cierto grado de fertilidad (**Almeida et al., 1996; Allendorf et al., 2001; Porto et al., 2008**). También, **Ponzetto et al. (2011)**, mencionan, que la viabilidad de los híbridos del género *Brycon*, del cruce de matrinxã (*Brycon amazonicus*) x piraicanjuba (*Brycon orbignyanus*) y matrinxã (*Brycon amazonicus*) x piraputanga (*Brycon hilarii*), presentan un potencial de contaminación genética de las poblaciones naturales de las especies nativas.

Por lo tanto, en el caso de especies híbridas en los ambientes acuáticos, cuanto más grande es la introgresión, mayor será la posibilidad de que esta nueva población se establezca en el medio ambiente y perpetúe los daños a las especies nativas (**Ashikaga et al., 2010**). En la investigación realizada por **Calcagnotto et al. (1999)**, Encontraron que el 4% de los híbridos "tambacu" muestran cigotos estériles y/o de baja fertilidad, indicando que los híbridos representan una amenaza potencial para

las poblaciones silvestres de sus especies parentales; pese a esta información, nosotros trabajando con otro tipo de híbridos, no pudimos comprobar la viabilidad de los óvulos por cuanto las hembras híbridas "pacotana" no llegaron a desovar.

La hibridación artificial que se consigue en el laboratorio permite suponer que esto podría ocurrir en forma natural, entre *P. brachypomus* x *C. macropomum* o inversamente, al igual que se podría presentar retrocruces del híbrido pacotana con las especies parentales. Al respecto, **Kossowski et al. (1980)**, manifiesta que la hibridación artificial conduce tentativamente a sugerir que este fenómeno ocurre en forma natural entre algunas especies (o géneros) nativas.

2. Tasa de fertilización y eclosión de los huevos.

Martino (2002), reporta en el retrocruce del híbrido (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) con machos de la especie parentales, fertilizaciones de 15 y 22%; en *Colossoma macropomum* y para *Piaractus brachypomus* entre 7 y 33%. Resultados menores con respecto a nuestro trabajo, es así que, se registraron elevadas tasas de fertilización en promedio, mayores de 62% a las 6 hpf en el retrocruce del híbrido macho (Pacotana) con las especies parentales, disminuyendo a 38.13 y 34.98 % a las 12 hpf para *Colossoma macropomum* y *Piaractus brachypomus* respectivamente. Por razones aparentemente genéticas la fertilización disminuye conforme pasa el tiempo en el desarrollo embrionario.

Según Rivera (2003), los mecanismos postzigóticos, tienen lugar en la fecundación y la formación de cigotos híbridos, pero estos no son viables o dan lugar a híbridos débiles o estériles. Esto podría explicar la causa de la baja tasa de fertilización y eclosión en el retrocruce del híbrido macho con las especies parentales.

La tasa de eclosión en el primer experimento, con el retrocruce del híbrido macho con gamitana, *Colossoma macropomum*, fue de 0.045 % y con paco, *Piaractus brachypomus* fue 0.025 %; y el en Sexto experimento en el retrocruce con paco se obtuvo 0.015 %. En el segundo, tercero y cuarto experimento la tasa de eclosión fue cero, debido a que no hubo eclosión. En el trabajo de Martino (2002), reporta la tasa de eclosión, producto del retrocruce del híbrido (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) con machos de las especies parentales, *Colossoma macropomum* y *Piaractus brachypomus*, en su primer experimento obtuvo tasa de eclosión de 11.5 % de 2 gramos de óvulos y 5.5 % de 2 g óvulos obtenidos respectivamente para cada retrocruce; en el segundo experimento con *C. macropomum* consiguió 10.73 % y en *P. brachypomus* 3.24 % de tasa de eclosión de 41 g y 37 g de óvulos respectivamente.

En otros cruces con especies de la misma familia con el fin de obtener peces híbridos; Guerra *et al.* (1992), en el cruce de *Piaractus brachypomus* x *Colossoma macropomum*, obtuvieron entre 10.3 y 73% de eclosión. Asimismo, en el cruce de matrinxã (*Brycon amazonicus*) x piracanjuba (*Brycon orbignyanus*) y matrinxã

(*Brycon amazonicus*) x piraputanga (*Brycon hilarii*), la tasa de eclosión estuvo entre 88.0 y 83.6 % respectivamente (Ponzetto *et al.*, 2011).

