

# MADURACIÓN SEXUAL DE LA CARPA HERBÍVORA *CTENOPHARYNGODON IDELLA* FUERA DE TEMPORADA DE REPRODUCCIÓN NATURAL

SEXUAL MATURITY OF *CTENOPHARYNGODON IDELLA* OUT OFF NATURAL  
REPRODUCTION PERIOD

MARTÍN VILLANUEVA\* Y ADRIANA DE LA MOTA

\*Dirección de Rec.Nat.Renovables –IADIZA, B. Sur Mer s/nº, Parque Gral. San Martín, 5500 Mendoza

## RESUMEN

La endocrinología juega un papel muy activo e importante entre otras cosas en una de las etapas del cultivo de diferentes especies ícticas, y es en la reproducción inducida de peces que no se reproducen naturalmente en aguas abiertas.

La maduración sexual de la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella* puede lograrse fuera de la estación natural de desove, influyendo de forma determinante la temperatura del agua y un extenso fotoperíodo, ambos como moduladores medioambientales de la gametogénesis; y que las condiciones para alcanzar un cierto grado de madurez sexual pueden ser diversas, y así y todo, lograr con éxito la inducción al desove.

## SUMMARY

*Endocrinology plays a very active and important role in one of the activities of fish culture, namely induced breeding of fish that do not reproduce naturally in ponds and lakes.*

*We point out that sexual maturation in the grass carp can be achieved out of its natural spawning season, water temperature and a long photoperiod being highly influential as environmental modulators of gametogenesis. Moreover, we believe that the modes for attaining a certain degree of sexual maturation may be diverse, and even so achieve successful induced spawning.*

## INTRODUCCIÓN

En la Acuicultura de hoy, uno de los desafíos de mayor interés del piscicultor, que se encuentre planificando un programa de reproducción inducida de especies de peces exóticos, es primeramente, estimular la ovulación. Para ello, hay que asegurarse, ante todo, una maduración sexual completa; que dé como resultado la producción de gametos viables, para permitir el proceso de la fertilización en condiciones controladas.

La endocrinología juega un papel muy activo e importante entre otras cosas en una de las etapas del cultivo de diferen-

tes especies ícticas, y es en la reproducción inducida de peces que no se reproducen naturalmente en aguas abiertas.

Si bien el crecimiento y desarrollo de las gónadas o recrudescimiento gonadal se produce en los peces cultivados, por ejemplo en la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella*, la inhibición reproductora se lleva a cabo por un bloqueo de la maduración final, no dándose la ovulación o la espermación. Para desbloquear este proceso es necesario el uso de hormonas o de otras sustancias afines, con el objeto de lograr el desove inducido (Crim *et al.*, 1990). La práctica o método más comúnmente usado en el mundo se llama Hipofización, desarrollado en sus inicios por B. Houssay y consiste en la administración de extractos crudos de pituitarias de peces donadores; posteriormente, el uso de hormonas gonadotróficas de pituitaria y de otras, se han vuelto más refinadas.

El alto costo y la irregularidad del empleo de los extractos crudos de pituitaria, han llevado a diversos investigadores a esforzarse por descubrir otras fuentes de hormonas para la inducción al desove de peces.

Tanto la maduración gonadal como el desove, se han considerado desde hace bastante tiempo, como respuestas a estímulos medioambientales. De estos últimos factores el fotoperíodo y/o la temperatura, otros autores, como de Vlaming (1975) y Billard y Breton (1979), entre otros, sostienen que la regulación reproductora de los teleósteos está principalmente controlada por variaciones medioambientales de temperatura y fotoperíodo, y se consideran los de ma-

yor interés en la regulación de la gametogénesis en las especies de peces de aguas templadas (Lam, 1983). Como lo señala este último autor, en las especies ícticas que desovan en primavera o a principios de la estación estival, el recrudescimiento gonadal está generalmente estimulado por fotoperíodos extensos, especialmente en combinación con temperaturas de aguas cálidas. Así la actividad reproductiva de los teleósteos se encuentra limitada por la condición de la gónada, pudiéndose dividir en períodos anuales de predesove, de desove y de post-desove; en correspondencia a fluctuaciones endócrinas sinusoidales. De esta forma, variaciones de luz y de temperatura son los principales, aunque no los únicos, factores del desarrollo gonadal estacional, aunque no hay que olvidar que la importancia relativa de éstos y de otros «disparadores» ambientales difieren entre las diferentes especies ícticas. Pero es indudable que la actividad del eje hipotalámico-pituitaria-gónada (HPG) está influenciada por las condiciones medioambientales (Crim, 1982).

