

ENSAYO DE REPRODUCCIÓN INDUCIDA EN *Ariopsis seemanni* (Günther 1864), UTILIZANDO HORMONA GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA (HGC) Y EXTRACTO PITUITARIO DE CARPA (EPC)

Essay of reproduction induced in *Ariopsis seemanni* (Günther 1864), using human hormone chorionic gonadotropin (hhCG) and pituitary extract of tent (PET)

Víctor Hugo Espinel Cárdenas - Biol Sc. cMSc. Docente Universidad del Pacífico. Correo-e: victorespinel@gmail.com

Rec: 10.08.2014 Acep: 14.11.2014

Resumen

Los peces de temprana edad (estado juvenil) del bagre marino *Ariopsis seemanni* conocidos como “Tiburoncitos”, son de alta demanda comercial como peces ornamentales en el mercado nacional e internacional. Los ejemplares que se obtienen en Colombia son colectados directamente del recurso natural, sin que se haya propuesto una estrategia para disminuir el efecto directo que ocasiona esta práctica sobre el proceso de reclutamiento de juveniles al stock pesquero. La reproducción inducida se plantea como una alternativa en la producción de alevinos y juveniles para esta especie. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de cuatro (4) tratamientos hormonales sobre la reproducción inducida de la especie. La investigación se realizó en la estación de la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP) en Bahía Málaga. Se evaluó el efecto de dos tipos de hormonas sobre el desove en veinticuatro parejas de peces adultos de *Ariopsis seemanni*. Estos peces fueron obtenidos del medio natural; se registraron pesos promedios de 263.6±42.2 gramos y 174.4±30.4 gramos para hembras y machos respectivamente. Los tratamientos hormonales usados: T₁: 5 mg EPC/Kg peso vivo; T₂: 7 mg EPC/Kg peso vivo; T₃: 2000 UI HGC/Kg peso vivo y T₄: 1000 UI HGC/Kg peso vivo. No se obtuvieron desoves en ninguna de las hembras inducidas. Se realizaron disecciones en las hembras de cada tratamiento y se encontraron dos sacos ováricos en cada hembra, cada saco ovárico contenía aproximadamente 10 a 14 huevos. Estos huevos presentaron un tamaño aproximado de 13 y 14 milímetros de diámetro.

Palabras clave: hormona, desove, bagre.

Abstract

Fish early age (juveniles) of tete sea catfish sea catfish known as "little sharks" are of high commercial demand as ornamental fish in the local and international markets. The specimens obtained in Colombia are collected directly from the natural resource, without having proposed a strategy to reduce the direct effect that this practice brings about the process of recruitment of juveniles to the fishing stock. Induced breeding is presented as an alternative in the production of fingerlings and juveniles for the species. The aim of this study was to evaluate the effect of four (4) hormonal treatments on the induced breeding of the species. The research was conducted at the station of the National Authority for Aquaculture and Fisheries (AUNAP) in Bahía Malaga. The effect of two types of hormones on spawning in twenty-four pairs of adult fish *Ariopsis seemanni* was evaluated. These fish were obtained from the natural environment; weights averaging were recorded 263.6 ± 42.2 and 174.4 ± 30.4 grams for females and males respectively. Hormonal treatments used: T₁: EPC 5 mg/kg body weight; T₂: EPC 7 mg/kg body weight; T₃: HGC 2000 IU/kg body weight and T₄: HGC 1000 IU/kg body weight. They spawning not obtained in any of the induced females. Dissections were performed in females of each treatment and two egg sacks were found in every female ovarian each bag containing about 10-14 eggs. These eggs had an approximate size of 13 and 14 millimeters in diameter.

Keywords: hormone, spawning, catfish.

Introducción

Los peces de temprana edad (estado juvenil) de *Ariopsis seemanni*, conocidos como "Tiburoncitos", son de alta demanda en el comercio y mercado de peces ornamentales a nivel nacional e internacional; esta es una especie marina, que tiene autorización para su comercio como especie ornamental (Incoder 2007); para el año 2009 se exportaron un total de 204.972 ejemplares (CCI 2009), representando la especie de mayor relevancia entre las que se exportan como pez ornamental marino.

