

AVANCES EN EL SEXAJE DEL PAICHE O PIRARUCU

Jesús Núñez^{1,3}, Rémi Dugué¹, Miriam Alván-Aguilar², Fabrice Duponchelle^{1,3}, Jean François Renno^{2,3}, Carlos Chávez² & Fred Chu-Koo²

¹Institut de Recherche pour le Développement (IRD), UR175-CAVIAR, F-34000 Montpellier, France.
E-mail: Jesus.Nunez@ird.fr

²Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana - IIAP. Programa para el Uso y Conservación del Agua y sus Recursos - AQUAREC. Laboratorio de Bromatología, Limnología y Hematología. Av. Abelardo Quiñones Km. 3.5, Iquitos, Perú.

³Universidad Nacional Federico Villarreal - Facultad de Oceanografía Pesquería y Ciencias Alimentarias (UNFV-FOPCA), UR 175-CAVIAR, Calle Roma N° 350, Miraflores, Lima, Perú.

INTRODUCCIÓN

El paiche o pirarucu es una especie emblemática de la cuenca amazónica y es el pez tropical de agua dulce con mayor crecimiento (>10 kg año $^{-1}$) lo que lo convierte en un buen candidato para el cultivo en piscicultura (Chu-Koo & Alcántara 2009, Nuñez 2009). Para reproducirse los peces forman una pareja que determina un territorio y lo defiende durante todo el proceso de reproducción y de cría de los alevines (Bard & Imbiriba 1986). Existe un cuidado parental de la puesta y de las crías después de la eclosión hasta mas de un mes, realizado principalmente por el macho. Debido a estas singulares características se deben conformar parejas para optimizar las reproducciones en estanques.

Para el manejo de reproductores en cautiverio, no hay caracteres externos confiables para determinar el género. Entre otros este parámetro es responsable de una escasa tasa de reproducción en condiciones de confinamiento. Otra característica de la especie se manifiesta en una baja fecundidad y la producción de pocos alevines por puesta.

Todo esto implica mejorar el éxito reproductivo en cautiverio, aplicando nuevos protocolos de manejo de reproductores sexados.

Se han probado otros métodos de sexaje en varias especies de peces (ecografía, coloración) sin embargo ninguna de esas técnicas ha dado resultados confiables en paiche. Si bien la observación directa (endoscopía) de la gónada permite un sexaje seguro, este método necesita una anestesia profunda del pez lo que puede ocasionar

mortalidades y necesita un manipuleo excesivo de los animales. En el caso de la coloración, si bien existe un patrón de coloración marcado en paiche entre macho y hembra en el medio natural principalmente durante la época de reproducción, este patrón es mucho mas débil en peces mantenidos en cautiverio, y en muchos casos subsisten muchas dudas en cuanto a la determinación del genero mediante esta simple observación.

A nivel de sexaje mediante pruebas bioquímicas, existen dos opciones complementarias, una basada en métodos hormonales (medición de hormonas esteroides, como 17 β -Estradiol y 11-Keto-Testosterona) y otra basada en la detección de vitelogenina ambos a partir de la sangre de los peces (Chu-Koo *et al.* 2009).

La vitelogenina o Vtg es una glico-lipo-fosfo-proteína sintetizada solamente en el hígado de la hembra en proceso de maduración. Transportada en la sangre se acumula (vitelo) en los ovocitos durante la fase de "vitelogenesis" para servir de reservas durante la embriogénesis y luego para las larvas después de la eclosión y hasta su primera alimentación externa. Se considera que la Vtg representa mas de 80% de la composición del vitelo de los óvulos.

Esta proteína esta ausente de la sangre del macho y de los peces inmaduros (hembras o machos). La detección en la sangre de un pez indica de manera segura la presencia de una hembra. Debido a esta especificidad de genero en peces que han alcanzado la edad de madurez sexual, este método de sexaje es valido únicamente para peces adultos.

La identificación individual asociada al sexaje sistemático de los reproductores de paiche permitirá determinar que animales se reproducen y cual es su desempeño en términos de producción de crías.

METODOLOGÍA

Obtención de la Vitelogenina de paiche

La purificación de vitelogenina ha sido realizada por electroforesis en gel de poliacrilamida y electro-elución (Dugué *et al.* 2008) a partir de plasma de individuos tratados con estradiol (17 β -E₂) a razón de 5 µg/g de concentración final después de siete inyecciones intra-peritoneales efectuadas cada dos días. El 17 β -estradiol permite estimular en gran cantidad la producción de Vtg en el hígado de los peces y posteriormente su descarga en la sangre. Luego el plasma separado por centrifugación fue colectado 2 semanas después del inicio del tratamiento con 17 β -E₂, y congelado a -20 °C hasta la utilización.

