

INDUCCIÓN HORMONAL (HCG) AL DESOVE Y LARVICULTURA DEL PARGO LUNAREJO *Lutjanus guttatus* COMO ALTERNATIVA DE DIVERSIFICACIÓN PARA LA MARICULTURA EN EL PACÍFICO COLOMBIANO

Juan Felipe Sierra-De la Rosa

Corporación Centro de Investigación de la Acuicultura de Colombia – CENIACUA
e-mail: jsierra@ceniagua.org

Revista Electrónica de Ingeniería en Producción Acuícola
año II, vol. 2, 2007. ISSN 1909 - 8138

RESUMEN

Ejemplares maduros de pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*) capturados en zonas aledañas a la bahía de Tumaco fueron transportados al laboratorio de C.I. Balboa S.A para inducir su reproducción mediante métodos hormonales agudos (HCG) y realizar la larvicultura de la progenie. La madurez sexual fue estimada en relación con la presencia abundante de esperma para machos y el diámetro medio de los ovocitos para hembras. Las hembras seleccionadas (ovocitos con $\varnothing = 350$ micras) fueron inducidas con 1600 UI/Kg de HCG en dos dosis (50% y 50%) con un intervalo de 24 horas y los machos con una única dosis de 500 UI/Kg en el momento de la segunda inyección de las hembras, cantidades que demostraron ser efectivas para la obtención de desoves con esta especie. Se empleó una proporción sexual de 1-2 machos : 1 hembra y los desoves ocurrieron entre 36 y 40 horas después de la primera inyección hormonal. Se obtuvieron desoves de seis hembras, de los cuales cuatro fueron exitosos (fertilizados) produciendo entre 10,000 y 75,000 huevos viables / hembra. Los huevos eclosionaron alrededor a las 18 horas post-desove y la apertura de la boca se presentó aproximadamente a los 2 ½ días post-eclosión (2 ½ DPE).

La alimentación de las larvas estuvo compuesta por la microalga *Nannochloropsis oculata*, rotíferos y *Artemia* enriquecidos con ácidos grasos poli insaturados (PUFA'S), zooplancton silvestre y diferentes alimentos comerciales para camarón marino. Tanto el alimento vivo como el artificial fueron suministrados desde el 3 DPE suministrando alimentos de diferente talla a medida que el tamaño de la boca de las larvas iba aumentando; el alimento vivo fue suspendido en el 42 DPE. La combinación de ambos tipos de alimento (vivo y balanceado) desde el principio condujo a una transición exitosa a la alimentación por completo artificial al final del experimento. Los peces fueron colectados a los 44 DPE, obteniendo una supervivencia del 1,8 %, acorde con otros reportes de la especie. Durante los últimos días de larvicultura se observó un fuerte canibalismo que disminuyó notablemente la densidad por lo que se recomienda la selección de tallas a partir del 30 DAH para obtener un porcentaje de sobrevivencia superior.

Palabras clave: Pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*, reproducción inducida (HCG), larvicultura, alimento vivo, alimento comercial.

ABSTRACT

Mature spotted rose snapper broodstock were captured near Tumaco Bay and transported to C.I. Balboa S.A. laboratory in order to induce reproduction by hormonal

methods (HCG) and perform the larviculture of the offspring. Sexual maturity was measured in relation with the abundance of sperm for males and mean oocyte diameter for females. Selected females (mean oocyte diameter = 350 microns) were induced with 1600 U.I./Kg of HCG given in two dosages (50% y 50%) with an interval of 24 hours and males with a single dose of 500 U.I./Kg provided at the same time females were given the second dose. This technique was effective for obtaining spawnings in *L. guttatus*. A sex ratio of one-two males per female was maintained in most of the breeding groups. Spawning occurred between 36-40 hours after the first hormonal injection. Six females spawned but only four of these spawnings were successfully fertilized producing 10.000-75.000 viable eggs / female. Larvae hatched approximately 18 hours after spawning and the mouth opened three days after hatching (3 DAH).

Larvae were fed with cultured micro algae, HUFA'S enriched zooplankton, wild phytoplankton and zooplankton, and different types of commercial feeds available for shrimp larvae. Both artificial and live feed were given from 3rd DAH, however live feed was suspended in day 42. Combining both types of feed from the beginning led to a successful transition to artificial food during the end of the assay. At 44 DAH the fish were collected obtaining 1,8 % survival. Strong cannibalism was observed during the last days of larviculture decreasing considerably the density; splitting the animals by size from 30 DAH is recommended to increase larviculture survival.

Key words: Spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*, induced reproduction (HCG), larviculture, live food, commercial feeds.

INTRODUCCIÓN

La difícil situación que atraviesan los camaronicultores de la Costa Pacífica colombiana por el efecto del “virus de la mancha blanca” (WSSV) hace que sea prioritario buscar una alternativa de producción diferente al camarón, que sea viable y que pueda ser implementada en la zona en lo posible en el corto plazo, aprovechando la infraestructura existente. Desde hace algunos años el pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*, especie nativa del Pacífico con gran importancia comercial, ha sido objeto de diferentes investigaciones (INPA-INCODER) que han arrojado alentadores resultados en cuanto a identificación de caladeros para la captura rutinaria de reproductores maduros, la obtención de varios desoves en cautiverio y la producción de los primeros alevinos de la especie, aunque se identificó la alimentación larval como uno de los principales obstáculos para la lograr la producción sostenida de alevinos.

