

# Manejo hormonal de la función reproductiva de peces tropicales bajo condiciones de cautiverio

Pablo Emilio Cruz-Casallas MVZ, MSc, PhD; Yohana María Velasco-Santamaría MV y Mauricio Medina-Robles MVZ, MSc.

Instituto de Acuicultura - Universidad de los Llanos  
Villavicencio - Meta  
pecruz@telecom.com.co

## Introducción

La reproducción es el proceso biológico más importante de los organismos, ya que de él depende la supervivencia y perpetuación de las especies; por lo tanto, el control de los ciclos reproductivos de las especies ícticas sometidas a cultivo, es uno de los factores más importantes para asegurar el éxito de la acuicultura y constituye requisito indispensable para la introducción de nuevas especies a los sistemas de producción.

La acuicultura es una actividad productiva practicada por varias sociedades desde hace muchos siglos; sin embargo, su tecnificación e industrialización comenzó hace apenas unas pocas décadas y aún está lejos de alcanzar el nivel de desarrollo tecnológico mostrado por otras industrias de producción animal como la bovinocultura y avicultura, particularmente en lo relacionado con el mejoramiento genético (Foster, 1999) y la biotecnología reproductiva. Uno de los principales 'cuellos de botella' para el desarrollo de esta actividad comercial y además un requisito para el establecimiento de programas de mejoramiento genético, es el control de la función reproductiva de las especies bajo condiciones de cautiverio.

Casi todos los peces en cautiverio presentan alguna forma de disfunción reproductiva. Las hembras generalmente fallan en lograr la maduración final de los ovocitos, la ovulación o el desove, mientras que los machos disminuyen el volumen de la producción de semen o la calidad espermática. Estos trastornos reproductivos se deben a que los peces en cautiverio no experimentan los cambios ambientales que suceden en su hábitat natural y como resultado la hipófisis no libera la gonadotropina (GtH) maduracional (Zohar y Mylonas, 2001). Por lo tanto, para lograr la reproducción en cautiverio de aquellas especies de peces que no desovan espontáneamente, es necesaria la inducción o estimulación hormonal. Este procedimiento requiere un adecuado conocimiento de la biología y fisiología de la especie, ya que cada una responde de manera particular, tanto a los protocolos disponibles, como a las variaciones ambientales y de manejo a que son sometidas (Zohar y Mylonas, 2001).

La manipulación de parámetros ambientales, tales como temperatura, longitud del fotoperiodo, salinidad, volumen y profundidad de los estanques de alojamiento, etc., pueden en algunas especies ser suficientes para estimular el desove (Zohar, 1989; Munro et al., 1990; Yaron, 1995); sin embargo, en varias especies, el tratamiento hormonal es la única alternativa para inducir el proceso reproductivo. Actualmente son muchas las sustancias hormonales disponibles y utilizadas para inducir la reproducción en peces. La literatura científica internacional menciona entre otras las siguientes: extracto de hipófisis de carpa (EHC) (Von Ihering, 1937; Fontenele, 1955; Zonneveld et al., 1988); preparaciones purificadas de gonadotropinas (GtHs) de salmón o carpa (Yaron, 1995); análogos de LHRH (LHRHa) (Weil y Crim, 1983; García, 1991; King y Young, 1995; Berlinsky et al., 2005); hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) (Schally, 1978) y agonistas (GnRHa) (Fujino et al., 1972); gonadotropina coriónica humana (hCG) (Ayson, 1991; Legendre et al., 1996) y LHRHa asociados a antagonistas o bloqueadores de receptores de dopamina (Sukumasavin et al., 1992; Drori et al., 1994).

El presente documento compila la disfunción reproductiva de los peces de cultivo, describe la evolución de los métodos actuales más comunes para el control hormonal de la reproducción de peces en cautiverio y presenta algunos resultados obtenidos en especies nativas colombianas de interés comercial.

## 1. Disfunciones reproductivas de peces de cultivo

Similar a la mayoría de animales silvestres mantenidos en cautiverio, muchas especies de peces de interés comercial para la industria de la acuicultura, presentan disfunciones reproductivas. Esta disrupción reproductiva resulta probablemente de una combinación del estrés inducido por el cautiverio (Van der Kraak, 1997) y la falta de los estímulos ambientales suficientes y (o) apropiados para alcanzar la maduración final de los ovocitos, la ovulación y el desove (Ohta et al., 1997). Normalmente los problemas reproductivos disminuyen con el tiempo y, después de varias generaciones, la especie puede llegar a reproducirse en cautiverio, proceso conocido como 'domesticación' (Zohar et al., 1984).

Usualmente las disfunciones reproductivas son más severas en las hembras que en los machos y pueden ser clasificadas en tres tipos: la primera y más severa disfunción reproductiva es la falla completa para iniciar la vitelogenénesis y espermatogénesis; en algunos casos, después de varios años de cautiverio, algunas hembras pueden iniciar el proceso vitelogénico, pero solamente un pequeño porcentaje desarrollan ovocitos de diámetro suficiente para ser inducidos a la ovulación empleando hormonas exógenas; en consecuencia, los peces sufren atresia y reabsorción de sus gónadas al final de la estación reproductiva.

El segundo tipo de disfunción reproductiva de las hembras es la ausencia de maduración final de los ovocitos. La

vitelogenesis parece progresar normalmente, pero al inicio de la estación reproductiva, los ovocitos post-vitelogénicos, no alcanzan la maduración final y sufren atresia. (Larsson et al., 1997). Este es el tipo de problema más común observado en las especies ícticas cultivadas y muchos trabajos de investigación han sido realizados sobre el desarrollo de manipulaciones hormonales para la inducción de la maduración final, la ovulación y el desove, en una gran cantidad de especies.