Obtención del anticuerpo, y pruebas de especificidad

El anticuerpo específico para la vitelogenina de paiche ha sido obtenido en conejos, inyectando una solución de Vtg durante dos meses. A partir del suero de conejo se han purificado las inmunoglobulinas (IgG) específicas de la Vtg de paiche. Una parte de estas IgG fueron marcadas con una enzima permitiendo su posterior revelación con el substrato adecuado.

Las pruebas de especificidad del anticuerpo fueron realizadas en placas de 96 pozos en un primer momento por EIA (Enzima Inmuno Ensayo) y luego directamente con las membranas de nitrocelulosa en las cuales previamente las IgG anti-Vtg de paiche habían sido inmovilizadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Morfología de la gónada

El aparato reproductor del paiche presenta una característica poco común en peces, tanto los machos como las hembras muestran un solo lóbulo desarrollado en el lado izquierdo y dorsal de la cavidad general. El testículo es alargado y casi cilíndrico con poco semen en adultos y presenta un aspecto filiforme en peces inmaduros (figura 1).

El ovario presenta numerosos pliegues transversales (lámelas ováricas), en los cuales se desarrollan los ovocitos. Estos presentan varios tamaños indicando que el desarrollo de la ovogénesis es de tipo asincrónico (o sincrónico por grupos), autorizando varios desoves consecutivos (Guerra 1980, Godinho *et al.* 2005, Saavedra Rojas *et al.* 2005). El ovario no tiene "pared" (*gymnovarium*) los óvulos que han alcanzado la madurez y completaron la maduración ovocitaria y la ovulación, son liberados en la cavidad general y expulsados al nivel del poro genital en el momento del desove. Esta característica hace que la canulación no permita llegar directamente al ovario como en la mayoría de los peces y no permite tomar una muestra de tejido ovárico de la cual se podría realizar el sexaje mediante observación directa de los ovocitos.

El tipo de desarrollo ovocitario observado permite desoves durante todo el año aunque existe una mayor ocurrencia de desoves entre septiembre y marzo en reproductores mantenidos en estanques de tierra en la región de Iquitos.

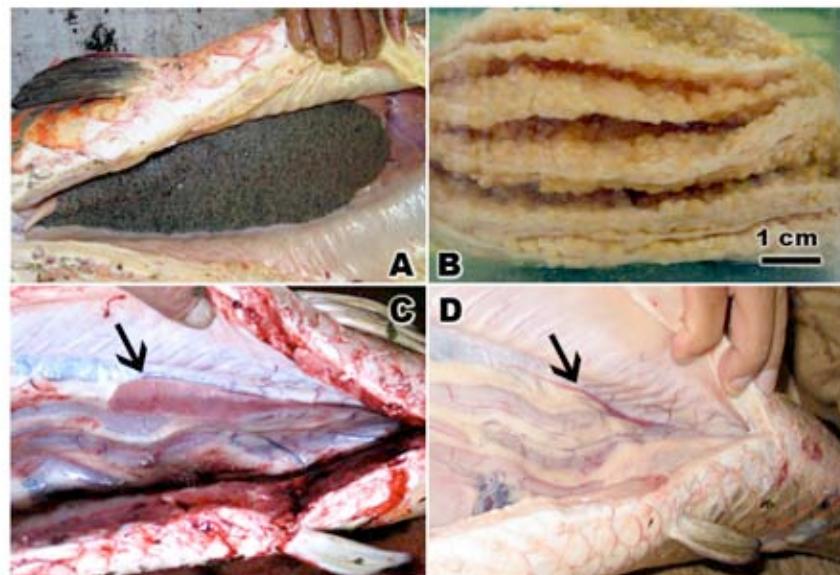


Figura 1. Aspectos morfológicos de las gónadas de Paiche *Arapaima gigas*. **A:** Ovario en proceso avanzado de vitelogenesis. **B:** Detalle de las lámelas de un ovario en estadio avanzado de desarrollo. **C:** Lóbulo único del ovario de una hembra inmadura. **D:** Lóbulo único del testículo de un macho inmaduro. Ambos localizados en la parte izquierda de la cavidad general.