3. Desarrollo embrionario y viabilidad de las larvas.

En el proceso de incubación del retrocruce del híbrido con *C macropomum* y *P. brachypomus*, así como de las especies parentales, se trabajó en paralelo y en circunstancias similares, Las variaciones de la temperatura, pH, oxígeno disuelto, amonio y nitritos, registradas durante todo el desarrollo embrionario, fueron similares en ambos retrocruces. Hay que señalar que los factores ambientales actúan sobre el desarrollo embrionario, al respecto Blaxter (1969) citado por Gil (2003), afirma que el tiempo de incubación está determinado principalmente por la temperatura y el oxígeno.

Se demuestra en este estudio el desarrollo embrionario aparentemente normal, cuando se retrocruza con sus especies parentales, es así que, en el cruce con *C. macropomum*, se observaron los periodos de cigoto, clivaje, blástula, gástrula, segmentación y organogénesis; y la eclosión del huevo conteniendo la larva, a las 16.68 hpf. Y en el retrocruce, con *P. brachypomus*, de igual forma se observó el mismo desarrollo y el tiempo de eclosión similar al retrocruce del híbrido con *C. macropomum*. Además se observaron malformaciones de los embriones en ambos retrocruces. Sin embargo, Martino (2002), tuvo tiempos de eclosiones de 19 y 19.5

hpf a 27.5 y 28 °C respectivamente, en el retrocruce de hembras híbridas (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) con machos de las especies parentales. Tiempos de eclosiones mayores a los obtenidos en nuestro trabajo. **Botero et al. (2004)**, mencionan los mismos periodos del desarrollo embrionario del cruce de *Piaractus brachypomus* x *Colossoma macropomum*, con el tiempo de eclosión de 19 hpf.

En cuanto a la **viabilidad de las larvas** producto de los retrocruces en el primer y sexto experimento, se podría decir que viven máximo hasta postlarva. Similares resultados obtuvo **Kossowski (1994, citado por Lubes, 2005)** en el retrocruce del híbrido (*Pseudoplatystoma. fasciatum* (hembra) x *Leiarius marmoratus* (macho) con *P. fasciatum*, presenta aparentemente una viabilidad escasa hasta el estadio de larva, las cuales sobreviven sólo unos pocos días. Sin embargo, **Martino (2002)**, del retrocruce del híbrido (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) con machos de las especies parentales, si son viables las larvas, postlarvas y alevinos.

VI. CONCLUSIONES

No ha sido posible obtener el cruce entre híbridos pacotanas (*Piaractus brachypomus* x *Colossoma macropomum*), debido a que las hembras híbridas, no desovaron.

Se logró el retrocruce de los híbridos machos con sus especies parentales, comprobándose la viabilidad de los espermatozoides.

En el retrocruce de los híbridos macho con sus especies parentales se produce elevadas tasas de fertilización pero bajísimas tasas de eclosión.

El desarrollo embrionario de los híbridos es similar a las especies parentales.

En los retrocruces de los híbridos con sus especies parentales, se produce alta incidencia de malformaciones.

No se determinó la viabilidad de las larvas, producto del retrocruce de los híbridos con las especies parentales.

VII.RECOMENDACIONES

Realizar cruces entre híbridos pacotanas y gamipacos para determinar su viabilidad reproductiva.

Realizar experimentos con más híbridos reproductores para caracterizar con más seguridad la viabilidad de las larvas o alevines híbridos.

Realizar pruebas genéticas en el desarrollo embrionario del retrocruce del híbrido con sus especies parentales, con el fin de conocer las causas de la baja tasa de eclosión y las malformaciones.

Realizar pruebas genéticas en los reproductores F1 (pacotana)

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Almeida, T. L.; Bernardino, G.; Oliveira, C.; Foresti, F. & Toledo, F. S. 1996. Gynogenetic fish produced by a backcross involving a male hybrid (female *Colossoma macropomum* x male *Piaractus mesopotamicus*) and a female *Piaractus mesopotamicus*. Bol. Téc. CEPTA. 9:31-37.
- Allendorf, F. W.; Leary, R. F.; Spruell, P. & Wenburg, J. K. 2001. The problems with hybrids: setting conservation guidelines. Trends Ecol. Evol. 16: 613-622.
- Aliaga, P.C.; Iñiguez, R. V. & Francois, R. J. 2004. "Variabilidad genética de *Colossoma macropomum* y "paco" *Piaractus brachypomus* en la Región del Alto Madera (Amazonía Boliviana) para el análisis del polimorfismo de la longitud de secuencias intrónicas (epic-pcr)". Tesis de grado para optar al título de Licenciatura en biología. Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Ciencias Puras y Naturales. Carrera de Biología. La Paz – Bolivia. 103 pp.
- Ashikaga, F. Y.; Casimiro, A. C.; Kurchevski, G.; Almeida, F. S. & Orsi, M. L. 2010. Invasão dos híbridos em águas continentais Brasileiras. 1-7p. www.ablimno.org.br/boletins. Acceso el 25/08/2010.