Teniendo en cuenta los antecedentes anteriormente mencionados, CENIACUA y la compañía camaronera C.I. BALBOA S.A. pusieron a consideración del INCODER la presente propuesta, para adelantar conjuntamente las investigaciones requeridas para verificar el potencial del pargo lunarejo como especie candidata para la diversificación de la maricultura en el Pacífico colombiano. Los experimentos de reproducción y larvicultura de la especie se realizaron en el laboratorio de la compañía camaronera C.I. BALBOA S.A., ubicado en la isla de “El Morro” (Tumaco), partiendo de reproductores maduros capturados en el medio natural e inducidos hormonalmente mediante métodos agudos tradicionales (HCG) con el fin de obtener en forma sostenida alevinos de la especie en cautiverio, contando con la activa participación del personal técnico del INCODER en las diferentes etapas del proyecto. Para Lograr niveles aceptables de supervivencia en el proceso de larvicultura se implementó un sistema de producción de alimento vivo compuesto de microalgas, rotíferos y *Atemia* que fue complementado con enriquecedores con alto contenido de ácidos grasos poli insaturados (PUFA'S) y

concentrados comerciales de alto contenido proteico empleados habitualmente en el laboratorio para etapas larvales de camarón.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 PESCA Y SELECCIÓN DE REPRODUCTORES

Las faenas de pesca se realizaron en zonas adyacentes a la bahía de Tumaco empleando una embarcación con motor fuera de borda (9,5 m de eslora) y la participación de pescadores locales para la ubicación de los sitios y operación de los artes de pesca (líneas de mano y palangre de 600 anzuelos). También se emplearon embarcaciones industriales de pesca de arrastre. A los peces con barotrauma (abultamiento de la vejiga gaseosa debido a cambios de presión durante el ascenso) se les practicó la punción de la vejiga gaseosa con una aguja hipodérmica para retirar el exceso de gas y estabilizar al animal en la columna de agua (Benetti & Feeley, 1999). Para el transporte se emplearon tanques plásticos de 500 L, un equipo de aireación portátil y recambios periódicos del 80% del agua a lo largo del trayecto. La aclimatación de los peces en el laboratorio se realizó en tanques de 500, 1000 y 2000 L suministrando aireación y circulación abierta de agua durante 4-6 horas.

Posteriormente los peces se anestesiaron uno a uno en tinas plásticas (40 L) con 2-Fenoxi-etanol (200-250 ppm x 5 min). La cabeza del pez se cubrió con un capuchón de tela y se realizó la identificación del sexo con base en el número de aberturas de la región anal (los machos presentan dos aberturas mientras que las hembras presentan tres). A los machos se les practicó un masaje antero-posterior en la parte baja de los flancos, considerando la expulsión de semen como indicativo suficiente de madurez. A las hembras se les extrajo una muestra de ovocitos mediante la inserción de una cánula (1,25 mm Ø interno) 4-6 cm por el oviducto; para aclarar los ovocitos y facilitar su separación se añadieron gotas de solución Serra (etanol 60%, formol 30% y ácido acético 10%) y se observó una submuestra en el microscopio para medir los diámetros de los ovocitos con un micrómetro de ocular. Las hembras seleccionadas para la inducción fueron aquellas que presentaron lotes de ovocitos bien vitelados, iguales o mayores a 350 µm de diámetro, con el núcleo ubicado en la periferia del huevo o al menos migando del centro hacia ésta (Álvarez-Lajonchere y Hernández-Molejón, 2001).

2.3 INDUCCIÓN DEL DESOVE Y RECOLECCIÓN DE LOS HUEVOS

Las hembras se inyectaron en los muñones de las aletas pectorales con dos (2) dosis de gonadotropina coriónica humana - HCG (Primogonyl®), cada una de 800 UI/Kg de pez con un intervalo de 24 horas. A los machos se les suministró una única dosis de 500 UI en el momento de poner la segunda inyección de la hembra (Álvarez-Lajonchere, 2003; Boza et al., en prensa). Se empleó una proporción sexual de 1-2 ♀:1♂ ubicando los grupos de reproductores en tanques de 2.000 y 10.000 L. Con el fin de verificar el efecto de la hormona se determinó el diámetro de los ovocitos antes de la primera inyección de HCG (0 hrs.), antes de la segunda inyección de HCG (24 hrs.) y al momento del desove (36 hrs.). Una vez confirmado el desove se recolectaron los huevos de forma manual con redes de 500 µm de poro (tanques 10.000 L) o mediante recambio de agua a través de un colector de huevos (tanques de 2000 L). En los tanques de 2000 L los huevos se colectaron 1-2 horas después de confirmado el desove y en los de 10.000 L 16 horas después (poco antes de la eclosión), debido a que los huevos

embrionados -con la cabeza y cola separándose del vitelo- tienen una alta tolerancia a estímulos mecánicos (Álvarez-Lajonchere y Hernández-Molejón, 2001).

? Identificar el plancton en estanques con piso de polímeros

Los huevos se depositaron en un balde con ventanas de malla de 500 µm para su lavado con agua limpia, se concentraron en 10 L y se homogenizó la columna de agua mediante aireación para la valoración volumétrica del número de huevos: con una pipeta Bogorov (8 ml) se extrajeron 5 muestras que fueron contadas en estereoscopio discriminando los huevos viables o fertilizados (caracterizados por ser transparentes, tener embrión bien definido y gota de aceite) de los huevos no viables (caracterizados por presentar color blanquecino). El valor promedio de cada tipo de huevo en las 5 muestras se extrapola al volumen total (10 L) y se calculó el porcentaje de fertilización mediante la fórmula:

$$\% F = \frac{V}{T} \times 100$$

Donde, %F = porcentaje de fertilización; V = número de huevos viables; T = número total de huevos (viables + no-viables)

Los huevos colectados en los tanques de 10.000 L (a las 16 horas de confirmado el desove) permitieron únicamente la valoración volumétrica de huevos viables dada su naturaleza flotante; los huevos no fecundados no se colectaron en los arrastres debido a que se precipitaron al fondo del estanque horas después de realizado el desove.

2.4 INCUBACIÓN, ECLOSIÓN Y LARVICULTURA

En el primer desove exitoso (fertilizado) se empleó 1 tanque cilindro cónico en fibra de vidrio (500 L) y un tanque cúbico en concreto (1.000 L), mientras que en los demás desoves exitosos se emplearon tanques rectangulares en concreto de 10.000 L. El agua utilizada fue previamente filtrada (1-5 µm), clorada (15 ppm) y declorada con aireación y/o tiosulfato y se empleó una aireación suave. En los tanques de 500 y 1000 L se realizó un recambio de agua diario del 20% empleando agua verde (*Nannochloropsis oculata*) mientras que los tanques de 10.000 L se realizó una adición diaria de microalgas (600 L/día) hasta los 10 Días Post Eclosión (DPE), seguida de un recambio diario del 40% empleando una mezcla de agua verde y agua de mar tratada entre los 11 a 18 DPE. Del día 19 hasta el día 45 se realizaron recambios únicamente con agua de mar tratada. Para identificar los estadios iniciales de desarrollo se tomaron muestras de huevos y larvas entre 1 y 72 horas después de obtenido el desove, tomando como referencia el trabajo realizado por Boza et al. (En prensa) con *L. guttatus* y el realizado por Kimmel et al. (1995) con el pez zebra (*Brachydanio rerio*), especie considerada como modelo general de la embriogénesis en peces.

