

**REPRODUCCIÓN INDUCIDA DE *Rhamdia sebae* c. f. (SILURIFORMES:
PIMELODIDAE) CON OVAPRIM®**

ELIZABETH DÍAZ SÁNCHEZ

**UNIVERSIDAD JORGE TADEO LOZANO
FACULTAD DE BIOLOGÍA MARINA
ÁREA DE INGENIERIA Y RECURSOS NATURALES
BOGOTÁ
MAYO 2005**

**REPRODUCCIÓN INDUCIDA DE *Rhamdia sebae* c. f. (SILURIFORMES:
PIMELODIDAE) CON OVAPRIM®**

ELIZABETH DÍAZ SÁNCHEZ

Trabajo de grado para optar el título de Bióloga Marina

Director:

**José Alfredo Arias Castellanos
Biólogo, M.Sc. Ph.D.
Profesor investigador de la Universidad de los Llanos**

Codirector:

**Elizabeth Aya Baquero
Biólogo, Espec. Acuicultura**

**UNIVERSIDAD JORGE TADEO LOZANO
FACULTAD DE BIOLOGÍA MARINA
ÁREA DE INGENIERIA Y RECURSOS NATURALES
BOGOTÁ
MAYO 2005**

Nota de aceptación:

Firma del director

Firma del jurado

Firma del jurado

BOGOTÁ, día: _____ mes: _____ año: _____

DEDICATORIA

A Dios, por todas las oportunidades brindadas.

A mi mamá, por su apoyo incondicional y sabiduría.

A mi hija, la alegría de mi vida, por su amor, paciencia y fortaleza

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, mis primas Patricia (la madri), Yolima, Claudia (güagüa), Angélica, Catherine, mi sobrino Felipe, mis tías Stella y Esperanza, mi tío Jorge (el tito) y mi primo Jorge, a TODOS les quedo inmensamente agradecida por velar y cuidar de mi hija, ser su compañía en mis ausencias, educarla, consentirla, brindarle gran parte de su tiempo y de su economía, en fin gracias por su amor y apoyo incondicional con ella y conmigo.

A mis amigas (tías, nanas y madrinas de mi hija), Gladys Garcés, Mónica Vásquez, Elizabeth Cortés, Andia Chávez, Haydeé Domínguez, Sandra Bogotá, Mariana Gutiérrez y Paola Lara, por su positivismo, animo, colaboración, prestamos, ayudas económicas, paciencia, consejos y por todos los momentos compartidos.

A la Dra. Cristina Fandiño, mi madrina de corazón, por obsequiarme los dos últimos semestres de mi carrera.

Al Dr. Jorge Torres, gran amigo, por su apoyo en los momentos que más lo necesitaba.

A mi pediatra Dr. Hidalgo, por estar siempre pendiente de mí bebe, sus consejos, su interés por todo lo relacionado con mi profesión, y mi crecimiento personal.

A mi maestro Dr. Néstor Hernando Campos y Adriana Bermúdez, por su sabiduría, sus consejos, su preocupación por mi estado de ánimo, su paciencia, estar siempre dispuestos a escucharme, por permitirme trabajar con ellos, transmitirme sus conocimientos y dejarme las puertas abiertas.

A mi Director Dr. José Alfredo Arias Castellanos, por darme la oportunidad de realizar mi trabajo de grado, transmitirme parte de sus conocimientos, y por invitarme a conocer algunos lugares del Llano.

A mi codirectora Elizabeth Aya, mi otra mamá, por acogerme en su casa, sus consejos, su apoyo incondicional y sus enseñanzas.

A la fundación Universidad Jorge Tadeo Lozano por la educación brindada.

Al Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos (IALL), por permitirme hacer mi tesis y facilitarme toda su logística.

CONTENIDO

	Pag.
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABLAS	
LISTA DE ANEXOS	
RESUMEN	
INTRODUCCIÓN	10
1. METODOLOGÍA	14
1.1. LOCALIZACIÓN	14
1.2. ANIMALES EXPERIMENTALES	15
1.3. PROCEDIMIENTO	16
1.3.1. Selección de reproductores	16
1.3.2. Tratamientos hormonales	18
1.3.3. Ovulación y desove	18
1.3.4. Fertilización e incubación	20
1.3.5. Fertilidad	22
1.3.6. Sobrevivencia embrionaria	22
1.4. ANÁLISIS DE DATOS	23
2. RESULTADOS	24
3. DISCUSIÓN	26
4. CONCLUSIONES	30
5. RECOMENDACIONES	31
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

LISTA DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Esquema del control endocrino en la reproducción de peces. Tomado de Panorama da Aqüicultura setembro/outubro 1999, 41p.	11
Figura 2. Estación Piscícola del Instituto de Acuicultura de la Universidad de Los Llanos (IALL).	14
Figura 3. Pesca de reproductores de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. confinados en estanques en tierra de la Estación Piscícola del IALL.	15
Figura 4. Reproductores de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. (macho a la izquierda y hembra a la derecha).	17
Figura 5. Realización de la biopsia ovárica en una hembra de <i>Rhamdia sebae</i> c. f..	17
Figura 6. Obtención de ovocitos por estrujamiento en <i>Rhamdia sebae</i> c. f.	19
Figura 7. Obtención del semen por estrujamiento en <i>Rhamdia sebae</i> c. f.	19
Figura 8. Pesado 1 g de óvulos de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. depositados en formol buffer del 4%.	20
Figura 9. Tres pesajes de 2 g de óvulos (tres replicas) / hembra, (igual color indica óvulos de una misma hembra).	21
Figura 10. Fertilización de óvulos en seco con 20µL de semen.	21
Figura 11. Incubación en incubadoras experimentales tipo cónico de 1,5 L.	22
Figura 12. Diámetro ovocitario (µm) antes de la inducción (pre) y después de la ovulación (post) de hembras de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. estimuladas hormonalmente con EHC y OVAPRIM®. También se incluyen las hembras de OVAPRIM® que desovaron pero sus huevos no fueron viables (No viables).	25
Figura 13. Dibujo del género <i>Rhamdia</i> mostrando el proceso occipital estrecho y corto y distante del escudo pre-dorsal que no alcanzando la placa rostral. Tomado de Galvis <i>et al.</i> (1997).	38

LISTA DE TABLAS

	Pag.
Tabla 1. Desempeño reproductivo de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. inducidas con OVAPRIM® y EHC, en el Instituto de Acuicultura de los Llanos en abril de 2004.	24
Tabla 2. Longitud total y peso corporal de machos de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. inducidos con EHC.	39
Tabla 3. Longitud total (LT) y peso corporal, de hembras de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. tratadas con OVAPRIM®, EHC y suero fisiológico.	40
Tabla 4. Datos brutos del desempeño reproductivo de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. inducida con OVAPRIM®.	41
Tabla 5. Datos brutos del desempeño reproductivo de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. inducida con EHC.	42
Tabla 6. Diámetros ovocitarios antes de la inducción con OVAPRIM® (Ø Pre µm) y después del desove (Ø Pos µm) de <i>Rhamdia sebae</i> c. f.	43
Tabla 7. Diámetros ovocitarios antes de la inducción con EHC (Ø Pre µm) y después del desove (Ø Pos µm) de <i>Rhamdia sebae</i> c. f.	44
Tabla 8. Diámetros ovocitarios antes del tratamiento con suero fisiológico (Ø Pre µm) de <i>Rhamdia sebae</i> c. f.	44
Tabla 9. Posición de la vesícula germinativa de los ovocitos de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. antes de la inducción con OVAPRIM®.	45
Tabla 10. Posición de la vesícula germinativa de los ovocitos de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. antes de la inducción con EHC.	46
Tabla 11. Posición de la vesícula germinativa de los ovocitos de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. antes del tratamiento con suero fisiológico (NaCl 0,9%).	46

LISTA DE ANEXOS

	Pag.
ANEXO A. Biología de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. (Cuvier y Valenciennes 1840).	37
ANEXO B. Longitud total y peso corporal de reproductores <i>Rhamdia sebae</i> c. f. inducidos a la reproducción.	39
ANEXO C. Datos brutos del desempeño reproductivo de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. inducida con OVAPRIM® y EHC. En el IALL en abril de 2004.	41
ANEXO D. Diámetros ovocitarios antes de la inducción ($\emptyset$ Pre μm) y después del desove ($\emptyset$ Pos μm) de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. inducida con OVAPRIM®, EHC e inyectada con suero fisiológico.	43
ANEXO E. Posición de la vesícula germinativa de los ovocitos de <i>Rhamdia sebae</i> c. f. antes de los tratamientos con OVAPRIM®, EHC y suero fisiológico.	45

RESUMEN

En el Instituto de Acuicultura de La Universidad de Los Llanos (IALL) en abril de 2004, en 30 hembras silvestres de barbilla *Rhamdia sebae* c. f., reproductivamente maduras (diámetro inicial ovocitario $943,5 \pm 36,5 \mu\text{m}$ y 73% de núcleos ovocitarios migrando), fueron experimentados dos inductores a la maduración final y el desove. OVAPRIM® (análogo sintético de hormona liberadora de gonadotropinas de salmón sGnRHa mas domperidona, Syndel®) en dosis estándar. 1 mL/Kg de peso vivo (p. v.), en dos aplicaciones, 10 y 90% con intervalo de 12 horas y extracto de hipófisis de carpa (EHC) en dosis estándar, 5,5 mg/Kg de p. v., en dos aplicaciones 10% y 90% con intervalo de 12 horas. Y un tratamiento control de 1 mL/Kg de p. v. de solución salina (NaCl 0,9%), en aplicación similar a las anteriores.