El tercer tipo de disfunción reproductiva observado en hembras cultivadas es la ausencia de desove al final del ciclo reproductivo. En las especies que presentan este tipo de problema, los ovocitos alcanzan la maduración final y son ovulados cuando los estímulos fisiológicos y ambientales son apropiados, pero los ovocitos no son liberados al agua. Los ovocitos no desovados pueden tener dos destinos: ser retenidos en la cavidad abdominal y posteriormente reabsorbidos (Bromage et al., 1992) o ser liberados espontáneamente durante las siguientes horas o días, pero sin comportamiento reproductivo (Hassin et al., 1997). Obviamente, en estas especies, los ovocitos deben ser obtenidos manualmente y fertilizados artificialmente. Sin embargo, la manipulación para la obtención de los ovocitos debe hacerse dentro de un periodo de tiempo determinado después la ovulación, que dependiendo de la especie y de la temperatura del agua puede ser algunos días (Springate et al., 1984), horas (Kjørsvik et al., 1990) o aun minutos (Mylonas et al., 1996).

Las disfunciones reproductivas observadas en los machos se limitan a reducción en el volumen de semen producido o en disminución de la calidad espermática. Machos de *Paralichthys dentatus* capturados de su ambiente natural durante la estación reproductiva y trasladados a cautiverio, produjeron semen con ausencia de espermatozoides móviles (Berlinsky et al., 1997) o semen con alta viscosidad que no permitió mezclarse adecuadamente con el agua y por lo tanto fue incapaz de fertilizar los ovocitos (Vermeirseen et al., 2000). Otro problema consiste en que la producción de semen es a menudo inadecuada para satisfacer los procesos de seminación artificial a escala comercial.

## 2. Inducción hormonal de la ovulación, espermiación y desove

La mayoría de la investigación y desarrollos tecnológicos sobre el uso de hormonas para el control del ciclo reproductivo en los peces se ha enfocado en la inducción de la maduración final de los ovocitos, la ovulación, espermiación y desove, en aquellas especies que no completan satisfactoriamente estos eventos reproductivos. Sin embargo, las manipulaciones hormonales tienen también importantes aplicaciones en la acuicultura comercial, aún en aquellas especies que logran maduración final de ovocitos y espermiación de manera espontánea en cautiverio. Por ejemplo, en la industria del salmón, la ovulación es inducida con hormonas con el fin de sincronizar y optimizar la recolección de ovocitos y la producción de alevinos, minimizando la manipulación y el estrés de los peces y disminuyendo los requerimientos de mano de obra (Goren et al., 1995).

Otra aplicación de las manipulaciones hormonales consiste en la recolección de gametos con fines de hibridación de especies, empleando técnicas de fertilización artificial. Así mismo, el desarrollo de programas de selección genética requiere a menudo de fertilización artificial y la manipulación hormonal puede ser usada para una adecuada maduración y sincronización en la recolección de los gametos. Por lo tanto, la utilización de hormonas para la inducción de la ovulación, espermiación y desove continuará jugando un papel importante en el manejo comercial de los stocks de reproductores, aún después de lograr la 'domesticación' de las especies para piscicultura.

Varias hormonas del eje cerebro - hipófisis - gónadas, han sido utilizadas para inducir la maduración final de las gónadas de peces cultivados. La clave para el desarrollo de las actuales y futuras tecnologías para la inducción del desove es el conocimiento básico de los efectos del cautiverio sobre el sistema endocrino que gobierna la maduración final de las gónadas, la ovulación, espermiación y desove de los peces.

### 2.1 Lugar de la falla hormonal en los peces de cultivo

La falta de maduración final de los ovocitos, ovulación y desove en los peces de cultivo, es consecuencia de la ausencia de las condiciones ambientales que los peces experimentan en su ambiente natural. Muchas de las especies comercialmente importantes migran cientos de kilómetros para alcanzar nichos ambientales donde las condiciones son óptimas para la sobrevivencia de la progenie. Durante esta migración experimentan múltiples cambios ambientales, tales como, pH, dureza, temperatura, profundidad, variedad de sustratos, disponibilidad de alimento, etc. Los efectos combinados de estos cambios disparan los procesos endocrinos que conducen a la maduración final de los ovocitos y a la ovulación (Stacey, 1984). En ausencia de estos estímulos, los peces cautivos detienen el proceso vitelogénico y posteriormente sufren atresia folicular.

La observación inicial de que la inyección de extractos de hipófisis obtenidas de peces maduros mantenidos en cautiverio podía inducir la ovulación y el desove en hembras que de otra manera sufrirían atresia de sus folículos, sugirió que las hipófisis de los peces cautivos contienen las hormonas necesarias para inducir la ovulación. Estudios posteriores demostraron que los niveles de LH en la hipófisis de hembras mantenidas en cautiverio aumentan progresivamente a medida que avanza la vitelogenesis y se acerca la estación reproductiva (Elizur et al., 1995). Sin embargo, después que el proceso vitelogénico ha terminado y la LH ha alcanzado los máximos niveles plasmáticos, las concentraciones sanguíneas de esta hormona descienden dramáticamente hasta niveles indetectables y los ovocitos sufren atresia. Por otro lado, en las hembras que desovan espontáneamente, la maduración final de los ovocitos y la ovulación fueron precedidas por un pico característico de LH en el plasma sanguíneo (Zohar, 1988). Estos datos permitieron concluir que en los peces que fallan a ovular en cautiverio, la hormona responsable de este proceso (LH) se acumula en la hipófisis pero no es liberada al torrente sanguíneo. En consecuencia, la LH no llega a los ovarios para disparar la maduración final de los ovocitos y la

ovulación. Esta conclusión es además corroborada por el éxito de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) para inducir liberación de LH, ovulación y desove en una gran variedad de especies de peces.

Los anteriores resultados han permitido el desarrollo de los actuales procedimientos para el control de los ciclos reproductivos de las especies de peces que sustentan la acuicultura mundial.

