

Reproducción inducida de Capaz (*Pimelodus grosskopfii*) con extracto de hipófisis de carpa: reporte preliminar

Induced breeding of Capaz (*Pimelodus grosskopfii*) with carp pituitary extract: preliminary report

Rubén D. Valbuena - Villarreal¹, Beatriz E. Zapata-Berruecos¹
Pablo E. Cruz-Casallas²

¹Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Surcolombiana, Neiva, Colombia.

²Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos - GRITOX, Instituto de Acuicultura, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia. Email:rubendario@usco.edu.co

Recibido: Abril 22 de 2009. Aceptado: Octubre 15 de 2010

RESUMEN

Con el propósito de evaluar un protocolo para la reproducción inducida de capaz *Pimelodus grosskopfii*, fueron seleccionados machos y hembras en estado de madurez sexual avanzada, evaluada en los machos por emisión de semen ante una leve presión sobre la cavidad celómica y en las hembras por el diámetro de los ovocitos y la posición del núcleo, obtenidos por medio de biopsia ovárica. Como inductor a la maduración final de las gónadas se utilizó extracto de hipófisis de carpa (EHC), en dosis única de 4 mg kg⁻¹ para machos y 5.75 mg kg⁻¹ (tres inyecciones) para hembras. A partir de la última inyección de la hembra y hasta la ovulación, se registró la temperatura del agua para determinar el tiempo de latencia. El semen fue extraído 9 h después de la administración de la hormona. Las hembras ovularon a las 7 ± 0.2 h a una temperatura del agua de 27.9 ± 0.2 °C. La fecundidad reproductiva fue de 14800 ± 1000 ovocitos por hembra, la fertilidad de 90 ± 10 %, evaluada 6 h post-fertilización (HPF) y el porcentaje de eclosión de 80 ± 15 observada a las 12 HPF. Con estos resultados preliminares se concluye que el EHC es efectivo para inducir la maduración final de las gónadas en esta especie bajo condiciones de cautiverio y, en consecuencia, se convierte en una alternativa para manipular su reproducción en cautiverio y contribuir a la diversificación de la piscicultura colombiana.

Palabras claves: Capaz, extracto de hipófisis de carpa, *Pimelodus grosskopfii*, reproducción inducida.

ABSTRACT

In order to evaluate a protocol for induced breeding of Capaz *Pimelodus grosskopfii*, male and female in advanced stated of maturity were selected, it was evaluated in males by semen emission faced with a slight pressure in the coelomic cavity, and in females by the position of nucleus and oocyte diameter obtained through ovarian biopsy. As a final maturation inducer was used carp pituitary extract (CPE), with a single dose of 4 mg kg⁻¹ for males and 5.75 mg.kg⁻¹ (three doses) for females. Since the last dose of the female until ovulation, the water temperature

was recorded to determine the latency time; the semen was taken 9 hours (h) after the last dose of the male. Females ovulated at 7 ± 0.2 hours on water temperature of 27.9 ± 0.2 °C. Reproductive fecundity was $14\ 800 \pm 1000$ ovocytes per female. Fertility was 90 ± 10 %, it was evaluated at 6 hours post fertilization (HPF) and the hatching rate of 80 ± 15 was observed at 12 HPF. These preliminary results permit to conclude that the CPE is effective in inducing final maturation of the species in captivity and therefore this becomes an alternative for diversification of pisciculture in Colombia.

Key words: Capaz, carp pituitary extract, induced breeding, *Pimelodus grosskopfii*.