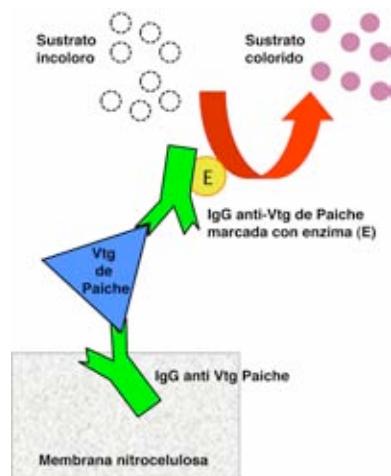


Figura 2. Principio de la metodología de sexaje sobre membrana de nitrocelulosa. Todas las etapas se realizan en 2:30 horas a partir de una sola gota de sangre.

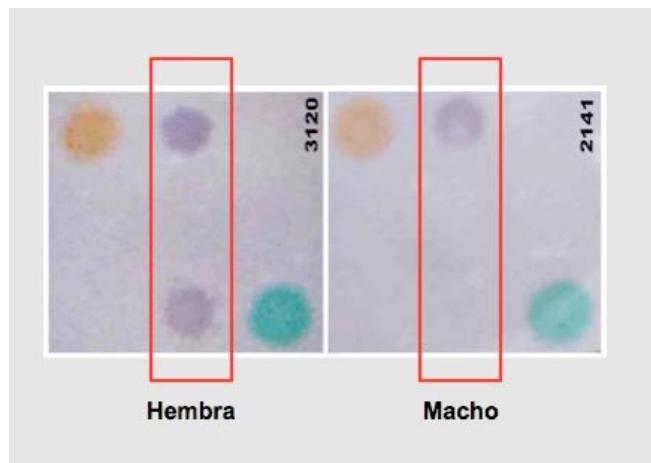


Figura 3. Ejemplo de dos membranas de nitrocelulosa después del proceso de incubación y revelación. Las membranas se orientan con el punto de color naranja en la parte izquierda superior y en verde en la parte derecha inferior. Estos dos puntos ya están presentes antes de la incubación. La zona central subrayada en rojo puede presentar una o dos manchas después de la incubación. Si hay un solo punto en la parte superior, el plasma era de un macho, si hay dos puntos en la parte central el plasma era de una hembra.

Vitelogenina y sexaje

Los niveles de vitelogenina en la sangre varían durante el año, especialmente en las especies que presentan una reproducción anual bien marcada, en este caso en la época de "descanso" los niveles de Vtg pueden ser muy bajos y prácticamente no detectables. En el caso del paiche con varios desoves durante el año, la actividad reproductiva es casi continua, aunque disminuye notablemente durante la época seca. Esto nos indica que la presencia de Vtg con niveles relativamente altos es prácticamente constante en el plasma de la hembras de paiche durante todo el año. Y mismo si hay variaciones de los niveles de Vtg durante el año, estos son suficientemente altos para ser detectados con el sistema de membranas desarrollado, el cual presenta una alta sensibilidad. Este sistema permitió sexar los reproductores de mas de 3 años directamente en el campo a partir de una simple gota de sangre. El proceso se realiza a temperatura ambiente y no necesita equipos particulares (Fig. 2). El resultado puede ser visualizado a simple ojo después de 2:30 horas determinando la presencia o ausencia de reacción en una zona específica de la membrana (Fig. 3), una vez

concluidas las diferentes etapas de incubación con los reactivos incluidos en el kit.

Perspectivas

Con el sexaje sistemático y la identificación con Pit Tags, se podrá constituir más fácilmente parejas en estanques pequeños o grupos con machos y hembras en números equilibrados o no en estanques más grandes. De esta manera se espera aumentar el éxito reproductor en cautiverio y finalmente la producción de alevines necesarios para el desarrollo del cultivo de esta importante especie. La disponibilidad de alevines también puede permitir programas de repoblamiento en áreas fácilmente controlables, como lagos o cochas en zonas pobladas, permitiendo un manejo sostenible de los paiches introducidos por los mismos comuneros de la zona.

Finalmente también se puede considerar el aprovechamiento de alevines excedentarios mediante el comercio de peces ornamentales.

AGRADECIMIENTOS

Al Institut de Recherche pour le Développement (IRD), al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) y al proyecto INCAGRO por la contribución al financiamiento del estudio.