Teniendo en cuenta estos principios básicos, a través de la manipulación de estos factores ambientales, se puede avanzar o demorar el período activo de la reproducción (Crim, 1983; Shireman *et al.*, 1978; Rottmann *et al.*, 1979 y 1989).

Ya que la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella*, en nuestras condiciones climatológicas locales se reproduce solamente en la estación primaveral y parte de la estival, de manera inducida, por medio de inyecciones de hormonas

que producen la maduración final de los ovocitos, este trabajo que presentamos informa sobre los resultados alcanzados.

## MATERIAL Y MÉTODO

Cinco tanques rectangulares de fibra de vidrio (2,100 litros cada uno) fueron usados. Los tanques fueron cubiertos con malla de alambre para prevenir que los reproductores salten fuera del agua. Únicamente fue usado agua de surgente, y casi todo el año salía a una temperatura de más o menos 20°C. El fotoperíodo con luz fluorescente fue regulado con un marcador de tiempo automático.

Las pruebas fueron iniciadas el 1 de mayo de 1992, con un período de adaptación y aclimatación al nuevo ambiente. Se colocó un stock de reproductores de 10 amures blancos, traídos desde los estanques exteriores a los contenedores interiores de la sala de reproducción, sin separación de sexos, ya que para esa época del año era imposible hacer una clasificación de los mismos. El agua surgente alimentaba tanto los contenedores externos como los internos, con una temperatura promedio de 21°C.

Todos los amures blancos tenían una buena actividad, aún los que se encontraban en los estanques de tierra exteriores, no observándose el estado de letargo típico de esta especie para el período otoño/invierno. A los especímenes se los alimentaba diariamente con pelet de soja, arroz y polenta; teniendo en cuenta el grado de apetito de los mismos.

El 15 de junio de 1992, se colocaron en la sala de reproducción, nueve tubos de luz fluorescente y los mismos se ubicaron

a 1 metro de altura, para cada contenedor, siendo de tres tubos la cantidad necesaria para cubrir la longitud total de cada contenedor. También fue necesario cubrir con nylon de color negro uno de los frentes de la sala de reproducción, para evitar la entrada difusa de luz solar. El fotoperíodo fue regulado en 16 horas luz y 08 horas de oscuridad; se encendía desde las 05.00 horas hasta las 21.00 horas; hasta el 07 de agosto de 1992. Con una temperatura de agua constante promedio de 20°C.

Los reproductores fueron examinados periódicamente, en busca de encontrar en los machos, los órganos perlados en las aletas pectorales; y en las hembras la aparición de las características sexuales secundarias de maduración. Durante este período de tiempo se suspendió la alimentación.

El método a probar para la ovulación inducida y/o desove de peces cultivados se llama método Linpe y consiste del tratamiento con un análogo de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH. Domperidona y sGnRH-A son preferidos debido a que poseen alta potencialidad en diferentes especies ícticas, permitiendo su uso a dosificaciones bajas (Peter *et al.*, 1988). El preparado a utilizar en nuestra experiencia se llama comercialmente Ovaprim (Laboratorios Syndel Ltd.), que es un agente de cuarta generación muy potente para lograr la ovulación y espermación. Contiene como principios activos(D-Arg6,Pro9-NEt)sGnRH y Domperidona, y propilen glicol como solvente primario.

La dosis de Ovaprim empleada fue de 0.5 ml/Kg de peso corporal de amur blanco.

