



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**MAESTRÍA EN ACUICULTURA**

**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**

**AUTORES** : **JORGE ARMANDO AYARZA RENGIFO**  
**FABIOLA NATALIA LOZANO ANCANI**

**ASESORES** : **DR. LUIS ALFREDO MORI PINEDO**  
**DR. FRED WILLIAM CHU KOO**

**IQUITOS- PERÚ**

**2018**

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS



**UNAP**

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



### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

064-2018-OAA-EPG-UNAP

Con **Resolución Directoral N° 1083-2018-EPG-UNAP**, se autoriza la sustentación de la tesis: "GENERACIÓN Y VALIDACIÓN DE PROTOCOLOS DE INDUCCIÓN HORMONAL PARA *Brycon cephalus* (Günther 1869) SÁBALO COLA ROJA EN AMBIENTES CONTROLADOS", designando como jurados a los siguientes profesionales:

MSc. Víctor Hugo Montreuil Fías	Presidente
Dr. Enrique Ríos Isern	Miembro
MSc. Rossana Cubas Guerra	Miembro

A los Cinco días del mes de Noviembre del 2018, a horas 09:00 a.m., en el Auditorio de la Escuela de Postgrado de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, se constituyó el Jurado Evaluador y dictaminador, para presenciar y evaluar la sustentación de la tesis: "GENERACIÓN Y VALIDACIÓN DE PROTOCOLOS DE INDUCCIÓN HORMONAL PARA *Brycon cephalus* (Günther 1869) SÁBALO COLA ROJA EN AMBIENTES CONTROLADOS" presentado por los señores **Jorge Armandó Ayarza Rengifo** y **Fabiola Natalia Lozano Ancani**, como requisito para optar 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:

..... *absueltas satisfactoriamente* .....

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 (X)

2. Desaprobado: ( )

Observaciones :..... *no hay* .....

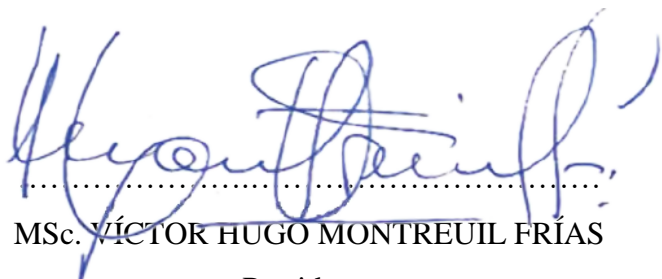
A Continuación, el Presidente del Jurado, da por concluida la sustentación, siendo las..... *10.20* .....a.m. del Cinco de Noviembre del 2018; con lo cual, se le declara los sustentantes..... *apto* ..... para recibir el Grado Académico de **Maestro en Acuicultura**.

  
MSc. Víctor Hugo Montreuil Fías  
Presidente

  
Dr. Enrique Ríos Isern  
Miembro

  
MSc. Rossana Cubas Guerra  
Miembro

TESIS APROBADA EN SUSTENTACIÓN PÚBLICA DEL 05 DE NOVIEMBRE  
DE 2018, EN EL AUDITORIO DE LA ESCUELA DE POSTGRADO DE LA  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA, EN LA  
CIUDAD DE IQUITOS – PERÚ



MSc. VÍCTOR HUGO MONTREUIL FRÍAS

Presidente



Dr. ENRIQUE RÍOS ISERN

Miembro



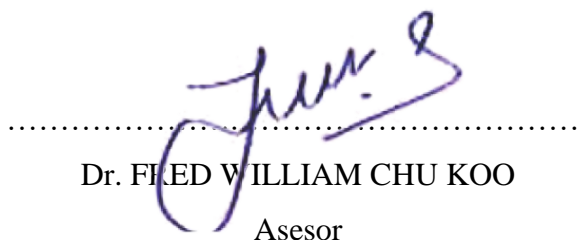
MSc. ROSSANA CUBAS GUERRA

Miembro



Dr. LUIS ALFREDO MORI PINEDO

Asesor



Dr. FRED WILLIAM CHU KOO

Asesor

## DEDICATORIA

*A **Dios** Todopoderoso, por la fortaleza, la sabiduría y la gracia de concederme sus días.*

*A mis padres **Armando** y **Alicia**, quienes formaron un hombre de bien, para servir a la sociedad.*

*A mis hermanas **Wendy** y **Candy**, ¡gracias por el incondicional y constante apoyo!!!*

*A mi esposa **Vasthy Sánchez** y a mis hijos **Jerson**, **Angie** y **Diego**, principales motivadores que inspiran y avivan mi diario transitar en este mundo; integrantes de mi familia que con paciencia y tolerancia se han convertido en socios fundamentales de mi proyecto de vida.*

**Jorge Ayarza**

*A nuestro **Padre Celestial**, por permitirme despertar cada mañana y regalarme días llenos de experiencias sin iguales.*

*A mi extraordinaria mamá **Rosario Angélica Ancani Collazos**, que con amor y ejemplo me inculcó el valor del estudio y del trabajo.*

*A mi recordado papá **Jorge Guillermo Lozano Maldonado**, que desde el cielo observa y celebra mis logros.*

*A mi amado esposo **Gerson Fernández Cárdenas**, mi amigo, compañero y complemento en nuestra vida llena de amor.*

*A mis hermanas **Marianella**, **Adriana**, **Gabriela** y **Eugenia**, con quienes crecí y compartí momentos inolvidables.*

**Fabiola Lozano**

## RECONOCIMIENTOS

A Dios por su inconmensurable amor, por guiar nuestros pasos día a día y por permitirnos crecer personal y profesionalmente.

Al **Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana** que por medio del Proyecto “**Mejoramiento de la transferencia de tecnología acuícola del IIAP para contribuir a la seguridad alimentaria en las regiones de la Amazonía peruana**”, nos brindó apoyo logístico y financiero para la realización de esta investigación.

Al ex Director del Programa de Investigación para el uso del agua y sus recursos **AQUAREC, Ing. MSc. Salvador Tello Martín**, por la oportunidad de habernos permitido desarrollar este estudio.

A nuestros asesores, **Dr. Luis Alfredo Morí Pinedo** y **Dr. Fred William Chu Koo**, por su orientación, disposición y consejos durante la realización de esta investigación.

Al **Blgo. M.Sc. Bernardo Olaff Riveiro Shult (q.e.p.d.)**, por la invitación a formar parte de este proyecto de investigación. ¡Gracias amigo, estés donde estés!

Al equipo técnico y administrativo del Centro de Investigaciones Fernando Alcántara Bocanegra (CIFAB) del Programa de Investigación para el uso del agua y sus recursos (AQUAREC) del IIAP, a nuestros buenos amigos: **Lamberto Arévalo, Luciano Rodríguez, Edwin Agurto, Hugo Marichín, Cherry Yahuarcani, Ítalo Orbe, Eder Montoya, Asunción Apuela, Arturo Flores, Shiro y Domingo García.**

A todos nuestros amigos y compañeros de la Maestría, pues juntos compartimos muy buenos momentos, gracias por conocerlos. A las personas que de una u otra manera colaboraron en el desarrollo y culminación de este trabajo de investigación. ¡Muchas gracias!

# GENERACIÓN Y VALIDACIÓN DE PROTOCOLOS DE INDUCCIÓN HORMONAL PARA *Brycon cephalus* (Günther, 1869) “sábalo cola roja” EN AMBIENTES CONTROLADOS.

Jorge Armando Ayarza Rengifo  
Fabiola Natalia Lozano Ancani

## RESUMEN

El objetivo fue determinar la eficiencia de tres inductores hormonales (EPC, Conceptal y Ovaprim) en inducción al desove y la espermiación en 27 parejas del pez *Brycon cephalus* ( $1.67 \pm 0.22$  kg de peso y  $47.63 \pm 3.23$  cm de longitud en machos y  $2.74 \pm 0.29$  kg de peso y  $52.83 \pm 2.83$  cm de longitud en hembras) conocido como sábalo cola roja, criados en el centro de investigaciones Fernando Alcántara Bocanegra del IIAP en Iquitos. La aplicación de los protocolos se realizó con dos dosis de inductores hormonales, la primera dosis inicial del 10% del total y una segunda dosis desencadenante 12 horas después de la primera y que representa al 90% de la dosis total calculada: T1 (EPC): 5 mg/kg en hembras y 2 mg/kg en machos; T2 (Conceptal) 2.5 ml/kg en hembras y 1.5 ml/kg en machos y; T3: (Ovaprim) 0.50 ml/kg en hembras y 0.25 ml/kg en machos. Los machos inducidos con EPC mostraron en promedio, un volumen seminal ( $4.8 \pm 1.04$  ml), superior en comparación a los inducidos con Conceptal ( $1.43 \pm 0.5$  ml) pero similar a la media obtenida con los machos a los que se les administró Ovaprim ( $2.7 \pm 1.4$  ml). También se observó ( $P < 0.05$ ) en las lecturas del espermatozoides entre los machos inducidos con EPC, que en media mostraron niveles superiores ( $25.33 \pm 2.5\%$ ) que a los inducidos con Ovaprim ( $20.33 \pm 05\%$ ). No se observaron diferencias en la concentración espermática ( $P = 0.2203$ ) como efecto de los inductores. Los espermatozoides de *B. cephalus* tienen características comunes a las de otros organismos, presentando una cabeza, un cuello y un látigo que mide  $64.3 \mu\text{m}$ . En cuanto a las hembras se determinó que la ovulación ocurre seis horas después de la segunda dosis de EPC, no habiéndose registrado ovulación con los tratamientos T2 y T3. En media, las hembras inducidas con EPC presentaron ovulación a las  $196.6 \pm 45.4$  horas – grado, con índices de ovulación del 66.6% y tasas de fertilización media de  $78.6 \pm 4\%$ . El peso promedio de desove fue de  $195 \pm 72$  g por hembra, mientras que la eclosión se inició entre las 10 a 12 horas post fecundación. De acuerdo a los resultados obtenidos, se valida el uso del inductor hormonal EPC, ya que tuvo efectos positivos en la ovulación. Por otro lado, todos los tratamientos hormonales tuvieron efectos positivos en la espermiación de *B. cephalus* presentando diferencias estadísticas en cuanto al volumen seminal y los valores de espermatozoides a diferencia de la concentración espermática, en donde no se registró influencia atribuible a los inductores hormonales.

**Palabras clave:** extracto de pituitaria de “carpa”, Ovaprim, Conceptal, reproducción inducida, *Brycon cephalus*, Amazonía.

GENERATION AND VALIDATION OF HORMONAL INDUCTION PROTOCOLS FOR *Brycon cephalus* (Günther, 1869) “Sábalo red tail”, IN CONTROLLED ENVIRONMENTS.

Jorge Armando Ayarza Rengifo  
Fabiola Natalia Lozano Ancani

**ABSTRACT**

The objective was to determine the efficiency of three hormonal inducers (EPC, Conceptal and Ovaprim) in spawning induction and spermization in 27 pairs of *Brycon cephalus* fish ( $1.67 \pm 0.22$  kg in weight and  $47.63 \pm 3.23$  cm in males and  $2.74 \pm 0.29$  kg of weight and  $52.83 \pm 2.83$  cm of length in females) known like Sábalo Red tail, raised in the research center Fernando Alcántara Bocanegra of the IIAP in Iquitos. The application of the protocols was done with two doses of hormone inducers, the first initial dose of 10% of the total and a second trigger dose 12 hours after the first one and representing 90% of the total calculated dose: T1 (EPC) : 5 mg / kg in females and 2 mg / kg in males; T2 (Conceptal) 2.5 ml / kg in females and 1.5 ml / kg in males and; T3: (Ovaprim) 0.50 ml / kg in females and 0.25 ml / kg in males. EPC-induced males showed, on average, a seminal volume ( $4.8 \pm 1.04$  ml), higher than those induced with Conceptal ( $1.43 \pm 0.5$  ml) but similar to the mean obtained with males administered Ovaprim ( $2.7 \pm 1.4$  ml). ( $P < 0.05$ ) were also observed in the spermatocrit readings between the males induced with EPC, which in average showed higher levels ( $25.33 \pm 2.5\%$ ) than those induced with Ovaprim ( $20.33 \pm 05\%$ ). There were no differences in sperm concentration ( $P = 0.2203$ ) as inducer effect. The spermatozoa of *B. cephalus* have characteristics common to those of other organisms, presenting a head, a neck and a whip that measures  $64.3 \mu\text{m}$ . As for females, it was determined that ovulation occurred six hours after the second dose of EPC, and no ovulation was recorded with T2 and T3 treatments. On average, females induced with CPE presented ovulation at  $196.6 \pm 45.4$  hours - grade, with ovulation rates of 66.6% and mean fertilization rates of  $78.6 \pm 4\%$ . The average wound weight was  $195 \pm 72$  g per female, while the occurrence began between 10 to 12 hours after fertilization. According to the results obtained, the use of the hormonal inducer EPC is valid, since it had positive effects on ovulation. On the other hand, all hormonal treatments had positive effects on the spermiation of *B. cephalus* presenting statistical differences in terms of seminal volume and spermatocritic values, as opposed to sperm concentration, where influential attributable to hormonal inducers was not recorded.

**Key words:** Carp pituitary extract, Ovaprim, Conceptal, induced reproduction, *Brycon cephalus*, Amazonia.

# CONTENIDO

DEDICATORIA.....	iv
RECONOCIMIENTOS.....	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
CONTENIDO.....	viii
LISTA DE TABLAS.....	x
LISTA DE ILUSTRACIONES.....	xi
LISTA DE GRÁFICOS.....	xii
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>1</b>
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	2
1.2. OBJETIVOS.....	3
1.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>4</b>
2.1. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1.1. Antecedentes.....	4
2.1.2. Bases Teóricas.....	9
2.1.3. Marco Conceptual.....	18
2.2. DEFINICIONES OPERACIONALES.....	24
2.3. HIPÓTESIS.....	25
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>26</b>
3. METODOLOGÍA.....	26
3.1. Método de Investigación.....	26
3.2. Diseño de Investigación.....	26
3.3. Población y muestra.....	28
3.4. Técnicas e instrumentos.....	28
3.5. Procedimientos de recolección de datos.....	29
3.6. Procesamiento de la información.....	36
3.7. Protección de los derechos humanos.....	36
<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>37</b>
4. RESULTADOS.....	37



4.1.	Tratamientos hormonales.....	37
4.2.	Evaluación biométrica de los reproductores.....	38
4.3.	Evaluación del Diámetro ovocitario.....	38
4.4.	Determinación del desempeño reproductivo de los peces.....	40
4.5.	Calidad del Agua.....	42
4.6.	Evaluación de la espermiación y calidad espermática.....	42
	<b>CAPÍTULO V.....</b>	<b>46</b>
5.	DISCUSIÓN.....	46
	<b>CAPÍTULO VI.....</b>	<b>50</b>
6.	PROPUESTA.....	50
	<b>CAPÍTULO VII.....</b>	<b>51</b>
7.	CONCLUSIONES.....	51
	<b>CAPÍTULO VIII.....</b>	<b>52</b>
8.	RECOMENDACIONES.....	52
	<b>CAPÍTULO IX.....</b>	<b>53</b>
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
	<b>CAPITULO X.....</b>	<b>64</b>
10.	ANEXOS.....	64

## LISTA DE TABLAS

		<b>Pág.</b>
1	Tratamientos utilizados en la inducción hormonal de <i>Brycon cephalus</i> .	28
2	Estadística descriptiva de oocitos en la inducción y ovulación de <i>Brycon cephalus</i> , inducidas con hipófisis de carpa (EPC)	39
3	Incremento del diámetro ovocitario, pre y post inducción de <i>Brycon cephalus</i> , inducidas con hipófisis de carpa (EPC)	39
4	Tasa de fertilización en relación al tiempo de incubación en horas postfecundación. (HPF)	40
5	Pesos promedios de los productos sexuales en las hembras de <i>Brycon cephalus</i> tratados con hipófisis de carpa (EPC)	41
6	Evaluación de la tasa de eclosión en eventos reproductivos de <i>Brycon cephalus</i> roja tratados con hipófisis de carpa.	41
7	Promedios de los parámetros físicos y químicos del agua de las incubadoras, durante el proceso de experimentación	42
8	Promedios de los parámetros del semen en machos de <i>Brycon cephalus</i> tratados con hipófisis de carpa (EPC), Conceptal y Ovaprim	44

## LISTA DE ILUSTRACIONES

		Pág.
1	Vista del centro de Investigaciones Fernando Alcántara Bocanegra (CIFAB - AQUAREC) IIAP	26
2	Vista de un tanque de concreto, empleado como unidad de experimentación, para la aplicación de inductores hormonales en estudio	27
3	Biopsia intraovárica de “Sábalo cola roja” <i>Brycon cephalus</i>	29
4	Estadíos de desarrollo y posición del núcleo de ovocitos	30
5	Captura de software Image J, para la medición del diámetro ovocitario	30
6	Obtención de productos sexuales masculinos y femeninos previos a la fecundación externa	32
7	Larvas obtenidas en el proceso de reproducción inducida de sábalo cola roja <i>Brycon cephalus</i> .	33
8	Obtención de semen de <i>Brycon cephalus</i> , para su análisis respectivo	34
9	Equipos limnológicos para el registro de parámetros físicos y químicos en el proceso de reproducción inducida de sábalo cola roja <i>Brycon cephalus</i>	35

## LISTA DE GRÁFICOS

		<b>Pág.</b>
1	Respuesta a la ovulación, con diferentes tratamientos hormonales	37
2	Tamaño medio de los óvulos, según meses evaluados	38
3	Volumen del semen de “Sábalo cola roja” <i>Brycon cephalus</i> , sometido a diferentes tratamientos hormonales	42
4	Concentración espermática “Sábalo cola roja” <i>Brycon cephalus</i> , sometida a diferentes tratamientos hormonales	43
5	Espermatocrito de “Sábalo cola roja” <i>Brycon cephalus</i> , sometido a diferentes tratamientos hormonales.	44

# CAPÍTULO I

## I. INTRODUCCIÓN

Los peces en su hábitat natural están sometidos a constantes estímulos ambientales que activan una serie de eventos biológicos y fisiológicos, los mismos que conducen a su desarrollo reproductivo en condiciones normales. En la piscicultura, algunos peces no se reproducen de manera natural; en estas condiciones, las gónadas de estos crecen y se desarrollan normalmente, pero la maduración final del óvulo, la ovulación y la espermiación no ocurren (Donaldson *et al.*, 1972). Acontecimientos que en el medio natural son iniciados por un aumento en la secreción de la gonadotropina hipofisaria (GtH) (Lutz, 1988), pero que se bloquean en los peces mantenidos en cautividad.