La agenda nacional en pesca y acuicultura 2011-2012 (MADR-IICA, 2011), estableció algunas necesidades, expresadas como demandas tecnológicas en acuicultura marina y para la acuicultura de especies ornamentales, indicando la incorporación de especies nativas marinas, de consumo y ornamental, a la acuicultura comercial; escenario que permite el desarrollo investigaciones en muchas especies priorizadas y en particular en la especie de este trabajo de investigación.

El control de la función reproductiva en cautiverio es esencial para la sostenibilidad de la producción de la acuicultura comercial; en muchos peces se puede lograr mediante la manipulación de factores como el fotoperiodo, temperatura del agua o sustrato de desove. La maduración de los oocitos, la ovulación en las hembras, y la espermiación en machos pueden requerir terapias hormonales exógenas. En algunos peces, estas manipulaciones hormonales se utilizan sólo como una herramienta para mejorar la eficiencia de la producción de huevos y facilitar las operaciones de cultivo, pero en otros casos el uso de hormonas exógenas es la única manera de producir huevos fertilizados de forma segura (Mylonas *et al.*, 2010)

Los procesos de reproducción inducida que se realizan en diferentes especies de peces, ha permitido a los acuicultores lograr producir larvas y alevinos en épocas del año donde de forma natural no podrían obtenerse, debido a la falta de estímulos ambientales naturales que desencadenan los procesos fisiológicos propios de la maduración y el desove.

El uso de agentes hormonales como la HGC y el EPC, han sido efectivos en la reproducción inducida de algunas especies de bagres de agua dulce como *Pangasius bocourti* (Cacot, *et al.*, 2002), *Rhamdia quelen* (Ortega y Rodríguez, 2004), *Pseudoplatystoma fasciatum* (Gervasio *et al.*, 2004) *Clarias batrachus* (Sahoo *et al.* 2007).

Los registros generados en esta investigación, son el primer aporte documentado a la reproducción inducida en esta especie de bagre marino, hacia la producción de alevinos y juveniles para comercio ornamental; para cultivos a talla comercial o para actividades de repoblamiento de la especie en los mares; todas enmarcadas hacia el fomento y desarrollo de la maricultura en Colombia.

Esta investigación evaluó el efecto de cuatro tratamientos hormonales sobre la maduración y el desove en hembras adultas de *Ariopsis seemanni* en un proceso de reproducción inducida utilizando dos tipos de hormonas Extracto Pituitario de Carpa EPC y Hormona Gonadotropina Coriónica – HGC.

Metodología

La investigación, se realizó utilizando, las instalaciones de la Estación Acuícola en Bahía Málaga, de la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP), ubicada en el costado izquierdo de la Bahía Málaga entre los 3° 55'N y los 77°

21' O, en la región central de la Costa Pacífica colombiana, jurisdicción del distrito de Buenaventura. En un área aproximada de 140 m², se adecuaron sistemas de abastecimiento de agua, tanques y aireación, para el desarrollo de la fase experimental, se utilizó agua marina a condiciones de temperatura y salinidad ambiente presentes en la zona

Se colectaron 80 parejas de peces adultos en estado de madurez sexual de *A. seemanni*, obtenidos del medio natural, mediante pesca con anzuelo, en inmediaciones del corregimiento de La Plata, zona interna en Bahía Málaga. Esta labor fue desarrollada por pescadores de la zona, con experiencia en la captura de ejemplares vivos de peces con propósitos de investigación y acuicultura. Los peces fueron llevados hasta la estación de la AUNAP, al momento de su recibo se observó su condición (presencia de heridas, daños corporales, mutilaciones, etc.); estos peces fueron colocados por sexo separados en dos tanques de 2500 litros de capacidad, con aireación y flujo constante de agua durante 24 horas tiempo para su aclimatación y adaptación a las condiciones fisicoquímicas del agua marina usada en el lugar, así como también para reducir el estrés postraumático por captura y transporte (Fig. 1A)

Para el manejo de los reproductores, se utilizó aceite de clavo de olor como anestésico, a una concentración de 10 ppm, lo que permitió un adecuado manejo de los peces, así como en las actividades de reproducción inducida (Fig. 1B).

