



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

**EVALUACIÓN DE LA HORMONA LIBERADORA ANÁLOGA, EN LA
INDUCCIÓN DE LA ESPERMATOGÉNESIS EN LA CARPA**
Cyprinus carpio

T E S I S

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS**

PRESENTA:

MARTHA RODRÍGUEZ GUTIÉRREZ

TUTOR:

DR. JOSÉ LUIS ARREDONDO FIGUEROA.
(Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa)

DRA. SONIA ESPINA.
(Facultad de Ciencias. UNAM)

DR. CESAR FLORES COTO.
(Centro de Ciencias del Mar y Limnología. UNAM)

CIUDAD DE MÉXICO. MAYO DE 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN ACADÉMICA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

VIVIENDA NACIONAL
AV. TERCERA DE
MEXICO

OFICIO FCIE/DAIP/0256/2019

ASUNTO: Asignación de Jurado

**M. EN C. IVONNE RAMÍREZ WENCE
DIRECTORA GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
P R E S E N T E.**

Comunico a usted que el Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas ha asignado a la **M. EN C. MARTHA RODRÍGUEZ GUTIÉRREZ.** el jurado para presentar Examen de Grado de **DOCTORA EN CIENCIAS (BIOLOGÍA).**

PRESIDENTE	DRA.	MARÍA DEL CARMEN URIBE ARANZABAL
VOCAL	DR.	JOSÉ ROMÁN LATOURNERIE CERVERA
SECRETARIO	DR.	CÉSAR EDUARDO FLORES COTO
SUPLENTE	DR.	LUIS AMADO AVALA PÉREZ
SUPLENTE	DR.	ABRAHAM KOBELKOWSKY DÍAZ

El trabajo aprobado como tesis es:

"EVALUACIÓN DE LA HORMONA LIBERADORA ANÁLOGA EN LA INDUCCIÓN DE LA ESPERMATOGÉNESIS EN LA CARPA *Cyprinus carpio*" bajo la dirección del **DR. JOSÉ LUIS ARREDONDO FIGUEROA.**

A T E N T A M E N T E
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., 14 de marzo del 2019
**JEFE DE LA DIVISIÓN ACADÉMICA DE
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

DR. VÍCTOR MANUEL VELÁZQUEZ AGUILAR

VMVA\ASR\grf*



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, donde adquirí mi formación profesional que me hace sentir satisfecha y feliz por la labor que ejerzo.

Al Comité Tutorial, Dr. José Luis Arredondo Figueroa, Dr. César E. Flores Coto y la Dra. Sonia Espina, por su guía, paciencia, confianza y amistad.

A los sinodales, Dra. María del Carmen Uribe Aranzábal, Dr. José Román Latournerie Cervera, Dr. César Flores Coto, Dr. Luis Amado Ayala Pérez, Dr. Abraham Kobelkowsky Díaz por sus enseñanzas, confianza y amistad.

A mis queridos amigos, M. en C. Samuel Marañón Herrera † por su amistad y amor a la estadística que logró transmitirme, al M. en C. Alfonso Herrera por su apoyo incondicional y amistad así como al Dr. José Román Latournerie Cervera, por reintroducirme en el estudio de la estadística, por su confianza y apoyo.

A mis alumnos de la Universidad Autónoma Metropolitana del Módulo Historias de Vida por enriquecer cada día mis conocimientos, por su alegría y juventud; en particular a Biol. Aurelia Rangel Otero; Biol. Ma. Elena Ramírez Ordóñez y Biol. Guillermo Macario Solano Juárez.

Mi más profundo agradecimiento a la Subdelegación de Pesca del Estado de Hidalgo encabezada por el Biol. Jorge Valdiviezo Rodríguez quien me dio las facilidades y el apoyo logístico para el desarrollo de la presente investigación; y mi amistad y cariño para al Sr. Jesús Arteaga Ríos, jefe de piscicultores, por su apoyo incondicional.

A la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco en donde he ejercido la mayor parte de mi vida profesional realizando mi labor de docencia, investigación y servicio en libertad y con el respaldo institucional.