INTRODUCCIÓN

El Capaz (*Pimelodus grosskopfii*), también conocido como barbudo (Maldonado-Ocampo *et al.*, 2005) es un pez de la familia Pimelodidae, de hábitos alimenticios omnívoros (Cala, 1996), que se encuentra distribuido en las cuencas de los ríos Magdalena, Cauca, San Jorge, Sinú, Cesar, Atrato, Baudó y Catatumbo (Dahl, 1971; Mojica *et al.*, 2002), así como en los embalses de Betania (Huila) y Prado (Tolima) (Villa-Navarro, 1999). En Colombia se ha generado un creciente interés por especies del orden Siluriformes, especialmente de esta familia, debido a la buena aceptación comercial de su carne, a su alto valor en el mercado y por su importancia en la acuariofilia. Los Siluriformes, de acuerdo con su tamaño, se han agrupado en grandes, medianos y de pequeño porte. Dentro de este último grupo, de las especies más conocidas es el capaz (*Pimelodus grosskopfii*), considerado en la lista de las 30 especies de interés comercial para la cuenca del río Magdalena (Pesca y Acuicultura, 2006); además ha sido declarada como especie en peligro de extinción por la disminución de sus capturas y tallas en esta cuenca, como consecuencia de la sobrepesca y deterioro ambiental de la misma (Mojica *et al.*, 2002).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

El ensayo fue realizado en la Estación Piscícola "Piedra-Pintada" de la Central de Cooperativas de Caficultores del Huila (CENTRACAFE), ubicada en el municipio de Aipe, departamento del Huila, localizada a una altura de 390 msnm, con temperatura promedio anual de 29.5 °C.

Adaptación y manejo de reproductores

Los ejemplares utilizados fueron capturados en la represa Betania, ubicada en el departamento del Huila.

A nivel nacional el cultivo de bagres no se ha desarrollado comercialmente debido en parte a limitaciones tecnológicas para la producción estable y continua de alevinos. El desarrollo de esta tecnología debe superar problemas en las diferentes etapas de este proceso como: selección y manejo de reproductores, reproducción inducida, larvicultura y alevinaje. El capaz *P. grosskopfii* es una especie que no se reproduce en cautiverio de forma espontánea, ya que esta función está condicionada al proceso de migración ascendente o reproductiva que es dirigida hacia la parte alta del río Magdalena y sus afluentes (Useche y Avilés, 2001). Por lo tanto es necesario el empleo de inductores hormonales exógenos para inducir la maduración final de sus gónadas y lograr la obtención de gametos (Castagnolli, 1992).

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar un protocolo para la reproducción inducida de capaz (*P. grosskopfii*) mediante la utilización de extracto de hipófisis de carpa (EHC).

Inmediatamente después de capturados, los ejemplares fueron trasladados a la granja experimental en donde se alojaron en estanques en tierra de 500 m² preparados previamente, conservando una densidad de 300 g m². Durante el periodo de adaptación (dos meses) los peces fueron acostumbrados al consumo de dieta seca mediante el suministro de concentrado comercial para peces, con un nivel proteico de 30 %, a una tasa de alimentación del 2 % del peso vivo (PV), suministrado en dos raciones diarias.

Selección de reproductores

Después de la adaptación y acostumbramiento de los reproductores se inició la conformación del lote de reproductores utilizados en el proceso de inducción hormonal. La selección se hizo de la siguiente manera:

Preselección en el estanque

Durante el proceso de pesca se realizó una preselección, teniendo como criterio el tamaño, el cual constituye una característica de dimorfismo sexual, siendo los machos de menor talla que las hembras. Una vez realizada la preselección, los reproductores fueron trasladados a piletas circulares de concreto de 2000 l con recambio de agua permanente.

Selección de reproductores

Fueron seleccionados machos y hembras en estado de madurez sexual avanzada. A las hembras preseleccionadas les fue practicada una biopsia ovárica para obtener una muestra de 50 ± 6 oocitos, con el fin de evaluar en ellos el estado de madurez gonadal, con base en la posición de la vesícula germinal, observada después de la aclaración del corión con solución Serra (alcohol etílico 85 %, formol 10 %, ácido acético glacial 5 %), y el diámetro oocitario (Tabla 1) utilizando una reglilla adaptada a un estereoscopio (Vazzoler, 1996). Las hembras que presentaron más del 20 % de las vesículas germinales migrando fueron seleccionadas para la inducción.