En el laboratorio se realizaron cultivos de microalgas (*Nannochloropsis oculata*), rotíferos (*Brachiouneus* sp.) y *Artemia salina*. La alimentación de los rotíferos, además de las microalgas, estuvo complementada con levadura seca (0,5-1 g /1'000.000 rotíferos). Tanto los rotíferos como la *Artemia* fueron enriquecidos con ácidos grasos altamente insaturados-HUFA'S (Highly Unsaturated Fatty Acids) en presentación comercial (DHA Protein SELCO®) antes de ser entregados a las larvas según las recomendaciones de Álvarez-Lajonchere y Hernández-Molejón (2001). Para complementar la alimentación de las larvas también se realizaron algunos arrastres de plancton silvestre en diferentes esteros.

En los tanques de 500 y 1000 L se añadieron microalgas durante el 1 y 2 DPE hasta obtener un color verde claro. A partir del 2 ½ - 3 DPE se adicionaron diariamente rotíferos sin enriquecer a una densidad de 10-15 individuos/ml. En los tanques de

10.000 L a partir del 2 DAH se suministró microalgas, solución nutritiva, rotíferos enriquecidos (10-15 individuos/ml), zooplancton silvestre, Artemia salina enriquecida (5 individuos/ml) y diferentes alimentos balanceados para el camarón marino *Penaeus vannamei* (Tabla 1). A partir del 10 DPE, los tanques de 10.000 L se limpiaron diariamente mediante sifoneo.

Tabla 1. Alimentos balanceados para camarón empleados en la larvicultura del pargo lunarejo *L. guttatus*.

TIPO ALIMENTO	CARACTERÍSTICAS
SOLUCIÓN NUTRITIVA INICIAL	AGUA DULCE + EMULSIÓN DE SCOTT'S + EPAC (INVEO) TAMIZADO POR MALLA DE 100 µm. Se mezclan los ingredientes y se espesa que decante la solución. Con una cuchara se suministra el inóculo en las zonas de mayor concentración de larvas.
ALIMENTO MICROPARTICULADO	EPAC (INVEO) TAMIZADO POR MALLA DE 100 µm. Composición → Proteína 45%, lípidos 7%, fibra 3% y humedad 10%.
ALIMENTO PARTICULADO 1	EPAC (INVEO) SIN TAMIZAR POR 100 µm
ALIMENTO PARTICULADO 2	MEZCLA DE EPAC (INVEO) SIN TAMIZAR POR 100 µm + MOLINO 50 (MOLIDO) Composición Molino 50 → Proteína 55%, grasa 0-2%, fibra 2%, cenizas 1,2% y humedad 10,5%
ALIMENTO PARTICULADO 3	MEZCLA DE MOLINO 50 (MOLIDO) + ALIMENTO PARA REPRODUCTORES C.I. BALBOA. Composición de 1 Kg de alimento para reproductores C.I. Balboa S.A. → 750 g de alimento pre-establecido (Molino 50), 67 gramos de <i>Spirulina</i> sp.; 40 gramos de <i>pellet</i> ; 75 gramos de vitamina C; 50 ml. de emulsión de Scott; 100 gramos de <i>larvas</i> de <i>Artemia</i> ; 30 gramos de <i>gas</i> (na 500); 1000 Lf. de vitamina E; 300 ml. de agua; 1 ml. de ecina de soja.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CAPTURA DE PADROTES

Se realizaron 16 salidas de pesca que arrojaron un total de 122 ejemplares, de los cuales sólo 20 hembras y 33 machos se considerados maduros susceptibles de inducción, representando el 16,4% y el 27% de la captura, respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2. Número de peces capturados e inducidos según el tipo de faena

TIPO DE FAENA	CANTIDAD DE FAENAS	TOTAL PECES	Nº PECES MADUROS	
			MACHOS	HEMBRAS
Artisanal	13	98	19	10
Industrial	3	24	14	10
TOTAL	16	122	33	20

3.2. INDUCCIÓN HORMONAL

Del total de hembras maduras (diámetro del ovocito = 350 µm), sólo ocho (8) se encontraron en buenas condiciones físicas, sin signos de fatiga ni maltrato mecánico al momento de la inducción. De estas ocho (8) hembras, seis (6) -equivalentes al 75%-respondieron satisfactoriamente a la inducción hormonal (desove positivo), indicando que el tipo y dosis de hormona empleada (1600 UI/Kg para hembras y 500 UI/Kg para machos) fue efectiva para obtener desoves de *L. guttatus*. Dosis similares a estas (1600 U.I. para hembras y 300 U.I. para machos) fueron también empleadas con éxito por Boza y colaboradores (En prensa) para la misma especie partiendo de animales criados en jaulas flotantes.

De los seis desoves obtenidos, cuatro (4) fueron exitosamente fertilizados y dos (2) quedaron sin fertilizar debido a que los machos empleados (Nº 1, 2, 3 y 4) presentaron poca abundancia de semen al momento de su valoración (Tabla 3). Estos cuatro desoves fertilizados constituyeron tres (3) lotes de huevos viables: el primero de 17.500 huevos

(Desove exitoso 1) a partir de un macho y una hembra; el segundo de 75.000 huevos (Desove exitoso 2) a partir de una (1) hembra y dos (2) machos y el tercero (Desove exitoso 3) a partir de la reproducción simultánea de dos (2) hembras y dos (2) machos puestos en un mismo tanque después de la inducción; dado el desove conjunto y la similitud entre éstas dos hembras en cuanto a peso y diámetro de ovocitos, el valor total de los huevos colectados fue dividido entre dos con el fin de tener un valor estimado de número de huevos / hembra (Tabla 3).

La ausencia de resultados con las demás 14 hembras inducidas se debió al maltrato por arte de pesca, manipulación indebida y estrés post-captura, debido a que se presentó la muerte de todos los ejemplares poco tiempo después de su captura e inducción, con excepción de las dos hembras en buenas condiciones que no desovaron y cuya respuesta negativa puede estar relacionada con el estrés. Los efectos del estrés (pérdida de apetito y pérdidas en la calidad y/o atresia en los ovocitos) afectan los tratamientos hormonales de tal manera, que a pesar de ser los adecuados pueden arrojar resultados negativos (Álvarez-Lajonchere y Hernández-Molejón, 2001).