DEDICATORIA

A quienes me dieron la vida y soy lo que soy:

Miguel Rodríguez Vélez

Enedina Gutiérrez Mancilla

A mis hijas, (os) fuente de inspiración:

Libia, Beatriz, Sandra Cecilia, Aida, Aidee, Martha Ivett y Miguel

A mis nietas y nietos, alegría de mi vida:

Andrea, Marcela, Luis, Alejandro, Mayte, Valentina y Fernanda

A mis yernos:

Guillermo, David, Gerardo y Rodrigo

A mis amigas que me han acompañado toda la vida:

Ligia, Evangelina, Grisel, Guadalupe, Ma. Teresa, Rocío, Ma. del Consuelo

A Filiberto †, Dánjal y José mis grandes amores!



Í N D I C E

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIA	iv
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	4
II.1. LA CARPA (<i>Cyprinus carpio</i>)	4
II. 1. 1. Origen	5
II. 1. 2. Clasificación	6
II. 1. 3. Características morfológicas	7
II. 1. 4. Variedades de carpa común	7
II. 1. 5. Distribución mundial	11
II. 1. 6. Variedades de carpa presentes en México.....	12
II. 1. 7. Distribución en México	14
II. 2. CICLO BIOLÓGICO. FASES DE DESARROLLO	16
II. 2. 1. Desarrollo embrionario	16
II. 2. 2. Larva	17
II. 2. 3. Crías	17
II. 2. 4. Juveniles.....	17
II. 2. 5. Adultos	18
II. 2. 6. Relación con los factores físico – químicos	20
II. 2. 7. Enfermedades	21
II. 2. 8. Depredadores	21
II. 3. GÓNADA MASCULINA EN TELEÓSTEOS	22
II. 3. 1. Anatomía del aparato reproductor masculino de teleósteos	23
Testículos	23
Células intersticiales, Células de Leydig	25
Células cisto ó Sertoli	25
Espermatozoide	26
Espermatogénesis en los teleósteos	27
Conducto Espermático	29
II. 3. 2. Fisiología del testículo. Modelo general	30
Eje cerebro-hipófisis-gónadas	30
II. 4. HORMONAS EMPLEADAS EN LA INDUCCIÓN AL DESOVE EN TELEÓSTEOS	33
II. 4. 1. Hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH).....	33
II. 4. 2. Gonadotropinas	34
II. 4. 3. Hipofisación	36



II. 5. CALIDAD ESPERMÁTICA	39
II. 5.1. Extracción del semen	39
II. 5. 2. Color y viscosidad	39
II. 5. 3. Número de espermatozoides	39
II. 5. 4. Motilidad espermática	40
II. 5. 5. Viabilidad espermática	41
II. 5. 6. Morfología	42
III. JUSTIFICACIÓN	43
IV. ZONA DE ESTUDIO	44
V. OBJETIVO GENERAL	45
V. 1. Objetivos particulares	45
V. 2. Hipótesis	45
VI. METODOLOGIA	46
Fase I. Madurez sexual de los machos a través del año	46
Fase II. Experimental	47
Experimento 1. Inducción Hormonal	47
Experimento 2. Motilidad	47
DIAGRAMA DE FLUJO	48
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
VII. Fase I. Determinación de la madurez sexual en machos de carpa común en un ciclo anual.	49
VII. Fase I. 2. Dinámica de la producción de semen con respecto a la temporada reproductiva determinada por las hembras, estación cálida, y no reproductiva, estación fría.	58
VII. 2. Fase experimental	62
VII. 2. 1. Inducción hormonal	62
VII. 2. 2. Motilidad	70
VIII. CONCLUSIONES	73
IX. LITERATURA CITADA	74



INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>).	8
Figura 2. Carpa espejo (<i>Cyprinus carpio specularis</i>).	8
Figura 3. Carpa cuero (<i>C. carpio coriaceus</i>).	8
Figura 4. Carpa barrigona (<i>Cyprinus carpio rubrofuscus</i>).	9
Figura 5. Algunas variedades de carpa (Tomado de Rodríguez <i>et al.</i> , 2005).	10
Figura 6. Carpas coi: a, b y d) con escamas y c) carpa espejo coi.	11
Figura 7. Distribución mundial de la carpa común. (FAO, 2010).	11
Figura 8. Producción de acuicultura global de <i>Cyprinus carpio</i> (Peteri, 2009).	12
Figura 9. Serie de 10 años de la producción nacional de carpa. (AEAP, 2018).	15
Figura 10. Hembra madura a) se marca el desarrollo de las gónadas en los flancos del cuerpo y b) poro genital turgente con presencia de óvulos.	19
Figura 11. Macho maduro, a) con tubérculos nupciales en escamas; b) poro genital.	19
Figura 12. Desarrollo de los espermatozoides en los peces. (Tomado de Nagahama, 1983).	29
Figura 13. Eje cerebro - hipófisis - gónadas. (Tomado de Patiño 1995).	30
Figura 14. Regulación hormonal en el testículo de teleósteos. (Tomado de Yaron, 1995).	32
Figura 15. Vistas panorámicas del Centro Acuícola de Tezontepec de Aldama, Hidalgo	44
Figura 16. Distribución de frecuencias del peso de los organismos a través del año	49
Figura 17. Diagrama de caja del peso corporal de <i>C. carpio</i> , en los diferentes meses del año.	50
Figura 18. Diagrama de caja del volumen (mL) seminal de <i>C. carpio</i> en los diferentes meses del año	51
Figura 19. Diagrama de caja de los mililitros de semen/kg de <i>C. carpio</i> en los diferentes meses del año.	52
Figura 20. Gráfico de correlación lineal, logarítmica y potencial del peso del organismo contra el volumen de semen.	53
Figura 21. Gráfico de correlación lineal, logarítmica y potencial del peso del organismo contra los mililitros por kilo.	53
Figura 22. Distribución de frecuencia del número de espermatozoides/mL por 10 ⁶ de <i>C. carpio</i> .	54



Figura 23. Diagrama de caja del número del número de espermatozoides/mL en <i>C. carpio</i> en los diferentes meses del año.	55
Figura 24. Análisis de frecuencia de la densidad del semen de la carpa (<i>C. carpio</i>).	56
Figura 25. Diagrama de caja e histograma del peso corporal de <i>C. carpio</i> .	58
Figura 26. Diagrama de caja e histograma del volumen de semen de <i>C. carpio</i> .	59
Figura 27. Diagrama de caja e histograma del número total de espermatozoides en <i>C. carpio</i> .	60
Figura 28. Gráfico de canónicas comparando las variables entre las estaciones fría (rojo) y la cálida (azul).	61
Figura 29. Diagrama de caja del volumen de semen por mes de los grupos de <i>C. carpio</i> , control y tratado con hormona LHRHa, a las 12 y 24 horas.	62
Figura 30. Diagrama de caja para el volumen de semen por tratamiento y mes en <i>C. carpio</i> .	63
Figura 31. Diagrama de caja de la producción de semen (ml/kg) por mes y tratamiento en <i>C. carpio</i> .	64
Figura 32. Diagrama de caja de los mL/kg de semen por tratamiento y mes en <i>C. carpio</i> .	65
Figura 33. Análisis discriminante de los grupos testigos y experimentales. Se indican los meses muestreados febrero (A); mayo (B); octubre (C) y noviembre (D).	68
Figura 34. Motilidad promedio y desviación estándar entre el T1 y T2 con respecto a las diferentes soluciones.	71



CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Duración del desarrollo embrionario con diferentes temperaturas.	16
Cuadro 2. Número de huevos con relación a la longitud total de la hembra.	20
Cuadro 3. Especies y metodología en que se ha usado la tinción de eosina – nigrosina.	41
Cuadro 4. Estadísticos descriptivos (media \pm D S) de las diversas variables del semen de la carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>) durante un ciclo anual. (Letras diferentes como superíndices en las medias indican diferencias significativas ($p < 0.05$, prueba post hoc de Tukey).	50
Cuadro 5. Estadísticos descriptivos del peso, volumen, mililitros/kg, densidad, número de espermatozoides por mililitro, número total de espermatozoides, temporada fría (1) y cálida (2) en la carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>).	60
Cuadro 6. Estadísticos descriptivos, Media \pm D S del peso, volumen, mL/kg, densidad, número de espermatozoides por mililitro $\times 10^6$, número total de espermatozoides por tratamiento de la carpa común (<i>C. carpio</i>).	66
Cuadro 7. Estadísticos descriptivos (media \pm D. S.) de la motilidad espermática con tres soluciones activadoras en la carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>).	70