Tabla 1. Diámetros pre inducción y posición del núcleo de oocitos de hembras de capaz *P. grosskopfii*, sometidas a inducción hormonal con EHC. Los valores corresponden a la media \pm DE

Tratamiento	Diámetros pre inducción (μm)	Diámetros post inducción (μm)	Posición de la vesícula germinal %			
			Central	Migrando	Periférica	Atrésica
EHC	904 ± 54.4	1240 ± 44.5	58.7 ± 2.4	28.6 ± 6.5	2.9 ± 2.7	9.7 ± 1.6

Con relación a los machos se seleccionaron aquellos que mostraron emisión de semen ante leve presión craneo caudal de las paredes de la cavidad celómica. Con base en ese criterio se seleccionaron 30 individuos, los cuales fueron alojados en piletas circulares de concreto con aireación permanente y una columna de agua de 20 cm, en proporción 1:1 machos y hembras.

Durante el proceso de selección mencionado, los reproductores fueron tranquilizados mediante inmersión en una solución 60 ppm de MS-222 (Tricaina metanosulfonato) (McFarland, 1969). Bajo esa condición, fueron pesados, medidos, marcados, trasladados en camillas de lona y alojados en piletas circulares de cemento de 2000 l, con aireación permanente.

Protocolo de inducción

Como inductor de la maduración final de las gónadas se utilizó extracto de hipófisis de carpa liofilizado (EHC) disuelto en suero fisiológico (0,9 %), en dosis total de $5,75$ y 4 mg kg^{-1} de peso vivo

(PV), para hembras y machos respectivamente (Tabla 2), administrado intramuscularmente en la base de la aleta dorsal. Durante el periodo de latencia, a partir de la aplicación de la última inyección de hormona, se midió la temperatura del agua cada hora.

Desempeño reproductivo

El desempeño reproductivo se determinó mediante el índice de ovulación, fecundidad absoluta, tasa de fertilización y tasa de eclosión (Tabla 3). Se consideró como índice de ovulación el número de hembras ovuladas sobre el número total de las hembras tratadas (índice de ovulación = hembras ovuladas/hembras tratadas). El momento de la ovulación se determinó cuando ocurrió liberación de oocitos después de suave presión y masaje en sentido craneo-caudal sobre la pared de la cavidad celómica. Inmediatamente después, se procedió al estrujamiento de la hembra para obtener el desove total. Los huevos fueron colectados en un recipiente plástico seco y posteriormente pesados

en una balanza analítica 5000D-12000G (±0.1 g). La fertilización se realizó en seco y la incubación de los huevos se llevó a cabo en incubadoras cilíndricas cónicas de 60 l de capacidad, con un flujo de agua de 3 l.min⁻¹

En cada una se colocaron 15 g de huevos hidratados. Durante la incubación se registró la temperatura (°C) del agua y del ambiente y la concentración de oxígeno disuelto (OD) (mg/l) y el pH (Tabla 4).

Tabla 2. Protocolo para la reproducción inducida de capaz *P. grosskopffii* utilizando EHC

	Dosis Total mg kg ⁻¹	Primera inyección ¹	Intervalo (h)	Segunda inyección	Intervalo (h)	Tercera inyección
HEMBRAS	5.75	0.25	24	0.5	12	5.0
MACHOS	4	4	***	***	***	***

¹ Para machos inyección única

A las 6 horas post-fertilización (HPF) se midió la tasa de fertilización, considerándose como huevos fertilizados aquellos que presentaron aspecto traslúcido y divisiones simétricas en el polo animal; los no fertilizados se identificaron por presentar coloración blanquecina (Contreras y Contreras, 1995). De la misma forma fue estimada la tasa de eclosión, medida entre las 11 y 12 HPF.

Para calcular la fecundidad absoluta, de cada hembra se pesó la cantidad (g) de oocitos desovados; luego se tomó una muestra de c.a. 1.0 g y se fijó en formol al 10 % para su posterior conteo. La fecundidad absoluta fue estimada mediante la siguiente fórmula (Laevastu, 1980):

$$F = n * \frac{G}{g}$$

Donde

F = Fecundidad (número de huevos desovados por hembra)
n = Número de ovocitos en la muestra

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

El semen también se obtuvo mediante masaje en sentido cráneo-caudal con la diferencia que este se recogió con ayuda de una sonda, debido a la poca cantidad producida (15 ± 5 µl).

