

Efectos de la administración de prostaglandina F2 α sobre la eficiencia reproductiva de yamú *Brycon amazonicus*

Effects of prostaglandin F2 α administration on reproductive performance of yamú *Brycon amazonicus*

Efeitos da administração de Prostaglandina F2 α sobre a eficiência reprodutiva do yamú *Brycon amazonicus*

Sofía Sepúlveda-Cárdenas^{1*}, Víctor M. Medina-Robles^{2*}, Pablo E Cruz-Casallas^{3*}

¹ Bióloga Marina, MSc

² MVZ, MSc

³ MVZ, MSc, PhD

* Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos GRITOX, Instituto de Acuicultura, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia. Email: pecruzasallas@Unillanos.edu.co

Recibido: marzo 27 de 2012.

Aceptado: mayo 3 de 2012

Resumen

Se reportan los efectos de la adición de prostaglandina F2 α (PGF2 α) al protocolo de inducción de la reproducción de hembras de yamú, sobre su eficiencia reproductiva (latencia a la ovulación, peso del desove, número de huevos por gramo, porcentaje de fertilidad, sobrevivencia embrionaria y factor de condición), volumen seminal de los machos acompañantes y sobrevivencia post inducción de los reproductores. El estudio consistió en dos experimentos realizados durante una misma temporada reproductiva: en el primer experimento, 12 hembras (n=3) fueron inducidas utilizando el protocolo tradicional de extracto de hipófisis de carpa (EHC), que consiste en aplicar 5.5 mg/kg de PV de EHC en dos inyecciones (0.5 mg/Kg y 5 mg/.Kg), con intervalo de 12 h; 15 min antes de finalizar el periodo estimado de latencia a la ovulación, se evaluaron en las hembras los efectos cuatro dosis de PGF2 α : 0, 1.5, 3.0 y 6.0 μ g de PGF2 α /kg de PV. La sobrevivencia pos-inducción fue mayor en los tratamientos que incluyeron 3 y 6 μ g de PGF2 α /kg de PV (100%) y se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos (P<0.05) en el volumen seminal de los machos que tuvieron contacto con hembras tratadas con PGF2 α . En el segundo experimento, 16 hembras fueron inducidas con el mismo protocolo de EHC para evaluar los efectos de administrar 6 μ g de PGF2 α /kg de PV sobre el espermatozoido y el comportamiento sexual. Los comportamientos de cortejo ocurrieron en los dos tratamientos, no encontrándose diferencias significativas entre ellos (P>0.05). El uso de PGF2 α no tuvo efectos sobre el peso del desove, pero produjo aumento del volumen seminal y de la sobrevivencia de los reproductores inducidos.

Palabras clave: *Brycon amazonicus*, cortejo sexual, ovulación, PGF2 α , volumen seminal.

Abstract

The effects of the addition of prostaglandin F2 (PGF2 α) at the protocol of induction of yamú females, about the reproductive efficiency (the period of latency to the ovulation, the total fecundity, the number of eggs for gram, the rate of fertility, the embryonic survival, the condition factor), the seminal volume of males without hormonal induction and the survival

of reproducers post induction are reported. The study was carried out in two stages in reproductive season. In the first experiment, 12 females were induced with Carp Pituitary Extract (CPE) (5.5 mg/Kg of BW), administered in 2 injections (0.5 mg/Kg and 5 mg/Kg), with intervals of 12 h; fifteen minutes before concluding the period of latency four treatments they were evaluated (0, 1.5, 3.0 or 6.0 µg/Kg of BW of PGF2α of the females). The post induction survival with this search-induction protocol was it bigger in the treatments with 3 and 6 µg de PGF2α/Kg de BW (100%) and were they statistical differences among treatments (P<0.05) in the seminal volume of the exposed males in an indirect way to the PGF2α. In the second experiment, were 16 females induced with the same CPE in standard protocol and was the use of the dose of 6 µg/Kg of BW of PGF2α evaluated on the reproductive behavior during 2 hours. Although, the courtship were observed, they were not significantly differences (P>0.05). The use of PGF2α didn't have an effect on the high fecundity of the females, but they showed in the seminal volume and on the survival of reproducers pos induction.

Key words: Sexual behavior, PGF2α, post spawning mortality, seminal volume.