Bastardo A. & Ravelo C. 2004. Control de anemia en el híbrido *Colossoma macropomum* X *Piaractus brachypomus* cultivados mediante el suministro de hígado y harina de sangre de ganado vacuno. Estación de Investigaciones Hidrobiológicas de Guayana, Fundación la Salle de Ciencias Naturales, San Félix, Estado de Bolívar (Venezuela).836-839. www.civa.2004.org

Botero, M.; Fresneda, A.; Montoya, F. A. & Martha, O. M. 2004. Desarrollo embrionario de cigotos híbridos obtenidos por cruzamientos de machos de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) y hembra de cachama negra (*Colossoma macropomum*). Revista aquatic. 21: 52-61.www.revistaaquatic.com.

Calcagnotto, D.; de Almeida, T. L.; Bernardino, G. & de Almeida, T. S. 1999. Biochemical genetic characterization of F1 reciprocal hybrids between neotropical pacu (*Piaractus mesopotamicus*) and tambaqui (*Colossoma macropomum*) reared in Brazil. Aquaculture. 174: (1-2): 51-57.

Faustino, F.; Okada, L. S.; Marques C.; Makino, L. C. & Senhorini, J. A. 2007. Fertilização e desenvolvimento embrionário: morfometria e análise estereomicroscópica dos ovos dos híbridos de surubins (pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* x cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*). Acta Sci. Biol. Sci. Maringá 29 (1): 49-55.

FAO/PNUMA. 1984. Conservación de los recursos genéticos de los peces: problemas y recomendaciones. Informe de la Consulta de Expertos sobre los recursos genéticos de los peces. FAO Doc.Téc.Pesca. (217): 42 p.

Guerra, F. H.; Alcántara, B. F.; Sánchez, R. H. & Avalos, Q. S. 1992. Hibridación de paco, *Piaractus brachypomus* (Cuvier 1818.) por gamitana, *Colossoma macropomum* (Cuvier 1818.) en Iquitos-Perú. Folia Amazónica. 4(1): 103-110.

Gil, H.; Kyung, S.; Mairin, L.C. & Altuve, D. 2003. Relación ARN/ADN como índice de condición fisiológica del híbrido de la cachama *Colossoma macropomum* y el morocoto *Piaractus brachypomus* durante el desarrollo embrionario. Rev. Biol. Trop. 51(4): 91-96. www.rbt.ac.cr, www.ucr.ac.cr.

Hashimoto, D. T.; Laudicina, A.; Bortolozzi, J.; Foresti, F. & Porto, F. F. 2009a. Chromosomal features of nucleolar dominance in hybrids between the Neotropical fish *Leporinus macrocephalus* and *Leporinus elongatus* (Characiformes, Anostomidae). Genetica. 137: 135-140.

Kossowski, L. 1980. Ensayo de reproducción inducida en palometa carachica, *Mylossoma duriventris* (Cuvier) 1818 (Pisces, Characiformes) con el uso de gonadotropina coriónica. Acta cient. Venezuela 31: 444-448.

Kossowski, L.; Rafael, V.J. & Prada, Ch. N. R. 1980. Ensayo sobre hibridación artificial entre cachá (hembra), *Colossoma macropomum* (Cuvier) 1818 y palometa carachina (macho), *Mylossoma duriventris* (Cuvier) 1818. Editado por la Dirección de Extensión Universitaria-Venezuela. 1(3): 1-30.

Kossowski, C.; Ottolina de Barcamonte, N. & Quero, V. J. 1983. Cariotipo del híbrido de *Colossoma macropomum* (hembra) (Cuvier) 1818 X *Mylossoma duriventris* (macho) (Cuvier) 1818 y sus progenitores (Pisces, Characiformes, Characidae). Act. Científica-Venezuela. 34: 173-175.