La efectividad de los tratamientos se determinó con la ocurrencia de la ovulación, fecundidad reproductiva, tasa de fertilización y tasa de eclosión. Excepto en la respuesta al inductor (OVAPRIM® con 50% y EHC con 75%) y el tiempo de latencia (OVAPRIM® con $7,6 \pm 0,6$ y EHC con $7,0 \pm 0,4$ horas a $26,5 \pm 0,2 \text{ }^{\circ}\text{C}$), no se encontraron diferencias significativas entre los dos tratamientos a $p < 0,05$. Lo anterior permite exponer que en las condiciones experimentadas el OVAPRIM® es un buen inductor a la ovulación y desove de barbilla, pero requiere ser ensayado en otras dosificaciones y protocolos que permitan precisar la mejor eficiencia del producto.

Palabras claves: inducción hormonal, eficiencia reproductiva., OVAPRIM®, EHC.

INTRODUCCIÓN

Actualmente todos los bagres que se comercializan en Colombia provienen de las faenas de pesca en ríos y lagunas. El uso de medios de captura inadecuados, la sobreextracción y la alteración del medio natural están ocasionando una dramática disminución en la producción natural de estos desde 1993 (Mojica *et al.*, 2003). Recientemente los bagres del género *Rhamdia* se perfilan como una alternativa para la piscicultura, pues tienen tendencia omnívora, inician su reproducción precozmente, las hembras colocan abundantes huevos, el desarrollo embrionario es veloz y las larvas crecen rápido aceptando comidas preparadas a cambio de un canibalismo que disminuye rápidamente durante el alevinaje (Guedes, 1980; Narahara, 1983; Roman, 1985; Piaia *et al.*, 1999; De Carvalho *et al.*, 2000).

En los ríos de los Llanos de Colombia se encuentra la barbilla *Rhamdia sebae* c. f., la cual se le comienza a explorar sus potencialidades para la piscicultura y como cualquier especie nueva para la producción requiere de estudios sobre su reproducción en confinamiento.

En los peces en la naturaleza, se lleva a cabo la reproducción, cuando los estímulos del ambiente, principalmente el fotoperiodo, la temperatura y señales asociadas con las lluvias, son percibidos por el animal y llegan a las células nerviosas del cerebro, las cuales liberan GnRH (hormona liberadora de gonadotropina) hacia la hipófisis que a su vez libera las gonadotropinas (GtH I y GtH II) las cuales propician la maduración de las gónadas y estimulan el desove (Harvey y Carolsfeld, 1993) (Figura 1).

En el sistema de control de las células gonadotrópicas además de las GnRH existe un agente inhibidor del efecto positivo de estas conocido como dopamina, la cual es una neurohormona de la familia de la adrenalina (catecolamina). La neutralización de este agente con el uso de bloqueadores de sus receptor (domperidona o pimozide) aumenta efectivamente el estímulo y la

liberación de GtH, cuando el pez además es inyectado con GnRH (Harvey y Carolsfeld, 1993) (Figura 1).

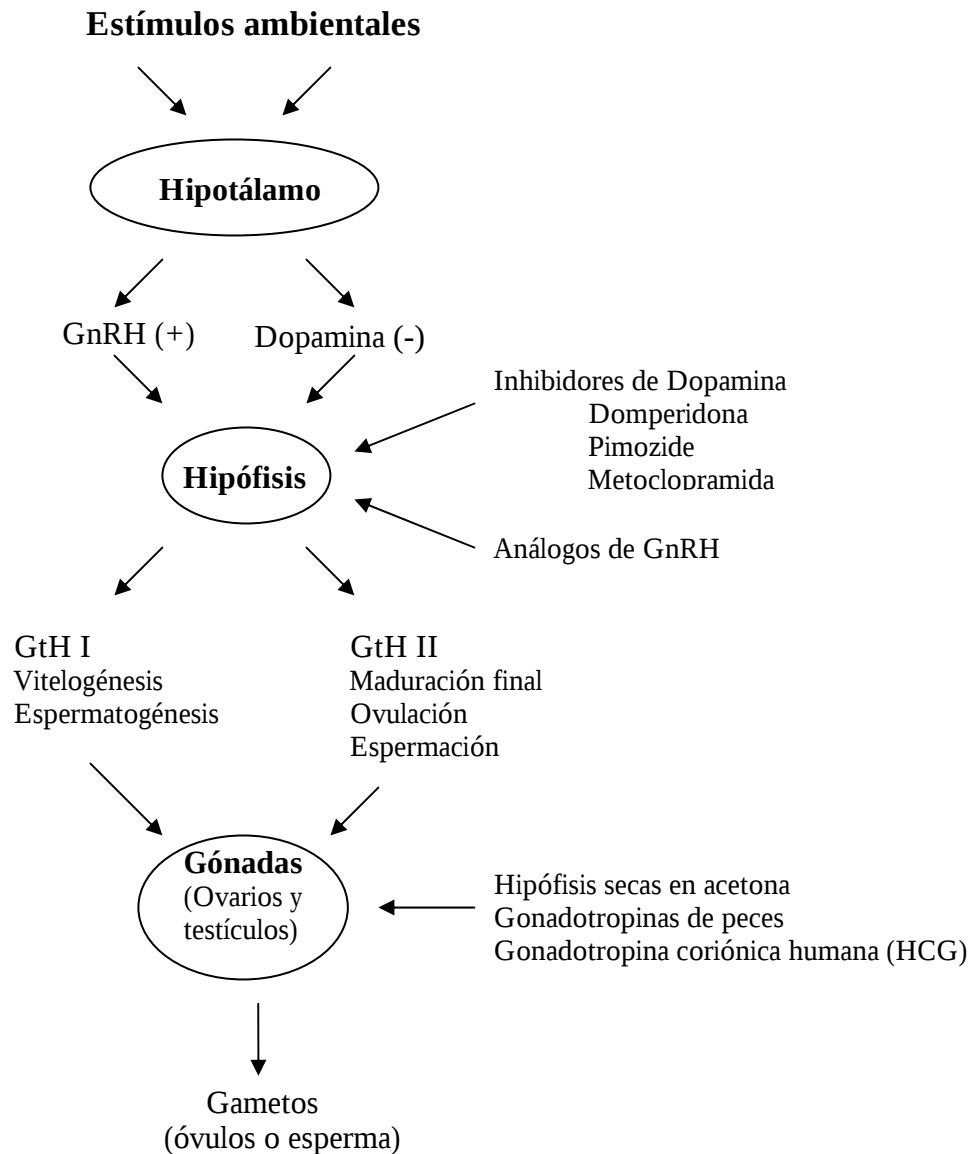


Figura 1. Esquema del control endocrino en la reproducción de peces. Tomado de Panorama da Aqüicultura setembro/outubro 1999, 41p.

En Sur América tres especies de *Rhamdia* han sido inducidas con éxito a la reproducción. *R. sapo* de Argentina fue la primera, el trabajo de Luchini y Rangel (1981 y 1983), con extracto hipofisiario de carpa (EHC) y con Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) precisa los resultados logrados. Simultáneamente Mardini *et al.* (1981), consiguieron respuestas positivas en *R. hilarii* con EHC y Radünz (1981) en *R. quelen* con HCG. En Colombia Vásquez (1987, com. pers.) aseguró haber conseguido respuestas ovulatorias en *R. wagneri* utilizando Prymogonil® (aHCGm) y Arias y Aya (2003) reprodujeron *Rhamdia sebae* c. f., utilizando EHC.