Estos procesos de maduración gonadal responden a los estímulos específicos del ambiente, tales como el incremento de las lluvias, pulso de inundación, cambios físicos y químicos del agua, entre otros.

Las principales hormonas involucradas en la reproducción de los peces teleósteos son: la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), GtH y los esteroides gonadales. Hormonas, que no se encuentran en los peces, sino que controlan las actividades reproductoras de los mamíferos y que han sido utilizadas en diversas experiencias para inducir la reproducción de teleósteos (Arias & Hernández, 2009).

El sábalo cola roja *Brycon cephalus*, es una especie dulceacuícola ampliamente distribuida en toda la cuenca amazónica. Es considerada una especie con un potencial productivo y reproductivo para la piscicultura. El protocolo más ampliamente usado en la reproducción inducida de peces amazónicos, es el empleo de extracto de hipófisis de carpa, aunque actualmente la tendencia es la búsqueda de otros inductores que permitan obtener mejores resultados en cuanto a la calidad de los gametos y la progenie producida.

El objetivo general de este estudio, fue la de determinar la eficiencia de tres tratamientos hormonales: EPC (T1), Conceptal (T2) y Ovaprim (T3) sobre el desempeño reproductivo y espermiación de las hembras y machos, respectivamente, a través del estudio de los parámetros reproductivos.

## 1.1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

El principal éxito de cualquier programa de cultivo de un determinado organismo depende del logro de su reproducción en cautiverio, pues solo garantizando dicho proceso se podrán obtener volúmenes importantes y constantes de producción (Daza *et al.*, 2005).

A pesar de los avances alcanzados en la reproducción y cultivo de algunas especies amazónicas como el *Colossoma macropomum*, *Piaractus brachypomus*, una de las principales limitantes que han afectado el desarrollo de la piscicultura de peces amazónicos en el Perú es la baja oferta de semilla para el cultivo de especies representativas como el paiche (*Arapaima gigas*), la doncella (*Pseudoplatystoma punctifer*) y en el caso particular del sábalo cola roja (*Brycon cephalus*).

En los últimos 25 años, el Instituto de Investigaciones de la Amazonía peruana, IIAP, ha investigado y difundido con éxito, la aplicación de protocolos de reproducción inducida para varias especies de peces amazónicos, como es el caso del paco, gamitana, doncella y el boquichico (Alcántara *et al.*, 2001; Chu-Koo & Alcántara, 2007), sin embargo, este instituto aún tiene pendiente el desarrollo y establecimiento de un protocolo efectivo para la reproducción inducida del *Brycon cephalus*, que por importancia comercial en la piscicultura loreтана, amerita su atención inmediata.

A la fecha, existen variados reportes de experiencias de reproducción inducida realizadas en otras especies del género *Brycon* (en Brasil y Colombia), informaciones que pueden servir como base para el diseño de protocolos experimentales de reproducción en esta especie.

En tal sentido, el presente trabajo de investigación plantea la siguiente interrogante: ¿Cuál será el protocolo de inducción hormonal con EPC (Extracto de Pituitaria de Carpa, Conceptal y/o Ovaprim) más eficiente en el logro de la reproducción inducida del sábalo cola roja *Brycon cephalus* en ambientes controlados?

## 1.2 OBJETIVOS

- Determinar la eficiencia de tres protocolos de inducción hormonal (EPC, Conceptal y Ovaprim) en la reproducción inducida de “sábalo cola roja” *Brycon cephalus*, en ambientes controlados.

## 1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la eficiencia de tres protocolos de inducción hormonal (EPC, Conceptal y Ovaprim), en la estimulación de la ovulación de “sábalo cola roja” *Brycon cephalus*, en ambientes controlados.
- Determinar la eficiencia de tres protocolos de inducción hormonal (EPC, Conceptal y Ovaprim), en la estimulación de la espermiación y el porcentaje de desove de “sábalo cola roja” *Brycon cephalus* en ambientes controlados.
- Determinar la eficiencia de tres protocolos de inducción hormonal (EPC, Conceptal y Ovaprim) en el porcentaje de desove “sábalo cola roja” *Brycon cephalus* en ambientes controlados.

## CAPÍTULO II

### 2.1. MARCO TEÓRICO

#### 2.1.1. Antecedentes

En la literatura científica existen estudios vinculados a la reproducción inducida de especies del género *Brycon*, especialmente en Brasil y Colombia. Por citar algunos ejemplos, tenemos que Gomes (1998); Romagosa *et al.* (2001) y Reynalte-Tataje *et al.* (2004), evaluaron el uso del extracto de hipófisis de carpa como inductor hormonal en *B. orbignyanus* y *B. amazonicus* con excelentes resultados.

En estos trabajos, además se señalan la dosificación más adecuada en ejemplares del sexo femenino es 5.5 mg/kg de peso del pez, dividida en dos aplicaciones (la primera de 0.5 mg/kg, y la segunda de 5 mg/kg con un intervalo de 12 horas). El uso de una dosis previa de 0.25 mg/kg con 24 horas de anticipación al evento de inducción también ha demostrado buenos resultados. En machos, una única dosis de 1 mg/kg, simultáneamente a la segunda dosis de la hembra, es suficiente para obtener un buen volumen de contenido seminal (Zaniboni-Filho & Barbosa, 1996; Reynalte-Tataje *et al.*, 2004).

Además de la hipófisis de carpa, otros tipos de inductores hormonales también han sido evaluados en las especies del género *Brycon*. Por ejemplo, inducciones hormonales utilizando Gonadotropina Coriónica Humana (hCG), han sido realizadas de forma satisfactoria en *B. insignis* (Andrade-Talmelli *et al.*, 2001). Autores que emplearon esta hormona mencionan que el desove ocurre entre las 143 horas-grado (24.2°C) en *B. orbignyanus* (Reynalte-Tataje *et al.*, 2004) y entre las 4 a 8 horas (26°C) después de la última aplicación en *B. amazonicus* (Romagosa *et al.*, 2001), variando principalmente en función de la temperatura (Zaniboni-Filho & Barbosa, 1996).

En Colombia, Pardo-Carrasco *et al.*, (2002), aplicaron tres dosificaciones de la hormona mGnRH-a en la forma de implantes, como tratamientos para inducir la ovulación y el desove del yamú (*Brycon siebenthalae*); y a su vez



compararlos con un tratamiento a base de extracto de pituitaria de carpa (EPC). El vehículo de aplicación del mGnRH-a, fue colesterol (75%) y celulosa (25%). Al final del estudio, el 50% de las hembras tratadas con el EPC desovaron, mientras que no hubo respuesta positiva en ninguna de las hembras tratadas con mGnRH-a.

Por su parte, Romagosa *et al.* (2001) estudiaron el efecto de distintos tratamientos hormonales en el grado de desarrollo del ovario de *Brycon cephalus*. Para este fin, muestras de ovocitos fueron retiradas antes de la primera y segunda dosis hormonal, en el momento de la ovulación, de esta manera, pudieron verificar el efecto del EHC sobre la evolución del ovario, la ovulación y el desove, bajo condiciones de confinamiento con base en observaciones externas asociadas a la morfología (microscopía de la luz y electrónica); y la distribución de frecuencia del diámetro de los ovocitos, métodos que también fueron reportados para *B. insignis* (Andrade-Talmelli *et al.*, 2001), *B. opalinus* (Gomiero & Braga, 2007a,b; Narahara *et al.*, 2002) y *B. amazonicus* (Pardo-Carrasco *et al.*, 2002).

En *B. opalinus*, el tipo de desove de la especie fue estimado por graficación del diámetro de los ovocitos y su frecuencia. Esta especie fue catalogada como desovante total, con ovocitos maduros en tallas de 1,346.4  $\mu\text{m}$ , alcanzando su máximo a 2,509.2  $\mu\text{m}$  y un lote de reserva que incluyó ovocitos en diámetros de 61.2  $\mu\text{m}$  a 367.2  $\mu\text{m}$ , clasificado como sincrónico en dos grupos (Gomiero & Braga, 2007, b).

Los primeros trabajos que avalaron la distribución de frecuencia porcentual del diámetro de los ovocitos como criterio para la selección de hembras reproductoras fueron realizados por Fenerich-Verani *et al.* (1984), en *Prochilodus scrofa*. Estos autores observaron que el éxito de la fertilización ocurría solamente en hembras con diámetros de óvulos superiores a 735.55  $\mu\text{m}$ , con distribución unimodal o simétrica y que las hembras que presentaban ovocitos más grandes, pero con distribución polimodal, no respondían a los tratamientos hormonales (Romagosa *et al.*, 2001).

## **Consideraciones generales del *Brycon cephalus***

### **Ubicación taxonómica**

El sábalo cola roja (*Brycon cephalus*) es una de las 60 especies del género *Brycon* (Müller & Troschell, 1844), el mismo que comprende un grupo de peces neotropicales migradores de amplia distribución geográfica (Fowler, 1950) y de gran importancia pesquera y acuícola, no solo en el Perú, sino también en los vecinos países amazónicos de Brasil y Colombia.

Desde el punto de vista taxonómico, esta especie se clasifica de la siguiente manera:

Reino	:	Animalia
Filo	:	Chordata
Clase	:	Actinopterygii
Orden	:	Characiformes
Familia	:	Characidae
Género	:	<i>Brycon</i> (Müller & Troschell 1844)
Especie	:	<i>Brycon cephalus</i> (Günther, 1869)

### **El *Brycon cephalus* en la acuicultura regional**

El sábalo cola roja (*Brycon cephalus*, sin. *B. amazonicus*), es un pez nativo de la cuenca amazónica perteneciente a la familia de los Characidae. En sus estadíos tempranos busca refugio entre la vegetación litoral de lagunas someras para evitar la depredación por peces mayores. Allí crecen alimentándose de organismos zooplanctónicos, perifiton, pequeños crustáceos, insectos y larvas de otros peces (Leite & Araújo-Lima, 2002; Leite, 2004). En el estadio juvenil tiene una tendencia a ser carnívoro, alimentándose de insectos, peces, crustáceos, entre otros organismos (Goulding, 1983).

En los estados juvenil y especialmente cuando son adultos, puede ser encontrado en diversos ambientes lóticos (ríos, riachuelos y quebradas), así como en los bosques inundables durante la época de creciente de los ríos de la región, donde por su régimen omnívoro, se alimenta casi exclusivamente de frutos, semillas que en esas épocas son abundantes en el bosque inundado (Goulding, 1983).

Debido a que los individuos de esta especie poseen dientes faríngeos que les permiten triturar varios tipos de semillas, se cree que este pez podría ser un agente dispersor de semillas en los bosques inundables amazónicos, el mismo que a través de la ictiocoría, estaría ayudando a la reforestación natural y al flujo de genes en los ecosistemas inundables amazónicos (Cain *et al.*, 2000), al igual que otras especies del mismo género, como es el caso de *B. guatemalensis* en Costa Rica (Horn, 1997) y *B. hiliarii* en el Pantanal brasileño (Reys *et al.*, 2008).

En su hábitat natural, *Brycon cephalus* puede alcanzar hasta 56 cm de longitud total y puede llegar a pesar hasta cuatro kilogramos. Es un pez reofílico que alcanza la madurez sexual a los dos años de edad, llegando a producir hasta 200,000 óvulos en el primer desove. Su reproducción natural tiene un ciclo anual y coincide con la creciente de los ríos amazónicos (Goulding, 1983; Zaniboni-Filho *et al.*, 2006; Leite, 2004).

Tradicionalmente, el sábalo cola roja es un pez apreciado en la dieta del poblador amazónico, alcanzando en ciertas épocas del año, precios elevados no solo por la escasez estacional, sino también por una tendencia decreciente de los niveles de desembarque pesquero de esta especie, que han impulsado la necesidad de desarrollar su cultivo en países como Perú, Colombia y Brasil.

Trabajos realizados en Brasil, destacan el buen desempeño zootécnico de las especies del género *Brycon* (Val & Honczarick, 1995; Brandão *et al.*, 2005; Fim, 2004; Izel *et al.*, 2004). Este desempeño ha incentivado su cultivo, el cual se ha incrementado progresivamente durante los últimos años. Entretanto, la oferta de post-larvas y alevinos en las estaciones de producción no está supliendo la demanda de los productores regionales.

Se conoce que, en Brasil y Colombia, se maneja la reproducción artificial de algunas especies del género *Brycon*; y por lo tanto existe una moderada oferta de alevinos. En el Perú, aún no se ha podido consolidar la producción de semilla del *Brycon cephalus*, trayendo como consecuencia que la totalidad de peces cultivados provenga de stocks de alevinos extraídos del medio natural, constituyéndose desde todo punto de vista, en una práctica insostenible en el tiempo.

Según estadísticas oficiales, en la región amazónica peruana, se ha cosechado un total de 924 toneladas de sábalo cola roja provenientes de actividades acuícolas en el periodo 2002 – 2012 (PRODUCE, 2013). Loreto es la región que concentra más del 95% de la producción de sábalo cola roja en el Perú, siendo la tercera especie más cultivada en piscicultura después de la gamitana (*Colossoma macropomum*) y el paiche (*Arapaima gigas*), en la región amazónica.

El sábalo cola roja es cosechado entre los 0.8 y 1.5 kilos de peso (entre 30 - 40 cm de longitud aprox.) y es ofertado en estado fresco, fresco-congelado y fresco-salado en los mercados locales. En Iquitos, capital de la región Loreto, su precio varía entre los 8 a 16 soles/kilo, según la época del año y peso promedio del pez. El periodo de cultivo del sábalo cola roja, dependiendo de la densidad (0.5 a 1 pez/m<sup>2</sup>), alimentación y condiciones del mercado (abundancia/escasez de pescado del medio natural), puede variar entre los 6 y 15 meses.

La tecnología de engorde del sábalo cola roja, es similar a la de otras especies omnívoras amazónicas, como es el caso del paco (*Piaractus brachypomus*) y la gamitana (*Colossoma macropomum*). Asimismo, las dietas balanceadas comerciales que actualmente se emplean en su alimentación, corresponden a formulaciones con abundante aporte de proteínas vegetales (torta de soya) planeadas y elaboradas para las especies antes mencionadas, pero que funcionan excepcionalmente bien en el engorde de *Brycon cephalus*, registrándose conversiones alimenticias cercanas a 1.5 a 1 en el eje carretero Iquitos – Nauta (Chu-Koo *et al.*, 2009).

Aunque el monocultivo es la práctica más expandida entre los piscicultores amazónicos que se dedican a la crianza de este pez, también se han reportado buenos resultados en sistemas de policultivos con gamitana (*Colossoma macropomum*), paco (*Piaractus brachipomus*) y boquichico (*Prochilodus nigricans*), jaulas y tanques-red (Graef *et al.*, 1987; Frascá-Scorvo, 1999; Frascá-Scorvo *et al.*, 2001; Arbeláez-Rojas *et al.*, 2002). En el estado de Amazonas (Brasil) se ha expandido exitosamente la crianza de *Brycon cephalus* en canales construidos dentro de igarapés naturales (quebradas o riachuelos), alcanzándose altos niveles de rendimiento por área (Arbeláez-Rojas *et al.*, 2002). Sin embargo, hasta hoy, la principal limitante para su cultivo en el Perú es la baja oferta de semilla del *B. cephalus* proveniente de acuicultura.