Analisis estadístico

Todas las variables evaluadas fueron procesadas a través de estadística descriptiva y expresada como media ± desviación estándar de la media (DE). El efecto de la inducción hormonal sobre el diámetro oocitario fue realizado a través de análisis de varianza (ANOVA), donde p<0,05 fue utilizado como criterio estadístico para revelar diferencias significativas. Los datos fueron analizados con el software SAS para Windows (*Statistic Analysis System*) versión 8.02 (1999-2001 por SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

RESULTADOS

El peso promedio de las hembras inducidas fue de 400 ± 53 g y longitud total de 39±3 cm, mientras que en los machos el peso total fue de 189±15 g y la longitud total de 29±4 cm; evidenciándose que las hembras presentan tallas y pesos superiores a los machos.

La biopsia ovárica mostró que las hembras seleccionadas para el tratamiento hormonal presentaron un alto porcentaje de ovocitos con núcleos centrales (Tabla 1). Para el caso del diámetro promedio de los

ovocitos pre inducción y post inducción (904±54.4 y 1240±44.5 respectivamente), hubo diferencia significativa (p<0.05).

Los parámetros de calidad de agua, determinados a lo largo del ensayo se presentan en la Tabla 4. La temperatura, el OD y el pH se mantuvieron relativamente constantes durante los ensayos, tanto en las piletas de alojamiento de los reproductores, como en el sistema de incubación.

Tabla 3. Desempeño reproductivo de capaz *P. grosskopfii*, inducido con EHC. (n= hembras tratadas). Los valores corresponden a la media \pm DE

n	Respuesta ¹	Peso desove (g)	Nº de ovocitos ²	Fecundidad absoluta ³	Periodo de latencia (h) ⁴	Fertilidad (%)	Sobrevivencia embrionaria (%)
15	14/15	10 \pm 5	1480 \pm 200	14800 \pm 1000	7 \pm 0.2	90 \pm 10	80 \pm 15

1 Hembras ovuladas/hembras tratadas (índice de ovulación 93.3%)

2 En un gramo de ovocitos.

3 Número promedio de ovocitos desovados.

4 Temperatura promedio del agua 27.9 \pm 0.2°C.

Tabla 4. Variables físicas del agua en las piletas de alojamiento de reproductores y en el sistema de incubación de oocitos de capaz *Pimelodus grosskopfii*. Para cada parámetro, los valores corresponden a la media \pm DE

Variables	Piletas de reproductores	Sistema de Incubación
Temperatura (°C)	27.9 \pm 0.2	28.5 \pm 0.3
OD (mg l ⁻¹)	4.6 \pm 0.1	4.5 \pm 0.1
pH	6.8 \pm 0.1	6.9 \pm 0.2

La Tabla 3 muestra los valores del índice de ovulación, la tasa de fertilización, la tasa de eclosión y el tiempo de latencia a la ovulación. El índice de ovulación de las

hembras tratadas fue de 93.3 % y la fecundidad absoluta, expresada en gramos de ovocitos/hembra, fue de 10 \pm 5.

DISCUSIÓN

En este estudio, las hembras presentaron tallas y pesos corporales superiores que los machos, similar a lo reportado por Leonardo *et al.* (2004) y Resende *et al.* (1995) en otra especie del mismo orden de Siluriformes (*Pseudoplatystoma fasciatum*). Este dimorfismo también fue encontrado en *Rhamdia hilarii* por Narahara *et al.* (1985) y en *Pseudoplatystoma corruscans* (Resende *et al.*, 1995). Según Cala *et al.* (1996), Cala (1997) y Rodríguez y Pérez (1992), en *P. grosskopfii* no se observa dimorfismo sexual externo definido; sin embargo, las hembras son generalmente más grandes que el macho.

Se observó un aumento significativo del diámetro oocitario después de la inducción hormonal, lo cual corrobora los hallazgos de Kunkel y Flores (1996) y Romagosa *et al.* (2000) en *P. corruscans* y *P. fasciatum*, encontrando que este aumento de diámetro es indicación de maduración final de los oocitos.