Kossowski, C. 2001. Hibridación del bagre zamurito, *Calophysus macropterus* (Pisces, pimelodidae). Bioagro. 13 (2): 71-77.

Klug, S.; Cummings, R. & Charlottee, A. 2008. Conceptos de Genética, Ed. Prentice Hall. Octava edición. Madrid España. 884 pp.

Lubes, C.C. 2005. Efecto del tiempo de retardo en la refrigeración sobre los cambios microbiológicos, físicos, químicos y sensoriales en el bagre yaque (*Leiarius marmoratus*). www.monografias.com/trabajos. 1-3 p

- Martino, C.G. 2002. Retrocruce de hembras híbridas (F1) (*Colossoma macropomum* X *Piaractus brachypomus*) con machos de las especies parentales. I Congreso Iberoamericano virtual de acuicultura. www.civa.2002.org. 688-693.
- Martino, C.G. 2004. Avances en la obtención de cariotipos en las especies Morocoto *Piaractus brachypomus*, del híbrido F1 de *Colossoma macropomum* (hembra) por *Piaractus brachypomus* (macho) y el híbrido F2 retrocruzado de híbrido F1 hembra por macho de sus especies parentales. www.civa.2004.org. 352-357.
- Orsi, M. L. & Agostinho, A. A. 1999. Introdução de peixes por escape acidental de tanques de cultura em rios da Bacia do Rio Paraná-Brasil. *Rev. Bras. Zool.* 16 (2) : 557-560.
- Porto, F. F.; Hashimoto, D. T.; Alves, A. L.; Castilho, A. R.; Senhorini, J. A.; Bortolozzi, J. & Foresti, F. 2008. Cytogenetic markers as diagnoses in the identification of the hybrid of the species Piaçu (*Leporinus macrocephalus*) and Piapara (*Leporinus elongatus*). *Gen. Mol. Biol.* 31: 195-202.
- Ponzetto, M.; Marcolino, P. C.; Gimenes, A. R.; Augusto, S. J.; Porto, F. F. & Foresti, F. 2011. Reprodução induzida de híbridos do gênero *Brycon* em cativeiro: potencialidades e ameaças à conservação das espécies nativas. *Ambiente-ausgm. ufscar.br., freedownloadis/pdf/Brycon*. 15p. Acceso el 11/02/2011.

Rivera, M. R. V. 2003. Variabilidad genética de *Pseudoplatystoma tigrinum* y *Pseudoplatystoma fasciatum*, en la cuenca Amazónica de Bolivia. Tesis para optar al título de Licenciatura en Bioquímica. Universidad Mayor de San Andrés Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas Carrera bioquímica. La Paz- Bolivia. 50 pp.

Sandoval, M. 2006. Crecimiento del híbrido *Piaractus brachipomus* ♀ CUVIER 1818 x *Colossoma macropomum* ♂ CUVIER, 1818 "paco x gamitana" alimentado con maíz amarillo duro (*Zea mays*). Revista Universalia. Universidad Nacional de Piura. 11 (1): 70-77

Zaniboni, F. E. 2010. ORIGEN DE LA BIODIVERSIDAD Y UTILIZACIÓN INNOVADORA DE LA DIVERSIDAD MOLECULAR Y GENÉTICA, Domesticación y valoración de la piscicultura de especies nativas amazónicas. Libro de resúmenes. WORKSHOP INTERNACIONAL AMAZONÍA OCCIDENTAL. 2010. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP). Iquitos-Perú. 19 p

IX. ANEXO

Tabla 11. Control de los parámetros físico-químicos del agua en los tanques de tratamiento de los reproductores (gamitana del tanque 8 A). 1^{er} experimento

Nº	Hora	p H	Oxígeno (mg/l)	Temperatura (°C)	Σ Horas - Grado	Observaciones
1	06:25	6.33	4.5	28.3		
2	07:25	6.33	4.5	28.31	28.31	
3	08:25	6.37	4.55	28.35	56.66	
4	09:25	6.32	4.5	28.27	84.93	
5	10:25	6.32	5.65	28.32	113.25	
6	11:25	6.4	5.53	28.43	141.68	
7	12:25	6.38	5.53	28.63	170.31	
8	13:25	6.27	5.72	28.6	198.91	
9	14:18	6.27	5.53	28.64	220.39	300 g de óvulos, desove (21.5 H °C)
		6.33	5.11	28.42		
D.S		0.045	0.57	0.15		