Resumo

Este trabalho reporta os efeitos da adição de prostaglandina F2α (PGF2α) no protocolo de indução da reprodução de fêmeas de yamu, sobre sua eficiência reprodutiva (latência para a ovulação, peso da desova, número de ovócitos por grama, porcentagem de fertilidade, sobrevivência embrionária e fator de condição), volume seminal dos machos acompanhantes e sobrevivência após a indução dos reprodutores. O estudo consistiu em dois experimentos realizados durante uma única estação reprodutiva. No primeiro experimento, 12 fêmeas foram induzidas utilizando o protocolo tradicional baseado na administração de Extracto de Pituitária de Carpa (EHC) (5.5 mg/kg de peso vivo -PV-), administrada em duas injeções (0.5 mg/kg e 5.0 mg/kg.) com um intervalo de 12 h. Quinze minutos antes do final do período estimado de latência para a ovulação, foram avaliadas nas fêmeas quatro tratamentos de PGF2α: 0, 1.5, 3.0 e 6.0 µg de PGF2α/kg de PV. A sobrevivência pós-indução foi maior nos tratamentos que incluíram 3.0 e 6.0 µg de PGF2α/kg de PV (100%); além disso, houve diferença estatística entre os tratamentos (P<0.05) no volume seminal dos machos que tiveram contato com as fêmeas tratadas com PGF2α. No experimento dois, 16 fêmeas foram induzidas com o protocolo tradicional de EPC para avaliar a administração de 6.0 µg de PGF2α/kg de PV sobre o espermátocrito e o cortejo. Embora comportamentos de cortejo tenham sido observados, isto ocorreu nos dois tratamentos, sem diferenças significativas entre eles (P>0.05). O uso de PGF2α não teve efeitos sobre o peso da desova, mas o volume do sêmen aumentou e melhorou a sobrevivência dos reprodutores após a indução.

Palavras chave: *Brycon amazonicus*, Cortejo sexual, Ovulação, PGF2α, volume seminal

Introducción

El yamú, *Brycon amazonicus* (Spix y Agassiz, 1829), cuya sinonimia más conocida es *B. siebenthalae* (Eigenmann, 1912), es un carácido nativo de las cuencas de los ríos Orinoco, Amazonas y Essequibo (Cruz-Casallas *et al.*, 2006c), con excelentes características para piscicultura. Sin embargo, tiene ciclo reproductivo corto que coincide con la época de lluvias (Arias *et al.*, 2004), no presenta cortejo sexual (Arias, 2006) y, por lo tanto, no se reproduce espontáneamente en cautividad (Pardo-Carrasco *et al.*, 2006a). Muchos han sido los trabajos realizados en la última década intentando establecer un protocolo eficiente para su cultivo a escala comercial, los cuales han permitido conocer varios aspectos relacionados con la reproducción de la especie (Arias, 2006); sin embargo, en los sistemas de producción, aún no ha sido posible romper la estacionalidad de su ciclo reproductivo, observándose asincronía en la maduración gonadal entre machos y hembras y baja calidad seminal, tanto al inicio como al final de la estación reproductiva (Cruz-Casallas *et al.*, 2006c). Por lo anterior, aún es necesaria la administración de hormonas exógenas para

inducir la ovulación, espermiación y sincronización de la liberación de los gametos (Velasco-Santamaría *et al.*, 2006a), lo cual ocasiona altos porcentajes de mortalidad de reproductores, causada muchas veces por ovulaciones incompletas que conducen a obstrucción del oviducto e imposibilidad para expulsar todos los oocitos ovulados (observación personal).

Hace casi 40 años Jalabert y Szöllösi (1975), reportaron evidencias que la prostaglandina F2α podría desempeñar en el proceso ovulatorio de los peces un papel similar al observado en mamíferos (Díaz-Infante *et al.*, 1974), al demostrar *in vitro* que folículos maduros de trucha podrían ser inducidos a ovular adicionando al medio de cultivo entre 1 y 5 µg/ml de PGF2α; igualmente, que este efecto estimulador de la ovulación ejercido por la PGF2α podría ser inhibido en un medio libre de calcio (Ca) o adicionando inhibidores de la entrada de Ca, particularmente Mn⁺⁺ y La⁺⁺⁺, sugiriendo que el proceso ovulatorio en esta especie implicaría también una contracción activa de las células musculares lisas de la teca ovárica. Sin embargo, el papel de las prostaglandinas en la maduración de los oocitos o de la ovulación en peces, aún

no es bien entendido y muy pocos estudios han sido realizados (Lister y Van der Kraak, 2008).

Según Munakata y Kobayashi (2010), la ovulación y el comportamiento sexual pueden ser inducidos mediante la administración de prostaglandina (PG) en hembras de especies tales como goldfish *Carassius auratus*, locha japonesa *Misgurnus anguillicaudatus* (Kitamura *et al.*, 1994), pez paraíso *Macropodus opercularis* (Villars *et al.*, 1985), *Cichlasoma bimaculatum* (Cole y Stacey, 1984), gourami enano (Yamamoto *et al.*, 1997), *Puntius gonionotus* (Liley y Tan, 1985) y medaka *Oryzias latipes* (Oshima *et al.*, 2003) y que inyecciones de PG en hembras de estas especies, estimulan el comportamiento reproductivo entre hembras y machos.

En consecuencia, los objetivos del presente trabajo fueron evaluar los efectos de la administración de PGF2 α sobre el desempeño reproductivo de hembras de yamú sometidas al protocolo estándar de inducción de la maduración final de la gónadas con EHC, el efecto sobre el volumen seminal de machos sin inducción hormonal, así como los efectos sobre el comportamiento de cortejo y la sobrevivencia post-inducción de los reproductores.