Estudios en *P. fasciatum* señalan un diámetro oocitario pre inducción de 939.2 \pm 83.4 μ m y post inducción de 1625 \pm 153 μ m (Mira *et al.*, 2007). Por su parte, Leonardo *et al.* (2004) reportaron diámetro oocitario pre-inducción de 937.5 μ m para la misma especie e indicaron que todas las hembras en su primera maduración gonadal cuyos oocitos presentaron esta medida, respondieron satisfactoriamente a la inducción con EHC y hGG (gonadotropina coriónica humana).

El período de latencia en este estudio fue 7 \pm 0.2 h a 27.9 \pm 0.2°C, similar a lo encontrado por Sánchez (2002) para la misma especie (8.3 h a 26°C). El momento de extracción de los oocitos en peces inducidos con hormonas exógenas influye de manera importante sobre la fertilidad, la supervivencia del embrión, tasas de eclosión y el éxito del desarrollo larval (Mylonas *et al.* 1992).

La fecundidad encontrada en este estudio fue de 14800 ± 1000 ovocitos desovados, similar a lo encontrado para la misma especie por Useche (2001), lo cual confirma que por la cantidad de oocitos producidos no existe cuidado parental (Sánchez, 2002; Rodríguez y Pérez, 1992).

En cuanto a los machos, la producción de esperma fue baja como en muchas especies de silúridos, en virtud que la respuesta a los inductores es baja o a características anatómicas de las gónadas que dificultan su liberación, haciendo necesario muchas

veces la obtención del semen directamente de los testículos por medio de cirugía o sacrificio del animal (Nguenga *et al.*, 1996; Viveiros *et al.*, 2002; Castillo *et al.*, 2003).

Los ejemplares tratados respondieron favorablemente a la inducción hormonal con EHC, observándose para hembras un índice de ovulación 93.3 %. En conclusión, el protocolo utilizado es efectivo para *P. grosskopfii* obteniendo oocitos de buena calidad, aptos para ser fecundados y con un buen porcentaje de fertilidad.

REFERENCIAS

- Cala P, Perez C, Rodríguez I. Aspectos bioecológicos de la población de capaz, *Pimelodus grosskopfii* (*pices:pimelodidae*), en el embalse de Betania y parte alta del río Magdalena, Colombia. Revista de la academia colombiana de ciencias 1996; Vol. XX Numero 77.
- Cala P. Espermatogénesis y ciclo anual reproductivo del capaz, *Pimelodus grosskopfii* (*pices:pimelodidae*) en el alto río Magdalena, Colombia. Caldasia 1997; Vol. 19, números 1-2.
- Castagnolli N. Criação de peixes de água doce. Campus de Jaboticabal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Trabajo de grado.FUNEP 1992.
- Castillo JAM, Ramírez LR, Rodríguez PJA. Ensayos de reproducción y alevinaje en Yaque *Leiarius marmoratus* (Gill, 1870) (*Pises:Siluriformes:Pimelodidae*) en la Orinoquia Colombiana. Memorias IV Seminario Internacional de Acuicultura I Congreso Nacional de Investigaciones Acuícolas, Bogotá, Colombia 2003.
- Contreras PJ, Contreras J. Reproducción inducida de peces tropicales. En: Rodríguez H., Polo G., Salazar G (Eds). Fundamentos de Acuicultura Continental. INPA. Santafé de Bogotá, Colombia 1995; 127-138.
- Dahl G. Los peces del norte de Colombia. Bogotá, INDERENA. 1971; 391.
- Kunkel H, Flores S. Estructura histológica de los ovarios de *Pseudoplatystoma corruscans* (AGASSIZ, 1829) *Pimelodidae*, *Siluriformes*. Bol. Inst. Pesca 1996; 23: 203-212.
- Laevastu T. Manual de métodos de biología pesquera. Zaragoza, España 1980; 243.
- Leonardo GAF, Romagosa E, Borella MI, Batlouni SR. Induced spawning of hatchery-raised Brazilian catfish, cachara *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766). Aquaculture 2004; 240:451-61.
- Mira T, Castro SR, Medina-Robles VM, Murillo RP, Otero-Paternina AM, Ramirez-Merlano JA, Zapata-Berruecos BE, Velasco-Santamaria YM, Cruz-Casallas PE. Ensayos preliminares de reproducción inducida de bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* com extracto de hipofisis de carpa. En memorias de XIII Jornada de Acuicultura, Universidad de los Llanos. 2007; 67-69.
- Maldonado-Ocampo P. Peces de los Andes de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Editorial Ramos López, Bogotá. 2005.
- Mojica JI, Castellanos C, Usma JS, Álvarez-León R. Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad de Colombia. Ministerio del Medio Ambiente. Editorial Panamericana, Bogotá 2002.
- McFarland WN, Klontz GW. Anesthesia in fishes. Federal Proceedings 1969; 1535-1540.
- Mylonas CC, Hinshaw JM, Sullivan CV. GnRHa-induced ovulation of brown trout (*Salmo trutta*) and its effects on egg quality. Aquaculture 1992; 106: 379-392.