REFERENCIAS

- Bard, J. & Imbiriba, E.P., 1986. Piscicultura de pirarucu, *Arapaima gigas*. EMBRAPA-CPATU N° 52. EMBRAPA-CPATU, Belém, p. 52.
- Chu-Koo, F. & Alcántara, F., 2009. Paiche doméstico en la Amazonía: Perspectivas de una crianza sostenible. Pesca Responsable 57, 32-33.
- Chu-Koo, F., Dugué, R., Alván Aguilar, M., Casanova Daza, A., Alcántara Bocanegra, F., Chávez Veintemilla, C., Duponchelle, F., Renno, J.F., Tello, S. & Nuñez, J. 2009. Gender determination in the Paiche or Pirarucu (*Arapaima gigas*) using plasma vitellogenin, 17 β -estradiol, and 11-ketotestosterone levels. Fish Physiol Biochem 35, 125-136.
- Dugué, R., Chu-Koo, F., Alcantara, F., Duponchelle, F., Renno, J.-F. & Nuñez, J., 2008. Purification and assay of *Arapaima gigas* vitellogenin : potential use for sex determination. Cybium 32, 111-111.

- Godinho, H.P., Santos, J.E., Formagio, P.S. & Guimaraes-Cruz, R.J., 2005. Gonadal morphology and reproductive traits of the Amazonian fish *Arapaima gigas* (Schinz, 1822). *Acta Zoologica* 86, 289-294.
- Guerra, F.H., 1980. Desarrollo sexual del paiche, *Arapaima gigas*, en las zonas reservadas del estado (Río Pacaya Samiria) 1971-1975. Informe IMARPE N° 67. Instituto del Mar del Perú, Callao, Perú, p. 20.
- Nunez, J., 2009. Domestication de nouvelles espèces d'intérêt piscicole en Amazonie. *Cah Agricultures* 18, 136-143.
- Saavedra Rojas, E.A., Quintero Pinto, L.G. & Landines Parra, M.A., 2005. Aspectos reproductivos. In: Sanabria, A.I., Beltran, I.C., Daza, P.V.s (Eds.), Biología y cultivo del pirarucú *Arapaima gigas* Schinz, 1822. Pisces: Arapaimidae. Bases para un aprovechamiento sostenible - Aspectos Reproductivos. INCODER/UNC, Bogotá, Colombia, pp. 31-40.



Los principales objetivos científicos de la Red de Investigación sobre la Ictiofauna Amazónica (RIIA), conformada por investigadores de varios países amazónicos (Bolivia, Colombia, Ecuador, Brasil, Perú), se centran en el estudio de la diversidad de los peces amazónicos, su evolución, sus estrategias de historia de vida y en el desarrollo de una piscicultura sostenible para las especies más prometedoras.

Además de las aplicaciones en el campo de la piscicultura, los resultados obtenidos son útiles para la gestión, manejo y conservación de estas especies en su medio natural.

En este libro el lector encontrará los resúmenes extendidos del segundo coloquio de la RIIA que se llevó a cabo en el INPA (Manaus, Brasil).

BIOLOGÍA DE LAS POBLACIONES DE PECES AMAZONICOS Y PISCICULTURA, Manaus, Brasil. 2009

II COLOQUIO DE LA RED DE INVESTIGACIÓN SOBRE LA ICTIOFAUNA AMAZÓNICA

BIOLOGÍA DE LAS POBLACIONES DE PECES AMAZÓNICOS Y PISCICULTURA

Comunicaciones del II Workshop Internacional
28-30 de octubre 2009
Manaus, Brasil

Editores:
Jesús Núñez Rodríguez
Fred Chu Koo
Jorge Rebelo Porto
Carmen R. García Dávila

ISBN: 978-612-46077-0-7



9 786124 607707

Biología de las Poblaciones de Peces Amazónicos y Piscicultura

**II COLOQUIO DE LA RED DE INVESTIGACIÓN SOBRE LA ICTIOFAUNA
AMAZÓNICA
(RIIA)**
<http://www.riiaamazonia.org>

28-30 de Octubre 2009 - Manaus (Brasil)

Coloquio financiado por el IRD, el INPA y el IIAP con la participación de la Cooperación Francesa Regional para los países Andinos.