Materiales y métodos

Localización

La investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la empresa Langostinos del Llano Ltda., ubicada en la vereda Caney Bajo del municipio de Restrepo (Meta), Colombia, cuyas coordenadas son 4°16'8" de Latitud Norte y 73° 32' 55" de Longitud Oeste, a 450 msnm, con temperatura ambiental promedio de 26°C.

Material biológico

Se seleccionaron 56 reproductores de yamú de 3 años de edad, de primera reproducción, provenientes de un lote de individuos nacidos en cautiverio, mantenidos en un estanque de tierra de 1000 m² y alimentados con concentrado extrudizado de 30% de proteína bruta (PB), suministrado según recomendación de Arias (2006) y Landínez y Mojica (2005). Fueron mantenidos bajo estas condiciones durante 3 meses, hasta el comienzo de la temporada de lluvias e inicio de la época reproductiva.

La selección de los reproductores aptos para la inducción se realizó de acuerdo con las recomendaciones de Arias (2006), García *et al.* (2004) y Velasco-Santamaría *et al.* (2006b) y el factor de condición se

calculó siguiendo los criterios indicados por Pardo-Carrasco *et al.* (2006a).

Los ejemplares se transportaron al laboratorio de reproducción en bolsas plásticas con agua y sal (a una proporción de 1 g/l) y distribuidos completamente al azar (relación sexual 1:1) en tanques circulares de cemento de 4240 l, con recambio permanente de aproximadamente 20 l/min. Se utilizó un tanque para cada tratamiento y durante esta fase los reproductores no fueron alimentados.

Primer experimento

Un grupo de 12 hembras de 1787.5 \pm 140 g de peso corporal y 50 \pm 1.4 cm de longitud total fueron inducidas a la ovulación, administrando intramuscularmente dos inyecciones de Extracto de Hipófisis de Carpa (EHC, Stoller Fisheries, USA): 0.5 y 5 mg/kg de peso vivo, administradas con un intervalo de 12 h, disueltas en solución salina fisiológica (0.9%).

Para facilitar el manejo, toma de muestras y seguimiento de los reproductores, los animales de cada tratamiento se inyectaron a intervalos de 30 min. Tanto el suministro de agua a cada tanque como sus efluentes fueron independientes, con el fin de evitar que metabolitos de las hormonas administradas, así como otros productos de excreción de los animales, influyeran entre tratamientos.

En el momento de la última inyección de EHC, las hembras fueron anestesiadas por inmersión en solución de Benzocaína (1 g/l de agua) y su papila genital suturada para evitar la pérdida de ovocitos durante la manipulación; a partir de este momento la temperatura del agua de los tanques fue monitoreada cada hora con un termómetro de mercurio (Silver Brand, 10 a 110°C, \pm 1°C), para determinar la latencia hasta la ovulación en horas grado.

Se evaluaron tres dosis de PGF2 α (PROSTAL® Laboratorios OVER, Buenos Aires, Argentina), el cual contiene 0.075 mg de Cloprostenol por mL. Quince minutos antes de terminar el período de latencia esperado para la especie (6 horas), la prostaglandina se administró vía IM en la base del último radio de la aleta dorsal, utilizando jeringas de 1 mL. Las dosis evaluadas fueron: T1: Control - solución salina (0.9%); T2: 1.5 μ g de PGF2 α /kg de peso de la hembra; T3: 3 μ g/ de PGF2 α /kg de peso de la hembra; T4: 6 μ g/ de PGF2 α /kg de peso de la hembra. Para cada tratamiento fueron utilizados 3 hembras y 3 machos.

Quince minutos después de administrada la PGF2 α , las hembras fueron sumergidas en la solución de Ben-

zocaína, hasta observar pérdida del eje de nado. Posteriormente se retiró la sutura de la papila urogenital y ésta fue secada cuidadosamente con el fin de evitar el contacto de los ovocitos con agua. Inmediatamente después, de cada individuo se tomó una muestra de ovocitos introduciendo un catéter plástico a través del oviducto; éstos se fijaron en formol buferado para posterior medición de su diámetro. Si en ese momento se detectó ovulación, el desove se indujo mecánicamente aplicando suave masaje cráneo-caudal sobre las paredes de la cavidad celómica; inmediatamente después se pesó el total de ovocitos desovados y se contó la cantidad presente en un gramo, para determinar posteriormente la fecundidad total de cada hembra (Cruz-Casallas *et al.*, 2004).

De igual manera se procedió con los machos; en el momento de obtener los huevos de las hembras acompañantes, machos sin inducción hormonal (en relación 1:1) fueron tranquilizados en la solución de benzocaína y el semen fue colectado en tubos de vidrio aforados de 15 mL. En cada muestra seminal se determinó el color y el volumen (Cruz-Casallas *et al.*, 2004).

Para la fertilización, los ovocitos fueron mezclados con el semen y la movilidad espermática se activó adicionando agua del sistema de incubación; posteriormente se lavaron y dejaron hidratar durante 20 min. El volumen de huevos hidratados se midió en un vaso de precipitados de 500 ml; luego se incubaron en recipientes experimentales de flujo ascendente de 2 litros, colocando 2 g de huevos por incubadora y recambio de agua permanente.