### **2.1.2. Bases Teóricas**

#### **Endocrinología de la reproducción en los teleósteos**

Harvey & Hoar, (1980), señalan que los sistemas nerviosos y endocrinos de los vertebrados, actúan concertadamente para coordinar los eventos reproductivos. Los eventos neurales predominan en las primeras etapas, mientras que las etapas posteriores son de naturaleza hormonal. La percepción de estímulos ambientales como la duración del día (fotoperiodo), la temperatura y la pluviosidad, está regida por el sistema nervioso e incluye un paso de la información desde los receptores sensoriales hasta el cerebro. Al llegar al hipotálamo, la información neural determina la actividad de la hipófisis por medio de mensajeros químicos denominados hormonas liberadoras. Estas a su vez estimulan la hipófisis para liberar a la circulación general una hormona llamada gonadotropina, cuyo destino es la gónada; su efecto es estimular la producción de esteroides sexuales en la gónada, esteroides que posteriormente serán responsables de la maduración de los gametos. La transición de la información neural al control hormonal se efectúa entre el hipotálamo y la hipófisis

## **Hipófisis e hipotálamo**

Harvey & Hoar, (1980), indican que el origen embrionario de la hipófisis en los vertebrados tiene dos aspectos: Un componente epitelial derivado de la cavidad bucal embrionaria, llamado adenohipófisis. Además de la hormona gonadotrópica que tanto nos interesa, produce la somatotrofina (hormona del crecimiento), la corticotropina, la prolactina, la hormona tirotrópica y la hormona estimulante de los melanocitos. La adenohipófisis puede subdividirse anatómicamente en pars distalis rostral, pars distalis proximal y pars intermedia. El componente derivado de aspecto neural, la neurohipófisis, conecta la adenohipófisis a la base del cerebro y está compuesta en gran parte por las fibras axónicas de neuronas cuyos cuerpos celulares están localizados en el hipotálamo. Este tejido nervioso presenta amplia interdigitación con la adenohipófisis, en particular en la pars intermedia, y la presencia de este "núcleo" nervioso ha dado origen al concepto de la hipófisis como Órgano "doble". Las neuronas hipotalámicas cuyos axones forman la neurohipófisis, son del tipo denominado células neurosecretoras. Estas responden a una señal eléctrica procedente del cerebro, liberando un mensajero químico en el terminal del axón, uniendo así la brecha entre la información nerviosa y la hormonal. El efecto de la hormona liberadora es estimular la producción de gonadotropina y su posterior liberación al sistema vascular de la adenohipófisis. La gonadotropina es luego transportada por la circulación sistemática hasta el órgano receptor, la gónada, en donde a su vez inicia la producción de esteroides sexuales. Esas hormonas andrógenos, estrógenos y progestágenos son los mediadores directos del desarrollo gonadal.

## **Las gonadotropinas en los teleósteos**

Harvey & Hoar, (1980), mencionan que se han aislado en forma relativamente pura las gonadotropinas de varios teleósteos incluyendo la carpa *Cyprinus carpio* (Fontaine & Gerard, 1963; Burzawa-Gérard, 1971), el salmón 'chinook' *Oncorhynchus tshawytscha* (Donaldson *et al.*, 1972) y Tilapia Mosambica (Farmer & Papkoff, 1977). Hay considerable evidencia de que los peces elaboran dos tipos diferentes de hormona gonadotrópica.

La acción ovulatoria se adscribe únicamente a una de ellas, cuyo contenido de glucoproteína es alto (Donaldson *et al.*, 1972; Farmer & Papkoff, 1977). La otra gonadotropina tiene bajo contenido de glucoproteína y se cree que solamente controla la vitelogénesis (Idler *et al.*, 1975; Ng & Idler, 1978). La evidencia citológica e histoquímica confirma la presencia de dos gonadotropinas químicamente diferenciables (Burlakov *et al.*, 1976; Schreibman *et al.*, 1973) y se han reportado diferencias sexuales en gonadotropinas aisladas (Breton *et al.*, 1978).

### **Maduración de la gónada en respuesta a la gonadotropina**

Harvey & Hoar, (1980), señalan que la maduración de las gónadas en el pez se efectúa como resultado indirecto de un aumento lento y constante en la secreción de gonadotropina y que la ovulación y la espermiación están precedidos por un aumento más marcado. Esta hipótesis nació de la evidencia en los salmónidos (Breton *et al.*, 1978; Crim *et al.*, 1976) y en los ciprinidos (Breton *et al.*, 1978). El efecto de la gonadotropina en la regulación de la gametogénesis es bastante indirecto, a través de hormonas sexuales y éste eslabón final de la cadena proporciona indicios importantes de las posibles causas de la interrupción de la maduración en cautiverio. Hoar & Nagahama, (1978) indica que es importante apreciar el hecho de que, la maduración gonadal en los machos puede con mucha frecuencia no interrumpirse en cautiverio; y que en general, no es difícil obtener el esperma de peces criados en estanque. La hipofisación de los machos, si es que se lleva a cabo, es a menudo cuestión de conveniencia para asegurar la coordinación perfecta de la liberación de gametos; y sirve también para iniciar un adelgazamiento seminal, que hace el esperma más apropiado para la fecundación artificial.

### **Proliferación oogonial**

Los oogonios surgen de las células sexuales primordiales en el epitelio germinal del ovario y en su etapa precoz son rodeados por una capa de células epiteliales que forman el folículo ovárico. En los peces, el desarrollo inicial del folículo ovárico parece no depender de la hipófisis. Las células del epitelio folicular se diferencian para formar una granulosa glandular, separada del ovulo por una zona pelúcida no celular y se desarrolla una teca a partir de los tejidos conectivos circundantes. Dichas estructuras granulosa, zona pellúcida y teca pueden denominarse envoltura folicular. (Harvey & Hoar, 1980).

### **Vitelogénesis**

El desarrollo de las técnicas de reproducción artificial, se basa estrictamente en hallazgos en cuanto a la maduración gonadal, la presencia de óvulos, indican automáticamente el proceso de la vitelogénesis y según estudios encontrados por Harvey & Hoar, (1980), señala que comprende la incorporación del vitelo en los oocitos en desarrollo, se cree que este proceso está controlado por una gonadotropina baja en glucoproteínas (Ng & Idler, 1978). Las células receptoras de la gonadotropina hipofisaria parecen ser las células tecales especiales de la envoltura folicular (Hoar & Nagahama, 1978), y los esteroides sexuales producidos aquí juegan un papel muy importante en la regulación de este complejo proceso. El vitelo se deposita en dos formas: vesículas de vitelo y gránulos de vitelo, siendo su deposición normalmente secuencial. La formación de vesículas de vitelo, que ocurre primero, recientemente ha demostrado ser inducida por estrógenos en la carpa dorada (Khoo, 1974); se cree que los gránulos se forman bajo la influencia de la pregnenolona. La síntesis de los precursores del vitelo se efectúa en el hígado y ha probado ser estimulada por los estrógenos (Ho & Vanstone, 1961; Campbell & Idler, 1976). Las hormonas de la tiroides también participan en la Vitelogénesis. Bajas dosis de tiroxina estimulan la Vitelogénesis en la carpa dorada inmadura (Hurlburt, 1977); y se ha sugerido que las hormonas de la tiroides, actúan sinérgicamente con la gonadotropina para influir en el desarrollo ovárico, posiblemente a través de un aumento de la sensibilidad ovárica ante el estímulo de la gonadotropina.



## **Maduración de los oocitos**

Harvey & Hoar, (1980), indican que las etapas finales del desarrollo de los oocitos y folículos pueden disociarse experimentalmente de la ovulación (expulsión del oocitos desnudo, fuera del folículo y hacia la cavidad ovárica o peritoneal). El esteroide  $17\alpha$ -hidroxi- $2\beta$ -dihidroprogesterona ( $17\alpha$ - $2\beta$  Pg) producido por la envoltura folicular en respuesta a la gonadotropina pituitaria, se ha propuesto como el más probable mediador de la maduración de los oocitos en varias especies de peces. Los corticoesteroides pueden desempeñar un papel indirecto, posiblemente a través de la sensibilización de los oocitos a la acción del  $17\alpha$ - $2\beta$  Pg; esas hormonas asumen una función aún más importante en la maduración de los oocitos en el bagre (Sundararaj & Vasal, 1976; Jalabert, 1976).

## **Ovulación**

La última etapa del proceso reproductivo se inicia con la ruptura folicular y la expulsión del oocito desnudo parece ser independiente del control hipofisario. Tanto las prostaglandinas como las catecolaminas se han propuesto como mediadoras (Jalabert, 1976; Stacey & Pandey, 1975) y han proporcionado evidencia in vivo que confirma la intervención de las prostaglandinas en la ovulación de la carpa dorada. (Harvey & Hoar, 1980).

## **Reproducción inducida**

Harvey & Hoar, (1980), mencionan que, el mayor interés del acuicultor que esté desarrollando un programa de reproducción inducida, es estimular la ovulación. El desove, no necesariamente ocurre de manera espontánea; los huevos pueden extraerse manualmente del pez y en efecto este procedimiento es aconsejable, si se ha de lograr un control total de la fecundación. Sin embargo, para ello hay que asegurar ante todo una madurez completa, normalmente mediada por la gonadotropina pituitaria. ¿En qué etapa o etapas del ciclo de reproducción se puede intervenir eficazmente?; la manipulación de parámetros ambientales a pesar de

haber sido objeto de extensas investigaciones en especies de climas templados, está fuera del alcance de este análisis. Es preciso anotar también que la actual intervención con químicos está dirigida solamente hacia la parte de la secuencia que conduce a la maduración final del oocito. La ovulación en sí, aunque es un objetivo final de cualquier esfuerzo de estimulación, parece ocurrir como resultado de estímulos endógenos después de la maduración final del oocito, si bien hay factores ambientales que también pueden contribuir, la administración de gonadotropina exógena es definitivamente el procedimiento de mayor importancia; la intervención en la interface hipotalámica pituitaria con administración de hormonas liberadoras es un procedimiento promisorio y recientemente ha tenido resultados prácticos; la intervención a nivel de esteroides sexuales, ya sea mediante la simple administración o control retro informativo, es actualmente objeto de investigaciones experimentales.

### **Administración de gonadotropinas exógenas**

Harvey & Hoar (1980), conceptualizan que la hipofisación consiste en la inyección intramuscular o intraperitoneal, de extractos crudos de hipófisis de pez. La técnica básica ha existido desde hace algún tiempo (Houssay, 1931) y se ha refinado considerablemente a lo largo de los años. Sigue siendo la única alternativa realista para cultivador de peces, tanto por razones económicas como técnicas. Los inconvenientes de la técnica de hipofisación pueden agruparse como problemas de dosificación y de provisión. El problema de la dosificación es en gran parte el resultado de la crudeza de la técnica: la actividad de un extracto depende de la edad, sexo y estado de madurez del donante, así como del método de extracción y técnica utilizada para preservar la glándula (Jalabert, 1976). Además, el extracto contiene numerosas hormonas pituitarias no relacionadas con la reproducción, de modo que solo se pueden hacer conjeturas en cuanto a su actividad específica. La distancia filogenética entre donante y receptor es otro factor que hace bastante empírico en cálculo de la dosis. La práctica común es aumentar la dosis para extractos pituitarios heteroplásticos; por ejemplo, se han administrado extractos pituitarios de bagre inmaduro quintuplicando la dosis homoplástica, para inducir la ovulación en la

carpa de la India (Varghese *et al.*, 1975). Aunque la dosis administrada era alta, el costo de extracción y preparación de la hipófisis de bagre era la quinta parte del costo con donantes homoplásticos; ya que los bagres se abren y se secan al sol antes de sacarlos al mercado, la extracción de la glándula, procedimiento que mutila la cabeza, no afecta su comercialización. Esta observación sirve para introducir un problema del suministro de hipófisis. La extracción de la glándula implica el sacrificio de un reproductor potencial (aunque puede extraerse de peces desovados), o, en el caso del pescado que va al mercado, en muchas partes del mundo implica una grave devaluación del producto. Aunque se puede encontrar un sustituto adecuado, la demanda de hipófisis siempre excede a la oferta y la extracción es un procedimiento que toma mucho tiempo. Sin embargo, por fortuna, es posible deshidratar, envasar en ampollas y almacenar casi indefinidamente las hipófisis. La estandarización de la dosis, empero, no se puede efectuar sin previo conocimiento de la actividad gonadotrópica de los extractos, por lo cual es muy importante llevar a cabo el análisis apropiado.

### **Hormonas liberadoras de gonadotropina**

Harvey & Hoar, (1980), indican que la introducción del decapeptido sintético LHRH (hormona liberadora de la hormona luteinizante) ha hecho posible la intervención en la cadena endocrinológica, un paso antes de la aplicación de la gonadotropina misma: es decir, en la interface hipotalámica-pituitaria. Las investigaciones en este campo son comparativamente recientes y los resultados obtenidos son en gran parte experimentales. Sin embargo, el campo es promisorio y los futuros avances probablemente beneficiaron al cultivador. La administración de LH-RH sintética aumenta el nivel de la hormona gonadotropina en el plasma de la carpa común *Cyprinus carpio* (Breton & Weill, 1973) y de la trucha marrón macho *Salmo trutta* (Crim *et al.*, 1976); en ésta última, el efecto se ha notado únicamente en peces maduros. La acción de la LH-RH también se ha demostrado mediante la inyección intracerebral en la carpa dorada (Crim *et al.*, 1976). La administración intracelular de la droga con una dosis de 1 g/kg estimuló la maduración ovárica de la carpa común (Sokolowska *et al.*, 1978) y en efecto, grandes dosis de LH-RH sintética han inducido la ovulación en la carpa dorada

(Lam *et al.*, 1975) y en el ayu *Plecoglossus altivelus* (Hirose & Ishida, 1974). Los informes recientes sobre su aplicación en peces son indicación de su futura importancia en el control de la reproducción de los peces. Lam *et al.* (1975) han encontrado que el análogo nonapéptido de la LH-RH (D-Ala<sup>6</sup>-des-Gly-NH<sub>2</sub><sup>10</sup>)-LHRH-etilamida, es parcialmente efectivo en inducir la ovulación en la carpa dorada con una dosis (10 ng/g) ineficaz para la LH-RH, y Donaldson *et al.* (1972), encontraron que el mismo análogo es más potente que la LH-RH para inducir la maduración final y la ovulación del salmón "coho" *Oncorhynchus gorbuscha*. El análogo de la LH-RH D-Ser(Bu<sup>t</sup>)<sup>6</sup>-des-Gly<sup>10</sup>-LH-RH etilamida, ha demostrado tener todavía más potencia; dosis tan bajas como 0,011 mg/kg resultaron efectivas para inducir la ovulación del salmón "coho", precedidas por una inyección preliminar de gonadotropina de salmón (Donaldson *et al.*, 1972). La investigación sobre los análogos de LH-RH se ha llevado a cabo especialmente en la China, en donde desde 1974 se ha venido investigando extensivamente la propiedad del Ayerst 25205, para inducir el desove en la carpa plateada *Hypophthalmichthys molitrix*, en la carpa cabezona *Aristichthys nobilis*, en la carpa hervibora *Ctenopharyngodon idellus* y en la carpa negra *Mylophatyn godonpiceus*. El compuesto (LRH-A) se administra ya sea intramuscular o intraperitonealmente, encontrándose que la dosis eficaz mínima es de 1 µg/kg y 0,002 µg/kg respectivamente. En el caso de la carpa herbívora, que ha demostrado ser refractaria a la GCH sola, una inyección única de 5- 10 µg/kg de LRH-A produjo un porcentaje de ovulación del 86%, comparada con resultados obtenidos con extracto pituitario. Para las carpas plateada y cabezona, las dosis mínimas fueron de 3 µg/kg y 1, 4 µg/kg administradas en dos inyecciones; para la carpa negra la dosis de 5-200 µg/kg seguida de 0,5-2 mg de extracto pituitario, produjo una tasa de desove del 74,6%. No se sabe con claridad si el desove fue espontáneo o si se extrajeron los huevos.

## Administración de esteroides sexuales

Harvey & Hoar, (1980), indican que la gonadotropina, sea endógena o exógena, se considera estimulante de la biosíntesis del esteroide  $17\alpha$ - $20\beta$ g en la envoltura folicular; dicho esteroide induce luego la maduración final de los óvulos. Los estrógenos, a pesar de tener una importante función en las etapas iniciales del desarrollo del oocito, en especial en la Vitelogénesis, no parecen participar en las etapas posteriores de la maduración. La intervención con químicos a nivel del oocito mismo, tiene algún atractivo intuitivo; parece representar una solución más sencilla que elimina intermediarios hormonales como la gonadotropina y la hormona liberadora. Sin embargo, existen muy pocos informes sobre el uso eficaz de los esteroides sexuales para inducir la ovulación. Khoo (1974), se ha adjudicado el logro de la inducción de la ovulación en la carpa dorada, después de administrar progesterona; los estrógenos, andrógenos y pregnonelona resultaron ineficaces. Se ha logrado más éxito con el  $17\alpha$ - $20\beta$ g; Jalabert (1976) demostró que era un potente inductor de la maduración in vitro de oocitos de la carpa dorada, trucha arco iris. A pesar de que Lam *et al.* (1975) no lograron inducir la ovulación en la carpa dorada con esta sustancia, Jalabert (1976) la encontró eficaz en *Cyprinus carpio* después de una pequeña dosis preliminar de extracto pituitario. Parece que la inyección de  $17\alpha$ - $20\beta$ g es eficaz únicamente durante las últimas etapas de la maduración de los oocitos. Esto impone el requisito de administrarlo en el momento preciso, lo cual parece limitar su posible aplicación práctica en especial careciendo de un método confiable para evaluar el estado de maduración gonadal en las hembras. Un segundo medio, menos directo, es a través del control retro informativo de la secreción de gonadotropina. Se cree que la liberación de gonadotropina está regida por un sistema negativo de retroinformación en el cual los centros en la hipófisis y en el hipotálamo responden al nivel de esteroides gonadales en circulación (Peter & Crim, 1978).

### **2.1.3. Marco Conceptual**

**ACUICULTURA.** Es el cultivo de organismos acuáticos tanto en zonas costeras como del interior que implica intervenciones en el proceso de cría para aumentar la producción.

Es probablemente el sector de producción de alimentos de más rápido crecimiento y representa ahora el 50 por ciento del pescado destinado a la alimentación a nivel mundial.

**PISCICULTURA.** El término piscicultura proviene del latín “piscis”, significa “pez” y “cultura” de “cultivo”. La piscicultura es un grupo de actividades, técnicas y conocimientos de crianza de especies acuáticas animales que permiten arrojar y controlar la reproducción de peces y de otros animales acuáticos. La piscicultura se puede aplicar en los acuarios, ríos o en otros sitios que tengan el acceso al agua como medio primordiales donde las principales ventajas que propone la piscicultura es que se distinguen por la valoración de los peces que se disminuye.