Tabla 3. Aspectos relevantes de cada uno de los peces inducidos hormonalmente.

Tipo Faena	MACHOS			HEMBRAS						Fundación
	Individuo Nº	Peso (g)	HCG (U.I.)	Individuo Nº	Ø Ovocito (µm)	Peso (g)	HCG (Total U.I.)	Desove	Nº Huevos	
Artisanal	1*	300,3	150,0	1	380	798,0	1.276,8	SI	17.216,0	NEGATIVA
	2*	265,0	152,5							
	3*	337,2	178,6							
	4*	230,0	140,0	2	350	650,0	1.040,0	SI	10.096,0	NEGATIVA
	5*	600,0	300,0	3*	430	1.270,0	2.032,0	NO	N.A.	N.A.
	6*	567,0	283,5	4*	430	1.626,0	2.601,6	NO	N.A.	N.A.
	7*	455,0	227,5	5	510	837,7	1.340,5	SI	17.504,0	POSITIVA
	8*	260,0	130,0	6*	414	342,0	547,2	NO	N.A.	N.A.
	9	600,0	300,0	7	700	636,0	1.016,0	NO	N.A.	N.A.
	10	428,0	214,0							
	11	405,0	202,5	8	480	980,0	1.568,0	SI	75.000,0**	POSITIVA
	12	503,0	251,5							
	13	510,0	255,0							
	14	261,0	130,5							
	15	457,0	228,5							
	16	500,0	250,0	9*	666	980,0	1.568,0	NO	N.A.	N.A.
	17	508,0	254,0							
	18	500,0	250,0	10*	400	1.000,0	1.600,0	NO	N.A.	N.A.
	19	680,0	290,0							
Industrial	20*	350,0	175,0	11*	360,5	600,0	960,0	NO	N.A.	N.A.
	21*	426,0	213,0	12*	365,8	400,0	640,0	NO	N.A.	N.A.
	22*	589,0	294,5	13*	500	636,0	1.017,6	NO	N.A.	N.A.
	23*	345,0	172,5							
	24*	287,0	143,5	14*	480	453,0	724,8	NO	N.A.	N.A.
	25	467,0	233,5							
	26	234,0	117,0	15*	450	900,0	1.440,0	NO	N.A.	N.A.
	27*	465,0	232,5							
	28	409,0	204,5	16*	430	600,6	801,0	NO	N.A.	N.A.
	29*	219,0	109,5							
	30	325,0	162,5	17*	400	549,7	879,6	NO	N.A.	N.A.
	31	710,0	355,0	18	380	1.000,0	1.600,0	SI	48.500,0**	POSITIVA
	32	306,0	153,0	19	390	1.015,0	1.624,0	SI	48.500,0**	POSITIVA
	33	316,0	158,0	20	400	403,0	644,8	NO	N.A.	N.A.

± Machos que si bien están maduros presentan poca abundancia de esperma. * Animales en mal estado debido a las condiciones de captura ** Número de huevos basado sólo en los huevos viables (fertilizados)

La cantidad de huevos desovados/hembra, tanto en los desoves no-fertilizados como en los fertilizados estuvo entre un rango de 10.096 a 75.000 huevos (Tabla 5). Para la misma especie han sido reportados valores de 8.600 a 47.000 huevos (Boza et al., En prensa). Estas diferencias en el número de huevos pueden explicarse en que cuando existe estimulación hormonal los valores de fecundidad están directamente

influenciados por el estado de madurez, época reproductiva y peso de las hembras (Álvarez-Lajonchere, com. pers.).

El porcentaje de fertilización obtenido (58,6%) en el Desove exitoso 1 (Tabla 5) estuvo entre el rango de 30 y 90% reportado por Boza et. al., (En prensa) aunque el número de huevos (17.500) se encontró por debajo de los valores medios (27.800) reportados por estos mismos investigadores.

Tabla 5. Número de huevos y % de fertilización de los desoves obtenidos durante el trabajo.

Fecha	Hembra N°	Peso (g)	N° total de huevos	N° huevos viables	% fertilización
16. jul	1	798.0	12.218.0	0.0	0.0
24. jul	2	850.0	10.096.0	0.0	0.0
10. sep	5	837.7	17.600.0	10.248.0	59.0
30. oct	6	960.0	N.D.	75.000.0	N.D.
11. nov	18	1.000.0	N.D.	49.500.0	N.D.
	19	1.015.0	N.D.	49.500.0	N.D.

*Número estimado de huevos viables de 2 hembras que desovaron simultáneamente en el mismo tanque. La cantidad total de huevos viables (99000) fue dividida entre dos.

En cuanto al efecto de la hormona sobre el desarrollo del ovocito, el diámetro inicial de los ovocitos vitelogénicos opacos (350 μm) aumentó cerca de un 45% después de la primera inyección (510 μm) y cerca de un 65% después de la segunda inyección (840 μm), encontrando que los efectos de la hormona en el desarrollo de los ovocitos son bastante similares en otras especies del género *Lutjanus* (Tabla 6).

Tabla 6. Diámetro de los ovocitos (a las 0, 24 y 36 horas) de diferentes especies de pargos que han sido inducidas hormonalmente

ESPECIE	DIÁMETRO DEL OVOCITO (μm) A: (tiempo de inducción)		
	0 hrs.	24 hrs.	Después del desove 36 hrs.
<i>L. analis</i> *	382	511	783
<i>L. cam pechanus</i> *	354-365	ND	800
<i>L. johnii</i> *	400	ND	800
<i>L. argentim aculatus</i> *	400	ND	740
<i>L. peru</i> *	ND	ND	ND
<i>L. griseus</i> *	ND	ND	740-760
<i>L. argentiventris</i> *	ND	ND	758
<i>Lutjanus guttatus</i> **	350	510	840

* Datos tomados de Pintos-Terán et al., 2004; Áviles-Quevedo et al., 1996b; Boza et. al., En prensa. ** Datos del presente estudio.

De igual manera, los resultados obtenidos en cuanto a tiempo de obtención del desove, cantidad de hormona (HCG) empleada y número de huevos viables se encuentran dentro de los rangos obtenidos por otros investigadores, aunque la producción de huevos viables fue mayor en el presente estudio (Tabla 6).