La tasa de fertilidad fue determinada 6 horas postseminación (HDF), a partir de la observación de tres muestras de aproximadamente 100 huevos tomados al azar. El valor fue expresado en porcentaje, calculado a partir del número de ovocitos fertilizados (fase del cierre del blastoporo) sobre un total de 100 (Cruz-Casallas *et al.*, 2006b) y la tasa de sobrevivencia embrionaria se midió a las 10 HDF, en estado de embrión avanzado.

Los reproductores fueron monitoreados durante 24 horas para determinar comportamientos y cambios de coloración o signos de estrés como letargia, apatía, ausencia del reflejo de huida y posteriormente devueltos a los estanques, sin ningún tipo de tratamiento profiláctico para determinar el porcentaje de sobrevivencia a los tres días.

Segundo experimento

Dieciséis hembras fueron inducidas a la reproducción utilizando el mismo protocolo estándar descrito

anteriormente. Quince minutos antes de cumplirse el periodo estimado de latencia a la ovulación, 8 de ellas fueron tratadas con 6 µg de PGF2α/kg (grupo prostaglandina) (GP) y las 8 restantes constituyeron el grupo control (GC), las cuales recibieron 1 mL de solución salina (0.9%). Posteriormente, cada uno de los grupos se subdividió al azar, destinándose 4 hembras de cada grupo para desove por extrusión y las 4 hembras restantes de cada grupo para desove seminatural. En estas últimas hembras, la sutura de la papila genital fue retirada en este momento para permitir la interacción con machos no tratados, dispuestos en proporción 1:1. Cada grupo de 4 hembras se alojó y monitoreó en piletas circulares independientes, así:

Grupo Prostaglandina con extrusión (GPE) (n=4). Se anestesiaron a los 15 min de la inyección de PGF2α, se retiró la sutura y se tomó muestra de ovocitos, en caso de estar ovulando, se recolectaron por medio de extrusión, se pesaron los oocitos recolectados y posteriormente se realizó fertilización en seco. En caso de no observarse ovulación, se tomó una muestra de ovocitos y cada hembra fue revisada de nuevo cada 15 min durante una hora, momento en el cual se dio por finalizado el experimento.

Los machos de este tratamiento se anestesiaron, se les extrajo el semen para determinar su volumen y posteriormente se utilizó para realizar la seminación en seco. El espermatozoo fue medido tomando muestras de semen en tubos capilares y siguiendo el procedimiento descrito por Cruz-Casallas *et al.* (2007).

Grupo Control con extrusión (GCE) (n=4). Se les inyectó solución salina (1 ml) en lugar de PGF2α y se procedió de la misma forma que con el grupo anterior (GPE).

Grupo Prostaglandina semi-natural (GPN) (n=4). Después de retirada la sutura se permitió la interacción entre machos y hembras y se monitoreó el comportamiento de cortejo sexual durante las dos horas siguientes, considerando como cortejo toda persecución, acercamiento, golpeteo o nado paralelo del macho junto a la hembra (Wetzien *et al.*, 2003); en los casos que se observó desove, los huevos se recolectaron por un sistema de vasos comunicantes, se midió el volumen de huevos hidratados y se calcularon los porcentajes de fertilidad y de sobrevivencia de la misma forma que en el experimento 1.

Grupo control semi-natural (GCN) (n=4). Se les inyectó solución salina (1 ml) en lugar de PGF2α y se procedió de la misma forma que el grupo anterior (GPN). De la misma forma que en el experimento 1, todos los animales fueron monitoreados durante 24

horas en los tanques de reproducción, para determinar cambios de comportamiento y de coloración o signos de estrés y posteriormente fueron devueltos a los estanques en tierra y estimada la sobrevivencia hasta el tercer día.

Análisis estadístico

Inicialmente todos los datos fueron descritos estadísticamente y expresados como media \pm desviación estándar. Los datos de las variables de la eficiencia reproductiva fueron sometidos a análisis de varianza de una vía (ANOVA) y, cuando hubo diferencias significativas, las medias se compararon mediante la prueba de Tukey-Kramer. En todos los casos, un valor de $P < 0.05$ se consideró diferencia significativa. Todos los análisis estadísticos fueron realizados empleando el software SAS para Windows ® versión 8.2 (1999-2001, SAS Institute INC, Cary, NC, USA).

Resultados

Primer experimento

La Tabla 1, muestra la eficiencia reproductiva de las hembras de yamú inducidas con Extracto de Hipófisis de Carpa y tratadas con diferentes dosis de prostaglandina $F2\alpha$ 15 min antes del momento esperado de ovulación.

La tabla 2 muestra el volumen seminal de los machos acompañantes de hembras de yamú inducidas a la reproducción con Extracto de Hipófisis de Carpa y tratadas con diferentes dosis de prostaglandina $F2\alpha$, 15 min antes del momento esperado de la ovulación.

Segundo experimento.

Al finalizar la temporada reproductiva, sólo se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en el porcentaje de fertilidad y en el tiempo de cortejo entre los diferentes tratamientos (Tabla 5).