Trabajos de biología reproductiva e inducción al desove en el género han sido realizados por Godinho *et al.* (1978), Paula (1978), Machado y Castagnolli (1979), Mardini *et al.* (1981), Matkocic *et al.* 1983; Narahara (1983); Cussac *et al.* (1985); Narahara *et al.* (1985); Dos-Santos *et al.* (1986); Gómez *et al.* (1999); De Carvalho *et al.* (2000) y Carneiro *et al.* (2002).

El uso de otros análogos de hormonas liberadoras de las gonadotropinas (aGnRH) solas o combinadas con antagonistas de dopamina en los *Rhamdia* no han sido reportados, siendo que son una alternativa frente a la baja respuesta y elevado costo del uso de los extractos hipofisarios de carpa. Los aGnRH tanto de mamífero como de salmón, son moléculas simples sintetizadas en laboratorio hasta 100 veces más potentes para estimular las células gonadótropas, que las GnRH propias de las especies (Harvey y Carolsfeld, 1993). Sin embargo el efecto de estos análogos es generalmente inhibido por hormonas del sistema de control, la más común de ellas la dopamina. Peter *et al.* (1987) demostraron que antagonistas de catecolaminas (por ej: reserpina) o bloqueadores de receptores de dopamina (por ej: domperidona y pimozide), impiden efectivamente la influencia inhibitoria de la dopamina en la liberación de gonadotropinas. A partir de estos hallazgos los autores citados desarrollaron el método “LinPe”, el cual consiste en la aplicación para la reproducción de peces, de inyecciones en las que se combinan aGnRH y algún antagonista de dopamina. Con este procedimiento Lin *et al.* (1987) demostraron para salmón que la aGnRH de peces es diez veces más potente que el equivalente aGnRH de mamíferos. En China el método LinPe ha sido utilizado en carpa común, carpa cabeza grande, carpa negra y bagre africano con gran éxito.

El OVAPRIM® es una de las presentaciones comerciales del método LinPe. Es un cóctel de un análogo de GnRH de salmón y domperidona como antagonista de dopamina desarrollado por Laboratorio Syndel® (Vancouver, B. C., Canadá). Con presentación en solución, cada mililitro contiene 20µg aGnRHs y 10 mg de domperidona diluidos en glycolpropileno. En peces colombianos se ha utilizado OVAPRIM® en: *Brycon siebenthalae* en dosis única de 0,5 mL, sin resultados (Rodríguez *et al.* 2000) y en *Sorubim cuspicaudos*, en tres dosificaciones 0,3, 0,5 y 0,7 mL/kg observándose resultados prometedores (Atencio *et al.*, 2003). En otra especie Suramericana en la que se ha obtenido resultados positivos es en el pacu *Piaractus mesopotamicus* (Fera De Lima, *et al.*, 1988). Finalmente en el bagre europeo (*Siluros glanis*) se ha usado el método LinPe con resultados alentadores (Brzuska y Adamek, 1999).

El presente estudio esta enmarcado dentro del "Estudios preliminares de la Piscicultura de *Rhamdia sebae* c. f. (Pisces, Pimelodidae), en los Llanos de Colombia" el cual tiene como objetivo explorar sobre la potencialidad para la piscicultura de *Rhamdia sebae* cf., en las condiciones de los Llanos, con estándares de reproducción y cultivo. En esa medida este trabajo busca aportar en los aspectos de reproducción, evaluando la eficiencia reproductiva de *Rhamdia sebae* cf. con OVAPRIM®.

1. METODOLOGÍA

1.1. LOCALIZACIÓN

Los ensayos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Reproducción de Peces de la Estación Piscícola del Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos (IALL), localizada a 4 kilómetros de la ciudad de Villavicencio (Figura 2), en la vereda Barcelona (Meta) y con las siguientes características climatológicas: temperatura media anual de 25°C, precipitación anual media de 4050 mm, humedad relativa promedio de 75% y altura sobre el nivel del mar de 420m.



Figura 2. Estación Piscícola del Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos (IALL).

1.2. ANIMALES EXPERIMENTALES

El lote de reproductores utilizado en este estudio, 30 hembras y 30 machos adultos con longitud total de $25,9 \pm 1,9$ cm y $24,4 \pm 1,5$ cm y peso corporal de $176,3 \pm 48,7$ g y $130,0 \pm 28,4$ g respectivamente, fue colectado en diferentes cuerpos de aguas del pie de monte del departamento del Meta en noviembre de 2003 y se confinó en estanques en tierra de la Estación Piscícola del IALL, manteniéndolo en período de adaptación de cinco meses antes de iniciar los ensayos.

La información sobre el manejo de la alimentación de *Rhamdia* es inexistente y la atención de la misma en los peces destinados a la reproducción debe ser profundizada. En la práctica, los peces con mucha grasa corporal (especialmente perivisceral) no responden bien a la inducción al desove. Según Baldisserotto y Radüz (2004), para calcular las raciones de *Rhamdia quelem* los nutricionistas utilizan datos disponibles en la literatura en relación con los requerimientos conocidos para el bagre americano *Ictalurus punctatus* donde los reproductores son usualmente tratados con los mismos alimentos usados para engorde estimados entre el 30% y 36% de proteína bruta. Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto los reproductores fueron alimentados una vez al día (a las 17 horas), seis días a la semana con concentrado del 30% de proteína y una ración equivalente al 5% de la biomasa (Figura 3).



Figura 3. Pesca de reproductores de *Rhamdia sebae* c. f. confinados en estanques en tierra de la Estación Piscícola del IALL.

1.3. PROCEDIMIENTO

1.3.1. Selección de reproductores:

La preselección de los reproductores se realizó *in situ* en los estanques de contención de acuerdo a la presencia de características externas de madurez; papila genital prominente y enrojecida en las hembras y emisión de semen a leve presión en los machos (Woynarovich y Horvath 1983) (Figura 4). La selección de las hembras se realizó utilizando la técnica de la biopsia ovárica descrita por Harvey y Carosfeld (1993) (Figura 5). Para lo anterior se tomo una muestra de 100 ovocitos por vía del oviducto, mediante la introducción de una cánula nasogástrica para niños No. 6, la que fue inmediatamente depositada en suero fisiológico (NaCl 0,9%) y a la que se le midió el diámetro ovocitario bajo esteromicroscopio (NIKON Biocular) dispuesto con una reglilla en el ocular, previamente calibrada por medio de una cámara de *Neubauer*. Luego de la medición fue retirado el suero fisiológico y la muestra fue sumergida en líquido Serra como aclarador y bajo esteromicroscopio registrada la posición de la vesícula germinativa de cada ovocito.

Las hembras y los machos seleccionados fueron depositadas juntos en un tanque cilíndrico de 3 m³ con recambio permanente de agua, de 2 L/min, aireación constante y monitoreo de calidad de agua como sigue:

- Temperatura. Con termómetro digital (CHECKER®, HANNA INSTRUMENTS). Aproximación 0,1 °C.
- Oxígeno disuelto. Con oxímetro digital (Sonda multiparamétrica YSI 556). Aproximación 0,1 ppm.
- Potencial hidrogeniónico (pH). Con pH-metro digital portátil (CHECKER®, HANNA INSTRUMENTS). Aproximación 0,1.
- Dureza. Se midió con Kit para durezza de MERCK.



Figura 4. Reproductores de *Rhamdia sebae* c. f. (macho a la izquierda y hembra a la derecha).



Figura 5. Realización de la biopsia ovárica en una hembra de *Rhamdia sebae* c. f..

1.3.2. Tratamientos hormonales

De las hembras seleccionadas doce tomadas al azar, recibieron dosis totales de 1 mL de OVAPRIM®/Kg de peso vivo (p. v.) Tratamiento 1 (T1), distribuido en dos dosis así: primera dosis preliminar equivalente al 10%, intervalo de 12 horas, segunda dosis definitiva del 90%. Otras doce hembras recibieron dosis totales de 5,5 mg/Kg p. v de EHC. Tratamiento 2 (T2), distribuida en dos dosis: primera dosis 0,5 mg/Kg p. v., intervalo de 12 horas, segunda dosis 5 mg/Kg p. v.. Y un tratamiento blanco de seis hembras, tratamiento control (Tc) las cuales fueron inyectadas con dosis total de 1 mL/Kg p. v. de suero fisiológico (NaCl 0,9%) distribuido en dos dosis: 0,1 mL/Kg p. v. como primera dosis, intervalo 12 horas 0,9 mL/Kg p. v. como dosis definitiva.