Institut de Recherche pour le Développement – IRD, 44 boulevard de Dunkerque, CS 90009
F-13572 Marseille Cedex 02, France. <http://www.ird.fr>

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Av. André Araújo, 2936, 69060-001 Manaus (Brasil). <http://www.inpa.gov.br>

Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – IIAP, Av Abelardo Quiñones Km. 2.5 Iquitos – Perú. <http://www.iiap.org.pe>

Cita bibliográfica:

Jesús Núñez, Fred Chu-Koo, Jorge Porto & Carmen R. García-Dávila, (editores) (2011). Biología de las Poblaciones de Peces Amazónicos y Piscicultura. Comunicaciones del Segundo Coloquio Internacional de la Red de Investigación sobre la Ictiofauna Amazónica (RIIA), Manaus, Brasil. 201 p.

© IRD – Lima, Agosto 2011
Institut de Recherche pour le Développement
357 Calle Teruel, Miraflores, Lima 18, Perú.

Editores:

Jesús Núñez Rodríguez, Fred Chu Koo,
Jorge Rebelo Porto & Carmen R. García Dávila

Hecho el Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú Nº 2011-11428
ISBN: 978-612-46077-0-7

Impresión: **Punto & Gráfica S.A.C.** Av. Del Rio 113, Pueblo Libre T: 332-2328

Contenido

GENÉTICA Y EVOLUCIÓN

BIODIVERSIDAD Y EVOLUCIÓN DE LOS PECES EN AMAZONÍA	11
Jean-François Renno, Fernando Carvajal-Vallejos, Juan Pablo Torrico, Fabrice Duponchelle, Jesus Nuñez, Carmen García-Dávila, Susana Sirvas, François Bonhomme, Erick Desmarais & Nicolas Hubert	
EVIDÊNCIA DE LINHAGENS GENÉTICAS DISTINTAS EM <i>Nannostomus eques</i> (LEBIASINIDAE), <i>Carnegiella strigata</i> E <i>C. marthae</i> (GASTEROPELECIDAE) DA BACIA DO RIO NEGRO-AM	21
Maria Leandra Terencio, Carlos Henrique Schneider & Jorge Ivan Rebelo Porto	
POLIMORFISMO MOLECULAR DE LA VARIACIÓN DE LA LONGITUD DE LOS INTRONES (EPIC-PCR) EN <i>Apitogramma sp.</i>, PECES ORNAMENTALES DE LA AMAZONÍA PERUANA	29
Susana Sirvas, Evelyn Briceño, Betty Gamero, Jesús Nuñez, Fabrice Duponchelle, Catalina Díaz & Jean François Renno	
VARIABILIDADE GENÉTICA DO GÊNERO <i>Brachyplatystoma</i> NA AMAZÔNIA	37
K. Formiga-Aquino, J. S. Batista, G. C. M. P. Huergo, S. R. Briglia-Ferreira, F. C. Rodrigues & J. A. Alves-Gomes	
FILFOGENIA MOLECULAR DEL GENERO <i>Pseudoplatystoma</i> (BLEEKER, 1862): IMPLICACIONES BIOGEOGRÁFICAS Y EVOLUTIVAS	47
J.P. Torrico; N. Hubert, E. Desmarais, F. Duponchelle, J. Nuñez-Rodriguez, J. Montoya-Burgos, C. García-Dávila, F.M. Carvajal-Vallejos, A.A. Grajales, F. Bonhomme & J.F. Renno	
VARIACIÓN HAPLOTÍPICA (DNMT) DEL DORADO -<i>Brachyplatystoma rousseauxii</i> - EN EL ALTO MADERA, BOLIVIA.....	53
Fernando M. Carvajal-Vallejos, Fabrice Duponchelle, Juan Pablo Torrico, Jesús Nuñez Rodriguez, Carmen García-Dávila, Sophie Quérout, Susana Sirvas & Jean-François Renno	
AVANCES DEL USO DEL “BARCODING” EN LA IDENTIFICACIÓN DE LARVAS DE BAGRES (SILURIFORMES) EN LA AMAZONIA PERUANA	61
Carmen García-Dávila, Werner Chota-Macuyama, Diana Castro-Ruiz, Gian-Carlo Vásquez, Mike Corazón, Juan García, Fernando Carvajal, Homero Sánchez, Fabrice Duponchelle, Jesús Núñez, Fred Chu-Koo & Jean-François Renno	

