

Evaluación de tres soluciones aclaradoras de la membrana y citoplasma del ovocito para la reproducción artificial de *Colossoma macropomum* (gamitana)

Evaluation of three clarifying solutions of the membrane and cytoplasm of the oocyte for the artificial reproduction of *Colossoma macropomum* (tambaqui)

Raúl Morales-López¹

Recibido: mayo 2013

Aceptado: junio 2013

RESUMEN

El presente trabajo trata sobre el uso de tres soluciones aclaradoras de la membrana y citoplasma del ovocito de *Colossoma macropomum* (gamitana), que permita evaluar la viabilidad de los ovocitos. Encontrar ovocitos viables es un requisito indispensable en la reproducción artificial de peces. La solución Serra ha sido una solución ampliamente utilizada con estos propósitos, pero su preparación está sujeta a la disponibilidad de insumos lo cual se torna difícil en provincias y peor aún en zonas rurales de la Amazonía peruana, que cuentan con laboratorios de reproducción artificial de peces. Por consiguiente, es muy importante contar con una solución aclaradora alterna que sea de fácil adquisición y con la que se obtenga resultados similares a la solución Serra. Las soluciones aclaradoras evaluadas fueron: vinagre, alcohol-vinagre y Serra. Los resultados se expresaron en términos de tiempo de inicio de la visualización, duración de la visualización y nivel de nitidez de la visualización. El análisis comparativo de la eficiencia de la visualización mostrada por las tres sustancias aclaradoras se realizó aplicando como diseño estadístico el análisis de varianzas. El diseño T1 representa a la solución Serra, T2 a vinagre y T3 a alcohol-vinagre. Los resultados indicaron diferencia significativa entre los tres tratamientos, tanto en el inicio de la visualización como en la duración de la visualización. (Anova, $p < 0,05$). Los tratamientos T1 y T3 mostraron diferencia significativa entre sí, con resultados más eficientes en términos de inicio de la visualización: T1 = $88 \pm 2,65$ y T3 = $95 \pm 2,00$ segundos y en términos de duración de la visualización: T1 = $454 \pm 3,61$ y T3 = $391,33 \pm 2,08$ segundos. A nivel de nitidez de la visualización T1 Serra, muestra un efecto óptimo durante 7:00 minutos para luego pasar a difuso por 0:34 minutos. Entre las tres soluciones aclaradoras experimentales, la solución Serra fue la de mayor eficiencia y el vinagre la de menor eficiencia.

Palabras claves: eficiencia de solución aclaradora de ovocitos, reproducción artificial, gamitana.

ABSTRACT

This paper discusses the use of three solutions for clarifying the membrane and cytoplasm of the oocyte of *Colossoma macropomum* (tambaqui) to assess the viability of the oocytes. Finding viable oocytes is an essential requirement for artificial reproduction of fish. The solution Serra has been a widely used solution for these purposes, but their preparation is subject to the availability of inputs which becomes difficult in provinces and worse in rural areas of the Peruvian Amazon, which have artificial reproduction laboratories fish. Therefore it is very important to have a clarifying alternative solution that is easy to purchase and obtained similar results to the solution Serra. Clarifying solutions evaluated were: vinegar, alcohol-vinegar and Serra. The results were expressed in terms of start times of the display, display duration and level of display sharpness. The comparative analysis of the efficiency of

¹ Maestría en Acuicultura. Cátedra Concytec en Acuicultura Tropical. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP) / Centro de Acuicultura Nuevo Horizonte (CANH), Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero (Fondepes). Carretera Iquitos-Nauta, km 38,8. jraulmoralesl@hotmail.com

the display shown by the three substances was performed by applying enlightening as statistical design analysis of variance. In designing, the solution T1 represents Serra, T2 vinegar and T3 alcohol-vinegar. The results indicated significant differences among the three treatments, both in the beginning of the display and the display duration. (Anova, $p < 0,05$). T1 and T3 showed significant differences among themselves, resulting in more efficient in terms of the display home: T1 = $88 \pm 2,65$ and T3 = $95 \pm 2,00$ seconds and in terms of duration of the display: T1 = $454 \pm 3,61$ and T3 = $391,33 \pm 2,08$ seconds. At the level of sharpness of the display T1 Serra showed an optimal effect for 7:00 minutes and then turns to diffuse by 0:34 minutes. Among the three experimental clarifying solutions, the solution Serra was the most efficient and of vinegar as least efficient.