A fin de evaluar una cierta cantidad de grados-días (°D) obtenidos de la temperatura promedio diaria del agua, calculamos los «grados de temperatura fisiológicos (°PT)», para ello utilizamos el factor de corrección «q» ajustados a valores del metabolismo a 20°C dados por Winberg (1956) y mostrados en la Tabla 1 (Huisman, 1979).

$$^{\circ}\text{PT} = \text{ST} / \text{q}$$

°PT = grados de temperatura fisiológicos

T = temperatura promedio diaria

q = factor de corrección a temperatura T

Teniendo en cuenta que los valores expresados en °PT son mucho más homogéneos que los valores en °D, calculamos el período de tiempo necesario para la reproducción inducida del amur blanco en °PT fuera de la estación de desove. Para Huisman (1979) en época invernal se necesita totalizar una suma de calor de 956-1.027 °PT.

## RESULTADOS

### Maduración sexual

Para el 01 de agosto de 1992, el stock de reproductores de amur blanco llevaban

47 días con fotoperíodo de 16 horas luz y 08 horas de oscuridad, a 20°C de temperatura de agua promedio, presentando ya, las características típicas de maduración gonadal. Luego de llevar a cabo las tareas de examinación de los reproductores, clasificamos los mismos por sexo; tanto los machos como las hembras presentaban las características sexuales secundarias. Los machos poseían rugosidades u órganos perlados al tacto y fluía el esperma libremente, en tanto que las hembras presentaban papila enrojecida y abultada, abdomen blando al tacto y se apreciaba un aumento de la circunferencia corporal. Observamos que los reproductores estaban bien adaptados a sus nuevas condiciones artificiales, y no hubo ningún tipo de mortalidad ni presencia de enfermedades en los mismos.

### Reproducción inducida

Con el objeto de inducir el desove de los reproductores de amur blanco se administró una única inyección de Ovaprim. Decidimos comenzar las tareas de reproducción inducida el día 07 de agosto de 1992. Para esa fecha los reproductores

T	q	T	q	T	q	T	q	T	q
5	5.19	10	2.67	15	1.57	20	1.00	25	0.659
6	4.55	11	2.40	16	1.43	21	0.920	26	0.609
7	3.98	12	2.16	17	1.31	22	0.847	27	0.563
8	3.48	13	1.94	18	1.20	23	0.779	28	0.520
9	3.05	14	1.74	19	1.09	24	0.717	29	0.481
								30	0.444

Tabla 1. Tabla de factores «q» para ajustar valores del metabolismo a 20°C, en base de la «curva normal» (Winberg, 1956).

Table 1. Table of «q» factors to adjust metabolic values at 20°C, based on “normal curve” (Winberg, 1956).

llevaban 53 días con fotoperíodo, temperatura de agua promedio de 20°C y 1060 °PT.

A las 22.00 horas de esa misma fecha comenzamos con el pesaje de los amures, con el objeto de poder calcular la dosis de Ovaprim necesaria, como se muestra en la Tabla 2. Una hora después, se realizó el trabajo de colocar una sola inyección de la droga, en forma intramuscular a cada uno de los reproductores, comenzando en primer lugar con dos hembras y posteriormente con cinco machos, previa anestesia de los mismos en una solución de 1 gramo de benzocaína (aminobenzoato de etilo) en 25 ml de acetona para 25 litros de agua. El anestesiado de los reproductores se llevó a cabo para evitar injurias a los mismos. Todo este procedimiento técnico se realizó con una temperatura ambiental en la sala de reproducción de 6°C bajo cero.

n° amures blancos	sexo	peso (g)	dosis (ml)
1	hembra	5.150	2,5
1	hembra	4.600	2,3
1	macho	5.150	2,5
1	macho	3.700	1,8
1	macho	3.700	1,8
1	macho	3.400	1,7

Tabla 2. Número de amures blanco, sexo, peso y dosis de Ovaprim

Table 2. Number of white amure, sex, weight and Ovaprim dose

### **Desove y fertilización**

El día 08 de agosto de 1992, de las dos hembras de amur blanco inyectadas intramuscularmente, con una sola dosis de Ovaprim, solamente una sola desovó aproximadamente a las 15.30 horas; la segunda hembra no lo hizo, por lo que se le inyectó otra dosis intramuscular de

Ovaprim de 1.5 ml, con resultados negativos de desove. A esta última, se sacrificó para observar su estado gonadal, presentando las características del estadio 4 de maduración, según Chun Ling (1978a), llenando los ovarios la cavidad general del cuerpo, alargados y terminaban en punta, coloración verde grisáceo, membrana transparente y con presencia de vasos sanguíneos, observándose los folículos a simple vista; y las ovas eran fácilmente separables.