Los machos recibieron cada uno un tratamiento hormonal de una única dosis de EHC equivalente al 80% de la dosis total de las hembras, que se les administro al momento de la inyección de la primera dosis de estas. En todos los tratamientos las aplicaciones se efectuaron mediante inyección intramuscular detrás de la aleta dorsal.

1.3.3. Ovulación y desove

A partir de las seis horas después de la ultima aplicación hormonal, se inició la revisión de las hembras cada media hora hasta el momento de la ovulación, ocurrida esta, fueron retiradas del contenedor para la obtención de los ovocitos, que en todos los tratamientos y para hembras y machos se realizó por estrujamiento (Figuras 6 y 7), previa tranquilización de los reproductores sumergiéndolos en una solución al 0,02% de 2-fenoxi-ethanol. Los huevos obtenidos fueron pesados en su totalidad en un balanza digital (OHAUS de 400g), tomándoseles muestras de un gramo las cuales fueron depositadas en formol del 4% y de ellas estimada la fecundidad reproductiva, calculada como peso en gramos del desove por número de huevos en un gramo (Figura 8).



Figura 6. Obtención de ovocitos por estrujamiento en *Rhamdia sebae* c. f..



Figura 7. Obtención del semen por estrujamiento en *Rhamdia sebae* c. f..



Figura 8. Pesado 1 g de óvulos de *Rhamdia sebae* c. f depositados en formol del 4%.

1.3.4. Fertilización e Incubación

Del desove de cada hembra fueron realizados tres pesajes de 2 g de óvulos cada pesaje (tres replicas), y recibidos en vasos dispuestos para ello (Figura 9) donde fueron sembrados con 20µL de semen de un mismo macho (Figura 10). Hecho lo anterior se realizó la fertilización la que se propicio agregando a la mezcla de gametos agua dispuesta para la incubación mezclándolos con una pluma durante un minuto, luego de lo cual se permitió la formación de la membrana de fertilización por tres minutos dejando los recipientes quietos. Efectuado lo anterior cada vaso se lavo con agua de incubación en cinco ocasiones para retirar excesos de semen e impurezas. La incubación se efectuó (triplicado/hembra), en incubadoras tipo cónico de 1,5 L (Figura 11). El flujo de agua en la incubadora se mantuvo a 0,5 L por minuto.



Figura 9. Tres pesajes de 2 g de óvulos (tres replicas) / hembra, (igual color indica óvulos de una misma hembra).



Figura 10. Fertilización de óvulos en seco con 20 μ L de semen.



Figura 11. Incubación en incubadoras experimentales tipo cónico de 1,5 L.

1.3.5. Fertilidad

La tasa de fertilidad se evaluó en el estado de cierre del blastoporo, seis horas después de realizada la fertilización, se hicieron tres conteos por incubadora de 100 huevos, considerándose como huevos fertilizados aquellos en que se observó el cierre del blastoporo y su aspecto era translucido.

1.3.6. Sobrevivencia embrionaria

Se midió a las doce horas posfertilización (cuando el 80% de los embriones mostraban contracción caudal). Se hicieron tres conteos de 100 huevos cada uno por incubadora, considerándose como embriones listos para eclosionar aquellos que tenían contracción caudal.

1.4. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos son expresados como media $\pm$ desviación estándar. Para comparar la eficiencia reproductiva entre el OVAPRIM® y el EHC los datos fueron sometidos a las pruebas de Shapiro y Barlett mostrando normalidad y homogeneidad de varianzas, por lo cual se utilizó la t-Student y Newman-Keulus. Para la tasa de fertilidad y sobrevivencia embrionaria se utilizó el test de Mann-Whitney (Zar, 1996), empleando el programa de Start Grafic plus.

2. RESULTADOS

Los parámetros ambientales reproductivos registrados fueron: temperatura $27,03 \pm 1,4^{\circ}\text{C}$; oxígeno disuelto de $6,5 \pm 0,4$ mg/L; potencial hidrogeniónico (pH) $6,7 \pm 0,3$ y dureza se mantuvo en un grado alemán 15 mg/L. Considerados normales para la especie (Arias y Aya 2003).

Para todos los tratamientos las hembras tuvieron un diámetro inicial ovocitario de $943,5 \pm 36,5$ μm y 73% de núcleos ovocitarios migrando, no se encontró relación entre la talla y número de huevos. La tabla 1 y la figura 12 presentan los resultados obtenidos. Las hembras control no ovularon.

Tabla 1. Desempeño reproductivo de *Rhamdia sebae* c. f. inducidas con OVAPRIM® y EHC, en el Instituto de Acuicultura de los Llanos en abril de 2004.

	OVAPRIM®	EHC
Respuesta¹	6/12	9/12
Peso (g)	$163^a \pm 33$	$189^a \pm 61$
Peso desove (g)	$32,4^a \pm 15$	$36,9^a \pm 13$
No. huevos / g	$1852^a \pm 197$	$1693^a \pm 163$
Fecundidad reproductiva²	$59.771^a \pm 28.958$	$62.723^a \pm 24.388$
Tiempo latencia³	$7,6^a \pm 0,6$	$7,0^b \pm 0,4$
Fertilidad (%)	$72^a \pm 25$	$60^a \pm 24$
Sobreviven. Embrion. (%)	$70^a \pm 30$	$44^a \pm 35$

¹Hembras con respuesta al inductor y huevos viables / Hembras inducidas.

²Peso desove* No. huevos (g)

³Horas entre última aplicación inductora y momento de la ovulación a $26 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$.

Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

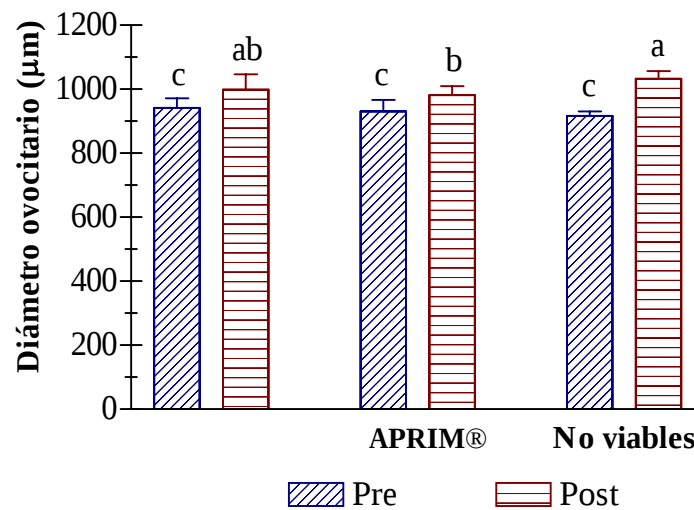


Figura 12. Diámetro ovocitario (μm) antes de la inducción (pre) y después de la ovulación (post) de hembras de *Rhamdia sebae* c. f. estimuladas hormonalmente con EHC y OVAPRIM®. También se incluyen las hembras de OVAPRIM® que desovaron pero sus huevos no fueron viables (No viables).

De las doce hembras inducidas con OVAPRIM® solo una no ovuló, sin embargo la respuesta positiva fue evaluada no como el evento ovulatorio, sino si además los huevos estrujados una vez fertilizados hidrataran, es decir fueran viables. En las restricciones anteriores seis hembras produjeron huevos viables.

No hubo mortalidad postdesove de ninguna de las hembras inducidas hormonalmente con EHC y OVAPRIM®.

3. DISCUSIÓN

La respuesta al EHC del 75%, fue similar a la obtenida para la especie del 67% con el mismo inductor por Arias y Aya (2003), lo que indicaría que el inductor reproductivo de primera elección sería el extracto de hipófisis de carpa.

Para otros bagres inducidos con OVAPRIM® como el blanquillo *Sorubim cuspicaudus* Atencio *et al.* (2003), obtuvieron respuestas del 66,7% y 83,3% utilizando dosis total de 0,3 y 0,5 mL/Kg p. v., para el bagre europeo *Siluros glanis* Brzuska y Adamek (1999), consiguieron respuestas entre el 80% y el 100% utilizando dosis entre 0,5 y 1 mL/Kg p. v., mayores a las obtenidas en este trabajo del 50%. En *Rhamdia sapo* Luchini y Rangel (1983) utilizando HCG sin bloqueador de dopamina lograron una respuesta del 76,5% en dosis totales de 1 mL/Kg p. v.. Es claro que la dosis total y el protocolo de aplicación que se utilizó en este estudio probablemente no es la más adecuada, máxime si se atiende la propuesta de Harvey y Caroslfed (1993), quienes estiman que respuestas superiores al 70% se pueden considerar eficientes.