Key words: efficiency of solution to clarify oocyte, artificial reproduction, tambaqui.

INTRODUCCIÓN

La solución aclaradora nos permite visualizar la posición del núcleo del ovocito que es un indicador de madurez de los peces (Alcántara y Guerra, 1985; Ascon, 1987; Rottmann *et al.*, 1991; Pardo-Carrasco, 2001; Senhorini y Landines, 2005). Pero para la observación de los ovocitos, se ha usado ampliamente la solución aclaradora Serra.

Woynarovich y Woynarovich (1998) recomiendan el uso de esta solución que está compuesta por 60% de alcohol, 30% de formol y 10% de ácido acético glacial.

Esta observación es importante al momento de tener que buscar entre el stock de peces reproductores que estén en estado óptimo de madurez sexual.

Pero la disponibilidad de los insumos para la preparación de la solución aclaradora Serra es algo difícil especialmente en provincias de la Amazonía peruana. Con la creciente tendencia de contar con más producción acuícola, nuestras provincias se han visto en la necesidad de agenciarse de laboratorios propios para la reproducción artificial de peces amazónicos de consumo humano, como gamitana, paco y boquichico.

Es por esto que se evaluó la viabilidad de otras soluciones alternas a la solución Serra.

MATERIAL Y MÉTODO

Localización del área de estudio

El ensayo se realizó en el Centro de Acuicultura Nuevo Horizonte (CANH) del Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero, ubicado a $04^{\circ} 03' 53''$ S y $73^{\circ} 26' 46''$ W, localizado en el kilómetro 38,8 de la carretera Iquitos-Nauta, comunidad de Nuevo Horizonte, distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas, región Loreto.

Para la evaluación de la solución aclaradora se realizó un diseño experimental con tres tratamientos:

T1 = solución Serra (alcohol 60%, formol 30%, ác. acético glacial 10%).

T2 = vinagre de cocina.

T3 = alcohol-vinagre de cocina (50% alcohol, 50% vinagre).

Material biológico

La población objeto de estudio estuvo constituida por los ejemplares reproductores de gamitana. Con un peso promedio de 5 kg y 64 cm de longitud total del stock de reproductores del CANH.

Obtención de las muestras

Se cogieron gamitanas hembras al azar y se

les aplicó una biopsia ovárica con ayuda de una cánula, que es una jeringa de 10 ml conectada a una manguera transparente de polietileno de 5 mm de diámetro con una extensión de 30 cm.

Se obtuvieron muestras de ovocitos de tres gamitanas hembras para visualizar la posición del núcleo. La muestra de cada hembra fue dividida en tres placas Petri de vidrio tipo pirex para su evaluación ante cada una de las tres soluciones aclaradoras. Se registraron tres indicadores en la evaluación:

1er. indicador de inicio de la visualización

Es el tiempo que demora la solución en aclarar la membrana y el citoplasma del ovocito y permitir la visualización de la posición del núcleo.

2do. indicador de tiempo de visualización

Es el tiempo por el cual se mantiene visible el núcleo del ovocito.

3er. indicador de nitidez

Es el nivel de nitidez de la visualización de la posición del núcleo y para esto se tomó como referencia una escala cualitativa con tres niveles:

Nivel 1: óptimo

Nivel 2: difuso

Nivel 3: opaco

La recolección de datos fue mediante la observación directa y se utilizó un cronómetro digital para el tiempo de cada indicador.

Procesamiento de la información

Los datos fueron procesados en el programa estadístico SPSS 18.0 para Windows a través del análisis de varianza de una vía con la finalidad de poder evaluar el efecto individual de cada solución en el proceso de aclaración.

RESULTADOS

Los resultados mostraron diferencia significativa entre los tres tratamientos T1 Serra, T2 vinagre y T3 alcohol-vinagre tanto en el inicio de la visualización como en la duración de la visualización (Anova, $p < 0,05$) (tabla 1).

Para el caso de T1 y T3 hay significancia, pero entre T2 y T1 y entre T2 y T3 la significancia es mucho mayor.

Esto indica a T1 y T3 como los tratamientos más eficaces y a T2 como el de menor eficacia (figura 1 y figura 2).

Se recomienda utilizar la solución alcohol-vinagre como solución alterna a la solución Serra, por ofrecer resultados semejantes.