La fertilización de la única hembra de carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella* se realizó por el método seco. Los óvulos se colocaron en un recipiente plástico y posteriormente se agregó el esperma de dos machos diferentes; se mezclaron los productos sexuales y se añadió solución fisiológica (el doble del volumen de las ovas, aproximadamente medio litro) de CINa al 8,5%, por espacio de tres minutos, mezclando y agitando los productos sexuales; luego se eliminó la solución fertilizante y se agregó agua fresca. Esta sola hembra de amur blanco desovó aproximadamente 250.000 ovas.

### **Incubación y eclosión**

A las 15.50 horas, las ovas fertilizadas se colocaron en incubación en un recipiente cónico de 200 litros de capacidad y la temperatura del agua de incubación de 20°C. Durante el período de incubación, a las ovas no se las trató con ningún método terapéutico ya que no hubo ataque de hongos, pero sí se pudo comprobar una cantidad importante de ovas infértiles, estimándose el éxito de la incubación en un 50%. A las 02.00 horas del día 09 de agosto de 1992, se produjo la eclosión de las primeras larvas de amur blanco en el recipiente

cónico tipo Zoug. Este proceso desde el principio hasta su culminación, demandó un período de tiempo de varias horas.

## DISCUSIÓN

De acuerdo a Shireman *et al.* (1978) y Rottmann *et al.* (1979), los resultados logrados en nuestra experimentación, ratificaron los resultados obtenidos por estos autores, e indicarían, como ellos sostienen, que los ciclos reproductivos del amur blanco serían similares a *Phoxinus phoxinus*, en el cual las gónadas se desarrollarían rápidamente durante el verano y el otoño, tornándose inactivas durante el invierno y madurarían aceleradamente en primavera.

Según Bullough (1939) (citado en Shireman *et al.*, 1978), durante la etapa de inactividad de las gónadas de *Phoxinus*, se aceleran la espermatogénesis y el desarrollo de los ovocitos con extensos fotoperíodos (17 horas luz) y con temperaturas del agua por encima de los umbrales normales.

El régimen de fotoperíodo (16hs. L:08hs.O) fue efectivo; y que si bien la temperatura del agua no fue manipulada

artificialmente sino que siempre estuvo más o menos constante, hubo fluctuaciones de la misma entre uno a dos grados centígrados, teniendo en cuenta que generalmente hay un rango mínimo de temperatura, para lograr el desove; y que posiblemente cambios rápidos de la misma en especies templadas aceleran el desove (Lam, 1983), o como en el caso nuestro de utilización de agua de pozo surgente, con los requerimientos mínimos de temperatura, producen también, como lo hemos comprobado, la maduración gonadal, previo período de adaptación, a condición de que todos los reproductores se encuentren en buen estado nutricional y sin señales de estrés.

En resumen al primer objetivo, puntualizamos que la maduración sexual de la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella* puede lograrse fuera de la estación natural de desove, influyendo de forma determinante la temperatura del agua y un extenso fotoperíodo, ambos como moduladores medioambientales de la gametogénesis; y que las condiciones para alcanzar un cierto grado de madurez sexual pueden ser diversas, y así y todo, lograr con éxito la inducción al desove.

N° carpas herb.		N° días fotop.	Suma calor en °PT	Éxito desove	
Hembra	Macho			Ovulación	Espermación
2	4	53	1.060	1	4

Tabla 3. Resultados de inducción de la reproducción de carpa herbívora durante la época invernal  
Table 3. Results of the induced reproduction during winter period

Los resultados que esperábamos del método Linpe, de inducción al desove, nos convalidaron sus antecedentes ya exitosos, ya que 6 de 7 reproductores les fueron extraídos sus productos sexuales.