Muchos autores han expuesto varios limitantes, considerados naturales, para explicar la respuesta a la inducción hormonal reproductiva de peces, siendo la especie y la edad del reproductor de los más reconocidos (Lin *et al.*, 1987). Otros importantes factores son los discutidos por Luchini y Rangel (1983) a saber: dosificación y protocolos de aplicación del inductor, actividad y especificidad del mismo y el estado de preparación de la hembra, como los más relevantes.

En relación con las dosificaciones y los protocolos de aplicación del inductor, Feraz *et al.* (1988) y Atencio *et al.* (2003) ilustran en sus trabajos, hasta donde ello puede afectar la respuesta ovulatoria, observando como varia la respuesta de 0% a 33% en el Pacu *Piaractus mesopotamicus* con 3,5 mL/Kg p. v. en dos dosis y 0,5 mL/Kg p. v. en dosis única y en el blanquillo *Sorubim cuspicaudus* 66.7% a 83,3% con dosis total de 0,3 mL/Kg p. v. y 0,5 mL/Kg

p. v. respectivamente. En general es reconocido que la dosis adecuada solo es posible precisarla una vez se haya probado diferentes dosis. Así mismo se sabe que dosis altas, como la aquí experimentada, pueden llegar a bloquear la respuesta en el sentido de las explicaciones de Mojica (2003), quien trabajando con *Prochilodus scrofa* y usando dosis altas observa “sobremaduración” de los ovocitos (estos perdieron consistencia, variaron la coloración y se presentaron características atrésicas), lo que parece demostrar según el autor que independientemente de la aplicación de una o dos inyecciones, la cantidad de hormona alta depende en realidad del estado de madurez final de la hembra (es decir del diámetro preinducción de sus ovocitos así como del índice de migración de los núcleos). Es posible entonces que para los resultados de este estudio la dosis utilizada sea excesiva para cinco de las hembras en las que se utilizó OVAPRIM®. Además porque sea el momento de anotarlos, tales hembras produjeron huevos similares a los descritos por Mojica (2003), renglones arriba.

Diversos autores confirman el aumento de diámetro de los ovocitos en el momento de la ovulación después de la inducción hormonal (Wallace y Selma, 1981; Godinho y Godinho, 1986). El aumento significativo del diámetro ovocitario después de la inducción tanto para EHC como para OVAPRIM® indica el efecto de los inductores en la maduración final de los ovocitos aumentando su diámetro, además al no haber diferencia entre tratamientos en diámetro pos-inducción indica que el efecto de los inductores sobre el tamaño de los ovocitos es igual, sin embargo se observa diferencias en diámetro pos-inducción dentro del mismo tratamiento con OVAPRIM® siendo mayor significativamente en hembras que ovularon con huevos no viables ($1032,1 \pm 24,2 \mu\text{m}$) en relación con los viables ($981,1 \pm 28,7 \mu\text{m}$) (Figura 12), esto se podría atribuir a una “sobre maduración” donde según Rizzo (2001) cuando esto sucede ocurren modificaciones morfológicas degradativas en la estructura del ovocito que afectan la fertilidad y el desarrollo larval: agregaciones de gotas lipídicas y alvéolos corticales en la región del polo animal del ovocito; exocitosis parcial de los alvéolos corticales; aumento de la transparencia del vitelo; influencia del agua y consecuentemente aumento en el diámetro ovocitario, esto confirmaría lo observado por Mojica (2003) discutido anteriormente.

Los resultados de fecundidad reproductiva, OVAPRIM® con 59.771 y EHC con 62.723 similares entre tratamientos, fueron semejantes a los reportados para la misma especie por

Arias y Aya (2003) de 65.495 ± 15.769 y a los registrados por Luchini y Rangel (1983) para *R. sapo* (entre 15.000 y 80.000). Pero muy inferior a los encontrados para otros bagres, como la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en la cual Padilla *et al.* (2001) reportan una fecundidad reproductiva de 444.000 ± 40.830 . Lo anterior precisa la variabilidad de la fecundidad reproductiva como dependiente de la especie.

El tiempo de latencia cuando se utilizó OVAPRIM® de $7,6 \pm 0,6$ h fue mayor significativamente al tiempo de latencia con EHC de $7,0 \pm 0,4$ h, medidos a $26 \pm 0,3$ °C, pero ambos tratamientos estuvieron dentro del rango registrado para la especie por Arias y Aya (2003) de 6 a 8 horas a 26 °C. Siendo más corto en comparación con otras especies del género así: *R. quelen* 12 a 14 horas a 24 °C o 15 a 16 horas a 22 °C (Carneiro *et al.*, 2002); *R. sapo* 16 a 17 horas (Luchini y Rangel, 1981). Por otra parte el tiempo de latencia en los ejemplares de un mismo lote y tratamiento inductivo es casi simultaneo (0 a 50 minutos entre la primera y última hembra), también más corto que el reportado en hembras de otras especies citadas renglones arriba. Para corroborar lo anterior basta comparar el tiempo de latencia de la barbilla con el de otros bagres como la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* 20 ± 4 horas a $25,5 \pm 0,4$ °C (Padilla *et al.*, 2001); el bagre europeo *Siluros glanis* 24 a 30 horas a 21-22 °C (Brzuska y Adamek, 1999); los bagres chino y africano del género *Clarias* inducidos con OVAPRIM® 20 a 24 horas y 12 a 16 horas respectivamente (www.Syndel.com). Lo anterior para precisar que si bien se presentó diferencia significativa en el tiempo de latencia entre hembras inducidas con OVAPRIM® y EHC, tal diferencia no parece tener mayores implicaciones para el desempeño reproductivo general de hembras tratadas con uno u otro inductor, aunque aparentemente se pudiera esperar una mejor productividad reproductiva cuando el tiempo de latencia es mayor (ver tabla 1).

Como en el caso anterior los indicadores de fertilidad y sobrevivencia embrionaria, no presentaron diferencias significativas entre tratamientos, OVAPRIM® con 72% y 70% y EHC con 60% y 44% respectivamente, y fueron semejantes a los registrados por Arias y Aya (2003) con EHC del 45% al 90% y del 38,8% respectivamente. Y a los obtenidos para otros coespecificos en fertilidad como: *R. quelen* Neumann *et al.* (2003) del 69,8% al 88,2% y Carneiro *et al.* (2002) del 70%, y *R. sapo* Luchini y Wicki (1992) del 90%. Y también similares a los resultados obtenidos en otros silúridos como *Sorubim cuspicaudos* donde Atencio *et al.* (2003)

obtuvieron fertilidades del 42% con EHC y del 71 al 88% con OVAPRIM® probando diferentes dosis y protocolos de inducción.

En relación a la sobrevivencia embrionaria los dos tratamientos presentaron mejores resultados en comparación con *R. hylarii* donde solo se logró un 20% (Machado y Castagnolli 1979) y similares resultados se han conseguido en el blanquillo *Sorubim cuspicaudos* donde Atencio *et al.* (2003) obtuvieron 67,9%, 68,8% y 83,7% utilizando dosis ascendentes de 0,3 a 0,7 mL/Kg de p.v. de OVAPRIM®, en tanto que tal sobrevivencia solo llegó al 40,3% con EHC. En el bagre europeo *Siluros glanis* se obtuvo sobrevivencia embrionaria del 50% para EHC y 63% para OVAPRIM® (Brzuska y Adamek, 1999).

De otra parte este estudio muestra la gran variabilidad individual de los indicadores de fertilidad y sobrevivencia embrionaria, la cual parece estar relacionada con la variabilidad propia individual de cada reproductora (edad, condiciones nutricionales y grado de estrés) como las más importantes (Machado y Castagnolli, 1979; Luchini y Rangel, 1981; Atencio *et al.*, 2003). Además los indicadores de fertilidad y sobrevivencia embrionaria además de las variables que ya se han discutido, dependen de otros que tienen que ver con el tipo de equipamiento empleado y la experticia de los investigadores (Arias, 2002).