La Tabla 4 muestra el volumen seminal y el espermatocrito de machos acompañantes de hembras de yamú inducidas con extracto de hipófisis de carpa, tratadas con 6 g $PGF2\alpha/Kg$ PV 15 min antes del momento esperado de ovulación.

Discusión

En el primer experimento se encontraron diferencias estadísticas significativas en el porcentaje de sobrevivencia post-inducción de los reproductores, pudiendo inferirse que la $PGF2\alpha$ podría tener efectos

positivos sobre la sobrevivencia de las reproductoras, ya que con las dosis más altas de $PGF2\alpha$, la sobrevivencia post desove fue mayor, sin que la fertilidad y la sobrevivencia embrionaria entre grupos fueran significativamente diferentes. Es probable que, así la ovulación haya sido parcial, la administración de $PGF2\alpha$ pudo favorecer el desove y permitir la recuperación más rápida de la reproductora. Por otra parte, el volumen seminal aumentó a medida que se incrementó la dosis de $PGF2\alpha$ administrada a las hembras, lo cual podría obedecer a un efecto ferromonal generado por la administración de prostaglandina.

De acuerdo con los resultados del segundo experimento, se puede inferir que persisten deficiencias en la sincronización de los eventos reproductivos entre hembras y machos, especialmente en el momento de la ovulación; además que el comportamiento de desove está inhibido probablemente por la falta de los estímulos ambientales. Aunque se pudieron observar persecuciones persistentes y golpes rápidos entre machos y hembras, como los reportados bajo condiciones naturales (Arias, 2006), la tasa de fertilización fue mejor en los animales desovados por extrusión, cuando comparados con los animales bajo condiciones de desove semi-natural.

Hubo diferencias significativas en la duración del comportamiento de cortejo entre animales control con desove por extrusión y los animales sometidos a desove semi-natural (Tabla 3); en estos últimos fue de una hora más que los animales desovados por extrusión, lo cual resulta lógico, ya que se interrumpió el proceso natural para extraer los ovocitos; sin embargo, no hubo diferencias entre el grupo control semi-natural (GCN) y el grupo control con la prostaglandina (GPN). Similares observaciones fueron reportadas por Wetzien *et al.*, (2003) en la carpa utilizando ~ 0.5 g $PGF2\alpha/g$ de PV de la hembra, en la cual se indujo el comportamiento de desove por al menos una hora post- inyección. Landínez (1995), reportó que los machos de yamú responden bien al estímulo que obtengan de hembras maduras cercanas, pero que el porcentaje de fertilización de los desoves semi-naturales es más bajo que el desove obtenido por extrusión.

Es bien conocido que los peces usan señales medioambientales como el fotoperiodo, cambios en la temperatura del agua, mareas, flujo de agua, substratos para el desove y signos biológicos captados por los órganos de los sentidos del olfato, vista y el oído, así como el comportamiento de otros peces (Helfman *et al.*, 1997; Moyle and Cech, 2000, citados por Munakata y Kobayashi (2010). Probablemente existan

Tabla 1. Eficiencia reproductiva de hembras de yamú *Brycon amazonicus*, inducidas con 5.5 mg de EHC/kg de peso vivo (PV) administrado en dos inyecciones (0.5 y 5.0 mg/kg con 12 h de intervalo) y tratadas con diferentes dosis de PGF2 α , administradas 15 min antes del momento esperado de ovulación. La temperatura del agua se mantuvo en 25.5°C \pm 0.2. Entre filas, medias con sobrescritos diferentes indican diferencia significativa (P<0.05) (n=3).

TTO ¹	Peso (Kg)	LT (cm)	Kn ²	DiamI	DiamF	T. latencia	Peso Huevos (gr)	No. huevos	Sobrev. larval (%)	Fecundidad ³	%SPD ⁴
1	1.7 \pm 0.0 ^a	48.7 \pm 2.0 ^a	1.26 \pm 0.1 ^a	1163.5 \pm 23.7 ^a	1164.3 \pm 21.7 ^a	6.8 \pm 0.3 ^a	123.0 \pm 32.3 ^a	1112.3 \pm 442.3 ^a	21.7 \pm 30.0 ^a	72.8 \pm 24.7 ^a	0 ^b
2	1.8 \pm 0.0 ^a	49.1 \pm 0.9 ^a	1.29 \pm 0.0 ^a	1129.3 \pm 23.8 ^a	1180.1 \pm 19.8 ^a	6.9 \pm 0.2 ^a	87.6 \pm 17.8 ^a	1141.7 \pm 166.6 ^a	1.5 \pm 2.5 ^a	48.2 \pm 9.3 ^a	0 ^b
3	1.8 \pm 0.0 ^a	49.1 \pm 1.9 ^a	1.34 \pm 0.0 ^a	1119.2 \pm 28.3 ^a	1194.4 \pm 52.7 ^a	7.0 \pm 0.2 ^a	127.2 \pm 92.1 ^a	1360.7 \pm 273.5 ^a	51.0 \pm 44.2 ^a	73.4 \pm 73.7 ^a	100 ^a
4	1.7 \pm 0.0 ^a	48.7 \pm 1.2 ^a	1.27 \pm 0.1 ^a	1137.1 \pm 16.2 ^a	1191.3 \pm 29.0 ^a	7.0 \pm 0.2 ^a	170.2 \pm 121.1 ^a	1145.0 \pm 493.0 ^a	53.3 \pm 46.1 ^a	99.5 \pm 73.6 ^a	100 ^a