### 3.Preparaciones de gonadotropinas (GtH)

La manipulación hormonal para inducir la maduración final, ovulación y desove en los peces, ha sido utilizada desde mucho antes de conocerse los mecanismos que conducen a la disrupción endocrina por efectos del cautiverio, responsable de la inhibición de estos eventos, así como del desarrollo de la tecnología para medir las concentraciones plasmáticas de las hormonas que controlan el proceso reproductivo en los peces. El primer reporte conocido fue hecho por Houssay (1930) quien, estudiando las funciones de las gonadotropinas en vertebrados, inyectó hembras de peces con hipófisis de un especie heteróloga y observó que las hembras ovulaban. El profesor Houssay fue posteriormente (1947) galardonado con el premio Nobel de fisiología y medicina por su trabajo sobre el papel de la hipófisis en el metabolismo de la glucosa. Su observación sobre la existencia de una hormona gonadotrópica en la hipófisis de los peces, condujo posteriormente al desarrollo de los métodos de manipulación hormonal para inducir su reproducción en cautiverio, dando origen a la técnica conocida como hipofisación.

#### 3.1Hipofisación

La utilización de extractos crudos de hipófisis para inducir la maduración final, ovulación y desove en los peces, se llevó a cabo por primera vez en Brasil hacia el final de la década de 1930 (Von Ilering, 1937; Fontenele, 1955) y posteriormente en Estados Unidos (Hasler et al., 1940; Ball, 1954; Palmer et al., 1954) y Japón (Migita et al., 1952). Inicialmente, las glándulas eran recolectadas en cualquier época del año de reproductores adultos, tanto de hembras como de machos; sin embargo, luego fue observado que hipófisis extraídas durante la época de desove natural de la especie eran más efectivas, debido a que contenían mayor cantidad de GtH (principalmente LH) (Zohar, 1989). Las glándulas son recolectadas y almacenadas en alcohol o acetona para su deshidratación y posteriormente trituradas en solución salina fisiológica, inmediatamente antes de su utilización. En los machos se utilizó una glándula por cada ejemplar (proporción 1:1), mientras que en las hembras la proporción más común era de 1.5:1 (Fontanele, 1955); pero este protocolo no resultó tan efectivo, debido a la variación en la concentración de GtH en la glándula de los peces donadores (Yaron, 1995). La cantidad de glándula a administrar se dividía en dos o cuatro dosis, que se inyectaban a intervalos de varias horas o de muy pocos días (Palmer et al., 1954). Los protocolos más recientes del método de hipofisación consisten en inyectar 2 y 10 mg.kg<sup>-1</sup> de peso corporal de EHC, divididos en una pequeña dosis preparatoria (10 - 20 % del total), seguida de una dosis definitiva (90 - 80%), administradas con un intervalo de 12 a 24 h (Thalathiah et al., 1988; Parauka et al., 1991; Kucharczyk et al., 1997) o en peces tropicales una dosis de 5.5 a 5.75 mg.kg<sup>-1</sup> de peso corporal administradas con un intervalo de 12 a 24 h.

El uso de extractos de hipófisis está asociado a varios inconvenientes, siendo los más importantes: a) la variabilidad en el contenido de LH, b) la presencia de otras hormonas que pueden afectar adversamente la fisiología de los peces tratados y, c) la posibilidad de transmisión de enfermedades (Zohar y Mylonas, 2001). Además, en Colombia el EHC registra un alto valor comercial, que aumenta los costos de producción de los alevinos para cultivo.

Los inconvenientes presentados con el uso de extractos glandulares condujeron a investigar el empleo de preparaciones parcialmente purificadas de LH, obtenidas por separación cromatográfica a partir de hipófisis de reproductores maduros (Donaldson, 1973). Sin embargo, debido a la especificidad de la LH, estas preparaciones eran efectivas únicamente en especies filogenéticamente relacionadas. Por otra parte, el uso de GtHs purificadas también generó algunos inconvenientes, debido al tamaño y complejidad de esta molécula, capaz de inducir respuesta inmune al administrarse a individuos de una especie diferente (Lam, 1982; Donaldson y Hunter, 1983; Zohar, 1989).

La Tabla 1, muestra los protocolos de inducción hormonal con extracto de hipófisis de carpa (EHC) para la reproducción de especies ícticas tropicales utilizados en el Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos.

Tabla 1. Protocolos utilizando extracto de hipófisis de carpa (EHC) para inducir la maduración final de los ovocitos y la ovulación en peces tropicales, empleados en el Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos, Villavicencio - COLOMBIA.

Especie	Protocolo	Respuesta	Latencia (h)	Fertilidad (%)	Sobrevivencia embrionaria (%)	Referencia
Barbilla <i>Rhamdia sebae</i> c.f.	5.5 mg.kg <sup>-1</sup> : 10 y 90 %, intervalo de 12 h	9/12	7.00±0.04	60±24	44±35	Díaz et al., 2004
		5/6	--	68	62	Gutiérrez et al., 2004
		13/18 (72%)	6.38±12	64	53	Sotelo et al., 2004
Cachama Blanca <i>Piaractus brachipomus</i>	5.5 mg.kg <sup>-1</sup> : tres dosis de 0.25, 0.5 y 5 mg.kg <sup>-1</sup> , intervalo de 24 y 12 h	--	--	--	89±7.3	Ramírez et al., 2005;
					89±4.4	Navarro et al., 2004
Yamú <i>Brycon amazonicus</i>	5.75 mg.kg <sup>-1</sup> : tres dosis 0.25, 0.5 y 5 mg.kg <sup>-1</sup> , intervalo de 24 y 12 h	--	--	--	81±3.1	Cruz-Casallas et al., 2004;
					85±4	Medina-Robles et al., 2005;
					83±1	Velasco-Santamaría et al., 2006

### 3.2Gonadotropina coriónica humana (hCG)

Al comienzo de los años 70, varios investigadores comenzaron a experimentar con GtHs de mamíferos, especialmente con gonadotropina coriónica humana (hCG), la cual fue purificada a partir de orina de mujeres gestantes (Katzman y Doisy, 1932). Esta hormona ha sido utilizada con éxito para inducir la ovulación y desove en muchas especies de peces (Ayson, 1991; Legendre et al., 1996); es disponible comercialmente, relativamente económica y calibrada de acuerdo con estándares internacionales, lo cual permite que los resultados obtenidos puedan ser comparados y extrapolados. La hCG se usa sola (Leu y Chou, 1996; Watanabe et al., 1998) o en combinación con otras hormonas, principalmente EHC (Kuo, 1995; Kucharzyk et al., 1997). Debido a su larga vida media en el plasma sanguíneo, se puede administrar en una dosis única de 100 - 4000 UI por kg de peso corporal; igual que con otros tratamientos hormonales, los machos requieren de la mitad a un cuarto de la dosis utilizada para las hembras (Watanabe et al., 1998).