Tabla 12. Control de los parámetros físico-químicos del agua en los tanques de tratamiento de los reproductores (paco del tanque 2 A).1^{er} experimento

Nº	Hora	p H	Oxígeno	Temperatura	Σ Horas - Grado	Observaciones
1	06:20	6.3	4.5	28.3	0	
2	07:20	6.33	5.5	28.33	28.33	
3	08:20	6.37	5.55	28.35	56.68	
4	09:20	6.25	5.44	28.37	85.05	
5	10:20	6.24	5.26	28.3	113.35	
6	11:20	6.32	5.23	28.41	141.79	
7	12:20	6.12	5.45	28.4	170.16	
8	13:20	6.23	5.25	28.36	198.52	
9	14:20	6.35	5.56	28.26	226.78	
10	15:34	6.61	5.78	28.25	261.63	desove (26.6 H ° C)
Promedio		6.31	5.35	28.33		
D.S		0.13	0.34	0.05		

Tabla 13. Parámetros físico-químicos del agua durante la fase de incubación de huevos del retrocruce con pacotana (híbrido) x gamitana, *Colossoma macropomum*.

IIAP, (14/08/08-15/08/08). 1^{er} experimento.

Nº	Hora	p H	Oxígeno (mg/l)	Temperatura (°C)	Amonio (mg/l)	Nitritos (mg/l)	observaciones
1	14:15	6.8	5.2	28.25			14:35
2	15:15	6.8	5.2	28.26			15:16, 28 y 56 ,min
3	16:15	6.8	5.2	28.58			16:26
4	17:15	6.8	4.9	28.62			17:56
5	18:15	6.4	5.2	28.57	<0.2	<0.05	18:18
6	19:15	6.4	5.2	28.45			19:23
7	20:15	6.4	5.2	27.85			20:54
8	21:15	6.4	5.2	27.81			
9	22:15	6.8	5.4	27.41			22:25
10	23:15	6.6	5.4	27.64	<0.2	<0.05	23:38
11	00:15	6.62	5.21	27.52			
12	01:15	6.62	5.21	27.58			
13	02:15	6.56	5.32	27.61			01:28
14	03:15	6.12	5.8	27.55			
15	04:15	6.22	5.2	27.52	<0.2	<0.05	04:45
16	05:15	6.22	5.2	27.50			05.18
17	06:35	6.25	5.21	27.32			9.11 horas -grado
Promedio		6.52	5.25	27.88	<0.2	<0.05	
D.S		0.24	0.18	0.46			
					Σ Horas -Grado		454.9

Tabla 14. Parámetros físico-químicos del agua durante la fase de incubación de huevos del retrocruce con pacotana (híbrido) x paco, *Piaractus brachypomus*. IIAP, (14/08/08-15/08/08). 1^{er} experimento

Nº	Hora	Oxígeno	pH	Temperatura	Amonio	Nitritos	Observaciones
1	12:18	6.24	5.65	28.6			
2	13:18	5.54	6.24	28.4			
3	14:18	6.47	6.23	27.8			
4	15:18	6.47	6.24	28.2			
5	16:18	6.28	6.21	27.6	<0.2	<0.05	
6	17:18	6	6.3	28.4			
7	18:18	6.1	6.4	28.6			
8	19:18	5.6	6.31	28.2			
9	20:18	6.22	6.23	27.8			
10	21:18	6.42	6.31	27.5	<0.2	<0.05	
11	22:18	6.41	6.35	27.6			
12	23:18	6.44	6.22	27.5			
13	00:18	6.5	6.32	27.4			
14	01:18	6.36	6.31	27.2			
15	02:18	6.47	6.25	27.2	<0.2	<0.05	
16	03:18	6.57	6.22	27.4			
17	04:48	6.2	6.3	27.4			Eclosión (13.7 H ° C)
Promedio		6.24	6.25	27.81	<0.2	<0.05	
D.S		0.16	0.29	0.48			
					Σ Horas -Grado		457.9

Tabla 15. Control de los parámetros físico-químicos del agua en los tanques de tratamiento de los reproductores (paco). 6^{to} experimento.