**GONADOTROPINA.** Hormona que estimula, o que sostiene, la elaboración y el funcionamiento de las gónadas. En los vertebrados, las gonadotropinas son hormonas peptídicas secretadas por la glándula pituitaria bajo el control de un factor de liberador de gonadotropina. Las gonadotropinas estimulan la secreción de las hormonas esteroideas sexuales (testosterona o estrógenos, por ejemplo). Los extractos pituitarios (a menudo a partir de especies diferentes) son administrados a los peces con el fin de asegurar una producción de alevines fuera del periodo de la reproducción normal.

**MADURACIÓN GONADAL.** Proceso mediado por hormonas gonadotróficas secretadas por la hipófisis y por el cual el organismo desarrolla gónadas, así como caracteres sexuales secundarios, y que les convierte en capaces de reproducirse sexualmente.

**EJE HYPOTÁLAMO-PITUITARIO-INTERRENAL.** Eje hormonal en el que la glándula pituitaria es el órgano central del sistema endocrino y que a su vez depende de señales procedentes del hipotálamo y otros órganos productores de hormonas. La glándula interrenal de los peces produce hormonas corticosteroides que afectan el equilibrio agua-iones, proporciona sustratos ricos en energía para las situaciones de estrés y afecta la producción de células sanguíneas y la expresión de caracteres sexuales secundarios en machos.

**GLÁNDULA.** Aglomeración de células que sintetizan y que liberan sustancias químicas. Si estas últimas están utilizadas por el organismo la glándula es llamada secretoria, si sirven eliminar los residuos, la glándula es llamada excretoria. Si las sustancias pasan directamente a la circulación (por ejemplo, hormonas) la glándula es llamada endocrina.

**GLÁNDULA PITUITARIA.** Pequeña glándula endocrina situada en la zona ventral del encéfalo de los vertebrados y que secreta diversas hormonas que juegan un papel en la regulación del crecimiento y de las funciones sexuales: adrenocorticotropina, tiotropina, MCH, MSH, y prolactina.

**GLÁNDULA TIROIDEA.** Glándula endocrina de los vertebrados. Compuesta, en los peces, de células foliculares discretas y situadas en la pared de la faringe. Esta glándula produce hormonas tiroideas con yodo, 3,5,3'-tri-yodotironina (T3) y 3,5,3',5'-tetra-yodotironina (T4, tiroxina). El papel exacto de estas hormonas todavía no está claro. Pero parecen importantes en la adaptación a los cambios ambientales tales como el estrés térmico y osmótico, así como en los cambios internos durante el crecimiento y la maduración sexual.

**ESTÍMULOS.** Un estímulo es una señal externa o interna capaz de causar una reacción en una célula u organismo. La sensibilidad frente a un estímulo determinado se denomina tropismo o nastia en vegetales (según la reacción sea permanente o pasajera) y taxismo en las formas animales sencillas. Los vertebrados, por su parte, poseen estructuras de naturaleza nerviosa (receptores) especializados en captar o recibir ciertas informaciones que se producen en el medio, haciendo llegar la información, por medio de los nervios sensitivos, a los centros nerviosos para producir las sensaciones (visual, táctil, dolorosa, sonora, gustativa, olfativa, térmica o sensitiva, entre otras).

**ESTEROIDES.** Miembro de un grupo de compuestos orgánicos caracterizados por la presencia de un grupo ciclopentano-peridro-fenantreno. Hormonas importantes secretadas por la corteza suprarrenal y las gónadas que incluye los estrógenos, andrógenos y mineralocorticoides.

**HIPOTÁLAMO.** Parte situada en la parte delantera-central del cerebro en los vertebrados. Funcionalmente conocido por asegurar la coordinación neuro-endocrina de las actividades viscerales (por ejemplo, control de temperatura, equilibrio en el agua, etc.).

**HORMONA DE LIBERACIÓN.** Sustancia producida por el hipotálamo y que actúa en su parte anterior para estimular la liberación de una hormona específica. Comercialmente disponible y utilizada en acuicultura para provocar el desarrollo y la maduración.

**GnRH (HORMONA LIBERADORA DE LA GONADOTROPINA).** Hormona peptídica sintetizada en el hipotálamo y que induce la liberación de la gonadotropina por la hipófisis.



**LHRH.** Hormona liberadora de la hormona luteinizante; hormona decapeptida secretada por el hipotálamo que controla, la liberación de gonadotrofinas por la hipófisis. Varios análogos de esta hormona se usan en acuicultura para estimular la maduración final de los genitores.

**LHRHA.** Hormona liberadora de la hormona luteinizante análoga: forma sintética del LHRH.

**TESTOSTERONA.** Principal hormona andrógena, secretada por los testículos bajo el control de hormonas gonadotrópicas pituitarias. Esta hormona esteroide controla los caracteres sexuales primarios y secundarios, y a veces el comportamiento reproductor. El precursor ketotestosterona (androsterona) se administra a los peces, normalmente mediante la alimentación, con el fin de mejorar el crecimiento y la velocidad de maduración sexual. Se pueden obtener, por ejemplo, stocks de “tilapia” *Oreochromis niloticus* machos por tratamiento de los alevines con análogos de testosterona (metil-testosterona). El uso de estas hormonas está sometido a una reglamentación muy rigurosa.

**ESTRÓGENOS.** Grupo de hormonas esteroideas sexuales femeninas que son producidas por el ovario de los vertebrados; entre ellos los más importantes son, el  $\alpha$ -estradiol, estrona y estriol.

**PROGESTERONA.** La progesterona, también conocida como P4(pregn-4-en-3,20-diona), es una hormona esteroidea promueve la embriogénesis de muchas especies. La progesterona pertenece a una clase de hormonas llamadas progestágenos. Su fuente principal es el ovario (cuerpo lúteo) y la placenta, la progesterona también puede sintetizarse en las glándulas adrenales y en el hígado.

**HIPÓFISIS.** Glándula pituitaria: Pequeña glándula endocrina situada en la zona ventral del encéfalo de los vertebrados y que secreta diversas hormonas que juegan un papel en la regulación del crecimiento y de las funciones sexuales: adrenocorticotropina, tiotropina, MCH, MSH, y prolactina.

**VITELOGÉNESIS.** La incorporación del vitelo que proviene del hígado en los ovocitos en crecimiento.

**PERITONEAL.** Que es o que se hace en el interior del peritoneo. Dícese de la administración de una sustancia dentro del peritoneo.

**OVULACIÓN.** Expulsión de huevo maduro fuera del tejido que lo rodea (Folículo).

**DESOLVE INDUCIDO.** Desove obtenido por manipulación ambiental o tratamiento del animal, por ejemplo, ciclo de temperaturas y de fertilidad, choque osmótico, irradiación de la piel por UV, inyecciones hormonales.

**INTRAMUSCULAR.** Dentro del músculo. Dícese de la administración de una sustancia en la masa muscular.

**ESPERMIACIÓN Y OVULACIÓN.** La liberación de espermatozoides (espermiación) y de óvulos (puesta) dando lugar a los huevos fecundados.

**HISTOQUÍMICA.** Es el estudio químico de los tejidos. En la práctica se emplea la palabra para designar el método junto con el auxilio de los microscopios ópticos (MO) y electrónico (ME).

**OOGONIA.** Célula germinal femenina que representa el primer estadio evolutivo de las células sexuales femeninas y que da lugar al ovocito, que a su vez da lugar al óvulo.

**HOMOPLÁSTICOS.** Pertenece o relativo a la homoplasia. En botánica, que corresponde a individuos de protoplastos homogéneos, es decir, a plantas que pertenecen a la misma especie: trasplante homoplástica.

**HETEROPLÁSTICOS.** Pertenece o relativa a la heteroplasia. En botánica, correspondiente al individuo de protoplastos heterogéneos, es decir, a vegetales de especies distintas: trasplante heteroplástica.

**FECUNDACIÓN.** La fecundación, también llamada singamia, es el proceso por el cual dos gametos (masculino y femenino) se fusionan durante la reproducción sexual para crear un nuevo individuo con un genoma derivado de ambos progenitores. Los dos fines principales de la fecundación son la combinación de genes derivados de ambos progenitores y la generación de un nuevo individuo.

## 2.2. DEFINICIONES OPERACIONALES

VARIABLES	INDICADORES	ÍNDICES
<p><b>Variable independiente (X)</b></p> <p><b>1. Extracto de Pituitaria de carpa (EPC)</b></p> <p><b>2. Conceptal</b></p> <p><b>3. Ovaprim</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• En hembras: Ovulación               <ul style="list-style-type: none"> <li>• EPC: 6 mg/kg.</li> <li>• Conceptal: 2.6 ml/kg</li> <li>• Ovaprim: 0.5 ml/kg</li> </ul> </li> <li>• En Machos: Espermiación               <ul style="list-style-type: none"> <li>• EPC 2 mg/kg.</li> <li>• Conceptal: 1 ml/kg</li> <li>• Ovaprim: 0.25 ml/kg</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Presencia/ausencia.</li> <li>• Presencia/ausencia.</li> </ul>
<p><b>Variable dependiente (Y)</b></p> <p>Respuesta a los inductores hormonales</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• En hembras: Ovulación</li> <li>• En Machos: Espermiación</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Frecuencia porcentual del diámetro ovocitario.</li> <li>• Fecundidad relativa de las hembras.</li> <li>• % de fertilización/fecundación de los huevos Tasa de eclosión de huevos</li> <li>• % de desove de las hembras.</li> <li>• Volumen seminal (ml).</li> <li>• Concentración espermática.</li> <li>• Espermatozoides</li> </ul>

### 2.3. HIPÓTESIS

– **Hi:**

Los inductores hormonales EPC, Conceptal y Ovaprim, promueven la estimulación de la reproducción inducida del “sábalo cola roja” (*Brycon cephalus*) en ambientes controlados.

– **Ho:**

Los inductores hormonales EPC, Conceptal y Ovaprim no promueven la estimulación de la reproducción inducida del sábalo cola roja (*Brycon cephalus*) en ambientes controlados.

## CAPÍTULO III

### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1. Método de Investigación.

Esta investigación se desarrolló bajo el tipo experimental, ya que consistió en la manipulación de una variable (inductor hormonal) no comprobada, con el fin de describir de qué modo produce una situación o un efecto particular en la reproducción, Asimismo, la investigación es aplicada porque permitirá conocer el efecto de la aplicación de tres protocolos de inducción hormonal (basados en tres distintos tipos de inductores), en la ovulación y espermiación de ejemplares adultos del sábalo cola roja (*Brycon cephalus*).

#### 3.2. Diseño de Investigación

##### 3.2.1. Área de estudio

El estudio fue realizado en las instalaciones del Centro de Investigaciones Fernando Alcántara Bocanegra – CIFAB, sede del Programa de Investigación para el Uso y Conservación del Agua y sus Recursos (AQUAREC) del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP). El CIFAB está ubicado geográficamente a 3° 48.9' 9" S y 73° 19'18.2" W, con una altitud de 128 m.s.n.m., a la altura del kilómetro 4.5 de la carretera que une las ciudades de Iquitos y Nauta, respectivamente. Políticamente el CIFAB pertenece al distrito San Juan Bautista, provincia Maynas, departamento Loreto. (Ilustración 1).



**Ilustración 1.** Vista del Centro de Investigaciones Fernando Alcántara Bocanegra (CIFAB - AQUAREC) IIAP.

### 3.2.2. Periodo experimental

El periodo experimental fue de 120 días y se utilizaron un total 36 individuos adultos de “sábalo cola roja” *Brycon cephalus*, los cuales fueron evaluados previamente para verificar la presencia de productos sexuales en los reproductores.

### 3.2.3. Unidades experimentales

Se utilizaron 09 tanques rectangulares de cemento de 0.75 x 0.7 x 0.9 m revestidos internamente de mayólicas, en donde fueron colocados un macho y una hembra. El volumen aproximado de agua fue de 150 litros. El diseño experimental estuvo basado en tres tratamientos y tres repeticiones por cada tratamiento.



**Ilustración 2.** Vista del tanque de concreto, empleado como unidad de experimentación, para la aplicación de inductores hormonales en estudio.

Los peces fueron marcados con chips electromagnéticos (pit-tags) para facilitar su identificación y monitoreo de su desempeño reproductivo en el tiempo.

La muestra para el estudio estuvo compuesta por 36 peces que conformaron 18 parejas (6 parejas por cada protocolo de inducción).

### 3.2.4. Diseño experimental

La evaluación de los aspectos reproductivos se realizó mediante un diseño experimental: tratamiento T1 (Extracto de Hipófisis de carpa), tratamiento T2 (Conceptal ®) y tratamiento T3 (Ovaprim ®), sobre el desempeño reproductivo en hembras y machos en un diseño aleatorio completamente al azar de 3x3, con diferentes dosificaciones a un solo intervalo.

**Tabla 1.** Tratamientos utilizados en la inducción hormonal del *Brycon cephalus*.

Tratamientos	Repeticiones			Dosificación				Intervalo
				Hembras		Machos		
				1ra	2da	1ra	2da	
T1	T1R1	T1R2	T1R3	10%	90%	50%	50%	12 h
T2	T2R1	T2R2	T2R3	10%	90%	50%	50%	12 h
T3	T3R1	T3R2	T3R3	10%	90%	50%	50%	12 h

### 3.3. Población y muestra

Se utilizaron 36 reproductores de *B. cephalus* adultos con edades superiores a los 4 años, domesticados y adaptados al manipuleo, de una población total de 150 individuos. Los peces reproductores fueron adquiridos del medio natural a partir de pescadores debidamente formalizados ante la Dirección Regional de la Producción de Loreto.

### 3.4. Técnicas e instrumentos

Este trabajo de investigación, se estructuró en diferentes etapas: en el registro de información desde la evaluación de las características externas de los reproductores, hasta la evaluaciones internas de los ejemplares con la obtención de óvulos con la finalidad de evaluar su grado de madurez, posterior a ello se han realizado una serie de procedimientos a fin de evaluar la acción de las hormonas sobre el proceso reproductivo, capturando imágenes fotográficas, colectando muestras y finalmente analizándolos en función a una base de datos en hojas Excel generados para tal fin.



### 3.5. Procedimientos de recolección de datos.

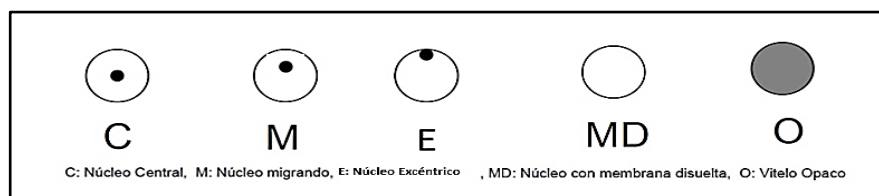
#### 3.5.1. Selección de reproductores para el estudio

La población de reproductores, estuvo conformado por 150 ejemplares, para las muestras experimentales, estos fueron seleccionados al azar, fueron alimentados a una tasa del 2% de su biomasa, con alimento balanceado para reproductores con un tenor proteico del 30% PB. Durante los meses de agosto a noviembre (mensualmente), se evaluaron características de la maduración gonadal, de acuerdo a sus particularidades externas, tales como vientre abultado y papila ligeramente dilatada y enrojecida en las hembras y expulsión de semen por suave presión abdominal en los machos. Para la evaluación del grado de maduración se tuvo en cuenta la siguiente escala: Nivel 1 (poro cerrado y no se observa la papila), Nivel 2 (poro ligeramente abierto y la papila poco enrojecida), y Nivel 3 (el poro abierto con la papila enrojecida y proyectada hacia fuera).



*Ilustración 3.* Biopsia intraovárica de “sábalo cola roja” *Brycon cephalus*

Entretanto, la posición del núcleo de los ovocitos fue determinada usando cuatro (04) estados de desarrollo, siguiendo el protocolo de Garza & Rodríguez (1985), modificado en este estudio. Estadío 1 (núcleo o vesícula germinal en posición central), Estadío 2 (núcleo o vesícula germinal en migración, más de la mitad del radio, según Kucharczyk *et al.* (1999), Estadío 3 (núcleo excéntrico o periférico) Estadío 4 (núcleo con membrana disuelta) y Estadío 5 (ovocito con vitelo opaco, ovocitos atrofiados o deformes).

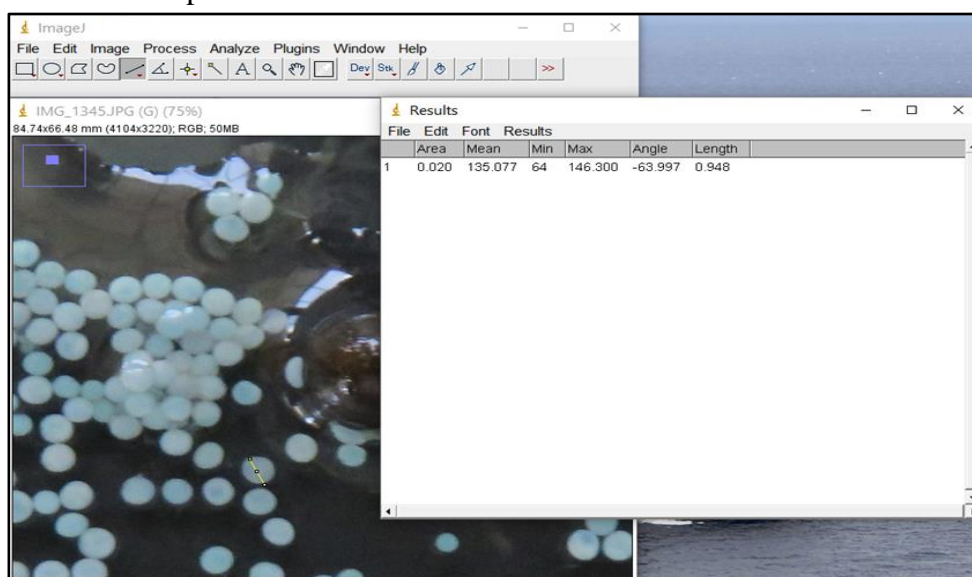


**Ilustración 4.** Estadios de desarrollo y posición del núcleo de ovocitos.  
Fuente: Garza & Rodríguez (1985).

Para las inducciones hormonales solamente se tuvieron en cuenta a las hembras que presentaron la papila genital en Nivel 2 y 3 y más del 50% de núcleos en Estadio 2 (núcleos migrados). En lo que respecta a los machos, se seleccionaron a aquellos que presenten emisión de fluido seminal como consecuencia de una leve presión abdominal que nos indicó que se encuentran en una fase de madurez adecuada para los fines del estudio.