RESUMEN

La carpa común (*Cyprinus carpio*) es una de las especies utilizadas para mitigar la hambruna humana, que tiene una amplia distribución internacional por sus características biológicas tales como rápido crecimiento, buen potencial biótico y resistente a las condiciones de cultivo y que se ha constituido como modelo de estudio en la reproducción inducida, debido a ello, se escogió para determinar el tipo de espermatogénesis que presenta en el Centro Acuícola de Tezontepec de Aldama, (CATA) Estado de Hidalgo, así como evaluar el efecto de las estaciones climáticas y la talla de los organismos en la madurez sexual, en condiciones naturales e inducidas con LHRHa con tiempo de respuesta a las 12 y 24 horas.

Para lo cual, se capturaron machos en los distintos meses del año y previo ayuno de un día se les extrajo el semen del cual se cuantificó el volumen, la densidad y el número de espermatozoides por mililitro; se calcularon los mililitros por kilo y el número total de espermatozoides. Estas mismas determinaciones se hicieron en los organismos inducidos con LHRHa, con dosis de 0.004 mg/Kg, tomándose de un grupo a las 12 horas y del otro a las 24 horas, los grupos control fueron inyectados con suero fisiológico.

También se evaluó el efecto de tres soluciones activadoras de la motilidad, considerándose el T_1 de mayor intensidad en segundos y el T_2 que tiene menor intensidad y hasta que termina.

Los resultados indican que los machos de la carpa en las condiciones del (CATA) presentan madurez todo el año, pues presentan semen, pero al comparar la estación natural de desove, correspondiendo a los meses cálidos, contra la de no desove determinada por la inmadurez de las hembras, se determinó a través del ANDEVA y la Prueba de Tukey diferencia significativa ($P < 0.05$) en los parámetros evaluados, así mismo se establece que la madurez sexual es propia del individuo y determinada por la edad, condición, periodo del año entre otras, por lo que es posible encontrar organismos maduros pequeños o grandes.

En cuanto a la inducción al desove, el efecto de la hormona no fue contundente, ya que no se determinaron diferencias significativas ($P > 0.5$) en las variables de estudio, solo se observó una ligera tendencia en los meses cálidos con tiempo de respuesta a las 12 horas.

Del presente estudio se desprende que los machos de la carpa común en el CATA pueden presentar semen durante todo el año, con mayor producción en los meses cálidos; el peso del organismo no determina la cantidad de semen que produce, sino que depende de la madures propia del individuo. El número de espermatozoides por mililitro promedio se estableció en 34.5×10^9 , la densidad promedio determinada en la estación natural de desove fue menor de 1, los mililitros por kilo en la época fría fueron de 2.49 mientras que en la cálida de 8.91.

De las soluciones activadoras de la motilidad, se determinaron diferencias significativas ($P < 0.05$) con respecto a la solución fertilizante versus la control, ringer y salina; obteniéndose 109 s para T_1 y 470 s para T_2 , valores que determinan que la solución fertilizante incrementa significativamente la motilidad espermática.



ABSTRACT

The common carp (*Cyprinus carpio*) is one of the species used to mitigate human famine, it has a wide international distribution due to its biological characteristics such as fast - growing, good biotic potential and resistant to culture conditions; also It has been established as a study model in induced reproduction. All this reasons It was chosen to determine the type of spermatogenesis that it presents in the Fish farming of Tezontepec de Aldama, (CATA) State of Hidalgo, as well as to evaluate the effect of climatic seasons and the size of organisms in sexual maturity, under natural and induced conditions with LHRHa with response time at 12 and 24 hours.

For which, males were captured in different months of the year and after a one-day fast the semen was extracted from which the volume, density and number of spermatozoa per milliliter were quantified; the milliliters per kilo and the total number of spermatozoa were calculated. The same determinations was made too in the induced organisms, with LHRHa, 0.004 mg/Kg, taking one group at 12 hours and the other at 24 hours, the control groups were injected with saline solution.