Se utilizó una población de 24 reproductores hembras y 24 reproductores machos, los cuales fueron individualmente: medidos con una regla ictiómetro y un calibrador digital marca Hopex modelo Werkzeuge con capacidad de 0 a 200 mm y pesados utilizando una balanza digital marca Kern modelo PCB de 1.000 gramos (g) de capacidad y resolución de 0.1 g, que permitió determinar con base al peso, la cantidad de dosis hormonal usada.

Para evaluar el efecto de dos tipos de hormonas sobre el desove en *A. seemanni*, sometido a reproducción inducida, se plantearon cuatro tratamientos hormonales: T₁: 5 mg EPC/Kg peso vivo; T₂: 7 mg EPC/Kg peso vivo; T₃: 2000 UI HGC/Kg peso vivo y T₄: 1000 UI HGC/Kg peso vivo.

Para la preparación de los tratamientos hormonales con base en la HGC, se utilizó la hormona marca Chorulon®, en presentación de ampolla individual de 10.000 UI estado sólido con su respectivo diluyente. Para la preparación de los tratamientos hormonales con base en EPC, estos se pesaron, en una balanza digital semi analítica Marca Kern de capacidad de 300 g resolución de 0.001 g. Para cada tratamiento fueron disueltas en suero fisiológico obteniendo dos soluciones de EPC líquida a concentraciones de 5 mg y 7 mg respectivamente

Para los tratamientos con base en EPC: en las hembras fue aplicada, una inyección preparatoria y una inyección final con el 30% y el 70% del total de la dosis hormonal respectivamente. Para los tratamientos con base en HGC: en las hembras se aplicó una dosis preparatoria y una dosis final cada una con el 50% de la dosis total hormonal.

Para todos los machos se utilizó la mitad de la dosis hormonal acorde al peso de cada macho en cada uno de los tratamientos, dosis que fue inyectada al momento de colocar la dosis final en las hembras de cada tratamiento. El tiempo entre las dos inyecciones para las hembras en todos los tratamientos fue de 24 horas. Las dosis hormonales fueron administradas en la región abdominal de cada reproductor (Fig. 1C).

Luego de aplicar las dosis hormonales, los reproductores se distribuyeron en proporción de 1 hembra y 1 macho en un tanque plástico con tapa, de una capacidad de 120 litros (Fig. 1D y 1E), usados como unidades experimentales, con 6 unidades experimentales (réplicas) por cada tratamiento hormonal propuesto. Cada tanque tuvo un flujo constante de agua marina y de aireación (a discreción). Cada uno de estos recipientes se revisó de forma regular a partir de 6 horas de aplicada la dosis definitiva en los reproductores, con el fin de observar los posibles desoves.

Se registraron parámetros fisicoquímicos del agua como la temperatura utilizando un termómetro marca Brixco de 0 a 50 grados centígrados (°C), el contenido de oxígeno disuelto y porcentaje de saturación con una sonda paramétrica marca YSI modelo 550A y la salinidad con un refractómetro salinómetro marca Atago modelo S10α.

Se realizaron observaciones macroscópicas empleando un microscopio estereoscopio marca Nikon modelo SMZ-1. Para el registro fotográfico se utilizó una cámara digital marca Sony modelo Cyber-shot.