Tabla 6. Inducción hormonal con HCG y producción de huevos viables (embrionados) en dos especies de pargo de interés comercial.

Ref.	Especie	Dosis Total HCG (UI/Kg)	Tiempo entre inyecciones (hrs.)	Tiempo (hr) entre la 1ª inyección y el desove	% de dosis 1ª y 2ª inyección	% de fertilización	Nº huevos viables / Kg
Boza et al. (en prensa)	<i>Lutjanus guttatus</i>	1600	28	37-43	56% y 44%	65-90%	4400 - 42300
Pintos-Terán et al. (2004)	<i>L. peru</i>	1500	24	50	33,3% y 66,6%	>90%	14960 - 39591
Presente estudio	<i>Lutjanus guttatus</i>	1600	24	36-40	50% y 50%	0,59 -¿?	12200 - 75000

3.2 INCUBACIÓN Y LARVICULTURA

La observación de muestras de ovocitos fertilizados y larvas a una temperatura promedio de 28° C, permitió identificar los siguientes eventos relevantes: i) la formación del embrión temprano ocurrió entre las 7 y las 10 horas; ii) la eclosión se presentó alrededor de las 18 horas; iii) la apertura de la boca ocurrió a partir de las 66 horas y iv) a partir de las 72 horas (3 DPE) con un tamaño de boca estimado entre 120-150 micras las larvas comenzaron a ingerir alimentos. Esto se comprobó mediante la observación al microscopio de microalgas (color verde del tubo digestivo), partículas de alimento y restos de rotíferos de pequeña talla al interior del aparato digestivo de la larva (Tabla 7; Figura 1). Dichos eventos ocurrieron en periodos similares a los reportados para *L. guttatus* (Boza et al., En prensa), *L. argentiventris* (Áviles-Quevedo et. al., 1996b) y para el pez zebra (Kimmel et. al., 2003).

Tabla 7. Estadios del desarrollo embrionario y larval de *L. guttatus*.

Tiempo (hrs)	Estadio
1	Blastómeros en arreglo de 2x2
1.5	Blastómeros 16 cel
2	Blastómeros 64 cel
3	Numerosos cel. > 1000
6	Gérmulas. Anillo germinal visible en el polo animal
8-10	Embrión en forma 'C'
14	Aparición del 1º somite
18	Eclosión
24	Temprana pigmentación en la retina y piel. Primeros latidos cardiacos
66-72	Apertura de la boca

Figura 8. Larva eclosionada de *Lutjanus guttatus* a 1 DPE (44 horas)

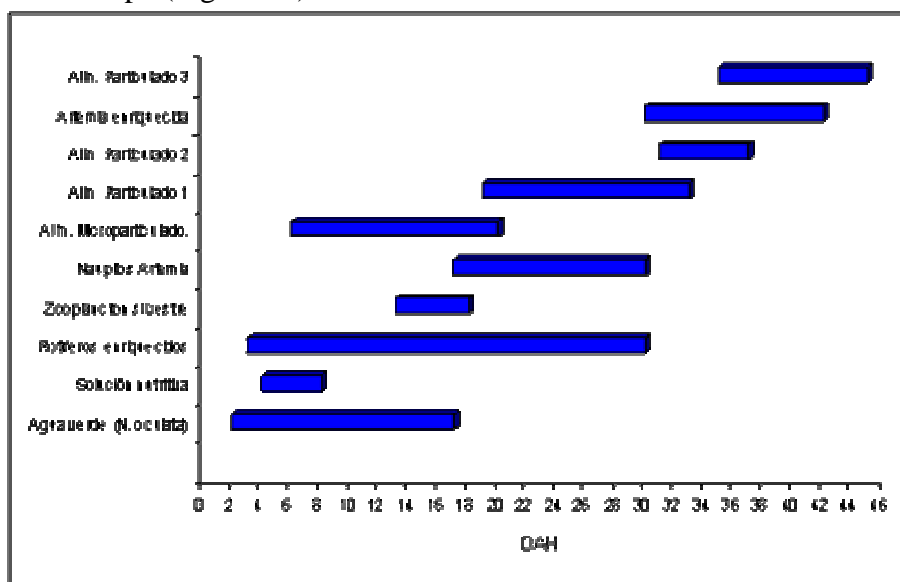


Desove exitoso 1: las larvas producidas por este desove (incubadas y desarrolladas en el tanque cilindro cónico de 500 L y tanque cúbico de 1000 L) permanecieron vivas hasta el 7 DPE, notándose una considerable reducción diaria de la densidad y de la actividad relacionada con la captura de alimento. El 8 DPE sólo se encontraron 5 larvas vivas al cosechar el tanque cilindro cónico (supervivencia = 0,097 %) y ninguna en el tanque cúbico de concreto (supervivencia =0%). Este abrupto decline en la sobrevivencia se explica en que los rotíferos suministrados (170 µm talla promedio) sólo fueron accesibles a las larvas más desarrolladas que contaban con un tamaño de boca superior al observado al momento de la apertura de ésta (120-150 µm); las demás larvas murieron técnicamente de inanición al no disponer de otras fuentes de alimento vivo de menor tamaño. Adicionalmente, la manutención de los rotíferos estuvo compuesta por una mezcla de microalgas y levadura que no satisfizo los requerimientos de ácidos grasos poli insaturados (PUFA'S) de las larvas en esta etapa, que ha sido catalogada como la más crítica dentro del proceso de larvicultura. Una malnutrición durante los primeros días de larvicultura (en los que ocurren rápidamente los eventos de reabsorción del saco vitelino, apertura de la boca y comienzo de la alimentación exógena) provoca deficiencias en el desarrollo larval y altas mortalidades (Álvarez-Lajonchere y Hernández-Molejón, 2001). Resultados similares a éstos fueron obtenidos por Pintos-

Terán et al. (2004) con *Lutjanus peru* al emplear el mismo tipo de alimentación (rotíferos no enriquecidos con ácidos grasos) que condujo a una mortalidad masiva al 9 DAH (supervivencia = 0%) a pesar de haber obtenido una excelente respuesta reproductiva (% de fertilización >90% y % de eclosión >85%).