Nº	Hora	pH (UI)	Oxígeno (mg/l)	Temperatura (°C)	Σ Horas - Grado	observaciones
1	04:30	6.8	5.2	29.2		
2	05:30	6.8	5.2	29.13	29.13	
3	06:30	6.8	5.2	29.27	58.4	
4	07:30	6.8	4.9	29.33	87.73	
5	08:30	6.4	5.2	29.23	116.96	
6	09:30	6.4	5.2	29.25	146.21	
7	10:30	6.4	5.2	29.25	175.46	
8	11:30	6.4	5.2	28.78	204.24	
9	12:15	6.8	5.4	28.91	225.92	desove(21.6 H °C)
Promedio		6.62	5.19	29.15		
D.S		0.21	0.12	0.18		

Tabla 16. Parámetros físico-químicos del agua durante la fase de incubación De
huevos del retrocruce con pacotana (híbrido) x paco, *Piaractus*
brachypomus.IIAP.18/08/09. 6^{to} experimento.

Nº	Hora	pH	Oxígeno	Temperatura	Amonio	Nitritos	Observaciones
1	12:18	5.88	6.75	27.7			Fertilización
2	13:18	6.44	5.24	27.7			13.0
3	14:18	6.37	6.83	27.7			14.15
4	15:18	6.34	6.47	27.8			15.16
5	16:18	6.31	6.18	27.8	<0.2	<0.05	
6	17:18	6.3	5.9	27.8			17.15
7	18:18	6.4	6.1	27.8			
8	19:18	6.41	6	27.8			19.13
9	20:18	6.33	6.57	27.5			20.15
10	21:18	6.34	6.82	27.6	<0.2	<0.05	21.20
11	22:18	6.34	6.81	27.4			
12	23:18	6.35	6.79	27.5			
13	00:18	6.32	6.8	26.8			24.19
14	01:18	6.33	6.9	26.8			01.15
15	02:18	6.25	6.47	26.9	<0.2	<0.05	
16	03:18	6.23	6.77	26.9			03.10
17	04:18	6.31	6.2	26.7			04.15
18	04:52	6.32	6.66	26.4			Eclosión (14.9 H °C)
Promedio		6.30	6.46	27.36	<0.2	<0.05	
D.S		0.11	0.44	0.47			
				Σ Horas –Grado			479.86

Tabla 17. Viabilidad de los huevos, en los experimentos de los retrocruces entre pacotanas machos con sus especies parentales

		6 horas post-fertilización (hpf)					12 horas post-fertilización (hpf)				
		Muestra (200ml)					Muestra (200ml)				
		Huevos viables	(%)	Huevos no viables	(%)	Total de huevos	Huevos viables	(%)	Huevos no viables	(%)	Total de huevos
1 Experit.	Gamitana	224	86.15	36	13.85	260	116	51.33	110	48.67	226
	Paco	236	75.64	76	24.36	312	52	25.74	150	74.26	202
2 Experit.	Gamitana	46	54.76	38	45.24	84	64	34.41	122	65.59	186
	Paco	62	57.41	46	42.59	108	97	45.97	114	54.03	211
3 Experit.	Paco	124	47.69	136	52.31	260	48	32.88	98	67.12	146
	Gamitana	136	53.97	116	46.03	252	104	40.31	154	59.69	258
4 Experit.	Paco	130	52.42	118	47.58	248	52	29.71	146	70.29	198
	Gamitana	260	83.87	50	16.13	310	54	26.47	150	73.53	204
6 Expero.	Paco	228	80.85	54	19.15	282	134	40.61	196	59.39	330

IIAP.2008-2009.