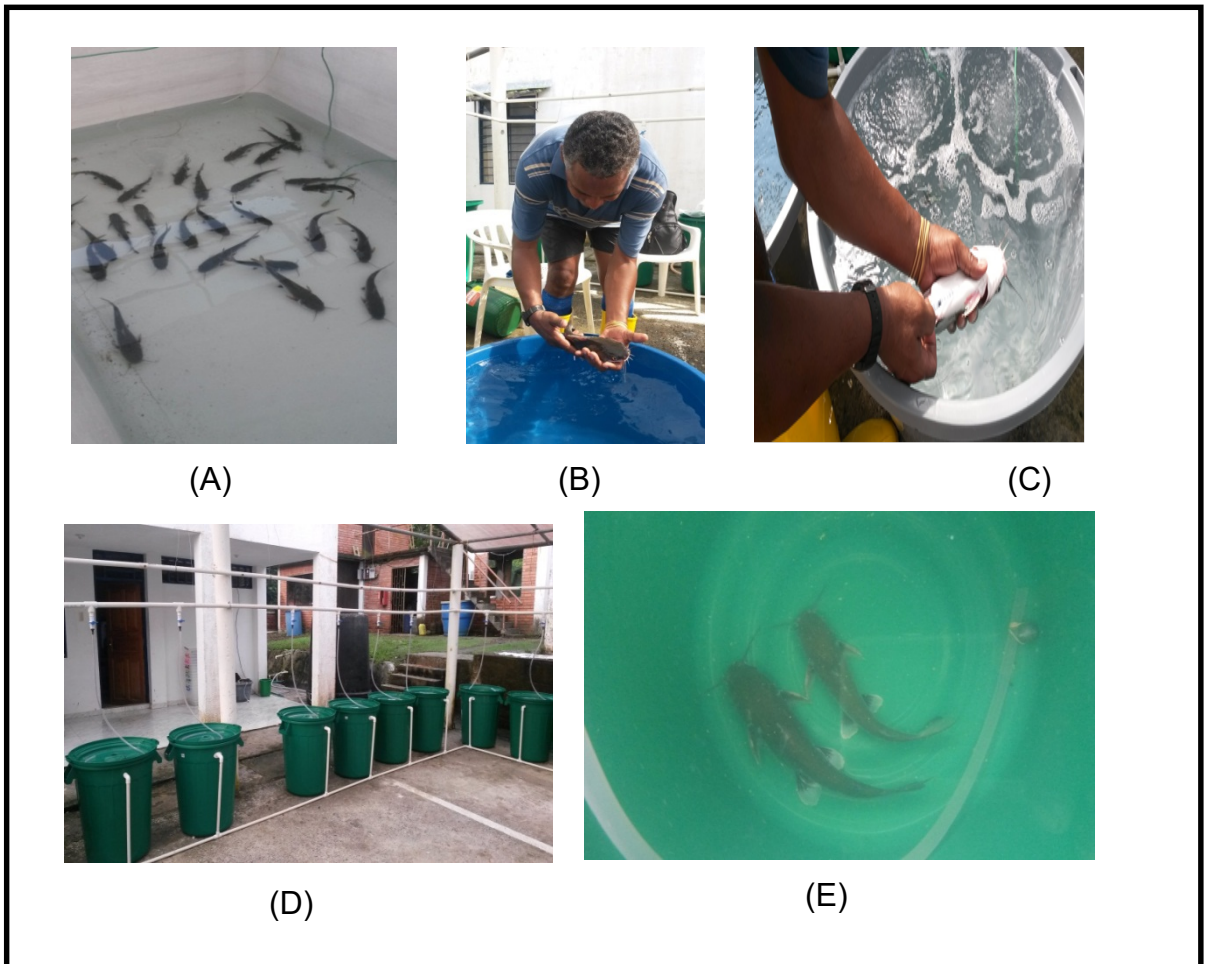


Figura 1. A: Reproductores *Ariopsis seemanni*; B: Manipulación peces; C: Inyección dosis hormonal; D: Tanques para reproductores; E: Parejas de reproductores por tanque. Técnica digital. Archivo del Autor, 2013.

Resultados

En la determinación de signos externos de posible madurez sexual en reproductores, Se reconocieron de forma subjetiva algunos rasgos morfológicos en hembras: abultamiento de abdomen y protuberancia de la papila genital (Fig. 2A), así como también una carnosidad especial presente en las aletas pélvicas en las hembras (Fig. 2B).

Las medidas biométricas relacionadas con el peso y la longitud de los ejemplares usados en el estudio se presentan en las tablas 1 y 2 respectivamente. La tabla 3, presenta los valores medidos para algunos de los parámetros fisicoquímicos del agua de mar usada.

La tabla 4, presenta un resumen de los tratamientos hormonales utilizados y respuesta al desove en hembras de *Ariopsis seemanni* inducidas.

La figura 2C, muestra una imagen de los huevos encontrados en los sacos ováricos de algunas de las hembras inducidas hormonalmente.