Uno de los inconvenientes de utilizar hCG, aunque no completamente comprobado, es su capacidad de inducir respuesta inmune, particularmente cuando se administra en varias oportunidades a un mismo reproductor. Sin embargo, la hCG ofrece la ventaja de actuar directamente sobre las gónadas y por lo tanto no requiere de la existencia previa de LH ni de la activación de las células gonadotropas hipofisarias, obteniéndose la respuesta mucho más rápido y minimizando el riesgo de mortalidad debido al estrés generado por la manipulación de los reproductores (Hodson y Sullivan, 1993).

En Colombia se comercializa con el nombre de Primogonyl<sup>®</sup> y ha sido utilizada con éxito en algunas especies de peces tropicales. La Tabla 2, reúne los resultados obtenidos con este inductor hormonal en el Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos.

Tabla 2. Resultados de la utilización de hCG para inducir la maduración final de los ovocitos y la ovulación en algunas especies de peces tropicales en el Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos. Villavicencio - COLOMBIA.

Especie	Protocolo	Respuesta	Latencia (h)	Fertilidad %	Sobrevivencia embrionaria (%)	Referencia
Barbilla ( <i>Rhamdia sebae</i> c.f.)	Dosis única de 1.000 UI.kg <sup>-1</sup>	4/6	--	39	20	Gutiérrez et al., 2004
Bocachico* ( <i>Prochilodus mariae</i> )	Dosis única de 182 UI.kg <sup>-1</sup>	--	--	--	--	Aya et al., (comunicación personal)

\* Inducción hormonal junto con EHC (5.5 mg.kg-1).

### 3.3Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y análogos (GnRH<sub>a</sub>)

Poco tiempo después de su descubrimiento en mamíferos (1970) varios investigadores comenzaron a experimentar con la aplicación de esta nueva hormona para inducir la ovulación en peces de cultivo (Schally, 1978). Los trabajos iniciales indicaron que tanto la hormona liberadora de gonadotropinas nativa (GnRH) como sus análogos (GnRH<sub>a</sub>) eran efectivas

para inducir desarrollo ovárico, maduración final de ovocitos, ovulación y desove, cuando administradas en dosis de 1 a 15 mg o de 1 a 100 µg, respectivamente. Estos resultados confirmaron la hipótesis que la hipófisis de los peces con disfunción reproductiva es capaz de sintetizar y liberar gonadotropinas endógenas.

La utilización de GnRH o de GnRHa, ofrece importantes ventajas sobre las preparaciones de GtH. En primer lugar, estas son moléculas pequeñas (decapéptidos), incapaces de inducir una respuesta inmune y, por lo tanto, pueden ser usadas en repetidas ocasiones sin que su eficiencia disminuya (Zohar y Mylonas, 2001). En segundo lugar, debido a su capacidad de estimular la liberación de LH endógena (GtH II), la GnRH 'repara' la disrupción endocrina responsable de la incapacidad del pez en cautiverio para alcanzar la maduración final de los oocitos, la ovulación y el desove. Además, debido a que la GnRH actúa a un nivel más alto del eje hipotálamo - hipófisis - gónadas, la estimulación inducida con su aplicación puede ser más balanceada, permitiendo una mejor integración de los eventos reproductivos con otras funciones fisiológicas al afectar, directa o indirectamente, la liberación de otras hormonas necesarias para la maduración final de los oocitos, la ovulación y el desove. Tales hormonas incluyen prolactina (Weber et al., 1995), hormona del crecimiento (Peter et al., 1990; Le Gac et al., 1993) y hormonas tiroideas (Sullivan et al., 1989). Una ventaja adicional de la utilización de GnRHa es que puede ser sintetizado y obtenido en forma pura, lo cual elimina el riesgo de transmisión de enfermedades. Finalmente, gracias a la similitud de la estructura molecular del GnRH entre especies ícticas (Sherwood et al., 1994), el mismo GnRHa puede utilizarse con éxito en una amplia variedad de especies de peces.

Aunque la administración de GnRH natural induce inmediatamente un pico de GtH, su amplitud y duración son insuficientes para disparar la maduración final, la ovulación y el desove (Omeljaniuk et al., 1987), lo cual es resultado de una muy rápida degradación por endopeptidasas localizadas en la hipófisis, hígado y riñón de los peces inyectados. Estas enzimas rompen la cadena de GnRH, especialmente entre las posiciones 5 - 6 y 9 - 10, convirtiéndolo en pequeños fragmentos inactivos. Por lo tanto, sustituyendo el residuo de la posición 6 del GnRH natural por un amino ácido dextrógiro (D) y el aminoácido de la posición 10 con un grupo etilamido, se obtiene un GnRHa resistente a la degradación enzimática (Weil et al., 1992) y por lo tanto que permanece en el torrente sanguíneo por mucho más tiempo, estimulando la liberación de GtH hipofisiaria. Por otro lado, debido a su polaridad modificada y a su estructura terciaria, algunos de los GnRHs exhiben también una mayor afinidad por los receptores de GnRH de la hipófisis (Habibi et al., 1989). Estas propiedades combinadas, los hacen 30 a 100 veces más potentes que los GnRHs naturales, en términos tanto de longitud como de amplitud del pico de LH (Crim y Bettles, 1997).

La administración de la GnRHa ha sido realizada principalmente por vía de inyecciones en solución salina o por medio de dispositivos de liberación lenta. Algunos trabajos realizados durante los primeros años de la década de 1990, evaluaron la posibilidad de su administración oral (Solar et al., 1990), pero aunque los resultados mostraron cierta factibilidad, este método no ha sido adecuadamente estudiado.