The effect of three activating solutions of motility were also evaluated, considering the T_1 of greater intensity in seconds and the T_2 it has less intensity and until the cessation of it.

The results indicated that males carp in the (CATA) conditions are mature all the year, because they present semen, but when comparing the natural season of spawning, corresponding to the warm months, against the non-spawning, determined by the immaturity of the females; the ANOVA and the Tukey Test determine significant difference ($P < 0.05$) in evaluated parameters, likewise it is established that the sexual maturity is proper of the individual and determined by the age, condition, period of the year among others, so it is possible to find small or big mature organisms.

Regarding the spawning induction, the effect of the hormone was not conclusive, since no significant differences were detected ($P > 0.5$) in the study variables, only a slight trend was observed in the warm months with response time to 12 hours.

The present study shows that common carp males in (CATA) may have semen throughout the year, with increased production in the warmer months; the weight of the body does not determine the amount of semen that produces, it depends on the individual's own maturity. The number of sperm per milliliter average settled at 34.5×10^9 , average density determined in the natural spawning season was less than 1, the milliliters per kilogram in the cold season were 2.49 while which in the warm of 8.91.

Of the activating solutions of the motility, significant differences were determined ($P < 0.05$) with respect to the fertilizing solution versus the control, saline and ringer; obtaining 109 s for T_1 and 470 s for T_2 , values that determine that the fertilizing solution significantly increases sperm motility.



I. INTRODUCCION

En general los peces para consumo humano se han capturado en ambientes naturales tales como ríos, lagunas, mares y actualmente en artificiales como presas, jagüeyes, bordos, etc. de hecho se calcula que el 90% de los productos acuáticos provienen de la pesca. Sin embargo, debido a la extracción en muchos casos hasta el agotamiento y/o la perturbación del medio, en especial por la captación del agua para otros usos y la creciente contaminación, han ocasionado la merma de las poblaciones (FAO, 2010).

Lo anterior llevó al hombre, al igual que ha hecho con otras especies, como mamíferos y aves, a la crianza de organismos acuáticos en ambientes artificiales, dando así origen a la acuicultura que trata de mantener, producir y reestablecer las poblaciones sobre todo de interés comercial; lo cual requirió del conocimiento del ciclo biológico a través de la observación en su ambiente (Balon, 1995).

La producción de peces en estanques es una práctica antigua, presumiblemente desarrollada por los primeros agricultores como uno de los muchos sistemas de producción primaria dirigidos a asegurar el aprovisionamiento de alimentos. Las referencias más antiguas datan de hace casi 4000 años, en China y 3500 en Mesopotamia. En la antigua China fue documentado que en la dinastía Ha Oriental durante el periodo de 25 a 250 DC la producción de peces y arroz. La cría de peces también era practicada por los antiguos romanos en la época imperial, la cual más tarde se convertiría en parte de la producción alimentaria de los monasterios cristianos de Europa Central (FAO, 2010).

La producción intensiva es compleja, ya que al estar confinados los organismos en un espacio pequeño y en un número grande, los hace susceptibles de ataques de agentes patógenos como virus, bacterias y hongos; a causa de la calidad del agua, excreción de productos nitrogenados, competencia etc., que retrasan el crecimiento y/o imposibilitan la reproducción, lo cual impide realizar ciclos de crianza completos; o bien, los organismos tienen reproducción precoz, con un aumento importante de la población que conlleva a la producción de enanos de bajo valor comercial (Rodríguez, 1996).

La creatividad del hombre ha sorteado todos estos problemas, para el caso particular de la acuicultura, actividad promisoriosa en todo el mundo, y dentro de ella la piscicultura tanto de agua dulce como marina, que ha logrado buen desarrollo gracias a los avances de otras ciencias y al de ella misma (Álvarez, 2000).

En México también ha tenido un importante crecimiento, pues en 1976 sólo había 22 Centros Acuícolas del Gobierno Federal productores de crías para siembra y repoblación; y escasas granjas privadas; mientras para el año de 2017, en cuanto a peces de agua dulce, las primeras se redujeron a siete, pero las segundas se incrementaron de manera significativa, teniendo 91 granjas de carpa; 4018 de tilapia y 1677 de trucha (FIDEFA, 1976; Anuario Estadístico de Pesca y Acuicultura 2018).