- Narahara MY, Godinho HM, Romagosa E. Estrutura da população de *Rhamdia hylarri* (Val. 1840) (*Osteichthyes, Siluriformes, Pimelodidae*). Bol. Inst. Pesca 1985; 12:123-137.
- Nguenga D, Breine JJ, Teugels GG, Ollevier F. Artificial propagation of the African catfish *Heterobranchus longifilis* (*Siluridae; Clariidae*): Description of a simple technique to avoid sacrificing male broodfish for the obtention of milt. *Aquaculture* 1996; 143:215-217.
- Pesca y Acuicultura. Corporación Colombia Internacional-INCODER. Colombia 2006.
- Resende EK, Catela AC, Nascimento FL, Palmeira SS, Pereira RAC, Lima MS, Almeida VLL. Biología do curimatá (*Prochilodus lineatus*), pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) e cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*) na bacia hidrográfica do rio Miranda, Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil, Corumbá, MS EMBRAPA CPAP. Boletín de pesquisa 1995; 2:75.
- Rodríguez RI, Perez M. Contribución al conocimiento de la biología del capaz *Pimelodus grosskopfii* en el embalse de Betania río Magdalena. Trabajo pregrado. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá 1992.
- Romagosa E, Andrade-Talmelli EF, Paiva P, Godinho HM, Batlouni SR. Observações preliminares sobre o comportamento reprodutivo das fêmeas de cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*, na região do Vale do Ribeira, SP, em condições de confinamento. *Braz. J. Morphol. Sci.* 2000; 17:224 (Suplemento).
- Sánchez-argas A. Ensayos preliminares de inducción a la ovulación y desove con dos agentes hormonales EPC y LH-RHa y seguimiento del desarrollo embrionario del capaz *Pimelodus grosskopfii*. Tesis pregrado. Universidad Nacional de Colombia. Santa fé de Bogotá 2002.
- Useche-Lopez CA, Aviles Bernal M. Validación del protocolo de reproducción inducida y caracterización del desarrollo de los sistemas digestivo y gonadal del capaz *P. grosskopfii*, especie promisoría para la acuicultura en el alto Magdalena. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. Centro de investigaciones de acuicultura Alto Magdalena. Gigante-Huila 2001.
- Vazzoler AEA. Biología da reprodução artificial de peixes teleósteos: teoria e practica. Maringá-PR, Brasil. Editora da Universidade Estatal de Maringá 1996.
- Villa-Navarro F. A. Estudio biológico pesquero de la represa de Prado para la determinación de especies promisorias en acuicultura. Presentado a Universidad del Tolima, Cortolima, INPA, Gobernación del Tolima y Comité Departamental de Cafeteros del Tolima. Universidad del Tolima. Ibagué, Colombia 1999.
- Viveiros ATM, Fessehay Y, ter Veld M, Schulz RW, Komen J. Handstripping of semen and semen quality after maturational hormone treatments, in African catfish *Clarias gariepinus*. *Aquaculture* 2002; 213:373-386.