Es evidente que una dieta basada sólo en el suministro de rotíferos resulta en una baja sobrevivencia y por lo general en una mortalidad masiva antes de los 30 DPE, por lo cual es indispensable disponer de una variada gama de alimentos tanto vivos como comerciales para optimizar dicho porcentaje. Para hacer frente a estos problemas nutricionales durante los primeros días de alimentación exógena se sugiere adicionar larvas trocóforas de ostra como alimento inicial y emplear métodos de enriquecimiento para los rotíferos antes de ser suministrados a las larvas (Boza et al., en prensa; Álvarez-Lajonchere y Hernández-Molejón, 2001). Por otra parte, los tanques aquí empleados no fueron los más adecuados para la larvicultura debido al bajo volumen de agua en el que pueden variar las condiciones físico químicas fácilmente. Álvarez-Lajonchere y Hernández-Molejón (2003) recomiendan para la larvicultura de peces marinos tanques cilindro-cónicos en fibra de vidrio de 3.000 L.

Desove exitoso 2: en este lote de huevos se emplearon tres tanques de mayor capacidad (10.000 L) y se suministró alimento vivo enriquecido con ácidos grasos y alimento artificial en diferentes modalidades desde el inicio mismo de la larvicultura. De igual manera que en el Desove exitoso N° 1, los rotíferos cultivados resultaron muy grandes para ser ingeridos por la mayoría de las larvas de 3 DPE y fue necesario tamizarlos por una malla de 100 µm. No obstante, las cantidades obtenidas fueron insuficientes para mantener la densidad de 10 rotíferos/ml en los tanques de larvicultura por lo que se recurrió al uso de una solución nutritiva a manera de infusorio (preparada a base de alimento balanceado para post larvas de camarón Epac® tamizado por 100 µm, emulsión de scott®, y agua dulce) que aportara los ácidos grasos requeridos para esta crítica etapa (Figura 10).



10. Esquema de alimentación empleado para el levante larval en los desoves exitosos 2 y 3.

Se observó que las larvas ingirieron con facilidad dicho alimento desde el comienzo y por lo tanto se suministró a saciedad hasta el 8 DPE; esta solución nutritiva permitió que las larvas alcanzaran la talla necesaria (y con ella el tamaño de la boca) para capturar los rotíferos enriquecidos, los cuales se suministraron desde el 3 DPE hasta el 31 DPE (Figura 10). A partir del 6 DPE hasta el 20 DPE se suministró uno de los componentes

de la solución nutritiva sin diluir, el Epac® tamizado por 100 μm (alimento micro particulado) y a partir del 19 DAH hasta el 33 DAH, en su tamaño original ($\sim 500 \mu\text{m}$ – alimento particulado).

Para favorecer el cambio en la alimentación, dicho alimento fue suministrado conjuntamente con zooplankton silvestre y nauplios de Artemia; posteriormente se emplearon los demás alimentos balanceados (alimento particulado 2 y 3) acompañados de juveniles y adultos de Artemia salina enriquecidos con SELCO ®. Hacia el 38-40 DPE los alevinos estuvieron completamente formados y listos para ser alimentados únicamente a base de piensos comerciales por lo que se suspendió el suministro de alimento vivo en el 42 DPE. Los alevinos obtenidos con este protocolo de alimentación se observaron bien desarrollados, con buenos reflejos y enérgica actividad natatoria (figura 11 A).

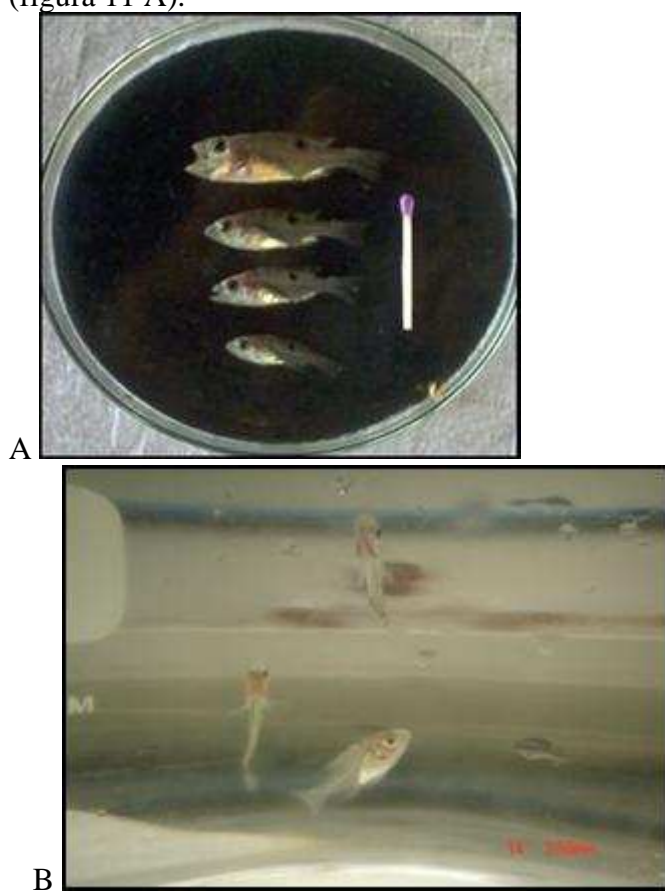


Figura 11. A. Muestras de ejemplares de 42 DAH tomadas de un estanque de larvicultura; B. Diferencia de tallas en individuos (44 DAH) de *L. guttatus* en un mismo estanque de larvicultura.

Durante las últimas dos semanas de larvicultura se observó un acentuado canibalismo debido a la diferencia de tallas de los peces que afectó la supervivencia final (Figura 11 B). La dispersión en tallas se incrementa con la edad y está debida principalmente a (1) diferencias genéticas en el potencial de crecimiento entre los individuos, (2) éxito desigual en la primera alimentación (mayor desarrollo desde el inicio en algunas larvas con el consecuente incremento en la tasa de crecimiento), (3) interacciones competitivas entre individuos en el tanque de cría, (4) ausencia de un nivel uniforme y óptimo de alimentación y (5) falta de un tamaño de partícula alimenticia uniforme y óptimo (Álvarez-Lajonchre y Hernández-Molejón, 2001). Para prevenir la mortalidad por canibalismo lo más recomendable es realizar una separación por tallas, aunque ésta debe

hacerse a partir del 30 DPE ya que en este tiempo los animales son más tolerantes a la manipulación (Álvarez-Lajonchere y Hernández-Molejón, 2001).