Lo anterior se debió a que en sus inicios la piscicultura en México tuvo un fuerte enfoque social, ya que el gobierno fomentó en las comunidades de escasos recursos el cultivo de especies de rápido crecimiento y resistentes como es el caso de las carpas y tilapias para que tuvieran alimentos de buena calidad y bajo costo. Hacia la década de los 70'S y 80'S el gobierno promovió la creación de granjas privadas de trucha, bagre, peces de ornato y desde luego camarón e hizo énfasis en la importancia de la acuicultura y la necesidad de incorporar nuevos métodos de crianza adecuados a las especies que se



producen para darle competitividad a la actividad en el mercado nacional e internacional y generar además de alimentos de buena calidad, bienestar económico a los productores por la incorporación de divisas (Álvarez, 2000; Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca, 2018).

Para lograr lo anterior se requiere entre otras acciones, el manejo de la reproducción, característica esencial de todo ser vivo que determina la permanencia en el espacio y tiempo. En el caso de los peces, no es la excepción y en condiciones de cultivo es útil conocer el momento en que se presenta para sincronizar la madurez de machos y hembras; así como acelerarla o retardarla en función de la programación de la producción de la granja (Rodríguez *et al.*, 2009).

La reproducción en algunas especies al estar en cautiverio puede ver afectada debido a la falta de condiciones ambientales como flujo de agua, niveles de oxígeno, temperatura, fotoperiodo que la modulan, caso de los ciprínidos asiáticos introducidos al país, en que algunos maduran pero no desovan y en otros la madurez es determinada por las condiciones ambientales (Rodríguez *et al.*, 2016).

En apoyo a la reproducción en cautiverio, da inicio la inducción a la reproducción cuyos antecedentes se remontan a los años 30'S con las experiencias de Houssay, como señalan Donaldson y Hunter (1983), pero es hasta la década de los 50'S que comienza la investigación sobre aspectos de anatomía, fisiología e histoquímica de las gónadas, hipotálamo e hipófisis para lograr el desove, iniciando con ciprínidos y más adelante con otras especies de importancia comercial (Billard *et al.*, 1995).

La inducción al desove, campo de investigación amplio, ya que demanda del estudio de hembras y machos, ha requerido en el caso de estos últimos del conocimiento de la biología del espermatozoide, estudiada inicialmente en la carpa por Spallanzani respecto a la motilidad; y es a partir de los 50'S que se inician investigaciones sobre la biología, morfología y motilidad del espermatozoide y la bioquímica del fluido seminal en gran número de especies, incluidos los peces, estudios que han sido determinantes en el éxito de la inducción al desove, aunado al discernimiento sobre la anatomía, fisiología e histoquímica de la hipófisis que se efectuó en la década de los 70'S. El aislamiento y purificación de hormonas gonadotropas que se hizo entre los 60 y 70'S; el aislamiento y síntesis de la hormona liberadora de la hormona luteinizante que tuvo lugar también en la década de los 70'S y el estudio del aparato reproductor, acaeció entre los 70 y 80'S; de tal manera que como puede apreciarse la generación del conocimiento sobre la reproducción en peces es relativamente reciente, con avances importantes pero aún insuficientes (Harvey y Hoar, 1979; 1983; Billard *et al.*, 1995).

Entre las investigaciones el aislamiento y caracterización del decapeptido análogo de la hormona liberadora (LHRHa) del hipotálamo de cerdos y ovinos dio un nuevo impulso a la acuicultura, porque es más potente y tiene una vida media mayor en el organismo. La síntesis y comercialización han motivado de varios estudios tendientes a establecer el efecto con diferentes dosis, formas de uso, y/o fases del ciclo reproductor en los peces (Donaldson y Hunter, 1983).