Antagonistas de la dopamina (DA) han sido usados a menudo en combinación con la GnRHa para inducir la reproducción de los peces (Peter et al., 1993). En algunas especies, este neurotransmisor actúa a nivel de la hipófisis inhibiendo la liberación basal de GtH y atenuando la acción de la GnRH sobre las células gonadotropas hipofisiarias (Chang et al., 1984). En los protocolos que utilizan la combinación de GnRHa y antagonistas de la DA, la GnRHa es administrada en dos dosis y el antagonista de la DA (Ej. domperidona, pimozide, reserpina o metoclopramida) en una sola inyección, aplicada simultáneamente con la primera de GnRHa. La inhibición dopaminérgica ha sido claramente demostrada en ciprínidos y en el catfish africano (Trudeau y Peter, 1995) y parece no existir en la mayoría de las especies marinas de interés comercial (King et al., 1994).

Las Tablas 3 y 4 muestran los resultados de la utilización de GnRHa en combinación con bloqueadores de los receptores de la dopamina, para inducir la maduración final de los ovocitos y la ovulación en algunas especies de peces tropicales.

Tabla 3. Resultados de la utilización de GnRHa en combinación con bloqueador de los receptores de dopamina (domperidona), para inducir la maduración final de los ovocitos y la ovulación en algunas especies de peces tropicales, en el Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos, Villavicencio - COLOMBIA.

Especie	Protocolo	Respuesta	Latencia (h)	Fertilidad %	Sobrevivencia embrionaria (%)	Referencia
Barbilla ( <i>Rhamdia sebæ</i> cf.)	1 mL.kg <sup>-1</sup> , en dos dosis de 10 y 90%, con intervalo de 12 h	5/12	7.36±0.06	72±25	70±30	Díaz et al., 2004
Moneda ( <i>Metynnis</i> sp)	1 mL.kg <sup>-1</sup> , en dos dosis de 10 y 90%, con intervalo de 12 h	---	---	---	---	Clavijo-Ayala et al., 2004
Tigrito ( <i>Pimelodus pictus</i> )	1 mL.kg <sup>-1</sup> , en dos dosis de 10 y 90%, con intervalo de 12 h	2/5	---	---	---	Aya et al., (comunicación personal)

Tabla 4. Resultados de la utilización de GnRHa en combinación con bloqueador de los receptores de dopamina (metoclopramida), para inducir la maduración final de los ovocitos y la ovulación en algunas especies de peces tropicales, en el Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos, Villavicencio - COLOMBIA.

Especie	Protocolo	Respuesta	Latencia (h)	Fertilidad %	Sobrevivencia embrionaria (%)	Referencia
Barbilla ( <i>Rhamdia sebaec.f.</i> )	20 µg.kg <sup>-1</sup> (mGnRHα) y 10 mg.kg <sup>-1</sup> metoclopramida, en dos aplicaciones de 10 y 90%, con intervalo de 24 h	2/14 (14%)	6.14±22	77	54	Sotelo <i>et al.</i> , 2004
Yamú ( <i>Brycon amazonicus</i> )	Dos dosis de 20 µg.kg <sup>-1</sup> (mGnRHα) y 10 mg.kg <sup>-1</sup> metoclopramida, con intervalo de 24 h	1/6	--	23	18	Arias <i>et al.</i> , 2004

### 3.4 Próxima generación de inductores de la reproducción en peces

Es evidente que el sistema endocrino de la hipófisis es alterado en los peces sometidos a condiciones de cautiverio, lo cual afecta adversamente el funcionamiento normal de su sistema endógeno de GnRH. Por lo tanto, la siguiente generación de tecnologías para inducir la maduración final y el desove en los peces de cultivo, estarán basadas en el conocimiento que se adquiera sobre la naturaleza de las alteraciones inducidas por el cautiverio en dicho sistema.

Desde el primer aislamiento y caracterización de la GnRH del cerebro del salmón (Sherwood *et al.*, 1983), ha sido ampliamente aceptado que la mayoría de los peces óseos poseen dos formas de GnRH en sus cerebros (cGnRH II y sGnRH específica); sin embargo, recientemente ha sido reportada una tercera forma (sbGnRH), la cual sería el principal liberador endógeno de LH y la forma fisiológica más importante para inducir la maduración final de los ovocitos, la ovulación y el desove en las especies perciformes. Esta conclusión sugiere que sbGnRHα es la forma de GnRH que debe ser objeto de las futuras investigaciones, tendientes a explicar los efectos del confinamiento sobre el sistema GnRH, responsables de la disfunción reproductiva observada en los peces bajo condiciones de cautiverio.

### Conclusiones

La manipulación hormonal para la inducción de la maduración final de los ovocitos, la ovulación, espermiación y desove, ha hecho posible el control del proceso reproductivo de los peces cultivados y ha contribuido significativamente a la sofisticación y expansión de la industria de la acuicultura. Tanto las preparaciones de GtH como de GnRHα han mostrado ser efectivas en la inducción reproductiva en peces; sin embargo aún presentan varias desventajas. El descubrimiento de múltiples formas de GnRHs en los peces, la comprensión de su papel en la regulación del desarrollo y maduración final de las gónadas y la demostración que el cautiverio afecta adversamente la síntesis y liberación de GnRH, allana el camino para el diseño de una nueva, más potente y fisiológicamente más compatible estrategia para manipular la reproducción de los plantales comerciales de reproductores.