¹ T1 Control: (solución salina 0.9%), T2 (1.5 μ g PGF2 α /Kg PV de la hembra), T3 (3 μ g PGF2 α /Kg PV de la hembra), T4 (6 μ g PGF2 α /Kg PV de la hembra)

² Factor de condición relativo

³ Expresada en g de huevos/kg de peso de la hembra

⁴ Porcentaje de sobrevivencia de las reproductoras postdesove

LT = Longitud total; DiamI = Diámetro ovocitario inicial; DiamF = Diámetro ovocitario final; T. latencia= Tiempo de latencia a la ovulación; %SPD = Porcentaje de sobrevivencia post-inducción.

Tabla 2. Efecto de la PGF2 α inyectada a hembras de yamú (*Brycon amazonicus*), inducidas a la reproducción con 5.5 mg de EHC/Kg de PV en dos dosis (0 y 12h) sobre el volumen seminal de los machos acompañantes.

Tratamiento ¹	n	Peso (kg)	Lt (cm)	Volumen seminal (mL)
T1	3	1.5 \pm 0.0 ^a	49.3 \pm 5.1 ^a	1.6 \pm 1.0 ^{ab}
T2	3	1.6 \pm 0.0 ^a	49.5 \pm 3.6 ^a	1.9 \pm 0.5 ^{ab}
T3	3	1.8 \pm 0.0 ^a	51.2 \pm 2.4 ^a	1.4 \pm 0.7 ^b
T4	3	1.5 \pm 0.0 ^a	49.0 \pm 2.8 ^a	3.3 \pm 0.4 ^a

¹ T1 Control: (solución salina 0.9%), T2 (1.5 μ g PGF2 α /kg PV de la hembra), T3 (3 μ g PGF2 α /kg PV de la hembra), T4 (6 μ g PGF2 α /kg PV de la hembra).

Medias con letra diferente en la misma columna significan diferencia estadística (P<0.05)

De acuerdo con estos resultados, se determinó utilizar la dosis de 6 μ g de PGF2 α /kg de PV de la hembra, para el segundo experimento.

fallas de diseño en la construcción de los sistemas de reproducción que pueden estar incidiendo en la falta de cortejo y de comportamiento reproductivo para esta especie, ya que los tanques de laboratorio y canales de flujo frecuentemente no pueden replicar todas las condiciones físicas y de contexto social, presentes en las condiciones del ambiente natural (Johnson y Li, 2010); además de la inhibición de las feromonas que son empleadas por algunas especies de peces que se desplazan grandes distancias para

localizar sus riachuelos de origen o áreas de desove (Chung-Davidson *et al.*, 2011).

Los bajos porcentajes de fertilización observados en el presente ensayo pueden atribuirse a los bajos volúmenes de semen obtenidos y a que la proporción sexual utilizada fue de apenas un macho por cada hembra, mientras que bajo condiciones de cultivo se utiliza una relación de 2 - 2.5 machos por hembra inducida. Resultados similares fueron reportados

Tabla 3. Respuesta al desove de hembras de yamú *Brycon amazonicus* a una temperatura promedio de 26.1°C ± 10 inducidas con 5.5 mg de EHC/Kg de PV más 6 µg PGF2α/Kg PV (n=4).

Tto ¹	Peso (Kg)	LT (cm)	DiamI	DiamF	T. latencia	Fertilización (%) ²	Sobre. larval (%)	Cortejo (min)
GCE	1.6±0.0a	46.6±5.4a	1084.2±23.8a	1213.3±47.0a	6.15±0.1a	82.8±4.5a	54.9±20.7a	17.0±5.4b
GCN	1.7±0.0a	47.7±2.9a	1110.8±52.0a	1233.7±21.6a	5.95±0.3a	44.8±22.5b	45.4±24.7a	90.0±34.6a
GPE	1.5±0.0a	45.7±5.8a	1120.6±30.6a	1249.7±29.7a	6.1± 0.1a	79.4±4.7a	40.6±30a	17.5±5.0b
GPN	1.7±0.0a	48.0±4.3a	1138.4±41.8a	1223.7±37.4a	5.9±0.3a	34.8±18.9b	39.5±16.2a	95.0±28.8a

¹ GCE (Grupo control por extrusión), GNC (Grupo control semi-natural), GPE (Grupo prostaglandina por extrusión), GPN (Grupo prostaglandina semi-natural)

² Considerada en el cierre del blastoporo

LT = Longitud total; DiamI = Diámetro ovocitario inicial; DiamF = Diámetro ovocitario final; T. latencia= Tiempo de latencia a la ovulación; %SPD = Porcentaje de sobrevivencia post-inducción.