### 3.5.2. Evaluación del diámetro ovocitario

Se tomaron muestras de ovocitos de cada hembra de aproximadamente 0.2 g, empleando el método de la biopsia ovárica. Cada muestra tomada fue dividida en dos porciones, una de ellas fue fijada con formalina tamponada al 10 % para medir el diámetro de los ovocitos y la otra con líquido aclarador de Serra (etanol 60%, formalina 30% y ácido acético glacial 10%), para determinar la posición del núcleo.



**Ilustración 5.** Captura de software Image J, para la medición del diámetro ovocitario.

Se utilizó el programa imagen J, como medio de soporte para la obtención de los diámetros ovocitarios. Este procedimiento sirvió para determinar la frecuencia porcentual del diámetro ovocitario, siendo los valores graficados en histogramas de frecuencias (Narahara *et al.*, 2002).

### **3.5.3. Determinación del desempeño reproductivo de los peces**

#### **Registro de Horas/grado**

Después de la inducción, se registró la temperatura cada hora, esto con la finalidad de estimar las horas/grado o el “tiempo de latencia” antes del desove.

#### **Índice de ovulación**

Se consideró como índice de ovulación el número de hembras ovuladas sobre el número total de hembras tratadas (Kestemont, 1988).

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

#### **Fecundidad**

De cada hembra que desovaba, se pesó la cantidad (g) de ovocitos desovados; luego se tomó una muestra de aproximadamente 1 g y se fijó en formol al 10 % para su posterior conteo. Para el cálculo de la fecundidad de cada hembra se aplicó la fórmula de (Laevastu, 1980):

$$F = n * G/g$$

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**

Una vez identificados los indicios de desove, se procedió a levantar a las hembras y se realizó una suave presión en la parte abdominal sin deslizamiento de los dedos (stripping), recibiendo los ovocitos en un recipiente seco y con peso conocido. De igual manera se procedió con los machos cuidando de no coleccionar el semen con orina, lo cual puede activar su movilidad.

Posteriormente se mezclaron los productos sexuales en seco con la ayuda de una pluma de pato durante dos minutos aproximadamente. Cumplido este periodo, se adicionó agua con el fin de ayudar en la fecundación.



**Ilustración 6.** Obtención de productos sexuales masculinos y femeninos previos a la fecundación externa.

## **Incubación**

Para el proceso de incubación de los huevos, empleamos incubadoras cónicas de flujo ascendente de agua con capacidad de 40 litros de capacidad, provistas de un tamiz para evitar que los huevos precipiten al fondo. Cada incubadora contó con aireación permanente y un flujo ascendente de agua. Para estimar el número de huevos que fueron 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, operación que se repitió tres veces. Luego se extrapoló dicho promedio a un litro (Reys *et al.*, 2008), ello con la finalidad de que la carga final de cada incubadora no supere los 500 huevos/L (Lopes *et al.*, 1995).

### **Determinación de la tasa de fertilización/fecundación y la tasa de eclosión de los huevos**

La tasa de fecundación se calculó en función al número óvulos fecundados y el número total de óvulos (Ferraz *et al.*, 2002); mientras que la tasa de eclosión (%) se calculó relacionando el número de larvas viables de muestras con el total de óvulos no eclosionados (Pardo-Carrasco *et al.*, 2002).

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

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

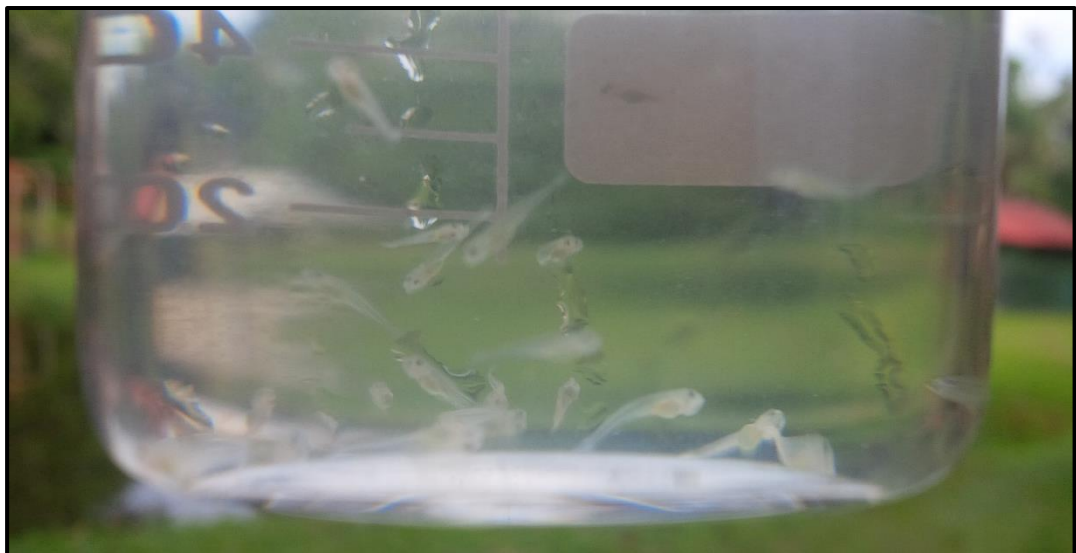
Dónde:

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 (Rothbard, 1981).



**Ilustración 7.** Larvas obtenidas en el proceso de reproducción inducida de sábalo cola roja *Brycon cephalus*.

## Evaluación de la espermiación y calidad espermática

El grado de desarrollo gonadal de los machos se evaluó a través de muestras de semen colectados mediante masajes abdominales, ejecutados en sentido antero-posterior.

El material seminal se analizó considerando los siguientes aspectos: i) macroscópicos: *color, fluidez, viscosidad*, y ii) microscópicos: *motilidad directa* subjetiva; lo cual se evaluó mediante una gota de semen mezclada con dos gotas de solución de bicarbonato de sodio al 1% colocada en una lámina y analizada bajo microscopio de contraste de fase 400x,



**Ilustración 8.** Obtención de semen de sábalo cola roja, para su análisis respectivo

La *concentración espermática* ( $N^{\circ}$  espermatozoides/ $mm^3$ ), determinado por el conteo en una cámara de Neubauer. Adicionalmente se midió el volumen espermático de cada macho con una probeta graduada en milímetros.



## Monitoreo de la calidad de agua

Durante los ensayos reproductivos, se registraron la temperatura (°C), el pH, y oxígeno (mg/l) con la ayuda del multiparámetro YSI MPS 556. También se monitoreó los niveles de nitritos y amonio, el CO<sub>2</sub> y la dureza total 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.



**Ilustración 9.** Equipos limnológicos para el registro de parámetros físicos y químicos en el proceso de reproducción inducida de sábalo cola roja *Brycon cephalus*.

### **3.6. Procesamiento de la información**

Además de las fórmulas de tasas e índices mencionadas en la sección de materiales y métodos, se empleó la estadística descriptiva para analizar las frecuencias porcentuales de diámetro ovocitario y la respuesta de los peces a los protocolos de inducción hormonal a ser aplicados.

Por otro lado, se empleó el análisis de varianza (ANOVA) simple para verificar los posibles efectos de los tratamientos hormonales en variables como: grado de desarrollo ovocitario, diámetro ovocitario medio, volumen, motilidad y concentración espermática, tasa de fertilización/fecundación, tasa de eclosión, etc. En caso de registrarse diferencias significativas en el ANOVA, se aplicaron pruebas de comparación múltiple de promedios de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). Realizamos la prueba t-pareada para determinar si existe diferencias estadísticas entre el inicio y final del tratamiento sobre el tamaño de los óvulos.

Los resultados se muestran como el promedio  $\pm$  la desviación estándar en cada tratamiento. Todos los valores o resultados expresados en porcentajes fueron transformados por el método del arco seno previo a su análisis en ANOVA. Asimismo, se tuvo en consideración todos los supuestos adscritos con el diseño de estructura experimental (normalidad, aleatoriedad e independencia de los errores experimentales, homogeneidad de varianzas). Los datos fueron tabulados en el programa Microsoft Excel 2010 y procesados en el programa SPSS versión 19

### **3.7. Protección de los derechos humanos.**

Los aspectos éticos fueron esenciales en esta investigación, se respetó estrictamente los derechos de autor en las referencias bibliográficas, así como también la información que se produjo en la investigación, es de total confidencialidad, asimismo la manipulación de los ejemplares del estudio, se realizó de manera que no afecte la integridad del organismo sin sometimiento ni crueldad animal.



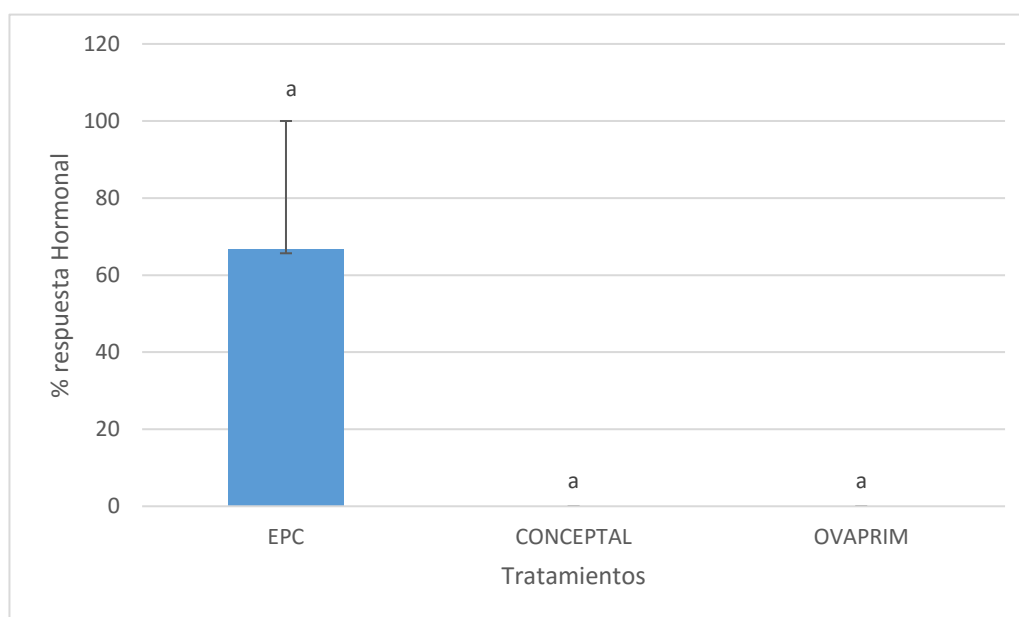
## CAPÍTULO IV

### 4. RESULTADOS

#### 4.1. Tratamientos hormonales

La hormona que tuvo efecto sobre la ovulación, corresponde al tratamiento con la Hormona EPC (T1), con una eficiencia de 66.6%. La reproducción ocurrió en el mes de diciembre.

Los otros tratamientos sobre las hembras no han tenido respuesta alguna. Esto se corrobora al observar el grafico 1, que, utilizando el análisis estadístico de ANOVA, se determinó que no existe diferencias estadísticamente significativa entre los tratamientos;  $F=11.99$  ( $p<0.0087$ ).



**Gráfico 1.** Respuesta a la ovulación, con diferentes tratamientos hormonales.

#### 4.2. Evaluación biométrica de los reproductores

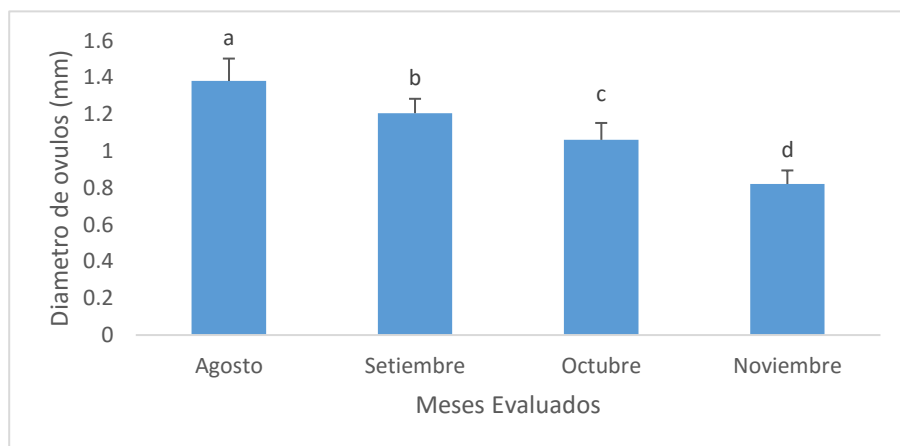
Los valores de masa (kg) de las hembras variaron con una media y desviación estándar de  $1.67 \pm 0.22$ , con rangos mínimos y máximos entre 2.21 – 3.21 kg, mientras que los valores de tallas (cm) con una media de  $43.67 \pm 3.09$ , y con rangos mínimos y máximos de 55 – 45 cm presentando distribución normal y en los machos,  $2.74 \pm 0.29$  y rangos mínimos y máximos entre 1.1 – 2.03 kg, mientras que las tallas (cm) con una media de  $52.83 \pm 2.36$ , y con rangos mínimos y máximos de 58 – 48 cm presentando distribución normal.

No existe diferencias significativas entre los pesos  $F=1.45$  ( $p>0.3053$ ) y tallas de los machos  $F= 1.45$  ( $p>0.3905$ ); En las hembras, no existen diferencias significativas entre los tratamientos, pesos  $F= 1.34$  ( $p>0.3186$ ) y tallas  $F= 1.80$  ( $p>0.2433$ ), lo cual nos indica que las muestras han sido homogéneas en cuanto a talla y peso.

#### 4.3. Evaluación del Diámetro ovocitario

El diámetro de los ovocitos disminuye de tamaño gradualmente mientras se acerca la temporada más alta de reproducción.

De acuerdo al análisis ANOVA, se ha determinado que existe diferencias significativas entre los diámetros de los ovocitos  $F=154.38$  ( $p<0.0001$ ).



**Gráfico 2.** Tamaño medio de los óvulos, según meses evaluados.

Los óvulos de hembras desovantes sometidas a fertilización nos indican que el tamaño promedio de los ovocitos fue de  $1.010 \pm 0.20$  mm, con tamaños menores a 1.3 mm, como se puede observar en la tabla 2.

**Tabla 2.** Estadística descriptiva de los oocitos en la inducción y ovulación de *Brycon cephalus*, inducidas con Hipófisis de carpa (EPC).

Tratamiento	Hembra N°	Diámetro oocitos (mm)		
		X ± S	Max.	Min.
EPC	1	1.00 ± 0.10	1.123	0.879
EPC	2	0.979 ± 0.82	1.081	0.878
EPC	3	0.99 ± 0.07	1.057	0.849
EPC	4	1.08 ± 0.08	1.087	0.87
EPC	5	1.021 ± 0.06	1.11	0.956
EPC	6	0.988 ± 0.09	1.208	0.962
Promedio		1.010 ± 0.20	1.111	0.899

Existió un incremento de diámetro de los ovocitos, después de administrar las dosis hormonales tal como se observa en la tabla 3.

Los peces tratados con hipófisis de carpa (EPC) presentaron incremento del diámetro de los ovocitos, de acuerdo a la prueba T pareada, se ha determinado que existe diferencias significativas entre los individuos tratados ((t) = -10.5486; (p) bilateral = <0.0001). el cual nos indica que hay diferencias en el tamaño entre el inicio y el final del tratamiento.

**Tabla 3.** Incremento del diámetro de los ovocitos, pre y post inducción de *Brycon cephalus*, inducidas con Hipófisis de carpa (EPC).

Tratamiento	Hembra N°	Diámetro (mm)		Incremento del diámetro	
		Inicial	Final	mm	%
EPC	1	1.00	1.23	0.23	18.6
EPC	2	0.99	1.26	0.27	21.8
EPC	3	0.97	1.24	0.31	25
EPC	4	1.00	1.28	0.28	21.7
EPC	5	1.02	1.18	0.16	13.8
EPC	6	1.03	1.19	0.16	13.2
Promedio		1.00	1.23	0.24	19.02

#### 4.4. Determinación del desempeño reproductivo de los peces

En el tratamiento con hipófisis de carpa, la ovulación se registró a las 6 horas, luego de ser administrada la dosis definitiva.

No se encontró respuestas con las hormonas Conceptal y Ovaprim.

La ovulación en *B. cephalus* ocurre a las  $196.6 \pm 45.5$  grados – hora, presentan además un índice de ovulación del 66.6%.

Se han encontrado que en horas post fecundación (HPF), tasas de fecundación distintas (Tabla 4), iniciándose a las 2HPF, una tasa de  $97.37 \pm \%$ , mientras que a las 10 HPF, la tasa de fecundación se mantuvo en  $88.6 \pm 5.12\%$ .