### Referencias bibliográficas

- Arias CJA, Aya BE, Velasco-Santamaría YM. 2004. Inducción reproductiva de yamú *Brycon siebenthalae* con ovopel. Memorias II Congreso Colombiano de Acuicultura X Jornada de Acuicultura IALL. Universidad de los Llanos, Villavicencio-Colombia. p 131.
- Ayson F. G., 1991. Induced spawning of rabbitfish, *Siganus guttatus* (Bloch) using human chorionic gonadotropin (HCG). *Aquaculture*, 95: 133 - 137.
- Ball R.C. 1954. Use of pituitary material in the propagation of minnows. *Prog. Fish-Cult.* 17: 108 - 113.
- Berlinsky D. L., King V. W., Smith J. T. 2005. The use of luteinizing hormone releasing hormone analogue for ovulation induction in black sea bass (*Centropristis striata*). *Aquaculture*, 250: 813 - 822.
- Berlinsky D.L., William K., Hodson R.G., Sullivan C.V. 1997. Hormone induced spawning of summer flounder *Paralichthys dentatus*. *J. World Aquacult. Soc.* 28: 79 - 86.
- Bromage N., Jones J., Randall C., Thrush M., Springate J., Duston J., Barker G., 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 100: 141 - 166.
- Chang J.P., Peter R.E., Crim L.W., 1984. Effects of dopamine and apomorphine on gonadotropin release from the transplanted pars distalis in goldfish. *Gen. Comp. Endocrinol.* 55: 347 - 350.

- Clavijo-Ayala JA, Aya BE, Arias CJA. 2004. Comparación del ovaprim y del extracto de hipófisis de carpa (EHC) en la inducción a la ovulación y desove de barbilla *Rhamdia sebae* c.f. (Pisces: Pimelodidae). Memorias II Congreso Colombiano de Acuicultura X Jornada de Acuicultura IALL. Universidad de los Llanos, Villavicencio-Colombia. p 118.
- Crim L.W., Bettles S. 1997. Use of GnRH analogues in fish culture. In: Fingerman, M., Nagabhushanam, R. Thompson, M.F. (Eds.), Recent Advances in Marine Biotechnology, Vol. 1: Endocrinology and Reproduction. Oxford and IBH Publishing, New Delhi, pp. 369 - 382.
- Cruz-casallas PE, Pardo-Carrasco S, Arias-Castellanos JA, Lombo-Castellanos PE, Lombo-Rodríguez DA, Pardo-Mariño JE. 2004. Cryopreservation of Yamú *Brycon siebenthalae* Milt. J. World Aquaculture Soc. 35(4):529-535.
- Díaz SE, Arias CJA, Aya BE. 2004. Comparación del ovaprim y del extracto de hipófisis de carpa (EHC) en la inducción a la ovulación y desove de barbilla *Rhamdia sebae* c.f. (Pisces: Pimelodidae). Memorias II Congreso Colombiano de Acuicultura X Jornada de Acuicultura IALL. Universidad de los Llanos, Villavicencio-Colombia. p 118.
- Donaldson E. M., Hunter G. A. 1983. Induced final maturation, ovulation and spermiation in cultured fishes. In: Hoar, W.S., Randall, D.J., Donaldson, E. M. (Eds.), Fish Physiology. Reproduction, vol. IXB, Academic Press, Orlando, FL, pp. 351 - 403.
- Donaldson E.M., 1973. Reproductive endocrinology of fishes. Am. Zool. 13: 909 - 927.
- Drori S., Ofir M., Levavi-Sivan B., Yaron Z., 1994. Spawning induction in common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract or GnRH superactive analogue combined with metoclopramide: analysis of hormone profile, progress of oocyte maturation and dependence on temperature. Aquaculture, 119: 393 - 407.
- Elizur A., Meiri I., Rosenfeld H., Zmora N., Knibb W.R. Zohar Y. 1995. Seabream gonadotropins: sexual dimorphism in gene expression. In: Goetz, R., Thomas, P. (Eds.), Reproductive Physiology of Fish. Fish Symposium 95, Austin, Texas, pp. 13 - 15.
- Fontenele O. 1955. Injecting pituitary (hypophyseal) hormones into fish to induce spawning. Progressive Fish-Culturist, 18: 71 - 75.
- Forster, J., 1999. Aquaculture chickens, salmon: a case study. World Aquacult. 30 (3): 33 -40.
- Fujino M., Kobayashi S., Obayashi M., Shinagawa S., Fukuda T., Kitada C., Nakayama R., Yamazaki I., White W.F., Rippel R. H., 1972. Structure-activity relationships in the C-terminal part of luteinizing hormone releasing hormone. Biochemical Biophysic Research Communication, 49: 863 - 869.
- García L. M. B. 1991. Spermiation response of mature rabbitfish, *Signanus guttatus* Bloch, to luteinizing hormone-releasing hormone analogue (LHRHa) injection. Aquaculture, 97: 291-299.
- Goren A., Gustafson H., Doering D. 1995. Field trials demonstrate the efficacy and commercial benefit of a GnRHa implant to control ovulation and spermiation in salmonids. In: Goetz, F.W., Thomas, P. (Eds.). Reproductive Physiology of Fish, 1995. Fish Symposium 95, Austin, Texas, pp. 99 - 101.
- Gutiérrez EMC, Arias CJA, Aya BE. 2004. Uso del primogonyl en la inducción reproductiva de *Rhamdia sebae* c.f. Memorias II Congreso Colombiano de Acuicultura X Jornada de Acuicultura IALL. Universidad de los Llanos, Villavicencio-Colombia. p 124.
- Habibi, H.R., Marchant, T.A., Nahorniak, C.S., Van Der Loo, H., Peter, R.E., Rivier, J.E., Vale, W.W., 1989. Functional relationship between receptor binding and biological activity for agonists of mammalian and salmon gonadotropin-releasing hormones in the pituitary of goldfish (*Carassius auratus*). Biol. Reprod. 40: 1152-1161.
- Hasler A.D., Meyes R.K., Field H.M. 1940. The use of hormones for the conservation of muskellunge, *Esox masquinongy immaculatus* Garrard. Copeia 1: 43 - 46.
- Hassin S., de Monbrison D., Hanin Y., Elizur A., Zohar Y., Popper D.M. 1997. Domestication of the white grouper, *Epinephelus aeneus*: 1. Growth and reproduction. Aquaculture 156: 305 - 316.
- Hodson R., Sullivan C.V. 1993. Induced maturation and spawning of domestic and wild striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum), broodstock with implanted GnRH analogue and injected hCG. Aquacult. Fish. Manage. 24, 389-398.
- Katzman P.A., Doisy E.A. 1932. Preparation of extracts of the anterior pituitary-like substance of urine of pregnancy. J. Biol. Chem. 98: 739-754.
- King H., Young G. 1995. Increased milt production by Gonadotropin Releasing Hormone Analog (GnRHa) treated Atlantic Salmon (*Salmo salar*) after injection of 17 $\alpha$  hidroxyprogesterone. in: July Goetz, F.W. and Thomas, P. Eds. Proceedings of the Fish International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. University of Texas at Austin - Austin, Texas 2-8.
- King W.V., Thomas P., Harrell R.M., Hodson R.G., Sullivan C.V., 1994. Plasma levels of gonadal steroids during final oocyte maturation of striped bass, *Morone saxatilis* L. Gen. Comp. Endocrinol. 95, 178-191.
- Kjørsvik E., Mangor-Jensen A., Holmefjord I. 1990. Egg quality in fishes. Adv. Mar. Biol. 26: 71-113.
- Kucharczyk D., Kujawa R., Luczynski M., Glogowski J., Babiak I., Wyszomirska E. 1997. Induced spawning in bream, *Abramis brama* (L), using carp and bream pituitary extract and hCG. Aquatic Research, 28: 139 - 144.
- Kuo C. M. 1995. Manipulation of ovarian development and spawning in grey mullet, *Mugil cephalus*. Israeli Journal of Aquaculture—Bamidgeh, 47: 43 - 58.
- Lam T. J. 1982. Applications of endocrinology to fish culture. Canadian Journal of Aquatic Fish Science, 39: 11 - 137.
- Larsson D.G.J., Mylonas C.C., Zohar Y., Crim L.W. 1997. Gonadotropin releasing hormone-analogue (GnRH-A) advances ovulation and improves the reproductive performance of a cold-water batch-spawning teleost, the yellowtail flounder