^{a,b} Medias con letras sobrescritos diferentes, significan diferencia estadística (P<0.05)

Tabla 4. Efecto de la PGF2α inyectada a hembras de yamú *Brycon amazonicus*, inducidas a la reproducción con 5.5 mg de EHC/Kg de PV en dos dosis (0 y 12h), sobre el volumen seminal y espermatocrito de machos de yamú sin inducción hormonal.

Tratamiento	n	Peso (Kg)	Lt (cm)	Volumen seminal (ml)	Espermatocrito (%)
GCE	4	1.7 ± 0.1	48.8 ± 3.2	4 ± 1	25.9 ± 24.8
GPE	4	1.9 ± 0.1	49.3 ± 3.8	3.9 ± 2	32.6 ± 3.8

¹ GCE Grupo Control con extrusión: (solución salina 0.9%), GPE Grupo Prostaglandina con extrusión (6 µg PGF2α/Kg PV de la hembra)

por Pardo-Carrasco *et al.* (2006b) para el yamú y por Melo (2006) para *B. orthotaenia*. Lo anterior parece ser una condición común en los machos de muchas especies de peces suramericanas con potencial para la acuicultura. Por ejemplo, machos de piapara *Leporinus elongatus*, eyaculan un esperma denso, blanco y en poca cantidad, al igual que *L. macrocephalus* (Reinalte- Tataje *et al.*, 2002). Igualmente, Lichtenstein (2009) reporta muy poco esperma en el pejerrey bonaerense (*Odontesthes bonariensis*). Por otro lado, la baja sobrevivencia embrionaria observada, en comparación con otros trabajos en la especie, puede atribuirse principalmente a la utilización de incubadoras experimentales de bajo volumen, cuya estabilidad del flujo de agua es difícil de controlar.

Cruz-Casallas *et al.*, (2007) reportaron que el yamú en cautividad, sin inducción hormonal, produce bajos volúmenes de semen (1.8 ± 1.2 mL), tal como lo encontrado en este trabajo. El uso de EHC para la inducción de machos se utiliza básicamente para aumentar el volumen seminal principalmente para procesos de

crioconservación (Cruz-Casallas *et al.*, 2006c), administrándose la hormona 18 h antes de la extracción del semen.

A pesar que Cruz-Casallas *et al.* (2006a) reportaron que en animales de 3 años inducidos con 4 mg/kg de EHC el volumen seminal es de 8.9±0.5 mL sin diferencias estadísticas entre los meses de Marzo-Abril-Mayo, varios autores reportan que la administración de Extracto de Hipófisis de Carpa (EHC) en los peces aumenta el volumen de semen, pero disminuye la concentración espermática (Velasco-Santamaría *et al.*, 2004a), probablemente porque el proceso de espermatogénesis toma mucho más tiempo y, por lo tanto, el intervalo de tiempo (c.a. 18 h) entre la administración de la hormona y la extracción del semen no es suficiente para aumentar la cantidad de células espermáticas en el eyaculado obtenido.

Teniendo en cuenta que Cruz-Casallas *et al.* (2007) reportaron para la especie espermatocrito de 13.6 ± 0.6% a mediados de la temporada reproductiva, un

valor de espermatocrito de $32.6 \pm 3.8\%$ en los machos sin inducción hormonal observado en este ensayo, podría ser consecuencia de los efectos de la administración de PGF 2α a las hembras cortejadas. Es probable que la PGF 2α contribuya a mantener altos los niveles de LH en los machos, ya que 24 h después del desove, aún fue posible extraer semen de los machos en contacto con hembras tratadas, mientras que en los machos acompañantes de hembras control esto no fue posible. Sin embargo, aún se requiere de estudios adicionales para determinar y comprender los mecanismos fisiológicos involucrados en el papel que ejerce la prostaglandina, tanto directamente sobre el proceso ovulatorio, como sobre el comportamiento sexual de los parentales por sus reconocidos efectos ferormonales.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la empresa Langostinos del Llano Ltda. por la financiación de este trabajo, así como a sus trabajadores y a los integrantes del grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos (GRITOX), por su valiosa colaboración durante la ejecución de los ensayos.

Referencias

Arias JA, Estado actual del conocimiento sobre el yamú, *Brycon amazonicus*. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 2006; 19 (2): 125 - 133.

Arias JA, Zaniboni-Filho E, Pardo-Carrasco SC, Vásquez-Torres W, Atencio-García V. Breeding and domesticating *Brycon siebenthalae* females for reproduction. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 2004; 26 (2): 159 - 163.

Chung-Davidson YW, Huertas M, Li W. 2011. A review of research in fish pheromones. In: Breithaupt T, Thiel M (Editors). *Chemical Communications in Crustaceans*. 1st Ed., Springer, Netherlands, p. 467 - 482.

Cruz-Casallas PE, Velasco-Santamaría YM, Medina-Robles VM. Determinación del espermatocrito y efecto del volumen de la dosis semillante sobre la fertilidad en yamú (*Brycon amazonicus*). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 2006a; 19(2): 140 -145.