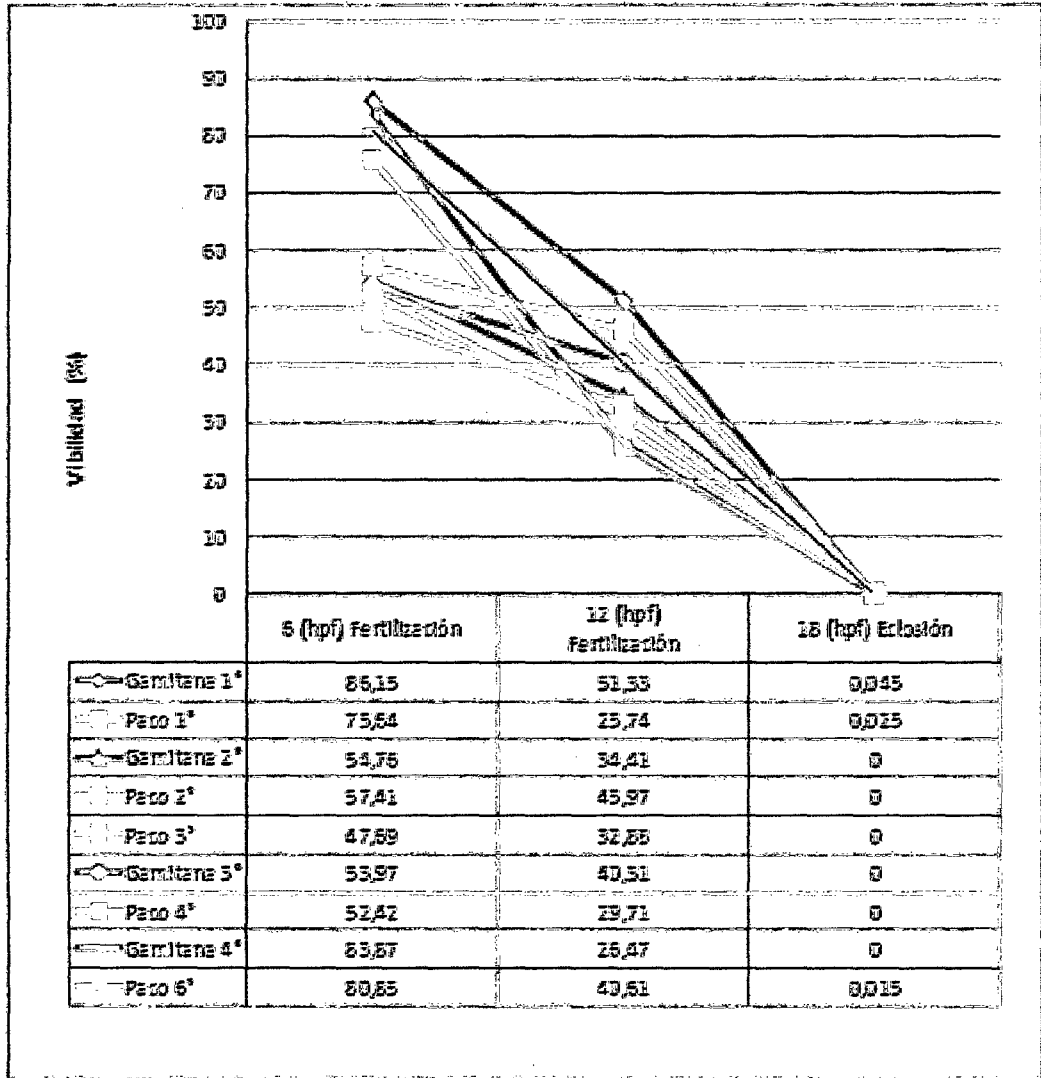
Tabla 18. Lista de los híbridos pacotana.

Nº	Chip	Peso (Kg)	Longitud (cm)	Sexo	Ovocitos	Semen	Observaciones
1	30550	4.2	61	H			
2	21118	3.8	57	H			
3	26580	4	56	H			
4	22337	3.8	60	H			
5	28017	4.2	57	H			
6	24452	3.8	56	M			
7	31182	5.2	63	H			
8	26212	5	62	H			
9	7F7F182A36	5.2	60	H			
10	26104	4.4	61	H			
11	25515	3.2	56	IND			
12	25659	5.8	64	IND			
13	29785	3	56	M			
14	30367	4.4	65	H			
15	27077	6.4	65	H			
16	27713	3.6	57	IND			
17	29776	3	56	M			
18	21105	3	53	IND			
19	31079	4.6	65	M			
20	21928	4	59	M			
21	25978	3	56	IND			
22	29472	4.4	61	IND			
23	26938	3.6	59	M			
24	30800	3	57	H			
25	411B22685B	3.8	59	H			
26	411B23065D	5.4	62	H			
27	8585	6	64	H			
28	5916	3.8	56	IND			
29	----	6.8	64	H			
30	---	8.7	69	H			

Leyenda H: Hembras , M: Macho, IND: Indeterminado

2008-2009

Gráfico 3. Evolución de la viabilidad de huevos del retrocruce del híbrido con las especies parentales