- (*Pleuronectes ferrugineus*). *Can. J. Aquat. Fish. Sci.* 54: 1957 - 1964.
- Le Gac F., Blaise O., Fostier A., Le Bail P. Y., Loir M., Mourot B., Weil C. 1993. Growth hormone (GH) and reproduction: a review. *Fish Physiol. Biochemistry*. 11: 219 - 232.
- Legendre M., Linhart O., Billard R. 1996. Spawning and management of gametes, fertilized eggs and embryos in Siluroidei. *Aquat. Living Resour* 9: 59 - 80.
- Leu M.-Y., Chou Y.-H. 1996. Induced spawning and larval rearing of captive yellowfin porgy, *Acanthopagrus latus* (Houttuyn). *Aquaculture*, 143: 155 - 166.
- Medina-Robles, VM, Velasco-Santamaría YM, Cruz-Casallas PE. 2005. Tasa de congelación-descongelación de semen de yamú (*Brycon amazonicus*) empacado en pajillas de diferentes volúmenes y su efecto sobre la calidad espermática postdescongelación. *Rev. Col. Cienc. Pec* 18(4):331.
- Migita M., Matsumoto J., Kinoshita H., Sasaki A., Ashikawa I., 1952. Studies on the hypophyseal hormone of fish: I. Stimulating effect upon ovulation of trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 17: 25 - 31.
- Munro A.D., Scott A.P., Lam T.J. 1990. *Reproductive Seasonality in Teleosts: Environmental Influences*. CRC Press, Boca Raton, FL, 254 pp.
- Mylonas C.C., Magnus Y., Gissis A., Klebanov Y., Zohar Y. 1996. Application of controlled-release, GnRHa-delivery systems in commercial production of white bass x striped bass hybrids (sunshine bass), using captive broodstocks. *Aquaculture* 140: 265 - 280.
- Navarro OJ, Velasco-Santamaría YM, Cruz-Casallas PE. 2004. Evaluación de cinco protectores para la crioconservación de semen de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*). *Rev. Col. Cienc. Pec.* 17 (Suplemento):53-59.
- Ohta H., Kagawa H., Tanaka H., Okuzawa K., Iimura N., Hirose K., 1997. Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish Physiol. Biochem.* 17: 163 - 169.
- Omeljaniuk R.J., Shih S.H., Peter R.E., 1987. In vivo evaluation of dopamine receptor-mediated inhibition of gonadotropin secretion from the pituitary gland of the goldfish, *Carassius auratus*. *J. Endocrinol.* 144: 449 - 458.
- Palmer D.D., Burrows R.E., Robertson O.H., Newman H.W. 1954. Further studies on the reactions of adult blueback salmon to injected salmon and mammalian gonadotropins. *Prog. Fish-Cult.* 17: 99 - 107.
- Parauka F. M., Troxel W. J., Chapman F. A., McBay L. G. 1991. Hormone-induced ovulation and artificial spawning of Gulf of Mexico sturgeon (*Acipenser oxyrinchus desotoi*) *Progressive Fish-Culturist*, 53: 113 - 117.
- Peter R. E., Habibi H. R., Chang J. P., Nahorniak C. S., Yu K. L., Huang Y. P., Marchant T. A., 1990. Actions of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in the goldfish. In: Epple A., Scanes C. G., Stetson M. H. (Eds.), *Progress in Comparative Endocrinology*. Wiley-Liss, New York, pp. 393-398.
- Peter R.E., Lin H.R., van der Kraak G., Little M. 1993. Releasing hormones, dopamine antagonists and induced spawning. In: Muir, J.F., Roberts, R.J. (Eds). *Recent Advances in Aquaculture*. Blackwell Scientific, Oxford, pp. 25 - 30.
- Ramírez MJA, Velasco-Santamaría YM, Medina-Robles, VM, Cruz-Casallas PE. 2005. Crioconservación de semen de cachama blanca (*Piaractus brachypomus* cuvier, 1818): efectos del volumen de empaque y de la sustancia crioprotectora sobre la calidad seminal. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 18 (4):331.
- Schally A. V. 1978. Aspects of hypothalamic regulation of the pituitary gland. *Science*, 202: 18 - 28.
- Sherwood N. M., Parker D. B., McRory, J. E. Lescheid D. W. 1994. Molecular evolution of growth hormone-releasing hormone and gonadotropin-releasing hormone. In: Sherwood, N.M., Hew, C.L. (Eds.), *Fish Physiology. Molecular Endocrinology of Fish*, vol. XIII, Academic Press, New York, pp. 3-66.
- Sherwood N.M., Eiden L., Brownstein M., Spiess J., Reveir J., Vale W., 1983. Characterization of a teleost gonadotropin-releasing hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 80, 2794 - 2798.
- Solar I.I., McLean E., Baker I.J., Sherwood N.M., Donaldson E.M. 1990. Short communication: induced ovulation of sablefish (*Anoplopoma fimbria*) following oral administration of desGly10- $\text{ZD-Ala}^6$  LH-RH ethylamide. *Fish Physiol. Biochem.* 8, 497 - 499.
- Sotelo FGA, Arias CJA, Aya BE. 2004. Inducción a la ovulación y desove de la barbilla *Rhamdia sebae* c.f. (Pisces: Pimelodidae) con ovopel. *Memorias II Congreso Colombiano de Acuicultura X Jornada de Acuicultura IALL*. Universidad de los Llanos, Villavicencio-Colombia. p 132.
- Springate J.R.C., Bromage N.R., Elliot J.A.K., Hudson D.L. 1984. The timing of ovulation and stripping and their effects on the rates of fertilization and survival to eying, hatch and swim-up in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 43: 313 - 322.
- Stacey N.E. 1984. Control of the timing of ovulation by exogenous and endogenous factors. In: Potts, G.W. Wootton, R.J. (Eds.), *Fish Reproduction: Strategies and Tactics*. Academic Press, London, pp. 207 - 222.
- Sukumasavin N., Leelapatra W., McLean E., Donaldson E. M., 1992. Orally induced spawning of Thai carp (*Puntius gonionotus* Bleeker), following co-administration of Gly10 (D-Arg6). sGnRH ethylamide and domperidone. *J. Fish Biol.* 40: 477 - 479.
- Sullivan C. V., Bernard M. G., Hara A., Dickhoff W. W. 1989. Thyroid hormones in trout reproduction: enhancement of GnRHa and partially purified salmon GtH-induced ovarian maturation in vivo and in vitro. *J. Experim. Zool* 250: 188 - 195.
- Thalathiah S., Ahmad A. O., Zaini M. S. 1988. Induced spawning techniques practiced at Batu Berendam, Melaka, Malaysia. *Aquaculture*, 74: 23 - 33.