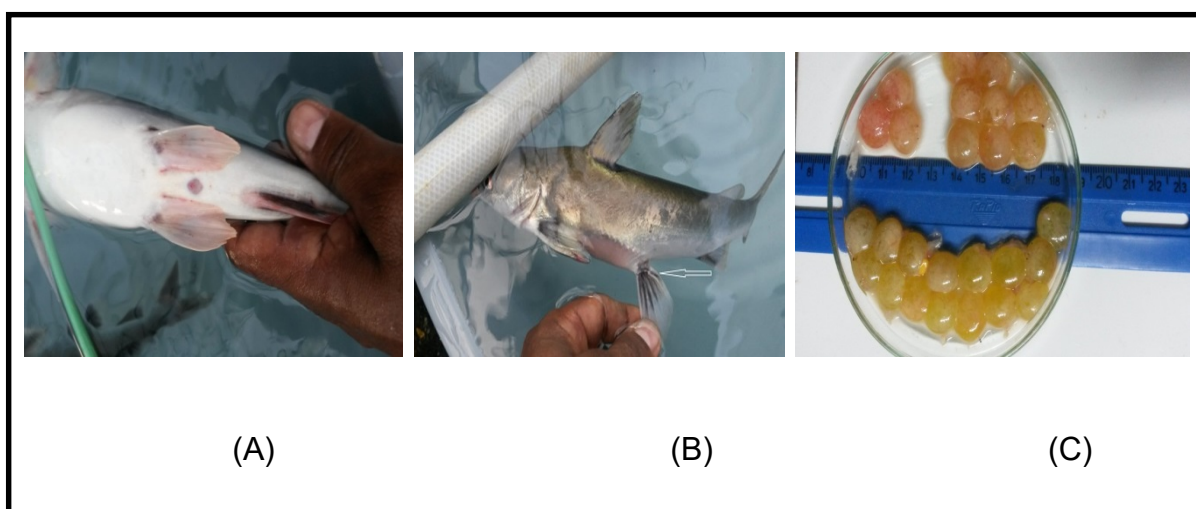


Figura 2. A: Abdomen papila genital; B: Carnosidad aleta pélvica; C: Huevos *Ariopsis seemanni*. Técnica digital. Archivo del Autor, 2013

Tabla 1. Peso promedio reproductores *Ariopsis seemanni* por sexo y tratamiento, valores en gramos (g)

	EPC		HGC	
	5 mg/kg	7 mg/kg	2000 UI/Kg	1000 UI/Kg
Hembras	284.98 ± 48.0	276.68 ± 46.0	259.52 ± 23.7	233.08 ± 23.7
Machos	181.95 ± 41.9	178.73 ± 13.4	164.22 ± 34.4	172.63 ± 20.2

Tabla 2. Longitud total promedio reproductores *Ariopsis seemanni*, por sexo y tratamiento, valores en centímetros (cm)

	EPC		HGC	
	5 mg/kg	7 mg/kg	2000 UI/Kg	1000 UI/Kg
Hembras	30.75 ± 1.28	30.42 ± 0.73	30.17 ± 1.25	29.67 ± 1.14
Machos	26.67 ± 1.34	26.75 ± 0.56	26.67 ± 1.72	26.83 ± 0.94

Tabla 3. Valores promedio de parámetros fisicoquímicos del agua

Parametro	Unidad	Reproducción Inducida	Incubación	Larvicultura
Oxígeno Disuelto	mg/l	7.16 ± 0.06	6.48 ± 0.08	6.53 ± 0.08
Saturación O ₂	%	80.2% ± 0.006	82.2% ± 0.002	83.2% ± 0.003
Temperatura	°C	28.43 ± 0.36	28.38 ± 0.37	28.23 ± 0.39
Salinidad	UPS	28.8 ± 0.02	28.8 ± 0.02	28.8 ± 0.02
Flujo de agua	L/min	0.97 ± 0.046	4.9 ± 0.017	
Recambio de agua	%/dia			80%

Tabla 4. Resumen Tratamientos y respuesta al desove en hembras de *Ariopsis seemanni*

Tratamiento	Replica	Dosis hormonal	Dosis		Ovulación	Respuesta al Desove
			Inicial	Final		
T ₁	1 a 6	5 ^a	30%	70%	50%	-
T ₂	1 a 6	7 ^a	30%	70%	66,7%	-
T ₃	1 a 6	1000 ^b	50%	50%	50%	-
T ₄	1 a 6	2000 ^b	50%	50%	66,7%	-