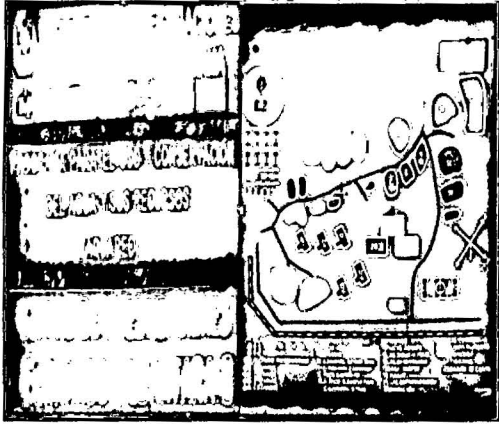


Foto 9 Área de Estudio "Programa para el Uso y Conservación del Agua y sus Recursos- AQUAREC.



Foto 10. Biopsia a una pacotana hembra



Foto 11. Inoculación intraperitoneal

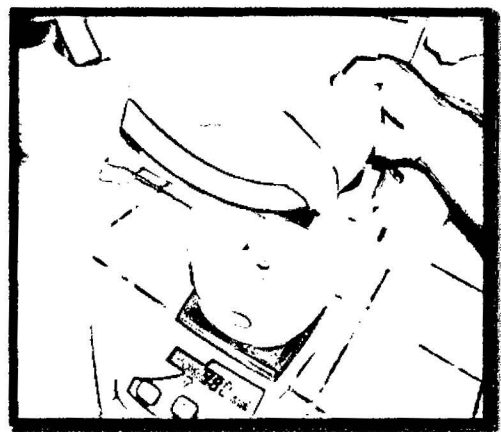


Foto 12. Pesado de óvulos de paco.



Foto 13. Extracción de semen del híbrido macho

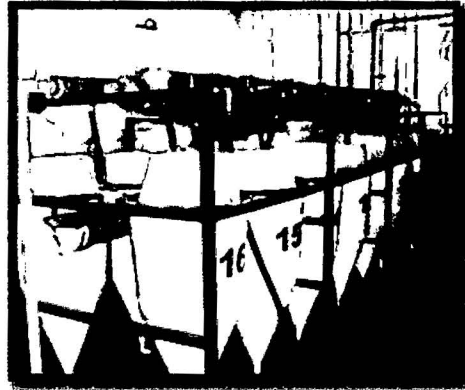


Foto 14. Incubadoras tipo Woynarovich de 40 l



Foto 15. Recolección de huevos en formol al 5%

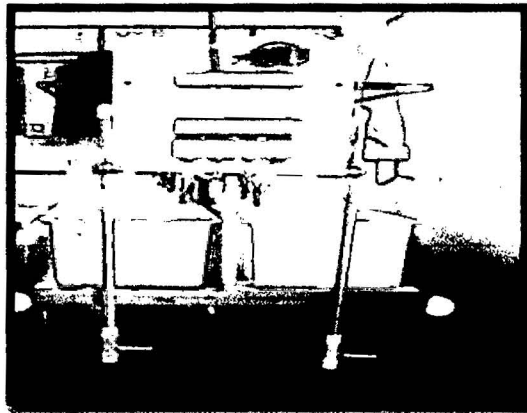


Foto 16. Sistema de recirculación del agua



Fotos 17 y 18. Pacotanas con gónadas aparentemente normales.

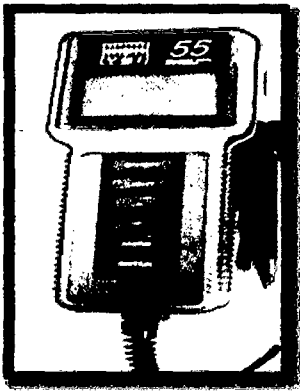


Foto 19. Multiparámetro YSI 55, temperatura y oxígeno



Foto 20. Equipo La Motte AQ-2

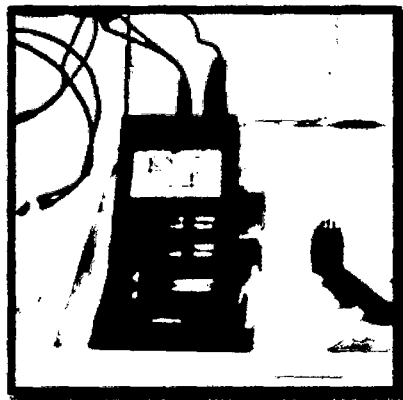


Foto 21. Potenciómetro STD para pH