4. CONCLUSIONES

- El efecto estimulante para la reproducción del OVAPRIM® con dosis estándar y protocolo internacional de 1 mL/Kg p. v. aplicada en dos dosis del 10% y 90%, logra la ovulación en *Rhamdia sebae* c. f.
- Excepto en la respuesta al inductor y el tiempo de latencia no se encontraron diferencias significativas a $p < 0,05$ entre hembras inducidas con OVAPRIM® y hembras inducidas con EHC. Lo que permite exponer que en las condiciones experimentadas el OVAPRIM® es un buen inductor a la ovulación y desove de *Rhamdia sebae* c. f.
- Se requiere ensayar otras dosificaciones y protocolos de aplicación del OVAPRIM® en hembras de *Rhamdia sebae* c. f. para reproducción, que permitan establecer la mejor eficiencia del producto

5. RECOMENDACIONES

- No se observó una relación directa entre el diámetro de los ovocitos y la tasa de fertilidad y sobrevivencia embrionaria, esto debido posiblemente a que *Rhamdia sebae* c.f. es una especie asincrónica, es decir que tiene ovocitos en diferentes estados de maduración, por lo cual se hace necesario llevar a cabo un estudio de desarrollo gonadal para profundizar en este parámetro.
- El OVAPRIM® se recomienda porque tiene varias ventajas en comparación con el EHC: para su almacenamiento requiere únicamente estar refrigerado, es de fácil preparación debido a que viene en forma líquida, por lo cual al no macerar como sucede con el EHC evita la formación de grumos y pérdida de hormona al pesar cantidades muy pequeñas, requiriendo solo de una jeringa y suero fisiológico para disolverlo evitando el uso de balanzas digitales que generalmente no están al alcance del productor.
- Las dosis que se utilicen en trabajos futuros deben ser menores a la utilizada en esta investigación, debido a que dosis más altas no son económicamente viables para el productor y como se demostró en este ensayo para algunos animales la dosis fue muy alta y generó sobre maduración.

BIBLIOGRAFÍA

- Arias, C.J.A. 2002. Biología reproductiva y reproducción inducida de *Brycon siebenthalae*. Tesis de Doctorado Univ. Del Valle, Cali, Colombia, 112 p.
- Arias, C.J.A. y Aya, B.E. 2003. Reporte de reproducción inducida de *Rhamdia cf. sebae* en la Estación Piscícola del Instituto de Acuicultura de los Llanos. Bol. IALL. Gotas del IALL 3(5): 7-8.
- Atencio, G.V.; Cordero, A; Pertuz, V.; Martinez, C.; Muñoz, R. y Cura, E. 2003. Reproducción inducida del bocachico (*Prochilodus magdalenae*) y el blanquillo (*Sorubim cuspicaudus*) con OVAPRIM®. Memorias de IX Jornada de Acuicultura. Universidad de los Llanos. Villavicencio Colombia. 49-53p.
- Britski, H.A.; Sato, Y. y Rosa, A.B.S. 1986. Manual de identificação de peixes da região de Três Marias (Com chaves de identificação para os peixes da bacia do são Francisco). Brasília: Câmara dos Deputados, Coordenação de publicações. CODEVASF, Divisão de Piscicultura e Pesca. Segunda edición. 64p
- Britski, H. A.; Silmon, K.Z. y Lopez, B.S. 1999. Peixes do Pantanal. Embrapa, Brasília. 184p.
- Bruzuska, E. y Adamek J. 1999. Artificial spawning of European catfish, *Silurus glanis* L.: stimulation of ovulation using LHRH-a, OVAPRIM® and carp pituitary extract. Aquaculture Research. 30: 59-64
- Carneiro, P.C.; Oliveira, F.M.; Baldiseroto, B. y Esquivel, G.J.R. 2002. Jundiá una gran peixe para região sul. *Panorama de Aquic.* 12 (69): 41-46.
- Cussac, V.N.; Matrokovic, M. y Maggese, M.C. 1985. Desarrollo embrionario de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) (Pisces, Pimelodidae). II. Organogénesis media, organogénesis tardía y eclosión. *Rev. Bras. Biol.* 45 (1-2): 149-160.

- De Carvalho G.L.; Ineu G.J.; Chippari, G.A.R. y Baldisserotto, B. 2000. Biologia do Jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae)-Revisão bibliográfica-. *Ciência Rural*, Santa Maria 30(1): 179-185.
- Dos-Santos, H.S.L.; Lopez, R.A. y Zuim, S.M.F. 1986. Sobre reprodução de peixes brasileiros, XVI, estudio morfométrico dos ovocitos de *Rhamdia hilarii* Valenciennes, 1840 (Pisces, Pimelodidae). *Ars Veterinaria* 2(1): 13-24.
- Ferraz De Lima, J.A.; Carolsfeld, J.; Ramos, S.M.; Alcantara, R. C. G.; Mos. R.O. 1988. Uso de OVAPRIM® [combinação de um antagonista da dopamina (domperidona) mais um análogo do hormônio liberador de gonadotropina de salmão (sGnRH-A)] na indução da desova do Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) criado em cativeiro. *Bol. Tec. do CEPTA*, Vol 1, nº1: 1-10.
- Galvis, G.; Mojica, I. y Camargo, M. 1997. Peces del Catatumbo. Asoc, Cravo Norte ECOPETROL. Bogotá. 118p.
- Godinho, H.; Fenerich, N. De A. y Narahara, M.Y. 1978. Desenvolvimento embrionário e larval de *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840) (Siluriformes, Pimelodidae). *Rev. Bras. Biol.* 38(1): 51-156p.
- Godinho, H.P. and Godinho, A.L., 1986. Induced spawning of the pacu, *Colossoma mitrei* (Berg 1895), by hypophysation with crude carp pituitary extract. *Aquaculture*, 55: 69-73.
- Gómez, L.C.; Chippari G.A.; Golombieski, J.I. y Baldisserotto, B. 1999. *Rhamdia quelen* (Pimelodidae), espécie promissória para la piscicultura no sul de Brasil, uma revisão. En: *Res. XIII Encontro Bras. Icto.* 535p.
- Guedes, D.S. 1980. *Contribuição ao estudo da sistemática e alimentação de jundiás (Rhamdia sp) na região central do Rio Grande do Sul (Pisces, pimelodidae)*. Santa Maria-RS. 99p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Curso de Pós-graduação em Zootecnia. Universidad Federal de Santa Maria.
- Harvey, B. y Carolsfeld, J. 1993. Induced breeding in tropical fish culture. Ottawa: IDRC. 144p.
- Lin, H.R.; Zhov, X.J.; Peter, R.E. 1987. Comparison of (D-ARG6, TRP7, LEU8, PRO9 NET) –luteinizing hormone-releasing hormone (sGnRH-A) and (DALA6, PRO9 NET) luteinizing hormone-releasing hormone (LHRHa) in combination with pimozone or

domperidone in stimulating gonadotropin release and ovulation the chinese loach (*Paramisgurnus dabryanus*). In: Internatinal Symposium on Reproductive Physiology of fish, 3, St. John's Newfound, 1987. 17p

- Luchini, L y Rangel, C.C. 1981. Reproducción Inducida y desarrollo larval del "bagre negro", *Rhamdia sapo* (Val.) Eig. Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral, 12: 1-7.
- Luchini, L y Rangel, C.C. 1983. Uso de gonadotropina coriónica humana en la reproducción artificial de *Rhamdia sapo* (Val). *Rev. Asoc. Cienc. Nat Litoral* 14: 87-92.
- Luchini, L y Wicki, G.1992. Pesce gatto sudamericano (*Rhamdia sapo*): un' esperienza argentina. Argentina. Laguna N° 10, Setiembre/Octubre 1992. 9p.
- Machado, C.R. y Castagnolli, N. 1979. Preliminary observations related to culture of *Rhamdia hilarii*, a Brazilian catfish. In: T:V:r: Pillay and W.A. Dill (Edt). *Advances in Aquaculture*, Kyoto. Farnham. 180-184p.
- Machado, A.A. 1987. Los peces de los rios Caris y Pao. Corpoven. 66p.
- Mardini. C.V.; Silveira, M.A. y Barenho D.H.L. 1981. Técnica de indução da desova em jundiá (*Rhamdia quelen*) empregada na estação experimental de piscicultura da Lagoa dos Quadros. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura. Documento Ocasional 4: 3-15.
- Matkocic, M.V.; Cussac, M.; Cukier, G.A.; Guerrero, M. y Maggese, C. 1983. Desarrollo embrionario de *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840) (Pises, Pimelodidae). I. Segmentación, morfogénesis y organogénesis temprana. *Rev. Bras. Biol.* 45(1-2): 39-50.
- Mojica, H .2003. Efecto de LHRHa combinada con Domperidona (método Linpe) y de la Hipófisis de Carpa (EHC), en la maduración final y ovulación de Curimbatá *Prochilodus scrofa* (Stendachner, 1981) (Piscis: Characidae). IV Seminario Internacional de Acuicultura (I Congreso Nacional de investigaciones acuícolas y IV muestra comercial de acuicultura). Bogotá Colombia, septiembre 8 al 12 de 2003. Universidad Nacional. 28p.
- Mojica, B.H.O.; Rodríguez, P.J.A. y Orozco, Z.C.R. 2003. Manual de reproducción y cultivo el bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*). Instituto Nacional de Pesca y Agricultura y Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. 25p.
- Narahara, M.Y. 1983. *Estrutura da população e reprodução de Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840), (*Osteichthyes: Siluriformes: Pimelodidae*). Inst. de Biociências/USP, São Paulo. 226p. (Tesis de Doutorado).