^a mg de extracto pituitario de carpa EPC por kg de peso pez

^b UI de gonadotropina coriónica HGC por kg de peso pez

- Respuesta negativa al desove

Discusión

Se reconocieron algunos de los signos externos presentes en los reproductores como el abultamiento en el abdomen y la papila genital en las hembras (Fig. 2 A), la expulsión de esperma ante una leve presión en dirección antero posterior en los machos (Woynarovich y Horváth 1980; Chaparro 1984; Atencio 2001). Se observó un engrosamiento o carnosidad en las aletas pélvicas en las hembras (Fig. 2B), como un rasgo morfológico que se hace presente en las hembras de

la especie en épocas reproductivas. Es un signo morfológico que no está presente en las hembras comúnmente, sino que se presenta en épocas donde se encuentran hembras y machos en periodo de reproducción y de incubación de huevos; que concuerdan con los periodos de mayor intensidad de lluvias en el año (meses de mayo–junio y octubre–noviembre).

Aunque algunos de los signos morfológicos externos en varias especies ícticas son indicadores subjetivos de posible madurez sexual, la determinación de una madurez sexual óptima para los procesos de reproducción inducida, en la cual el EPC y la HGC, pueden tener un efecto determinante que facilite la maduración final de los oocitos; está definida por criterios como la posición del núcleo en el oocito y la migración del núcleo hacia la periferia; este análisis se logra mediante la extracción de huevos a través de biopsias ováricas. La extracción de estos oocitos se hace muy viable en aquellas especies ícticas que sus huevos presentan tamaños pequeños y que pueden ser succionados al interior de una cánula.

En las hembras de *A. seemanni*, no fue posible hacer la extracción de los oocitos debido al tamaño que presentan, que no hizo viable el uso de alguna cánula. Esto no permitió determinar el estado exacto de desarrollo y madurez de los oocitos, posiblemente no tener esa certeza en la maduración de oocitos, pudo influir para que la HGC y el EPC no pudiesen ser eficaces para la maduración final y/o el desove.

Las hembras utilizadas, evidenciaron un mayor peso y tamaño que los machos en cada uno de los tratamientos (Tabla 1 y 2), aspecto similar que se presenta en algunas especies marinas, como es el caso del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Gamboa *et al.* 2007). Aunque las longitudes y pesos encontrados permiten observar peces de poco peso y corto tamaño acorde a lo reportado para la especie, en los que observaron signos externos de madurez sexual.

Los parámetros fisicoquímicos del agua de mar medidos durante el experimento, se encuentran dentro de los rangos considerados viables en acuicultura para especies de aguas cálidas (tabla 3), características que se intuye generaron un ambiente adecuado a los peces en los cuales posiblemente se redujo el estrés por cautiverio en estos reproductores de escaso periodo adaptativo.

Relacionado con el desove, del total de hembras inyectadas en los cuatro tratamientos, no se obtuvieron desoves en ninguna de ellas. Se hicieron disecciones en hembras de cada tratamiento; encontrando en cada hembra dos sacos ováricos, cada uno con 10 a 14 huevos por saco en promedio, Los

huevos presentaron un tamaño aproximado de 13 a 14 mm de diámetro y se reconocieron en estos huevos, tres coloraciones (Fig. 2C)

En cada hembra se encontraron un promedio aproximado de un 60% - 65%, de huevos de coloración verde claro, un 30% – 34%, de color amarillo – verde y un 5% a 10%, con huevos de color ligeramente amarillo – anaranjado.

Los tratamientos hormonales se plantearon tomando como referentes algunas de las dosificaciones utilizadas en bagres por otros autores (Sahoo *et al.*, 2007; Ortega y Rodríguez, 2004) y en las utilizadas en *Lutjanus guttatus* (Gamboa *et al.*, 2007) presente en la zona del Pacífico colombiano

Aunque se pudo reconocer en algunos huevos con una posible maduración final, dado el tamaño y coloración en relación con otros oocitos encontrados en el saco ovárico; no haber obtenido desoves espontáneos de las hembras inducidas, pone en consideración que posiblemente existen otros factores adicionales a los considerados en la investigación que pueden intervenir e influir en el proceso del desove, de acuerdo también con el tamaño y grado de complejidad que encontró en los huevos en las hembras de esta especie.