Si bien, una hembra no desovó, pero sí alcanzó la maduración sexual, pero podemos sugerir que algún estímulo externo haya incidido negativamente (estrés) sobre este ejemplar, disminuyendo la efectividad de la dosis de Ovaprim, y por lo tanto la no maduración final de los ovocitos y su posterior liberación. Creemos que esta hembra de amur blanco se encontraba en el estadio 4 previa a la inducción, no alcanzando el estadio 5.

Como ventajas adicionales, en la aplicación de este método de inducción, es que los requerimientos de personal se reducen al mínimo; el manipuleo de los peces reproductores es ínfimo, de esta forma se minimiza la mortalidad de los mismos, y el desove se lleva a cabo cuando el pez reproductor está fisiológicamente preparado, asegurando una excelente calidad de las ovas y del esperma.

De acuerdo con nuestra experiencia, y a la observación realizada sobre las larvas de amur blanco, pudimos comprobar que eran totalmente viables, bien conformadas y sin ningún tipo de anomalías ni deformaciones morfológicas.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- BILLARD,R., 1989. Endocrinology and Fish Culture. *Fish Physiology and Biochemistry* 7: 1-6: 49-58.
- BILLARD,R. & B.BRETON, 1979. Rhythms of reproduction in teleost fish, pages 31-53. In: J.E.Thorpe (ed). *Rhythms of activity in fish*. Academic Press, New York. N.W.
- CRIM,L.W., 1982. Environmental modulation of annual and daily rhythms associated with reproduction in teleost fishes. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 39: 17-21.
- CRIM,L.W. & B.D. GLEBE, 1990. Reproduction. Pág. 529-553. In: C.B. Schreck and P.B.Moyle, editors. *Methods for fish biology*. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.
- CHUNG LING, L.Y. KWANG, C.S.TAO, L.C.CHAO & C.F.CHEONG, 1980. The Biology and Artificial Propagation of Farm Fishes. International Development Research Centre. Manuscript Reports. IDRC-MR15. Pág. 7-242.
- DE VLAMING,V.L.,1975. Effects of photoperiod and temperature on gonadal activity in the cyprinid teleost, *Notemigonus crysoleucas*. *Biol.Bull.*, 148: 402-415.
- HUISMAN,E.A., 1979. The culture of grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.) under artificial conditions. From *Proc.World Symp.on Finfish Nutrition and Fishfeed Technology*, Hamburg 20-23 June, 1978. Vol.I. Berlín 1979. Pages 491-500.
- LAM,T.J., 1982. Applications of endocrinology to fish culture. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39: 111-137.
- LAM,T.J., 1983. Environmental influences on gonadal activity in fish. Pages 65-116. In: W.S.Hoar, D.J.Randall & E.M. Donaldson (Eds.) *Fish Physiology*, Volume 9. Part B. Academic Press, New York.

- PETER, R.E., H.R. LIN & G. VAN DER KRAAK., 1988. Induced ovulation and spawning of cultures freshwater fish in China: Advances in application of GNRH analogues and dopamine antagonist. *Aquaculture* (in press).
- ROTTMANN, R.W. & J.V. SHIREMAN, s/f. Hatchery Manual for Grass Carp and Other Riverine Cyprinids. *IFAS Bulletin* 244.
- ROTTMANN, R.W. & J.V. SHIREMAN., 1979. Tank spawning of grass carp. *Aquaculture*, 17: 257-261.
- SHIREMAN, J.V., D.E. COLLE & R.W. ROTTMANN, 1977. Intensive culture of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, in circular tanks. *J. Fish Biol*, 11: 267-272.
- SHIREMAN, J.V., D.E. COLLE & R.W. ROTTMANN, 1978. Manipulation of temperature and photoperiod for inducing maturation in grass carp. In: R.O. Smitherman, W.L. Shelton and J.H. Grover (Eds.). *Culture of Exotic Fishes Symposium Proceedings*. Fish Culture Sect., Am. Fish. Soc., Auburn, Alabama, pp.156-164.