BIOLOGÍA - ECOLOGÍA

ESTRATÉGIAS DE VIDA E CONSERVAÇÃO DAS ESPÉCIES DE PEIXES NA AMAZÔNIA CENTRAL.....	73
Nidia Noemi Fabré & Vandick da Silva Batista	
PADRÃO DE VARIAÇÃO TEMPORAL DE PARÂMETROS REPRODUTIVOS DA ASSEMBLÉIA DE PEIXES DA AMAZÔNIA CENTRAL.....	81
Sidinea Amadio & Jansen Zuanon	
CICLO DE VIDA, MERCADO EM REDE E CONSERVAÇÃO DOS GRANDES BAGRES MIGRADORES DA AMAZÔNIA NO RIO SOLIMÕES, BRASIL.....	87
André de Oliveira Moraes & José A. Alves-Gomes	
SOBREEXPLOTACIÓN PESQUERA DEL DORADO EN LA AMAZONÍA PERUANA.....	93
Fabrice Duponchelle, Aurea García, Fernando Carvajal, Jesus, Nuñez, Salvador Tello, Fred-Chu-Koo & Jean-François Renno	
CONTEXTO DE LA PESCA TRANSFRONTERIZA DE LOS BAGRES EN LA REGION SUR-ORIENTAL DE LA AMAZONIA COLOMBIANA.....	101
Edwin Agudelo Córdoba & Juan Carlos Alonso González	
UMA ABORDAGEM EVOLUTIVA SOBRE A ATIVIDADE ESPONTÂNEA DA DESCARGA DO ORGÃO ELÉTRICO DE <i>Microsternarchus</i> (GYMNOTIFORMES: HYPOPOMIDAE).....	117
A. Nogueira & J.A. Alves-Gomes	
UTILIZAÇÃO DE <i>Microsternarchus bilineatus</i> COMO BIOMONITOR: O EFEITO DE COMBUSTÍVEIS AUTOMOTIVOS DERIVADOS DO PETRÓLEO NA DESCARGA DO ÓRGÃO ELÉTRICO	125
Diana José dos Santos Ferreira & José Antônio Alves-Gomes	
IMPACTS OF PHENANTHRENE ON TAMBAQUÍ <i>Colossoma macropomum</i>: LC₅₀, GROWTH AND HEMATOLOGY	131
Carlos Chávez V. & Adalberto Val	

PISCICULTURA

- PISCICULTURA AMAZÔNICA: POTENCIALIDADES E DESAFIOS PARA O DESENVOLVIMENTO EM REDE.....137**
Evoy Zaniboni-Filho
- AVANCES EN EL SEXAJE DEL PAICHE O PIRARUCU.....143**
Jesús Núñez, Rémi Dugué, Miriam Alván-Aguilar, Fabrice Duponchelle, Jean François Renno, Carlos Chávez & Fred Chu-Koo
- CRECIMIENTO, CONVERSIÓN ALIMENTICIA Y SOBREVIVENCIA DE PACO (*Piaractus brachypomus*) CULTIVADO EN ESTANQUES CON Y SIN REVESTIMIENTO DE GEOMEMBRANAS EN LA AMAZONÍA PERUANA151**
Astrid Dañino Pérez, Omar Nash Ramírez, Fred Chu-Koo & Luis Mori-Pinedo
- RENDIMIENTO PRODUCTIVO DE LA GAMITANA (*Colossoma macropomum*) CULTIVADA EN ESTANQUES CON Y SIN REVESTIMIENTO DE GEOMEMBRANAS EN LA AMAZONÍA PERUANA159**
Astrid Dañino Pérez, Omar Nash Ramírez, Fred Chu-Koo
- ZUNGARO TIGRINUS *Brachyplatystoma tigrinum* (Britsky, 1981): NOTAS SOBRE SU CULTIVO EN EL IIAP167**
Carlos Chávez V., Fernando Alcántara B., Germán Murrieta M., Teddy Barbarán R., Alfonso Bernuy R., Fred Chu K., Homero Sánchez R., Salvador Tello M. & Jesús Núñez R.
- CARACTERIZACIÓN DE UN ALIMENTO TIPO PARA *Aristogramma* sp.175**
Catalina Díaz, Jesús Núñez, Fabrice Duponchelle, Jean-François Renno & Susana Sirvas
- AVANCES DE LA PISCICULTURA CON ESPECIES AMAZÓNICAS EN BOLIVIA Y LA DISYUNTIVA DE INCORPORAR HÍBRIDOS.....181**
Hernán Navil Corcuy Arana
- TECNOLOGIA DO PESCADO APLICADA À VALORIZAÇÃO DA PRODUÇÃO PESQUEIRA DO ESTADO DO AMAZONAS189**
Nilson Luiz de Aguiar Carvalho & Maria Auxiliadora Fonseca Carvalho