**Tabla 4.** Tasa de fertilización en relación al tiempo de incubación en horas postfecundación. (HPF)

Pareja inducida	Horas post fecundación (HPF) (%)				
	2 HPF	4 HPF	6 HPF	8 HPF	10 HPF
Ensayo 1	100	93.75	92.86	94.44	93.55
Ensayo 2	100	94.12	94.44	92.59	89.66
Ensayo 3	94.59	100	92.59	92.86	90.91
Ensayo 4	98.25	88.46	92	88.24	85.71
Ensayo 5	96.67	92.86	86.67	84.85	86.49
Ensayo 6	97.06	96.67	88.46	90.32	86.67
Ensayo 7	94.29	89.47	89.74	81.08	80.65
Ensayo 8	95.45	89.36	81.25	81.58	80
Ensayo 9	100	83.87	80	81.4	81.58
<b>Promedio</b>	<b>97.37</b>	<b>92.06</b>	<b>88.67</b>	<b>87.48</b>	<b>86.13</b>

Durante el “stripping”, a las hembras, los productos sexuales presentaron un color verde esmeralda.

El peso promedio de las hembras tratadas fue de  $2.541 \pm 517.3$  kg, el peso promedio del desove fue de  $195 \pm 72$  óvulos por hembra tratada, en cuanto al promedio de óvulos por gramo fue  $1273 \pm 29$  óvulos/gramo. El porcentaje de desove fue del 66.6% de las hembras tratadas tal como se puede observar en la figura 1.

**Tabla 5.** Pesos promedios de los productos sexuales en las hembras de sábalos cola roja tratados con hipófisis de carpa (EPC).

Hembra Tratada	Peso (kg)	Peso del desove (g)	Nº de óvulos/g
1	2,675	257	1,285
2	3,210	303	1,298
3	1,995	176	1,290
4	1,850	125	1,220
5	2,785	119	1,256
6	2,735	190	1,289
Promedio	2,542	195	1,273

La especie *Brycon cephalus*, presenta una alta tasa de eclosión,  $81.38 \pm 10.6\%$ , tal como se puede observar en la tabla 6.

**Tabla 6.** Evaluación de la tasa de eclosión en eventos reproductivos de sábalos cola roja tratados con hipófisis de carpa.

No evento	Huevos incubados	Huevos eclosionados	Tasa de eclosión (%)
1	15000	13878	92.52
2	15000	13974	93.16
3	15000	12216	81.44
4	15000	13188	87.92
5	15000	12816	85.44
6	15000	12576	83.84
7	15000	9083	60.55
8	15000	11616	77.44
9	15000	10512	70.08
<b>Total</b>			<b>81.38</b>

#### 4.5. Calidad del Agua

Durante los experimentos se observaron los siguientes parámetros de calidad de agua: temperatura  $28.8 \pm 0.12^{\circ}\text{C}$ ; oxígeno disuelto  $6.07 \pm 0.12$  mg/L; pH  $6.44 \pm 0.08$  y que fueron monitoreados durante la incubación.

**Tabla 7.** Promedios de los parámetros físicos y químicos del agua de las incubadoras, durante el proceso de experimentación

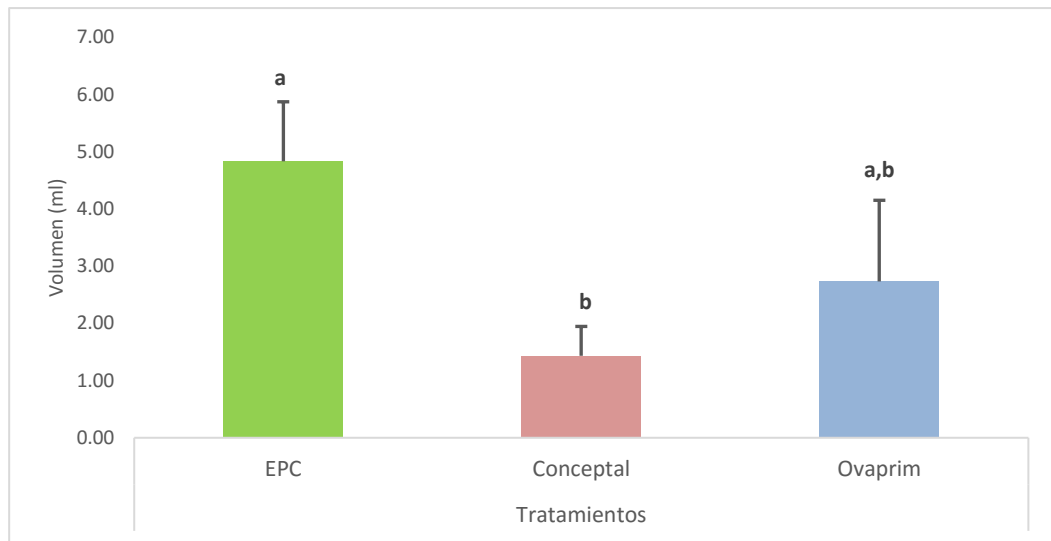
Parámetro	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Promedio	Desviación media
Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	28.95	28.80	28.75	28.65	29.05	28.65	28.80	28.90	28.80	28.90	28.83	0.12
pH	6.37	6.55	6.38	6.51	6.33	6.55	6.37	6.51	6.37	6.51	6.45	0.08
Oxígeno disuelto (ppm)	5.96	6.09	5.91	6.02	5,91	6,12	6.05	6.26	6.05	6.26	6.08	0.12

#### 4.6. Evaluación de la espermiación y calidad espermática

Para los tres tratamientos, el intervalo de obtención de semen fue igual. La evaluación se realizó en el mes de diciembre, durante el proceso de reproducción.

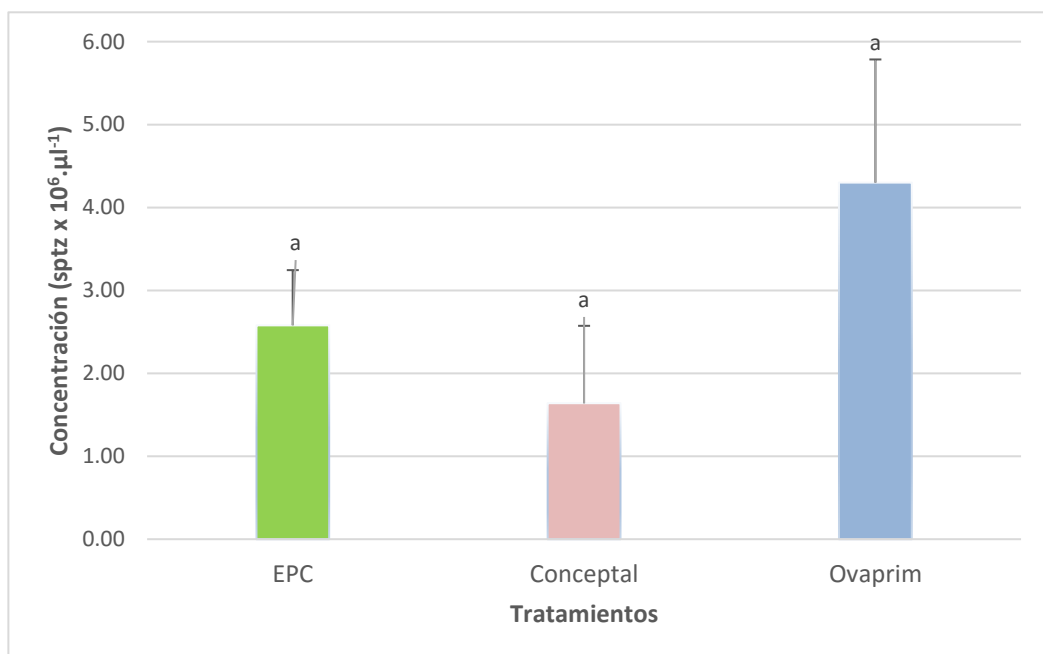
El semen de *Brycon cephalus*, presenta un color blanco lechoso, viscoso al tacto no presenta olor característico alguno. Al aplicarles a los peces Ovaprim, hipófisis de carpa y Conceptal, se obtuvieron volúmenes distintos en todos los tratamientos (grafico 3). De acuerdo al análisis estadístico ANOVA de una vía, se ha determinado que muestran diferencias significativas entre los tratamientos  $F= 7.88$  ( $p<0.021$ )

En los valores de volumen de semen, existen diferencias significativas entre el T1 (EPC) y el T2 (Conceptal). ( $p<0.013$ ) Mientras que no se observan diferencias significativas entre el tratamiento T1 y el tratamiento con el T3. (Ovaprim) ( $p>0.112$ ) asimismo no se observa diferencias estadísticas entre el tratamiento T2 (Conceptal) y el tratamiento T3 (ovaprim) ( $p>0.354$ ), el estadígrafo de prueba usado fue el ANOVA de una vía.



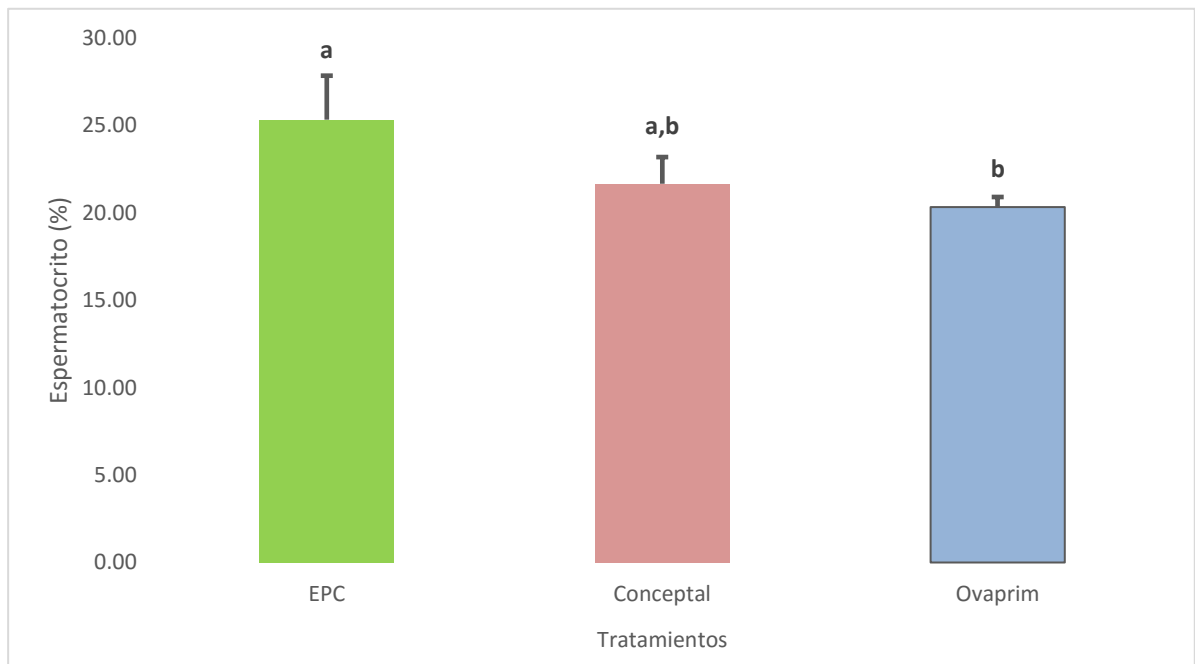
**Gráfico 3.** Volumen del semen de sábalo cola roja *Brycon cephalus*, sometidos a diferentes tratamientos hormonales

Se ha realizado el conteo de espermatozoides por  $\mu\text{l}$  y luego de haber realizado el análisis estadístico, utilizando ANOVA de una vía, se ha determinado que no existen diferencias significativas entre los tratamientos  $F= 1.2884$  ( $p>0.3440$ ). Grafico 4.



**Gráfico 4.** Concentración espermática de “Sábalo cola roja” *Brycon cephalus*, sometida a diferentes tratamientos hormonales

En cuanto al análisis del espermatocrito, utilizando el estadígrafo ANOVA de una vía, se ha determinado que existen diferencias estadísticas entre los tratamientos  $F= 6.71$  ( $p<0.030$ ). En los tratamientos T1 (EPC) y T3 (Ovaprim) se encuentran estas diferencias significativas ( $p<0.029$ ), como se observa en el gráfico 5.



**Gráfico 5.** Espermatocrito de sábalo cola roja, sometida a diferentes tratamientos hormonales.

**Tabla 8.** Promedios de los parámetros del semen en machos de sábalo cola roja tratados con hipófisis de carpa (EPC), Conceptal y Ovaprim.

Hormona	Vol. mL	Espermatocrito	Cel/mL (10x6)
EPC	4.83 ± 1.04 a	25.33 ± 2.51 a	2.58 ± 0.66 a
Conceptal	1.43 ± 0.51 b	21.66 ± 1.58 a, b	1.6 ± 0.93 a
Ovaprim	2.73 ± 1.41 a,b	20.33 ± 0.57 b	4.3 ± 1.48 a

\* Los superíndices iguales, en las columnas no muestran diferencias significativas ( $p>0.05$ )

El mayor volumen de semen se ha conseguido en el tratamiento con EPC, mientras que el menor volumen de semen fue encontrado con el tratamiento con Conceptal.



En el conteo de espermatozoides, se ha determinado que la hormona que aparentemente incrementa el número de espermatozoides por mL, es el tratamiento con el Ovaprim, mientras que la hormona con menos número de espermatozoides por mL, fue el Conceptal, sin embargo al realiza el análisis estadístico del ANOVA, nos indica que no hay diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos  $F= 1.28$  ( $p>0.3440$ ) tal como se puede observar en la Tabla 8.

## CAPÍTULO V

### 5. DISCUSIÓN

#### 5.1. Tratamientos hormonales

En este estudio, los especímenes grávidos de *Brycon cephalus*, al ser tratados con el estimulante hormonal EPC, se obtuvo una ovulación del 66.6% de las hembras tratadas, lo que significa que el tratamiento hormonal evaluado ha sido efectivo en la inducción de la ovulación. El EPC, contiene altos contenidos de LH y de otras hormonas aun no identificadas que causan sinergia en los procesos desencadenantes, los resultados obtenidos se deben a que las cantidades aplicadas de hormonas fueron adecuadas en desencadenar una serie de procesos a nivel eje hipotálamo – hipófisis – gonadal, que una vez llegados los estímulos al hipotálamo, se produce tanto GnRH y Dopamina, esta primera se encargará de estimular a la hipófisis para que produzca FSH, responsable de la formación de vitelo y LH, responsable de la maduración de ovulación (Landines et al., 2005, López, 1997).

Similares resultados fueron reportados por Gomes (1998); Romagosa et al. (2001) y Reynalte-Tataje et al. (2004), que evaluaron el uso del extracto de hipófisis de carpa (EPC) en *Brycon orbignyanus* y *Brycon amazonicum* quienes utilizaron dosis de EPC a razón de 5.5 mg/kg de peso del pez, dividida en dos aplicaciones (la primera de 0.5 mg/kg, y la segunda de 5 mg/kg con un intervalo de 12 horas), por otro lado, Pardo-Carrasco et al., (2002), aplicaron tres dosificaciones de la hormona mGnRH-a en la forma de implantes, como tratamientos para inducir la ovulación y el desove del yamú (*Brycon siebenthalae*) y a su vez compararlos con un tratamiento a base de extracto de pituitaria de carpa (EPC). Al final del estudio, el 50% de las hembras tratadas con el EPC desovaron, mientras que no hubo respuesta positiva en ninguna de las hembras tratadas con mGnRH-a. Por lo que las hormonas sintéticas en solución acuosa no es siempre la vía más adecuada para inducir la maduración en peces, pues la hormona inyectada de esta manera es rápidamente eliminada de la circulación sanguínea (Cook & Peter, 1980)

En cuanto a nuestros tratamientos con Ovaprin (T2) y Conceptal (T3), este estudio no ha conseguido la liberación de productos sexuales femeninos, probablemente esto se debe a que en la metodología adoptada no se ha considerado ningún vehículo para la aplicación o dilución de las hormonas sintéticas, esto concuerda con lo señalado por Ramos (2000), que indica que la falta de respuesta en los tratamientos, posiblemente se deba a las dosis empleadas y concluye que el uso de Ovaprim en *Brycon cephalus*, resultó efectivo al doble de la dosis recomendada por el fabricante. A su vez Rodríguez et al., (1992), señala que la inhibición reproductiva en hembras, también puede deberse a que los peces disminuyen los niveles de gonadotropina activa; por ende, las hormonas sexuales que determinan la maduración folicular en los reproductores. Flores (2002), indica que la inhibición del desove, viene dada por la influencia entre otros factores, como el mal manejo, y parámetros ambientales negativos que causan estrés en los reproductores siendo este último uno de los factores que influye directamente en el proceso reproductivo, desencadenando la liberación de cortisol, impidiendo una estimulación eficiente de la maduración ovocitario. En la medida que se puedan controlar estos aspectos, mucho más eficiente será el método de obtención del desove por inducción hormonal.

Además de la hipófisis de carpa, otros tipos de inductores hormonales también han sido evaluados en las especies del género *Brycon*. Por ejemplo, inducciones hormonales utilizando Gonadotropina Coriónica Humana (hCG) han sido realizadas de forma satisfactoria en *B. insignis* (Andrade et al., 2002). Autores que emplearon esta hormona mencionan que el desove ocurre entre las 143 horas-grado (24.2 °C) en *B. orbignyanus* (Reynalte-Tataje et al., 2004) y entre las 4 a 8 horas (26 °C) después de la última aplicación de la dosis en *Brycon amazonicus* (Romagosa et al., 2001), variando principalmente en función de la temperatura (Zaniboni-Filho et al. 2006).