- Narahara, M.Y.; Godinho, H.M. y Romagosa, E. 1985. Estrutura da população de *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840) (Osteichthyes. Siluriformes, Pimelodidae). *Boletim do Instituto de Pesca*. 12(3): 123-137.
- Neumann, E.; Da Silva Camargo, A.C.; Fernandes KJ.B. 2003. Hormonal Induction Effects on the Embryonic Development of Jundia *Rhamdia quelen*.. En: World Aquaculture Mayo 19 a 23 de 2003. Salvador Brazil “Realizing the Potential: Responsible Aquaculture for a Secure Future” Book of Abstracts. Vol 2. 521p.
- Padilla, P.P.P.; Alcántara, B.F. y Orbe, I.R. 2001. Reproducción Inducida de la Doncella *Pseudoplatistoma fasciatum* y Desarrollo Embrionario – Larval. *Folia Amazónica* Vol. 12 (1-2). 141-153.
- Paula, S.G. 1978. *Reprodução de Rhamdia braneri, 1911 (Pisces, Siluriformes) e suas relações com fatores abióticos*. Curitiba - PR, 1978. 66p. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Curso de Pós-graduação em Zoologia, Universidad Federal do Paraná.
- Peter, R.E.; Lin, H. R. y Van Der Kraak, G. 1987. Use of dopamine antagonists and GnRH analogs in induced breeding of cultured freshwater fish in China. In: International Symposium on Reproductive Physiology of fish, 3, St. John's, Newfoundland, 1987. 128p.
- Piaia, R.; Townsend, C.R. y Baldisserotto, B. 1999. Growth and survival of fingerlings of *Rhamdia quelen* exposed to different light regimes. *Aquaculture International* 7: 201-205.
- Radünz, N. J. 1981. *Desenvolvimento de técnicas de reprodução e manejo de larvas e alevinos de jundiá Rhamdia quelen*). Santa María -RS. 77p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia. Universidad Federal de Santa María.
- Rizzo, E. 2001. Biología de ovos de peixes neotropicais de água doce: estudos comparativo e experimental, com ênfase na análise da superfície e do aparelho micropilar. Tese (Doctor em Ciencias) apresentada ao Curso de Pós-graduação em Biologia Celular. Universidad de Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 66-89.
- Rodríguez, C.; Arias, C.J.A.; Parada, S.L. 2000. Utilización de OVAPRIM® en la reproducción inducida del Yamú *Brycon siebenthalae*. Memorias de IX Simposio Brasileiro de Aquicultura–Simbraq. Brasil.
- Roman, B. 1985. Peces de agua dulce de Venezuela I. BIOSFERA, Caracas. 191p.

- Wallace, R.A. and Selma, K., 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Am. Zool.*, 21: 325-343.
- Silvergrip, A. M. C. 1996. *A Systemetic revision of the neotropical catfish genus Rhamdia (Teleostei, pimelodidae)*. Stockholm, Sweden Museum of Natural History. 156p. (PhD Thesis). Departament of Zoology, Swedish Museum of Natural History.
- Woynarovich, E. y Horvath, L. 1983. A propagação artificial de peixes de águas tropicais. Manual de extensão. FAO/CODEV/CNPq-Brasília. 220p.
- Zar, J. H. 1996. Biostatistical analysis. Prentice Hall. New Jersey. 867p.

Internet

- www.Syndel.com/spawining/ovaprim_selected_results.html

ANEXOS

ANEXO A. Biología de *Rhamdia sebae* c. f. (Cuvier y Valenciennes 1840)

Descripción: El género *Rhamdia* Bleeker, 1858, es un grupo natural de pequeños bagres dulceacuícolas con sistemática confusa. Muy similares a otros géneros de pequeños bagres (*Pimelodella*, *Pimelodus*, y *Pseudopimelodus*) de los cuales se diferencian por no tener dientes en el paladar, poseer un proceso occipital estrecho y corto y distante del escudo pre-dorsal que no alcanza la placa rostral (Figura 13). La cabeza de *Rhamdia* a nivel de las aletas pectorales es tan ancha como larga. El hocico es algo achatado. Las espinas de las aletas pectorales y dorsal débiles y no punzantes ni venenosas. *Rhamdia sebae* c. f. tiene cabeza aplanada dorsoventralmente, dorso color marrón, con manchas humerales difusas, vientre de color claro. No existe una banda lateral diferenciada. Aleta caudal bifurcada y lóbulos terminados en punta. Los barbicelos maxilares alcanzan o sobrepasan la aleta caudal. (Britski *et al.*, 1986; Machado, 1987; Silvergrip, 1996; Galvis *et al.*, 1997; Britski *et al.*, 1999).

Hábitat: Los *Rhamdia* poseen hábitos nocturnos y habitan lugares calmos y profundos de los ríos junto a los márgenes con vegetación, escondidos entre piedras y troncos. Los juveniles de algunas especies viven en cardúmenes con especies acompañantes. Los adultos también tienen comportamiento grupal al parecer monoespecífico (Guedes, 1980; Gómez *et al.*, 1999; De Carvalho *et al.*, 2000).

Hábitos alimenticios: En los *Rhamdia* han sido reportados muy diversos hábitos alimenticios. La mayoría de especies son de régimen piscívoro, pero algunas han sido clasificadas como especies omnívoras (Roman, 1985; Gómez *et al.*, 1999).

Distribución: Cuencas del Magdalena, Cauca, Sinú, San Jorge, Catatumbo, Orinoco y Amazonas (Roman, 1985; Galvis *et al.*, 1997).

Reproducción: Los estudios sobre el ciclo reproductivo de *R. quelen* y *R. hilarii*, indican que son especies de reproducción precoz (la primera maduración gonadal se presenta al final del primer año de vida). Maduran sus ovarios una sola vez al año de manera asincrónica por grupos, reproduciéndose a lo largo del ascenso de las aguas en la estación lluviosa de manera parcial (Narahara, 1983; Gómez *et al.*, 1999).

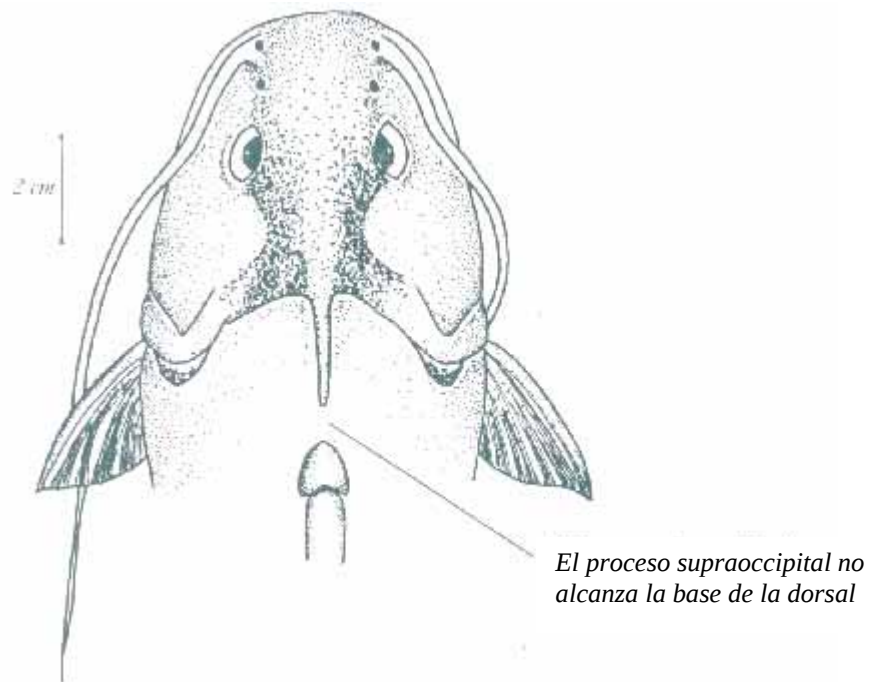


Figura 13. Dibujo del género *Rhamdia* mostrando el proceso occipital estrecho y corto y distante del escudo pre-dorsal que no alcanza la placa rostral. Tomado de Galvis *et al.* (1997).

ANEXO B. Longitud total y peso corporal de reproductores *Rhamdia sebae* c. f. inducidos a la reproducción.