T1 y T3 mostraron diferencia significativa entre sí y al mismo tiempo en promedio los resultados más eficientes (tabla 1) en términos de inicio de la visualización: T1 = $88 \pm 2,65$ y T3 = $95 \pm 2,00$ segundos y también en términos de duración de la visualización: T1 = $454 \pm 3,61$ y T3 = $391,33 \pm 2,08$ segundos (Anova, $p < 0,05$).

Los resultados mostraron un nivel de nitidez de la visualización del T1 Serra como óptimo durante 7:00 minutos para luego pasar a difuso por 0:34 minutos y finalmente a opaco.

Para el caso de T3 alcohol-vinagre mostraron un nivel de nitidez óptimo durante un promedio de 1:45 minutos, para luego pasar a difuso por 4:46 minutos y finalmente a opaco.

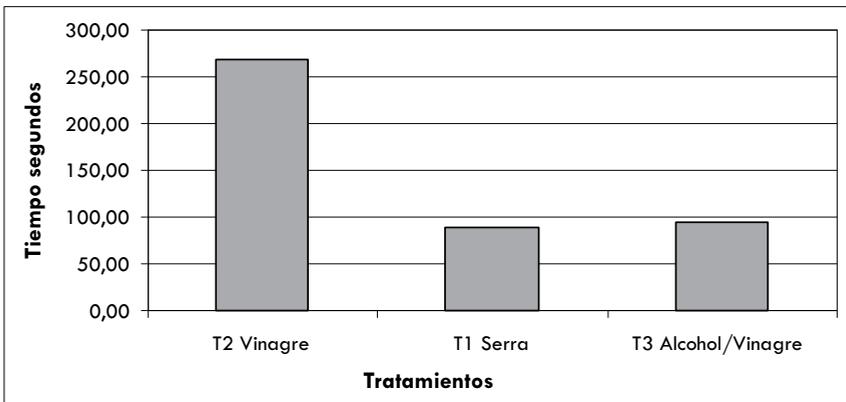
Mientras que T2 vinagre mostró un nivel de nitidez óptimo por 1:02 minutos, pasando a nivel de nitidez difuso por 0:43 minutos y finalmente a opaco.

Los resultados mostraron a T1 Serra como la de mayor eficiencia y a T2 vinagre como la de menor eficiencia entre las tres soluciones aclaradoras experimentales.

Tabla 1. Análisis estadístico Anova de un factor.

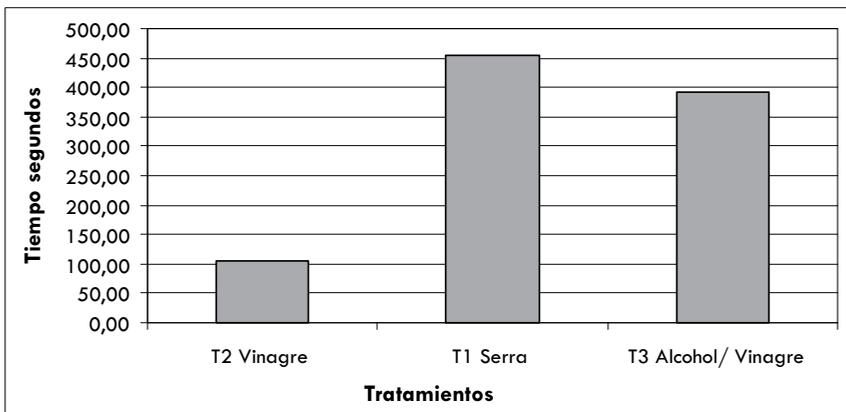
TRATAMIENTOS	INICIO DE VISUALIZACIÓN (Segundos)	DURACIÓN DE VISUALIZACIÓN (Segundos)
T1	88 ± 2,65a	454 ± 3,61a
T2	268 ± 1,00b	105 ± 4,58b
T3	95 ± 2,00c	391,33 ± 2,08c
PROB (P<0,05)	0,00000000006	0,00000000005

Fuente: R. Morales, 2011.



Fuente: R. Morales, 2011.

Figura 1. Tiempo de inicio de visualización del núcleo en ovocitos de *Colossoma macropomum* (gamitana) utilizando tres tipos de soluciones aclaradoras.



Fuente: R. Morales, 2011.

Figura 2. Tiempo de duración de visualización del núcleo en ovocitos de *Colossoma macropomum* (gamitana) utilizando tres tipos de soluciones aclaradoras.