Estos resultados se sustentan en lo afirmado por Welcomme (1979), citado por Galvis et al. (1989), que indican que la reproducción de muchos peces en los ríos tropicales (Characiformes) es altamente estacional existiendo una sincronización entre los procesos reproductivos de la mayoría de peces y el incremento en el nivel de las aguas. *Cyprinus carpio* considerado como donador universal de hipófisis, es un pez altamente prolífero y con desoves parciales, teniendo 2 o 3 desoves en intervalos de 14 días, indicándonos de esa manera que ésta especie almacena gran cantidad de hormona gonadotrófica.

## 5.2. Determinación del desempeño reproductivo de los peces

Con respecto al número de óvulos por gramo, Pardo-Carrasco *et al.* (2002), reporta en *Brycon siebenthalae*  $1,536 \pm 10$  de óvulos/g; y para *Brycon amazonicus*  $1,468,6 \pm 34,3$  óvulos/g. Similares resultados fueron obtenidos en nuestro estudio, que encontramos una media de  $1,273 \pm 29$  óvulos/g. por hembra desovante.

Otro de los indicadores estudiados, fue el efecto de los tratamientos sobre los óvulos, Por su parte, (Romagosa et al., 2001) estudiaron el efecto de distintos tratamientos hormonales en el grado de desarrollo del ovario de *Brycon cephalus*. Para este fin, muestras de ovocitos fueron retiradas antes de la primera y segunda dosis hormonal y en el momento de la ovulación, y de esta manera, pudieron verificar el efecto del EHC sobre la evolución del ovario, la ovulación y el desove bajo condiciones de confinamiento con base en observaciones externas asociadas a la morfología (microscopía de la luz y electrónica) y distribución de frecuencia del diámetro de los ovocitos, métodos que también fueron reportados para *Brycon insignis* (Andrade et al., 2002), *Brycon. opalinus* (Gomiero & Braga, 2007a,b; Narahara et al., 2002) y *Brycon amazonicus* (Pardo-Carrasco et al., 2002). En nuestro estudio se pudo determinar que los óvulos presentan un incremento del diámetro ovocitario por efecto de la hormona EPC en un 19% y que al realizar una prueba de T pareada, se ha determinado que existe diferencias significativas entre los individuos tratados ((t) = -10.5486; (p) bilateral = <0.0001). el cual nos indica que hay diferencias entre los óvulos al inicio y el final del tratamiento.

De acuerdo a nuestros resultados y la observación realizada, podemos señalar que probablemente un indicador de éxito reproductivo sea el incremento del diámetro ovocitario y la consiguiente maduración final del ovulo con migración del polo nuclear, esto se puede sustentar a lo señalado por Sundararaj & Vasal (, 1976) y Jalabert (1976), que señalan que el esteroide  $17\alpha$ -hidroxi- $2\beta$ -dihidroprogesterona ( $17\alpha$ - $2\beta$  Pg) producido por la envoltura folicular en respuesta a la gonadotropina pituitaria, es el más probable mediador de la maduración de los oocitos en varias especies de peces.

Por lo que podemos inferir que la acumulación de vitelogenina provenientes de la estimulación hormonal y síntesis en el hígado del pez, se acumulan en los óvulos a ser liberados, produciendo un incremento importante de estos y preparándolos probablemente para el proceso de desarrollo embrionario.

### **5.3. Evaluación de la espermiación y calidad espermática**

De acuerdo a nuestros resultados, todos los tratamientos hormonales fueron positivos (T1, T2 y T3), la maduración gonadal en los machos puede con mucha frecuencia no interrumpirse en cautiverio; y que en general, no es difícil obtener el esperma de peces criados en estanque. La hipofisación de los machos, si es que se lleva a cabo, es a menudo cuestión de conveniencia para asegurar la coordinación perfecta de la liberación de gametos; y sirve también para iniciar un adelgazamiento seminal, que hace el esperma más apropiado para la fecundación artificial, por lo que concuerda con lo señalado por Hoar & Nagahama, (1978).

Cuando los machos del bagre africano *Clarias gariepinus*, fueron tratados con hipófisis de carpa, Ovaprim y el análogo de la mGnRH ([D-Ala6]- GnRH $\alpha$ ), todas las hormonas empleadas elevaron los niveles de LH de la sangre, pero la mayor hidratación testicular fue observada en los peces tratados con extractos hipofisarios Viveiros & Komen (2000). En este trabajo de investigación se establece que el Ovaprim y el EPC producen un efecto similar, en la espermiación de los machos de *Brycon cephalus* debido a que inducen igual hidratación testicular en el semen de los peces tratados y que se verifica en con los volúmenes de semen encontrados.

## CAPÍTULO VI

### 6. PROPUESTA

En base a los resultados obtenidos en este estudio de investigación, proponemos lo siguiente:

Validamos el uso de la hormona Extracto Hipofisario de Carpa (EPC) para la estimulación a la ovulación en hembras grávidas de sábalo cola roja *Brycon cephalus* cultivadas en cautividad, y recomendamos las dosis de inducción usadas en esta investigación.

Proponemos el uso de las hormonas EPC, Conceptal y Ovaprim para estimular la espermiación en machos de sábalo cola roja *Brycon cephalus*, con las dosis de estimulación encontradas en esta investigación. Se debe tomar en cuenta el costo de cada uno de los inductores hormonales para seleccionar el adecuado.

Proponemos, también, que los resultados de este estudio, pueden ser utilizados como parte de la base fundamental para nuevos trabajos de investigación que se programen desarrollar en el Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana, en la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, y en otras instituciones de investigación de nuestra región y país.

## CAPÍTULO VII

### 7. CONCLUSIONES

Se ha determinado que el tratamiento hormonal con extracto pituitario de carpa (T1) tiene efectos positivos sobre el 66.6% de las hembras tratadas en el “Sábalo cola roja” *Brycon cephalus*

Los tratamientos hormonales con Extracto de Hipófisis de Carpa (T1), Tratamiento Hormonal con Conceptal (T2) y tratamiento hormonal con Ovaprim (T3), tienen efecto positivo sobre la espermiación en “sábalo cola roja”, *Brycon cephalus*, presentando diferentes comportamientos en cuanto al volumen seminal, espermatocrito y conteo de espermatozoides.

Validamos el tratamiento hormonal de hipófisis de carpa (EPC) con una dosis para las hembras de 5.5 mg/kg de pez y a dos aplicaciones (10% inicial y 90% desencadenante), con un intervalo de tiempo de 12 horas entre aplicación, mientras que para los machos validamos el uso de EPC y las hormonas sintéticas (Conceptal y Ovaprim) para la obtención de espermatozoides en el sábalo cola roja, *Brycon cephalus*.

## CAPÍTULO VIII

### 8. RECOMENDACIONES

Utilizar las dosis recomendadas y los procedimientos establecidos en esta investigación, teniendo a la hormona EPC como principal estimulador de hembras en la reproducción de *Brycon cephalus* en ambientes controlados.

Recomendamos que en los futuros estudios sobre efectos de los tratamientos hormonales sobre la reproducción en sábalo cola roja *Brycon cephalus*, se experimente con la medición de los niveles hormonales en el plasma sanguíneo, con la finalidad de observar que sucede internamente y como estas hormonas se incrementan o disminuyen durante la reproducción, llevando el experimento a un nivel más alto del conocimiento científico tradicional.

Continuar con mayores experimentos teniendo como base este estudio, como por ejemplo experimentar con mayores dosis hormonales, en cada una de las hormonas reportadas como negativas en este estudio, uso de vehículos inyectables, uso de implantes, etc.

Experimentar con los tiempos de aplicación hormonal entre dosis, con cada una de las hormonas disponibles en el mercado a fin de calcular el efecto en el cual se puede obtener una ovulación exitosa.



## CAPÍTULO IX

### 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**ANDRADE-TALMELLI, E.; KAVAMOTO, E.; ROMAGOSA, E. & FENERICH-VERANI, N.** (2001). Embryonic and larval development of the piabanha, *Brycon insignis*, Steindachner, 1876 (Pisces, Characidae). Boletím do Instituto da Pesca: 27(1): 21-28.

**ANDRADE, R.F.; BAZZOLIN, N.; RIZZO, E. & SATO, Y.** (2002). Continuous gametogenesis in the neotropical freshwater teleost, *Bryconops affinis* (Pisces: Characidae). Tissue & Cell 33:524-532.

**ARIAS, J & HERNÁNDEZ, J.** (2009). Efectos del extracto hipofisiario de carpa común y el análogo de la GNRH sobre la maduración final del oocito y el desove de la cachama negra (*Colossoma macropomum*), Rev. Científica FCVLUZ. Vol. XIX, Nº 5, 486 - 494.

**ARBELÁEZ-ROJAS, G.; MACHADO-FRACALOSSO, D. & FIM, J.I.** (2002). Composição corporal de tambaqui, *Colossoma macropomum*, e matrinxã, *Brycon cephalus*, em sistemas de cultivo intensivo, em igarapé, e semi-intensivo, em viveiros. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31(3):1059-1069.

**BRANDÃO, F.; GOMES, L.; CHAGAS, E.; ARAÚJO, L. & SILVA, A.** (2005). Densidade de estocagem de matrinxã (*Brycon amazonicus*) na recría em tanque-rede. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40(3): 299-303.

**BRETON, B. & WEILL, C.** (1973). Effets du LHFSHRH synthétique et d'extraits hypothalamiques de carpe sur la secretion d'hormone gonadotrope in vivo chez la carpe (*Cyprinus caipio*). C.R. Academie des Sciences. 277: 2061-2064.

- BRETON, B.; PRUNET, P.; & REINAUD, P.** (1978). Sexual differences in salmon gonadotropin. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 18, 759-767.
- BURZAWA-GÉRARD, E.** (1971). Purification d'une hormone gonadotrope hypophysaire de poisson téléostéen, la carpe (*Cyprinus carpio*). *Rev. Biochimie*, 53, 545-552.
- BURLAKOV, A.B., BELOVA, NV. & BELYANOV, N.J.** (1976). Specificity of gonadotropic hormones of the hypophysis of fish. *Fish. Mar. Serv. Trans.* 4152(1977). Publicado originalmente en *Minist. Rybn. Khoz. SSSR Tsentr. Nauchno Issled. Inst. Tekh. Ekon. Issled.* 1: 143-146.
- CAMPBELL, C.D & IDLER, D.R.** (1976). Hormonal control of vitellogenesis in hypophysectomized flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). *Gen. Comp. Endocrinol. (E.U.)*, 28, 143- 150.
- CAIN, M.L.; MILLIGAN, B.G. & STRAND, A.E.** (2000). Long-distance seed dispersal in plant populations. *American Journal of Botany*, 87: 1217–1227.
- CHU-KOO, F.W.; ALCÁNTARA, F.** (2007). De la selva su acuicultura. Sobre los avances en acuicultura en la Amazonía Peruana y las oportunidades de inversión. *Perú Económico*, 30(1):11-12.
- CHU-KOO, F.W.; CHONG, V.J.I.; VALLES, F.C.M.; RODRÍGUEZ, C.L.; ALCÁNTARA, B.F.** ( 2009). Impacto socio-económico de la piscicultura en el eje carretero Iquitos - Nauta (ECIN) y su área de influencia. Informe Técnico. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – IIAP. Iquitos, Perú. 51 pp.
- COPE, E.D. 1872.** On the Wyandotte Cave and Its Fauna. *The American Naturalist*. Vol. 6, No. 7 pp. 406-422

- COOK, A. & PETER, R.** (1980). The effect of temperature on the clearance of intraperitoneally injected gonadotropin in the goldfish *Carassius auratus*. *Aquaculture*, 19: 275-285
- COSSON, J.; BILLARD, C. & DRÉANNO, C.** (1999). Ionic factors regulating the motility of fish sperm. In: Gagnon C, editor. *The Male Gamete: from basic knowledge to clinical applications*. Vienna: Cache River press. pgs. 161-186.
- 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.
- CRIM, L.W.; PETER, R.E. & BILLARD, R.** (1976). Stimulation of gonadotropin secretion by intraventricular injection of hypothalamic extracts in the goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol*, 30, 77-82.
- 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.
- DONALDSON, E.M.; YAMAZAKI, F.; DYE, H. & PHILLEO, W.W.** (1972). Preparation of gonadotropin from salmon (*Onchorhynchus tshawytscha*) pituitary glands. *Gen. Comp. Endocrinol*, 18, 469-481.
- FERRAZ, E.; CERQUEIRA, V.; ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L. & CANDIDO, S.** (2002). Indução da desova do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, através de injeção á implante de LHRHa. *Boletim do Instituto de Pesca*, 28(2):125-133.

- FIM, J.D.I.** (2004). Intensive culture of matrinxã (*Brycon cephalus*) in stream channels: A new rural settlement development strategy for the Amazon. Fish culture performance in the tropics. Symposium Proceedings. International Congress on the Biology of Fish. Manaus Brazil.
- FARMER, S.W. & PAPKOFF, H.** 1977. A teleost (*Tilapia mossambica*) gonadotropin that resembles luteinizing hormone. Life Science Vol. 20, 1227-1232.
- FONTAINE, Y.A. & GERARD, E.** (1963). Purification d'un facteur gonadotrope de l'hypophyse d'un téléostéen, la carpe (*Cyprinus carpio*). C.R. Hebd. Seances Acad. Sci, 256, 5634- 5637.
- FOWLER, H.W.** (1950). Os peixes de água doce do Brasil. Arquivos de Zoologia, 6:333- 340.
- FENERICH-VERANI, N.; GODINHO, H.M. & NARAHARA, M.Y.** (1984). The size composition of the eggs of curimbatá *Prochilodus scrofa*, Steindachner, 1881 induced to spawn with human chorionic gonadotropin (HCG). Aquaculture, 42:37-41.
- FRASCÁ-SCORVO, C.M.D.** (1999). Comportamento alimentar do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) em tanques de cultivo. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, Brasil. 65p.
- FRASCÁ-SCORVO, C.M.D.; CARNEIRO, D.J. & MALHEIROS, E.B.** (2001). Comportamento alimentar do matrinxã (*Brycon cephalus*) no período de temperaturas mais baixas. *Boletim do Instituto de Pesca*, 27(1):1-5.
- FLORES, C.** (2002). Respuestas neuroendócrinas al estrés en peces teleósteos. *Revista de ictiología*.10 (1/2): 57-78.

- GARZA, G. & RODRÍGUEZ, M.** (1985). Técnicas para la reproducción inducida de *Cyprinus carpio specularis*. México. Universidad Autónoma Metropolitana, 10 pp.
- GALVIS, G.; MOJICA, J.; RODRÍGUEZ, F.** (1989). Estudio ecológico de una laguna de desborde del río Metica - Orinoquia Colombiana. Centro Editorial Universidad Nacional de Colombia, Fondo Fen Colombia.
- GOMES, L.** (1998). Sistema semi-intensivo para criação de larvas de matrinxã *Brycon cephalus*. Panorama de Aqüicultura, 8(45): 15-20.
- GOMIERO, L.M. & BRAGA, F.M.S.** (2007a). Gonadosomatic relation and reproductive strategy of *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) in the Serra do Mar State Park -Núcleo Santa Virgínia, Atlantic Forest, Brazil. Brazilian Journal of Biology, 67: 727-733.
- GOMIERO, L.M. & BRAGA, F.M.S.** (2007b). Reproduction of Pirapitinga do Sul (*Brycon opalinus* Cuvier, 1819) in the Parque Estadual da Serra do Mar-Núcleo Santa Virgínia, São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 67: 541-549.
- GOULDING, M.** (1983). The fishes and the forest. Explorations in Amazonian natural history. California Press. 280 pp.
- GRAEF, E.; RESENDE, E.; DE PETRY, P. & STORTI-FILHO, A.** (1987) Policultivo de matrinxã (*Brycon* sp.) e jaraqui (*Semaprochilodus* sp.) em pequenas represas. Acta Amazónica, 16/17 (único): 33-42.
- HARVEY, B. & HOAR, W.** (1980). Teoría y práctica de la reproducción inducida en los peces. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo. Bogotá, Colombia 48 pp.

- HIROSE, K. & ISHIDA, R.** (1974). Induction of ovulation in the ayu, *Plecoglossus altivelis*, with LH-releasing hormone (LH-RH). Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. (Japan), 40, 1235-1240.
- HO, F.C-W. & VANSTONE, W.E.** (1961). Effect of estradiol monobenzoate on some serum constituents of maturing sockeye salmon (*Onchorhynchus nerka*). J. Fish. Res. Board Can. Vol 18, 859-864.
- HOAR, W.S. & NAGAHAMA, Y.** (1978). The cellular sources of sex steroids in teleost gonads. Ann. Biol. Animal Biochim. Biophys. (France), 18, 893-898.
- HORN, M.H.** (1997). Evidence for dispersal of fig seeds by the fruit-eating characid fish *Brycon guatemalensis* Regan in a Costa Rican tropical rain forest. Ecologies, 109:259–264.
- HOUSSAY, B.A.** (1931). Action sexuelle de l'hypophyse sur les poissons et les reptiles. C. P. Soc. Biol. 106, 377-378.
- HURLBURT, M.E.** (1977). Role of the thyroid gland in ovarian maturation of the goldfish *Carassius auratus* L. Can. J. Zoo. Vol. 55(11), 1906-1913.
- IDLER, D.R.; BAZAR, L.S. & 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.
- IZEL, A.C.U.; PEREIRA-FILHO, M.; MELO, L.A.S. & MACÊDO, J. L. V.** (2004). Avaliação de níveis protéicos para a nutrição de juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). Acta Amazônica, 34(2):179-184.
- JALABERT, B.** (1976). In vitro oocyte maturation and ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) northern pike (*Esox lucius*) and goldfish (*Carassius auratus*) J. Fish. Res. Board Can. (Canada), 33, 974-988.