Tabla 2. Longitud total y peso corporal de machos de *Rhamdia sebae* c. f. inducidos con EHC.

Longitud total	Peso	Longitud total	Peso
(cm)	(g)	(cm)	(g)
26,1	190	23,5	120
23,1	120	26,0	160
23,0	130	22,3	100
25,2	140	22,5	100
25,2	200	25,5	140
23,7	170	25,5	160
23,5	100	22,2	100
23,3	100	22,2	100
25,8	120	25,2	130
27,5	120	24,6	110
23,5	110	23,5	100
23,9	150	23,7	140
25,5	130	24,6	100
25,9	150	22,6	110
23,5	130	28,1	170

Tabla 3. Longitud total (LT) y peso corporal, de hembras de *Rhamdia sebae* c. f. tratadas con OVAPRIM®, EHC y suero fisiológico.

OVAPRIM®		EHC		Suero fisiológico	
LT	Peso	LT	Peso	LT	Peso
(cm)	(g)	(cm)	(g)	(cm)	(g)
25,4	192	28,0	290	27,2	220
24,2	168	28,0	210	24,2	180
23,2	136	27,4	210	23,5	240
23,5	150	27,3	170	28,5	161
27,5	230	29,3	300	25,9	162
26,5	150	24,1	140	26,2	100
25,1	180	28,5	200		
23,5	140	23,2	130		
24,9	100	27,2	200		
28,5	190	24,0	140		
26,0	150	25,3	180		
26,0	170	23,9	100		

ANEXO C. Datos brutos del desempeño reproductivo de *Rhamdia sebae* c. f. inducida con OVAPRIM® y EHC. En el IALL en abril de 2004.

Tabla 4. Datos brutos del desempeño reproductivo de *Rhamdia sebae* c. f. inducida con OVAPRIM®.

Peso (g)	Rta¹	Peso desove (g)	No. huevos/g	Fecundidad Reproductiva²	Tiempo Latencia³	Fertilidad (%)	Sobreviven. Embrionar. (%)
192	SI	18,7	1630	30481	7,58	31,1	20,2
168	SI	15,8	2052	32421,6	8,58	74,8	76,5
136	SI	31,8	2089	66430,2	8,08	53,0	47,25
150	SI	35,2	1632	57446,4	7,1	87,8	87,1
230	SI	59,1	1863	110103,3	7,1	91,3	90,8
150	SI	33,5	1843	61740,5	7,1	95,1	95,5
180	NO						
140	NO						
100	NO						
190	NO						
150	NO						
170	NO						

¹Hembras con respuesta al inductor y huevos viables.

²Peso desove*No. huevos (g)

³Horas+minutos entre última aplicación inductora y momento del desove a 26±0,3°C

Tabla 5. Datos brutos del desempeño reproductivo de *Rhamdia sebae* c. f. inducida con EHC.

Peso (g)	Rta¹	Peso desove (g)	No. huevos / g	Fecundidad Reproductiva²	Tiempo Latencia³	Fertilidad (%)	Sobreviven. Embrionar. (%)
290	NO						
210	NO						
210	NO						
170	SI	31,7	1619	51322,3	6,85	78,7	79,8
300	SI	60,2	1704	102580,8	6,87	89,6	83,9
140	SI	29,5	1701	50179,5	6,59	78,7	75,8
200	SI	36,0	1442	51912	7,37	73,7	69,0
130	SI	26,0	1476	38376	7,83	19,7	1,1
200	SI	24,0	1718	41232	6,68	58,0	19
140	SI	35,2	1855	65296	6,80	39,3	3,3
180	SI	58,4	1779	103893,6	6,68	33,7	13,6
100	SI	30,7	1945	59711,5	6,90	72,4	52,4

¹Hembras con respuesta al inductor y huevos viables.²Peso desove*No. huevos (g)³Horas+minutos entre última aplicación inductora y momento del desove a 26±0,3°C

ANEXO D. Diámetros ovocitarios antes de la inducción ($\emptyset$ Pre μm) y después del desove ($\emptyset$ Pos μm) de *Rhamdia sebae* c. f. inducida con OVAPRIM®, EHC e inyectada con suero fisiológico.

Tabla 6. Diámetros ovocitarios antes de la inducción con OVAPRIM® ($\emptyset$ Pre μm) y después del desove ($\emptyset$ Pos μm) de *Rhamdia sebae* c. f.

Peso (g)	Rta¹	$\emptyset$ Pre (μm)	$\emptyset$ Pos (μm)
192	SI	929,0	980,0
168	SI	912,5	963,5
136	SI	885,5	987,0
150	SI	992,0	1034
230	SI	942,5	970,5
150	SI	923,5	951,5
180	NO	897,0	1045,0
140	NO	922,0	991,0
100	NO	935,5	1053,5
190	NO	918,5	1037,5
150	NO	952,5	-
170	NO	908,0	1033,5

¹Hembras con respuesta al inductor y huevos viables.

Tabla 7. Diámetros ovocitarios antes de la inducción con EHC ($\emptyset$ Pre μm) y después del desove ($\emptyset$ Pos μm) de *Rhamdia sebae* c. f.

Peso (g)	Rta¹	$\emptyset$ Pre (μm)	$\emptyset$ Pos (μm)
290	NO	1008,0	
210	NO	971,0	
210	NO	871,5	
170	SI	956,0	982,0
300	SI	913,5	944,0
140	SI	956,5	978,0
200	SI	967,34	1090,0
130	SI	971,0	1067,0
200	SI	958,5	984,5
140	SI	936,0	974,0
180	SI	939,0	994,0
100	SI	877,0	970,0

¹Hembras con respuesta al inductor y huevos viables.

Tabla 8. Diámetros ovocitarios antes del tratamiento con suero fisiológico ($\emptyset$ Pre μm) de *Rhamdia sebae* c. f.

Peso (g)	Rta¹	$\emptyset$ Pre (μm)
220	NO	1011
180	NO	965,2
240	NO	978,5
161	NO	974,3
162	NO	989,7
100	NO	943,5

¹Hembras con respuesta al inductor y huevos viables.

ANEXO E. Posición de la vesícula germinativa de los ovocitos de *Rhamdia sebae* c. f. antes de los tratamientos con OVAPRIM®, EHC y suero fisiológico.

Tabla 9. Posición de la vesícula germinativa de los ovocitos de *Rhamdia sebae* c. f. antes de la inducción con OVAPRIM®.

Peso (g)	Rta¹	Central (%)	Migrando (%)	Periférico (%)	Atrésico (%)
192	SI	16,0	80,0	4,0	0
168	SI	11,5	75,0	11,5	1,9
136	SI	19,0	71,0	2,0	8,0
150	SI	28,9	48,9	22,2	0
230	SI	30,0	70,0	0	0
150	SI	5,3	68,4	26,3	0
180	NO	48,0	52,0	0	0
140	NO	36,0	64,0	0	0
100	NO	16,0	84,0	0	0
190	NO	14,8	74,1	11,1	0
150	NO	24,0	64,0	12,0	0
170	NO	16,4	70,5	13,1	0

¹Hembras con respuesta al inductor y huevos viables.

Tabla 10. Posición de la vesícula germinativa de los ovocitos de *Rhamdia sebae* c. f. antes de la inducción con EHC.

Peso (g)	Rta¹	Central (%)	Migrando (%)	Periférico (%)	Atrésico (%)
290	NO	15,0	85,0	0	0
210	NO	9,7	90,3	0	0
210	NO	18,0	72,0	10,0	0
170	SI	24,0	76,0	0	0
300	SI	37,5	62,5	0	0
140	SI	12,0	88,0	0	0
200	SI	28,0	72,0	0	0
130	SI	18,5	68,5	13,0	0
200	SI	3,8	73,1	23,1	0
140	SI	8,0	80,0	12,0	0
180	SI	4,2	91,7	4,2	0
100	SI	26,1	69,6	4,3	0

¹Hembras con respuesta al inductor y huevos viables.**Tabla 11.** Posición de la vesícula germinativa de los ovocitos de *Rhamdia sebae* c. f. antes del tratamiento con suero fisiológico (NaCl 0,9%).

Peso (g)	Rta¹	Central (%)	Migrando (%)	Periférico (%)	Atrésico (%)
220	NO	21,9	72,9	5,2	0
180	NO	17,4	82,6	0	0
240	NO	26,9	73,1	0	0
161	NO	20,5	69,5	10	0
162	NO	35,0	65,0	0	0
100	NO	22,1	74,6	3,3	0

¹Hembras con respuesta al inductor y huevos viables.