Cruz-Casallas PE, Medina-Robles VM, Velasco-Santamaría YM. Evaluación de diferentes crioprotectores para la crioconservación de espermatozoides de yamú (*Brycon amazonicus*). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 2006b; 19 (2): 152 - 159.

Cruz-Casallas PE, Medina-Robles VM, Velasco-Santamaría YM. Protocolo para la crioconservación de semen de yamú *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz 1829). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 2006c; 19(2): 146 - 151.

Cruz-Casallas PE, Medina-Robles VM, Velasco-Santamaría JM. Seasonal Variation of Sperm Quality and Relationship between Spermatocrit and Sperm Concentration in Yamú *Brycon amazonicus*. *North American Journal of Aquaculture*, 2007; 69(2): 159 - 165.

Cruz-Casallas PE, Pardo-Carrasco SC, Arias-Castellanos JA, Lombo-Castellanos PE, Lombo-Rodríguez DA, Mariño JE. Cryopreservation of yamú *Brycon siebenthalae* milt. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2004; 35(4): 529 - 535.

Diaz-Infante Jr. A, Wright KH, Wallach EE. Effects of indomethacin and prostaglandin F 2α on ovulation and ovarian contractility in the rabbit. *Prostaglandins*, 1974; 5(6): 567-581.

García-Tisnes J, Arias-Castellanos JA, Cruz-Casallas PE. Efectos de la administración preovulatoria de Triidotironina (T3) sobre el desempeño reproductivo y desarrollo larvario en Yamú *Brycon siebenthalae*. *Orinoquia*, 2004; 8(1): 57 - 63.

Jalabert B, Szöllösi D. *In vitro* ovulation of trout oocytes: effect of prostaglandins on smooth muscle-like cells of the theca. *Prostaglandins*, 1975; 9(5): 765-778.

Jonhson NS, Li W. Understanding behavioral responses of fish to pheromones in natural freshwater environments. *Journal of Comparative Physiology A Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology*, 2010; 196(10): 701 - 711.

Landínez MA. Inducción de la reproducción del yamú *Brycon siebenthalae* a partir de extracto de hipófisis de carpa (EHC). *Boletín Científico INPA*, 1995; 3: 5 -17.

Landínez MA, Mojica H. 2005. Manejo y reproducción de carácidos. En: Daza PV, Landínez PMA, Sanabria OAI (Editores). *Reproducción de peces en el trópico*. Instituto Colombiano de Desarrollo Rural (INCODER) -Universidad Nacional. Bogotá D.C. Colombia. p. 91-104.

Lichtenstein G. 2009. Desarrollo e implementación de técnicas para la criopreservación de esperma de pejerrey bonaerense *Odonesthes bonariensis*. Trabajo de grado. Universidad de Belgrano, 53p.

Lister AL, Van Der Kraak G. An investigation into the role of prostaglandins in zebrafish oocyte maturation and ovulation. *General and Comparative Endocrinology*, 2008; 159(1): 46 - 57.

Melo FCSA, Godinho HP. A protocol for cryopreservation of spermatozoa of the fish *Brycon orthotaenia*. *Animal Reproduction*, 2006; 3(3): 380-385.

Munakata A y Kobayashi M. Endocrine control of sexual behavior in teleost fish. *General and comparative endocrinology*, 2010; 165: 456-468.

Pardo-Carrasco SC, Arias-Castellanos JA, Suarez-Mahecha H, Cruz-Casallas PE, Vásquez-Torres W, Atencio-García V, Zaniboni-Filho E. Inducción a la maduración final y ovulación del yamú *Brycon amazonicus* con EHC y mGnRH-a. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 2006a; 19(2): 160-166.

Pardo-Carrasco SC, Zaniboni-Filho E, Arias-Castellanos JA, Suarez-Mahecha H, Atencio-García V, Cruz-Casallas PE. Evaluation of milt quality of the yamú *Brycon amazonicus* under hormonal induction. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 2006b; 19(2): 134-139.

Reinalte-Tataje D, Esquivel BM, Esquivel JR, Zaniboni-Filho E. Reproducción inducida del piaucu, *Leporinus macrocephalus* Garavello y Britski, 1988 (Characiformes, Anostomidae). *Boletim do Instituto de Pesca*, 2002; 28(1): 11-18.

Velasco-Santamaría YM, Medina-Robles VM, Cruz-Casallas PE. Cryoconservation of yamú (*Brycon amazonicus*) sperm for large scale fertilization. *Aquaculture*, 2006a; 256(1-4): 264-271.

Velasco-Santamaría YM, Corredor-Santamaría W, Cruz-Casallas PE. Efectos del sistema de conservación sobre la fertilidad de

ovocitos de yamú (*Brycon amazonicus*) durante cortos períodos de almacenamiento. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 2006b; 19(2): 167-174.

Wetzien FA, Hoglund E, Hamdani EH, Doving KB. Does the lateral bundle of the medial olfactory tract mediate reproductive behavior in male crucian carp? *Chemical Senses*, 2003; 28: 293-300.