- KIM, Y.S.; STUMPF, W.E.; SAR, M. & MARTINEZ-VARGAS, M.C.** (1978). Estrogen and androgen target cells in the brain of fishes, reptiles and birds: phylogeny and ontogeny. *Am. Zool.* Vol. 18, 425-435.
- KESTEMONT, P.** (1988). Effects of hormonal treatments on induced ovulation in Gudgeon, *Gobio gobio*. *Aquaculture*, 68:373-385.
- KUCHARCZYK, D.; KUJAWA, R.; MAMCARZ, A.; WYSZOMIRSKA, E. & ULIKOWSKY, D.** (1999). Artificial spawning of ide (*Leuciscus idus*) under controlled conditions. *EJPAU. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*. Extraído de la página web: <http://www.ejpau.media.pl/volume2/issue2/fisheries/art-05.html>. (Visitado el 10 de noviembre de 2012).
- KHOO, K.H.** (1974). Steroidogenesis and the role of steroids in the endocrine control of oogenesis and vitellogenesis in the goldfish, *Carassius auratus*. Ph.D. thesis, University of British Columbia, Vancouver, BC, 126p.
- LAEVASTU, T.** (1980). Manual y métodos de biología pesquera. Editorial Acribia, Madrid, 243 pp.
- LAM, T.J.; PANDEY, S. & HOAR, W.S.** (1975). Induction of ovulation in goldfish by synthetic luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH). *Can. J. Zool.* (Canada), 53, 1189-1192.
- LANDINES, M & MOJICA, H.** (2005). Manejo y Reproducción de Carácidos. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional de Colombia. 91-104 p.
- LEITE, R.G. & ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.** (2002). Feeding of the *Brycon amazonicus*, *Triportheus elongatus* and *Semaprochilodus insignis* (Osteichthyes, Characiformes), larvae in Solimões/Amazonas river and floodplain areas. *Acta amazônica* 3 (2):56- 67.

- LEITE, R.G.** (2004). A alimentação de juvenis de matrinxã, *Brycon amazonicus* (Pisces, Characidae), em áreas inundadas da Ilha de Marchantaria, Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*, 34(4):661-664.
- LÓPEZ, J.** (1997). Nutrición Acuícola. 1.ed. Pasto, Colombia: Editorial Universidad de Nariño. 270 p.
- LOPES, R.N.M.; SENHORINI, J.A. & SOARES, M.C.F.** (1995). Desenvolvimento embrionário e larval do matrinxã *Brycon cephalus* Günther, 1869 (Pisces, Characidae). Boletim Técnico CEPTA, Vol. 8:25-39.
- LUTZ, I.** (1988). Induced spawning-Principles and examples. Rev. Aquaculture. Magaz. 24 (6): 72-76.
- MÜLLER, J. & TROSCHELL, F.** (1844). Synopsis generum et specierum familiae Characinarum. (Prodomus descriptionis novorum generum et specierum). Arch. Nat. gesch., 10(1): 81-99.
- MONAHAN, M.W.; AMOSS, M.S.; ANDERSON, H.A. & VALE, W.** (1973). Synthetic analogs of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor with increased agonist properties. Biochemistry (EU.), 12, 4616-4620.
- NARAHARA, M.Y.; TALMELI, A.; KAVAMOTO, E.F.E. & GODINHO, H.M.** (2002). Reprodução induzida da pirapitinga do sul, *Brycon opalinus*, mantida em condições de confinamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31:1070-1075.
- NG, T.B. & IDLER, D.R.** (1978). 'Big' and 'little' forms of plaice vitellogenic and maturational hormones. Gen. Comp. Endocrinol. (E.U.), 34, 408-420.
- 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.



- PETER, R.E. & CRIM, L.W.** (1978). Hypothalamic lesions of goldfish: effects on gonadal recrudescence and on gonadotropin secretion. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* (Francia), 18, 819- 823.
- PRODUCE.** (2013). Cosecha de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad de acuicultura según ámbito y especie (periodo enero – diciembre 2012). Boletín Estadístico. <http://www.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU01/2012.pdf>.
- RAMOS, S.** (2000). Efeito de análogos de LHRH em combinação com receptores antagonistas de dopamina na indução à pulação do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869), Dissertação (Mestrado). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo. 47 p.
- REYS, P.; SABINO, J. & GALETTI, M.** (2008). Frugivory by the fish *Brycon hilarii* (Characidae) in western Brazil. *Acta Oecologica*, 35: 136–141.
- RODRÍGUEZ, M & CARRILLO, A.** (2001). Manual de reproducción de peces de agua dulce. Serie técnica FAO. 60p.
- ROMAGOSA, E.; NARAHARA, M. & FENERICH-VERANI, N.** (2001). Seleção e caracterização de fêmeas de matrinxã, *Brycon cephalus*, induzidas a reprodução. *Boletim do Instituto de Pesca*, 27(2):139- 147.
- ROTHBARD, S.** (1981). Induced reproduction in cultivated Cyprinids – The common carp and the group of Chinese Carp. 1. The Technique of Induction, Spawning and Hatching. *Bamidgeh*, 33(4):103-121.
- REYNALTE-TATAJE, D.; ZANIBONI-FILHO, E. & ESQUIVEL, J.** (2004). Embryonic and larvae development of piracanjuba, *Brycon orbignyanus*, Valenciennes, 1849 (Pisces, Characidae). *Acta Scientiarum*, 26(1): 67-71.

- SOLANO, C; & URUEÑA, B. FR.** (2007) Evaluación comparativa del efecto del extracto pituitario de carpa (EPC) y gonadotropina coriónica humana (HCG) en la espermiación del yaque (*Leiarius marmoratus*). En: VI Seminario Internacional de Acuicultura. Bogotá: Revista Médica Veterinaria de Zoología. p244.
- SOKOLOWSKA, M.; POPEK, W. & BIENARZ, K.** (1978). Synthetic releasing hormones LH/FSH-RH and LH-RH: effect of intracerebral and intramuscular injection on female carp (*Cyprinus carpio*) maturation. Ann. Biol. Anim. Biochim Biophys. Vol 18 (4), 963-969.
- SCHREIBMAN, M.P.; LEATHERLAND, J.F. & MCKEOWN, B.A.** (1973). Functional morphology of the teleost pituitary gland. Am. Zool. Vol 13, 719-742.
- STACEY, N.E. & PANDEY, S.** (1975). Effects of indomethacin and prostaglandins on ovulation of goldfish. Prostaglandins (E.U.), 9, 597-607.
- SUNDARARAJ, B.I. & VASAL, S.** (1976). Photoperiod and temperature control in the regulation of reproduction in the female catfish *Heteropneustes fossilis*. Journal Fish. Res. Board Can. (Canada), 33, 959-973.
- TABARES, J. & TARAZONA, A.** (2005). Fisiología de la activación del espermatozoide en peces de agua dulce. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. Vol. 18:2. 149-161.
- VAL, A.L.; HONCZARYK, A.** (1995). Criando peixes na Amazônia. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. 160p.
- VARGHESE, T.J.; SATYANARAYANA, G.P.; DEVARAJ, K.V. & CHANDRASEKHAR, B.** (1975). Preliminary observations on the use of marine catfish pituitary glands for induced spawning of the Indian major carps. Curr. Sci. (Bangalore)(India), 44, 75-78.

**VIVEIROS, A. & KOMEN, J.** (2000). Sperm criopreservation of african catfish (*Clarias gariepinus*): Crioprotectans freezing rate and sperm: egg dilution. *Theriogenology* 54, 1395-1408.

**ZANIBONI-FILHO, E.; REYNALTE-TATAJE, D. & WEINGARTNER, M.** (2006). Potencialidades del género *Brycon* en la piscicultura brasileña. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 19(2): 233–240.

**ZANIBONI-FILHO, F.E. & BARBOSA, N.** (1996). Priming hormone administration to induce spawning of Brazilian migratory fish. *Brazilian Journal of Biology*, 56(4): 655–659.

## CAPITULO X

### 10. ANEXOS

Anexo 1. Base de datos del análisis de hembras sometidas a tratamientos.

Tratamiento	Repeticion	Sexo	Peso (kg)	Longitud (cm)	Efecto	Peso porcentual	Peso de ovulos (g)	Nro de ovulos/g
EXTRACTO DE PITUITARIA	1°	H	3.00	55.0	Negatvo		0	0
		H	3.09	56.0	Negatvo		0	0
		H	3.12	54.0	Positivo		216	1260
	2°	H	2.35	50.0	Positivo		131	1316
		H	2.68	50.5	Positivo		257	1285
		H	3.21	53.0	Positivo		303	1298
	3°	H	2.79	53.0	Positivo		119	1256
		H	2.74	52.0	Positivo		190	1289
		H	2.66	52.0	Negatvo		0	0
	Promedio			2.85	52.83	-		135.11
Tratamiento	Repeticion	Sexo	Peso (kg)	Longitud (cm)	Efecto		Peso de ovulos (g)	Nro de ovulos/g
CONCEPTAL	1°	H	2.75	58	Negatvo		0	0
		H	2.81	57	Negatvo		0	0
		H	2.79	54	Negatvo		0	0
	2°	H	3.18	54	Negatvo		0	0
		H	2.43	52	Negatvo		0	0
		H	2.265	51	Negatvo		0	0
	3°	H	2.74	52.0	Negatvo		0	0
		H	3.09	56.0	Negatvo		0	0
		H	2.79	53.0	Negatvo		0	0
	Promedio			2.76	54.11	-		0.00
Tratamiento	Repeticion	Sexo	Peso (kg)	Longitud (cm)	Efecto		Peso de ovulos (g)	Nro de ovulos/g
OVAPRIM	1°	H	2.22	48	Negatvo		0	0
		H	2.915	52	Negatvo		0	0
		H	2.215	54	Negatvo		0	0
	2°	H	2.57	54	Negatvo		0	0
		H	2.87	52	Negatvo		0	0
		H	2.22	48	Negatvo		0	0
	3°	H	2.915	52	Negatvo		0	0
		H	2.87	52	Negatvo		0	0
		H	2.74	52.0	Negatvo		0	0
	Promedio			2.61	51.56	-		0.00

Anexo 2. Base de datos del análisis de machos sometidos a tratamiento.

Tratamiento	Repetición	Sexo	Longitud (cm)	Peso (kg)	Cantidad de semen	DOSIS (2 mg/Kg de P.V)		Cantidad de hormona utilizada (mg)	Producción de esperma (ml/kg)	Espermatozoides
						DE (50%)	DD (50%)			
EXTRACTO DE PITUITARIA DE CARPA	1°	M	1.35	43.0		1.35	1.35	2.70		
		M	2.03	47.0		2.03	2.03	4.06		
		M	1.26	46.0		1.26	1.26	2.52		
	2°	M	1.62	46.0		1.62	1.62	3.24		
		M	1.92	42.0		1.92	1.92	3.84		
		M	1.10	42.0		1.10	1.10	2.20		
	3°	M	1.63	46.0		1.63	1.63	3.26	4	25
		M	1.89	53.0		1.89	1.89	3.77	6	28
		M	1.67	49.0		1.67	1.67	3.34	4.5	23
	Promedio			1.61	46.0		1.61	1.61	-	4.83
Tratamiento	Repetición	Sexo	Longitud (cm)	Peso (kg)	Cantidad de semen	DOSIS (1 ml/Kg de P.V)		Cantidad de hormona utilizada (ml)	Producción de esperma (ml/kg)	Espermatozoides
CONCEPTAL	1°	M	1.69	46.0		1.69	1.69	3.38		
		M	1.67	45.0		1.67	1.67	3.34		
		M	1.92	49.0		1.92	1.92	3.83		
	2°	M	1.67	49.0		1.67	1.67	3.33		
		M	1.71	47.0		1.71	1.71	3.42		
		M	1.44	55.0		1.44	1.44	2.88		
	3°	M	1.36	45.0		1.36	1.36	2.72	1.3	23
		M	1.92	49.0		1.92	1.92	3.83	1	22
		M	1.79	47.0		1.79	1.79	3.58	2	20
	Promedio			1.68	48.0		1.68	1.68	-	1.43
Tratamiento	Repetición	Sexo	Longitud (cm)	Peso (kg)	Cantidad de semen	DOSIS (0.25 ml/Kg de P.V)		Cantidad de hormona utilizada	Producción de esperma (ml/kg)	Espermatozoides
OV APRIM	1°	M	1.66	47.0		1.66	1.66	3.32		
		M	1.52	44.5		1.52	1.52	3.04	3	21
		M	1.98	49.0		1.98	1.98	3.95	4	20
	2°	M	1.79	47.5		1.79	1.79	3.58	1.2	20
		M	1.84	49.0		1.84	1.84	3.68		
		M	1.74	50.0		1.74	1.74	3.48		
	3°	M	1.59	54.0		1.59	1.59	3.18		
		M	1.71	51.0		1.71	1.71	3.42		
		M	1.68	48.0		1.68	1.68	3.36		
	Promedio			1.72	48.89		1.72	1.72	-	2.73

Anexo 3. Base de datos de parámetros físicos y químicos de las incubadoras.

Nº de chip(madre)	Nº de incubadora	hora	pH		Tº C		O <sub>2</sub> (mg/l)		flujo(L/min)
			Rango	Prom	Rango	Prom	Rango	Prom	
371513	1	6:00 am a 6:00pm	6.17-6.57	6.37	28.4-29.5	28.95	5.86-6.05	5.96	1.5
371760	3		6.23-6.88	6.55	28.1-29.5	28.8	6.06-6.13	6.09	1.5
371806	1	6:00 am a 6:00pm	6.20-6.55	6.38	28.3-29.2	28.75	5.80-6.02	5.91	1.5
371796	4		6.20-6.82	6.51	28.2-29.1	28.65	6.00-6.15	6.02	1.5
371921	1	6:00 am a 6:00pm	6.16-6.50	6.33	28.6-29.5	29.05	5.80-6.01	5,91	1.5
25983	4		6.24-6.85	6.55	28.1-29.2	28.65	6.02-6.33	6,12	1.5
25983	1	6:00 am a 6:00pm	6.14-6.60	6.37	28.4-29.2	28.8	6.0-6.10	6.05	1.5
371921	4		6.22-6.80	6.51	28.5-29.3	28.9	6.02-6.26	6.26	1.5
371770	1	6:00 am a 6:00pm	6.14-6.60	6.37	28.4-29.2	28.8	6.0-6.10	6.05	1.5
746258	4		6.22-6.80	6.51	28.5-29.3	28.9	6.02-6.26	6.26	1.5

Anexo 4. Base de datos del seguimiento de grados horas en la incubación de óvulos fecundados.

Nº	Hora	Hembra(Chip: 371921)		hembra(Chip:25983)		Hembra (chip:371770)		Hembra (chip: 746258)	
		Tanque 2 (T°C)	Horas/grado	Tanque 3(T°C)	Horas/grado	T°C	horas/grado	T°C	horas/grado
0	07:00 a.m.	29.7	0	29.8	0	29.6	0	30.0	0
1	08:00 a.m.	29.5	29.7	29.7	29.8	29.8	29.6	30.0	30
2	09:00 a.m.	29.6	59.2	29.8	59.5	29.9	59.4	29.9	60
3	10:00 a.m.	29.8	88.8	29.9	89.3	29.9	89.3	30.0	89.9
4	11:00 a.m.	29.9	118.6	30	119.2	30.1	119.2	30.1	119.9
5	12:00 p.m.	30.4	148.5	30.2	149.2	30.4	149.3	30.3	150
6	01:00 p.m.	30.6	178.9	30.4	179.4	30.6	179.7	30.5	180.3

## Anexo 5. Análisis estadístico sobre el volumen seminal

	Volumen seminal			FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
	T1	T2	T3	Tratamentos			
R1	4	1.3	3	Erro	2	17.66	8.83
R2	6	1	4		6	6.72	1.12
R3	4.5	2	1.2	F =		7.8839	
Promedio	4.83	1.43	2.73	(p) =		0.0213	
Desv. Stad	1.041	0.513	1.419	Média (Coluna 1) =		4.8333	
				Média (Coluna 2) =		1.4333	
				Média (Coluna 3) =		2.7333	
Tratamientos							
EPC	Conceptal	Ovaprim		Tukey:	Diferença	Q	(p)
4.83	1.43	2.73		Médias ( 1 a 2) =	3.4	5.5646	< 0.05
2.58	1.6398	4.3002		Médias ( 1 a 3) =	2.1	3.4369	ns
				Médias ( 2 a 3) =	1.3	2.1276	ns

## Anexo 6. Análisis estadístico sobre el espermatocrito

	Espermatocrito			FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
	T1	T2	T3	Tratamentos			
R1	25	23	21	Erro	2	40.222	20.111
R2	28	22	20		6	18	3
R3	23	20	20	F =		6.7037	
Promedio	25.33 a	21.66 a,b	20.33 b	(p) =		0.0298	
Desv. Stand	2.517	1.528	0.577	Média (Coluna 1) =		25.3333	
				Média (Coluna 2) =		21.6667	
				Média (Coluna 3) =		20.3333	
Tratamientos							
EPC	Conceptal	Ovaprim		Tukey:	Diferença	Q	(p)
25.33	21.67	20.33		Médias ( 1 a 2) =	3.6667	3.6667	ns
2.58	1.6398	4.3002		Médias ( 1 a 3) =	5	5	< 0.05
				Médias ( 2 a 3) =	1.3333	1.3333	ns