Debe tenerse en cuenta que el proceso de reproducción inducida en esta especie, posiblemente puede requerir el uso de múltiples dosis hormonales (+ de 2) en el caso de EPC, mayor cantidad de hormona (> 2000 UI/Kg peso vivo) en el caso de HGC; como también el uso de otro tipo de agente hormonal (LHRHa), de un valor económico inferior al de las hormonas utilizadas en esta investigación. Igualmente considerar que se requiere de posibles agentes externos como el refugio y sustrato para generar un ambiente adecuado de “independencia” a la hembra que estimule la ovipostura.

Conclusión

El uso de HGC y EPC en los tratamientos planteados causó maduración en los huevos de las hembras inducidas en un porcentaje entre el 50% y 66.7% en los tratamientos; aunque no fue lo suficientemente eficaz para lograr el desove espontáneo de los huevos en esta especie, bajo la metodología empleada en este proceso de reproducción inducida.

Para la reproducción inducida de esta especie posiblemente se abre la posibilidad al uso de otros agentes inductores de efecto a nivel de hipófisis que permitan desencadenar los estímulos hormonales necesarios que produzcan la madurez sexual final de oocitos y el desove.

Agradecimientos

El autor agradece a los estudiantes Doris Palacios, Jessi Molano y Steven Arrechea, del programa de Tecnología en Acuicultura, por su colaboración; a la Dra. Lury García, Dr. Pedro Tabares, Dra. Sandra Lamouroux y al personal de la Estación Acuícola de la AUNAP en Bahía Málaga. Esta investigación se logró gracias al aporte de recursos de la Universidad del Pacífico de Buenaventura y de la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP).

Bibliografía

- ATENCIO, V. 2001. Producción de alevinos de especies nativas. Rev. MVZ-Córdoba 2001; 6: (1), 9-14. ISSN: 1909-0544.
- CACOT P., M. LEGENDRE, T. QUOC, L. THANH, P. T. LIEM, C. MARIOJOULS, y J. LAZARD. 2002. Induced ovulation of *Pangasius bocourti* (Sauvage, 1880) with a progressive HCG treatment, Aquaculture, Volume 213, (1): 199-206
- CCI – MADR .Corporación Colombia Internacional CCI – Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia. 2009. Informe final Pesca y Acuicultura de Colombia 2009. 125 pág.
- CHAPARRO N. 1984. Reproducción artificial y manipulación genética en peces. Editorial Mejoras. Barranquilla Colombia. 208 Pág.
- GAMBOA, J. H., V. ESPINEL, A. FRESNEDA. 2007. Reproducción inducida y cultivo en cautiverio del pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) Steindachner, 1869, en la Bahía de Málaga costa pacífica colombiana. Memorias IV Seminario Nacional en Producción Acuícola de especies nativas.
- GERVÁSIO A. F., E. ROMAGOSA, M. I. BORELLA y S. R. BATLOUNI. 2004. Induced spawning of hatchery-raised Brazilian catfish, cachara *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), Aquaculture, Vol. 240 (1): 451-461
- INCODER 2007. Instituto Colombiano de Desarrollo Rural Resolución 3532 de 2007. Diario Oficial No. 46.854 de 27 de Diciembre de 2007.

- MADR – IICA, 2011. Agenda nacional de investigación en pesca y acuicultura 2011-2012. ISBN-958-57254. Bogotá, Colombia. 154 pp.
- MYLONAS C., A. FOSTIER, S. ZANUY. 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology* 165:516–534
- ORTEGA S. y C. J. RODRÍGUEZ V., 2004. Evaluación comparativa del efecto del extracto pituitario de carpa (EPC) y gonadotropina coriónica humana (HCG) en la reproducción inducida del bagre del Patía (*Rhamdia quelen*) en condiciones de cautiverio. Universidad de Nariño. Tesis de grado. 121 pp.
- SAHOO S.K., S. S. GIRI, S. CHANDRA y A. K. SAHU. 2007. Spawning performance and egg quality of Asian catfish *Clarias batrachus* (Linn.) at various doses of human chorionic gonadotropin (HCG) injection and latency periods during spawning induction, *Aquaculture*, Volume 266, No. 1. Pages 289-292
- WOYNAROVICH, E. & L. HORVÁTH. 1980. The artificial propagation of warm water finfishes - a manual for extension. FAO Fisheries Technical Paper # 201. 192 pp.