A los 44 DPE los alevinos (48.6 mm de longitud total y 0.58 g. de peso) de los tres tanques de larvicultura fueron cosechados por gravedad y para su conteo y estimación de sobrevivencia, obteniéndose un total de 1322 peces equivalentes a una supervivencia del 1,8% (Tabla 8). Esta sobrevivencia (1.8%) se considera un resultado satisfactorio para la especie en cuestión y se ubica dentro de los rangos reportados para otras especies del género (Tabla 9)

Tabla 9. Supervivencia larval en diferentes especies de pargos. Tomado y modificado de Boza et. al. (En prensa).

Especie	DAH	% de sobrevivencia	Referencia
<i>Lutjanus guttatus</i>	3	20	Boza et al., (En prensa)
<i>Lutjanus guttatus</i>	5	12	Boza et al., (En prensa)
<i>Lutjanus guttatus</i>	45	1,5	Boza et al., (En prensa)
<i>Lutjanus guttatus</i>	44	1,8	Presente estudio
<i>Lutjanus parva</i>	15	0	Pintos-Torales et al. (2004)
<i>Lutjanus argentimembranatus</i>	8	3,4	Siligagawa y Doi (1993)
<i>Lutjanus argentimembranatus</i>	12	1,6	Siligagawa y Doi (1993)
<i>Lutjanus argentimembranatus</i>	20	0	Emata et al. (1996)
<i>Lutjanus griseus</i>	4	3,7	Cabre et al. (1995)
<i>Lutjanus analis</i>	38	14,3	Watanabe et al. (1998)
<i>Lutjanus analis</i>	45	2,8	Turano et al. (2000)

Boza et al. (En prensa) empleando también una combinación de alimento vivo e inerte (microalgas, huevos de ostras, rotíferos, zooplancton, Artemia, pescado troceado y alimento semi-seco) obtuvieron en *L. guttatus* una supervivencia larval general < 1% a los 30 DAH en desoves obtenidos espontáneamente y de 1.5% en los desoves obtenidos mediante inducción después de los 45 DPE, resaltando que después de este tiempo fueron pocos los individuos que murieron. Como días críticos se identificaron el 3 DAH con una mortalidad del 80% y el 5 DAH con una mortalidad del 85% del resto. Resultados más alentadores fueron reportados para *Lutjanus analis* por Turano et al. (2000) (En: Boza et al., En prensa) con 2.8% a los 45 DPE y por Watanabe et al. (1998) quienes obtuvieron un sobresaliente porcentaje de sobrevivencia de 14.3% a los 38 DAH (Tabla 9). No obstante, la gran mayoría de supervivencias aun permanecen bajas indicando que se requieren más investigaciones entorno a la alimentación durante el periodo de larvicultura hasta lograr obtener porcentajes satisfactorios mayores al 20%.

Desove exitoso 3: en este lote de larvas se aplicaron las mismas técnicas de larvicultura que en el desove anterior pero desafortunadamente a los 8 DPE un incendio de llantas en el lote colindante con el laboratorio saturó de hollín las instalaciones del laboratorio incluyendo la superficie del agua en todos los tanques de cultivo. En ese momento las larvas obtenidas en el Desove exitoso N° 2 contaban con 22 días de nacidas y se distribuían varios centímetros por debajo de la superficie del agua, lo que permitió la recolección de la capa oleosa producida por el hollín durante varios días hasta limpiarla totalmente. La larvas del Desove exitoso 3 por el contrario, estaban aun distribuidas en la capa más superficial de la columna de agua, lo que impidió su limpieza y obstruyó considerablemente la alimentación exógena. Durante los cinco días posteriores al incendio ocurrió una mortalidad masiva, presentándose la mortalidad total a los 15 DAH.

3.4. POTENCIAL DE LA ESPECIE

El pargo lunarejo es una de las especies candidatas para la diversificación de la maricultura en el Pacífico colombiano debido a que tiene una gran demanda en el mercado, uno de los mejores precios de venta y puede reproducirse en cautiverio con un tratamiento hormonal simple. La presente experiencia demostró que las larvas aceptan alimentos balanceados desde el comienzo mismo de la alimentación exógena, siempre y cuando se suministre conjuntamente alimento vivo de diferente tipo y talla que además aporten los HUFA'S requeridos por las larvas durante los periodos críticos de la larvicultura. Al igual que en otras especies de pargo, las bajas tasas de sobrevivencia se consideran como las principales desventajas, pero las innovaciones de la comunidad científica sobre alimentos balanceados específicos y las técnicas que incrementan la supervivencia se están desarrollando de forma cada vez más rápida (Benetti et al., 1999). Por tal motivo, es indispensable promover y continuar las investigaciones sobre inducción al desove (sea por tratamientos no invasivos como invasivos), levante larval y ensayos de engorde para crear en el mediano y largo plazo técnicas de producción que puedan aplicarse primero a nivel piloto y luego a escala comercial.

Los laboratorios de compañías camaroneras que han cerrado o que funcionan a media marcha por causa del virus de la mancha blanca (WSSV) cuentan con toda la infraestructura necesaria para llevar a cabo los procesos de reproducción y larvicultura de peces marinos y podrían reactivarse con esta actividad una vez se hayan calibrado las técnicas y estén listos para probarse alimentos balanceados diseñados para peces marinos.

4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El tipo y dosis de hormona empleada (1600 U.I. HCG / Kg. para hembras y 500 U.I. HCG / Kg. para machos) resultó efectiva para obtener desoves de *L. guttatus* a partir de individuos silvestres maduros, aunque éstos deben encontrarse en buenas condiciones para garantizar respuestas positivas al tratamiento; se deben evitar al máximo las situaciones estresantes en términos de captura, transporte, manipulación, calidad de agua, etc.

Para asegurar que las larvas superen la etapa crítica del comienzo de la alimentación exógena es indispensable que el alimento vivo sea diverso en cuanto a tipo y talla y sea enriquecido con ácidos grasos poli insaturados (PUFA'S); la inclusión de alimentos balanceados en la dieta es posible desde el momento mismo de la apertura de la boca aunque deben combinarse con alimento vivo para facilitar el aprendizaje de las larvas a ingerir dicho alimento. El esquema de alimentación empleado permitió obtener un porcentaje de supervivencia satisfactorio en comparación con otros reportes para el género, además de facilitar la transición a la alimentación por completo artificial.