- Trudeau V.L., Peter R.E. 1995. Functional interactions between neuroendocrine systems regulating GtH-II release. In: Goetz, F.W., Thomas, P. (Eds.), Reproductive Physiology of Fish, 1995. Fish Symposium 95, Austin, Texas, pp. 44 - 48.
- Van der Kraak G., Pankhurst N.W., Peter R.E., Lin H.R. 1989. Lack of antigenicity of human chorionic gonadotropin in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and goldfish (*Carassius auratus*). *Aquaculture* 78: 81–86.
- Velasco-Santamaría YM, Medina-Robles VM, Cruz-Casallas PE. 2006. Cryopreservation of yamú (*Brycon amazonicus*) sperm for large scale fertilization. *Aquaculture* (Article in press).
- Vermeirssen E.L.M., Scott A.P., Mylonas C.C., Zohar Y. 1998. Gonadotrophin-releasing hormone agonist stimulates milt fluidity and plasma concentrations of 17,20b-dihydroxylated and 5b-reduced, 3a-hydroxylated C21 steroids in male plaice (*Pleuronectes platessa*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 112: 163 - 177.
- Von Ihering R. 1937. A method for inducing spawning in fish. *Progressive Fish-Culturist*, 34: 15 - 16.
- Watanabe W. O., Ellis E. P., Ellis S. C., Chaves J., Manfredi C., Hagood R. W., Sparsis M., Arneson S. 1998. Artificial propagation of mutton snapper *Lutjanus analis*, a new candidate marine fish species for aquaculture. *J. World Aquaculture Soc.* 29: 176 - 187.
- Weber G. M., Borski R. J., Powell J. F. F., Sherwood N. M., Grau E. G. 1995. In vivo and in vitro effects of gonadotropin-releasing hormone on prolactin in the tilapia *Oreochromis mossambicus*. *American Zoology (Abstract)*, 34: 121A.
- Weil C., Breton B., Sambroni E., Zmora N., Zohar Y. 1992. In vitro bioactivities of various forms of GnRH in relation to their resistance to degradation at the pituitary level in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 87: 33–43.
- Weil C., Crim L.W., 1983. Administration of LHRH analogues in various ways: effect on the advancement of spermiation in respawning landlocked salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 35: 103 - 115.
- Yaron Z. 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*, 129: 49 - 73.
- Zohar Y., Billard R., Weil C., 1984. La reproduction de la daurade (*Sparus aurata*) et du bar (*Dicentrarchus labrax*): connaissance du cycle sexuel et controle de la gametogenese et de la ponte. In: Barnabe, G., Billard, R.(Eds.), *L'Aquaculture du bar et des Sparides*. INRA, Paris, pp. 3–24.
- Zohar Y., Goren A., Tosky M., Pagelson G., Leibovitz D., Koch Y. 1989. The bioactivity of gonadotropin-releasing hormones and its regulation in the gilthead seabream, *Sparus aurata*: in vivo and in vitro studies. *Fish. Physiol. Biochem.* 7: 59 - 67.
- Zohar Y., Mylonas C. C. 2001- Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, 197: 99 - 136.
- Zohar Y. 1988. Gonadotropin releasing hormone in spawning induction in teleosts: basic and applied considerations. In: Zohar, Y., Breton, B. (Eds.), *Reproduction in Fish: Basic and Applied Aspects in Endocrinology and Genetics*. INRA Press, Paris, pp. 47 - 62
- Zonneveld N., Rustidja-Viveen W. J. A. R., Mudana W. 1988. Induced spawning and egg incubation of the Asian catfish, *Clarias batrachus*. *Aquaculture*, 74: 41 - 47.
-