CONCLUSIONES

1. Es factible el uso de las tres soluciones aclaradoras. Las tres soluciones tienen aplicación viable como solución aclaradora pero difieren en los tiempos para el inicio de la visualización y el tiempo de duración de la visualización, así como también en la nitidez.
2. La solución del T1 Serra es el tratamiento más efectivo, seguido de la solución T3 alcohol-vinagre (50% alcohol y 50% vinagre) por lo que se propone a esta última como solución alterna a la solución Serra en el proceso de aclaración de la membrana y citoplasma del ovocito.
3. La solución del T2 vinagre es menos eficaz al momento de realizar la evaluación de los ovocitos, por lo que exige una mayor destreza por parte del evaluador y no se descarta su uso.

DISCUSIÓN

Guerra (2000) sugiere usar la solución Serra y esperar dos minutos, tras los cuales se da el inicio de la visualización de la posición del núcleo del ovocito.

Lenis *et al.* (2009) mencionan el uso adecuado de la solución Serra para clarificación del citoplasma por espacio de cinco minutos pero no mencionan la composición de la misma.

En la presente investigación se mostró un tiempo promedio de $88 \pm 2,65$ segundos para el inicio de la visualización, el cual contrasta con los dos minutos que menciona Guerra (2000) y los cinco minutos que sugieren Lenis *et al.* (2009).

Otra solución aclaradora es mencionada

por Vazzoler (1996) y Gervasio *et al.* (2004), denominada solución Serra para los mismos objetivos, pero con la siguiente composición: solución Serra (85% etanol, 15% ácido acético y 5% formol).

De acuerdo con Senhorini y Landines (2005) se recomienda la biopsia ovárica para la visualización del núcleo del ovocito con una solución Serra compuesta por 7 partes de etanol, 2 partes de formol y 1 parte de ácido acético glacial. Pero ninguno de los citados autores menciona el tiempo necesario para el inicio de la visualización del núcleo del ovocito.

Comparar las soluciones aclaradoras de los mencionados autores no es viable por tener diferente composición, por lo que se sugiere más estudios con estas otras soluciones aclaradoras.

Al respecto, para el presente ensayo se utilizó la solución Serra constituida por 6 partes de alcohol, 3 partes de formol y 1 parte de ácido acético glacial recomendada por Woynarovich y Woynarovich (1998).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcántara F, Guerra H. 1985. Folia Amazonica, Volumen 1 IIAP. <http://www.iiap.org.pe/Publicaciones/CD/documentos/Folia1.pdf>
- Ascon G. 1987. Producción de alevinos de gamitana *Colossoma macropomum* y paco *Piaractus brachipomum* mediante el empleo de dos técnicas diferentes de reproducción inducida. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) - Dirección Regional XIII de Pesquería. Tarapoto, Perú. 16 pp.
- Gervásio LAF, Romagosa E, Borella M *et al.* 2004. Induced spawning of hatchery-

- raised Brazilian catfish, cachara *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1760), *Aquaculture* 2004; 240:451-461.
- Guerra H. 2000. Cultivo y procesamiento de peces nativos: una propuesta para la Amazonía peruana. Iquitos, Perú. Pp. 10-20.
- Lenis G, Restrepo F, Cruz-Casallas P. 2009. Evaluación de tres protocolos de tratamiento hormonal sobre el diámetro de ovocitos de sabaleta *Brycon henni*. *Revista Colombiana Ciencias Pecuarias* 2009; 22:131-142.
- Pardo-Carasco S. 2001. Reprodução induzida do yamú *Brycon siebenthalae* (Pisces: Characidae). Dissertação. Universidade Federal de Santa Catarina.
- Rottmann R, Shireman J, Chapman F. 1991. Determining Sexual Maturity of Brood stock for Induced Spawning of Fish. SRAC Publication, 423: 1-4.
- Senhorini J, Landines M. 2005. Reproducción de los peces en el trópico. Colombia 83-84.
- Vazzoler AC. 1996. Biología da reprodução de peixes teleósteos: Teoría e prática. Brazil: Maringá.
- Woynarovich A, Woynarovich E. 1998. Reproducción artificial de los géneros *Colossoma* y *Piaractus*. Guía detallada para la producción de alevinos de gamitana, paco y caraña. Editado por Fondepes. 1ra. edición. Lima, Perú. 67 pp.