Para afinar las técnicas de reproducción y larvicultura se recomienda la creación de un banco de reproductores a partir de juveniles silvestres para facilitar su domesticación y reducir el estrés generado por el impacto del cautiverio; La inclusión de copépodos en la dieta de larvas debe considerarse, teniendo en cuenta sus altos contenidos de ácidos grasos, presentes de forma natural. Por último, se recomienda la selección de tallas a partir del 30 DAH para evitar el canibalismo y aumentar la supervivencia

Agradecimientos: este trabajo se desarrolló gracias a los aportes financieros y humanos del Instituto Colombiano de Desarrollo Rural-INCODER, al apoyo logístico de la compañía camaronera C.I. Balboa S.A. que actuó como sede del proyecto y la gestión y participación de la Corporación Centro de Investigación de la Acuicultura de Colombia 'CENIACUA'.

REFERENCIAS

- ÁLVAREZ-LAJONCHERE, L. y O.G. HERNÁNDEZ-MOLEJÓN. 2001. Producción de juveniles de peces estuarinos para un centro en América Latina y el Caribe: diseño, operación y tecnologías. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, 424 pp.
- ÁLVAREZ-LAJONCHERE, L. 2003. Apuntes Para un Curso de Reproducción de Peces Marinos. IV Seminario Internacional de Acuicultura. Universidad nacional de Colombia. Bogotá, septiembre de 2003.
- ÁVILES-QUEVEDO, A., L. REYES-JUÁREZ, S. VALDÉZ-MURILLO, O. HIRALES-COSIO, R. RODRÍGUEZ-RAMOS, U. MCGREGOR-PARDO & M. LIZAWA. 1996a. Manejo de Reproductores y Producción de Huevos de Pargo Amarillo *Lutjanus argentiventris* (Peters, 1869) Bajo Condiciones de Cultivo. Acuicultura en Latinoamérica. IX Congreso Latinoamericano de Acuicultura. A. Silva & G. Merino (Eds.). Universidad Católica del Norte. Asociación Latinoamericana de Acuicultura. Chile. 1996. 244-247 pp.
- _____ 1996b. Descripción del Huevo y Larva Temprana del Pargo Amarillo *Lutjanus argentiventris* (Peters, 1869). Acuicultura en Latinoamérica. IX Congreso Latinoamericano de Acuicultura. A. Silva & G. Merino (Eds.). Universidad Católica del Norte. Asociación Latinoamericana de Acuicultura. Chile. 1996. 373 p.
- ÁVILES-QUEVEDO, A & J.M. MAZÓN-SUÁSTEGUI. 1996. Estado Actual y Perspectivas del Cultivo de Peces Marinos en México. Acuicultura en Latinoamérica. IX Congreso Latinoamericano de Acuicultura. A. Silva & G. Merino (Eds.). Universidad Católica del Norte. Asociación Latinoamericana de Acuicultura. Chile. 1996. 373 p.
- BENETTI, D. y M. FEELEY. 1999. The capture, transport, handling, prophylaxis, quarantine and sampling of broodstock marine fish. World aquaculture. 30 (3): 54-57 pp.
- BENETTI, D., M. FEELEY, D.E. JORY & T.R. CABRERA. 1999. La Acuicultura de Peces Marinos en América Latina: Avances Recientes y Prospectos. Acuicultura 99 (II Congreso Sur Americano de Acuicultura; III Congreso WAS/LAC; II Feria Internacional de Acuicultura; I Congreso Nacional de Camaricultura; VIII Encuentro Nacional de Acuicultura; I Encuentro de Genética). Memorias, Tomo II. Noviembre 17-20. Puerto La Cruz, Venezuela. 32-47 pp.
- BOZA, J.A., N. SOLIS, E. CALVO, J. ALFARO & J. KOMEN. (In press). Induced Spawning and larval Rearing of Red Snapper, *Lutjanus guttatus*, in Estación de Biología Marina. Puntarenas, Costa Rica.
- BOZA, J.A., S. VALVERDE, J. ALFARO & J. KOMEN. (In press). Induced Spawning of Red Snapper *Lutjanus guttatus* by Hormone Injection.
- CASTAÑO, F. & J. BOTERO. 2003. Seguimiento y Evaluación de la Madurez Gonadal de Reproductores Cautivos de Pargo Palmero *Lutjanus analis* Mediante la Medición de Calcio y Esteroides sexuales en Plasma Sanguíneo Durante dos Término periodos de Acondicionamiento. Memorias X COLACMAR. Las Ciencias del Mar al Servicio de las Comunidades. 22-26 de Septiembre de 2003. San José, Costa Rica. 380 p.
- KIMMEL, C., W. BALLARD, S. KIMMEL, B. ULLMANN & T. SCHILLING. 1995. Stages of Embryonic Development of the Zebra Fish. Developmental Dynamics Vol. 203, Number 3. July 1995. 310 p.
- LAVENS, P. & P. SORGELOOS. 1996. Manual on the production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Technical Paper, 1996. 375 p.
- LEE, C.S. & A.C. OTROWSKI. 2001. Current Status of Marine Finfish larviculture in The United States. Aquaculture 200 (2001). 89-109 pp.

- LIAO, I.C., H.M. SU & E.Y. CHANG. 2001. Techniques in Finfish Larviculture in Taiwan. *Aquaculture 200* (2001). 1-31 pp.
- PINTOS, P., M. ROSALES, S. DUMAS, H. CORTÉS & J.P. ALCÁNTAR. 2004. Características Reproductivas del Huachinango del Pacífico (*Lutjanus peru*) en Cautiverio. *Panorama Acuicola Magazine*. Mar/abr. 2004.
- TAKEUCHI, T. 2001. A Review of Feed Developmental for Early Life Stages of Marine Finfish in Japan. *Aquaculture 200* (2001). 203-222 pp.
- VALVERDE, S. & J. BOZA. 1999. Inducción al Desove en Hembras del pargo Mancha, *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *Uniciencia 15-16*. Costa Rica. 65-69 pp.
- WATANABE, W., E. ELLIS, S. ELLIS, J. CHAVEZ, C. MANFREDI, R. HAGOOD, M. SPARSIS & S. ARNESON. 1998. Artificial Propagation of Mutton Snapper *Lutjanus analis*, a New Candidate Marine Fish Species for Aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*. 29 (2): 176-187.