Los artículos sobre la inducción a la espermiación en la carpa usando LHRH o sus análogos son escasos (Breton y Weil, 1973; Breton *et al.*, 1993; Billard *et al.*, 1982; y 1986). En otras especies se han publicado estudios realizados por Peter (1980); Peter *et al.*, 1982; Weil y Crim (1982); Donaldson *et al.*, (1982); Román y Becerril (1991) que han demostrado



que la LHRH y la LHRHa D-Ala6 provocan la espermiación en carpa dorada (*Carassius auratus*); salmón (*Oncorhynchus keta*; *O. knisutch*; *Salmo salar*), así como el desove de la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*).

En la carpa se han usado con éxito extractos hipofisarios en la inducción al desove y espermiación con buenos resultados; así como la 17 α 20 β dihidroxiprogesterona y la 11ketosterona (Saad y Billard, 1987a); mientras que (Aizen *et al.*, 2017) utilizaron gonadotropinas recombinantes con mejores resultados que la CPE.

En México, la inducción a la reproducción se inicia con los ciprínidos, cuando los Biólogos Francisco Vera y Fernando Arana inducen a la reproducción a la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*), con hipófisis obtenida de carpas de una presa del Estado de Durango, posteriormente en el Centro Acuícola de Tezontepec, Estado de Hidalgo la utilizan con éxito para la inducción de los ciprínidos chinos introducidos: carpa plateada; cabezona y negra (Arana, 1976; Cruz y Murillo, 1992).

Con relación a lo anterior, se plantea la siguiente investigación que pretende establecer si la producción de semen en la carpa común, bajo las condiciones del Centro Acuícola de Tezontepec es continua o discontinua en un ciclo anual y determinar si hay relación de la madurez con la talla de los organismos; así como estimar el efecto en la espermiación de la Hormona Liberadora de la Hormona Luteinizante análoga (HLRHa) a través de las estaciones del año.

Dentro de este contexto se realizó la presente investigación que pretende avanzar en el conocimiento de las características del semen, así como evaluar el comportamiento en la inducción a la espermiación con la LHRHa, lo cual plantea varias aplicaciones, entre otras, el incremento de la producción de semen para el empleo inmediato y/o criopreservación a través de bancos de esperma.



II. ANTECEDENTES

II.1. LA CARPA (*Cyprinus carpio*)

La carpa es una de las especies más antiguas en cuanto al cultivo y con mayor distribución mundial artificial; debido a que se adaptada a diferentes condiciones, es apreciada en varios países, sobre todo en Europa del Este, lo que ha hecho posible alcanzar un alto grado de tecnificación que le ha valido, de acuerdo con FAO (2010), estar entre las especies con mayor producción y en aumento en comparación con cualquier otra de agua dulce, con lo que contribuye a la generación de alimentos, empleos y ganancias para el erario.

El primer tratado conservado sobre piscicultura es sobre el cultivo de la carpa común y fue escrito por Fan Li en el siglo V a. C., la obra no es extensa, sin embargo, aborda la crianza y toma en cuenta desde la construcción de estanques, hasta el periodo de reproducción, el tamaño de reproductores, proporción de sexos, captura rotativa y otros aspectos técnicos en la producción piscícola; todo lo cual presupone un alto nivel técnico. Por otro lado, refiere que “selecciona a las carpas como modelo biológico porque éstas no devoran a sus congéneres, crecen rápido y se venden a buen precio, lo cual permite hacerse rico en cinco años” (Anónimo, 1976).

Hacia 1547, se escribe por Janus Dubravius el segundo tratado sobre carpicultura, que describe los principios de su propagación y el manejo posterior de los peces en los estanques (Horváth *et al.*, 1992).

Las características biológicas que presenta la carpa tales como: alta tasa de fecundidad y supervivencia, resistencia en todas las fases de desarrollo, adaptación rápida a situaciones desfavorables y a variedad de climas, alimentación detritófaga, rápido crecimiento y habilidad para poblar grandes extensiones de agua, han determinado que sea una de las especies de agua dulce con mayor producción (Cházari, 1884; Baumann *et al.*, 1983).

En algunas partes del mundo, como en México, se ha menospreciado esta especie, por “status quo” cultural - gastronómico, ya que en otros países es un manjar y plato típico incluso de Navidad. Los franceses lo tuvieron claro al promocionarlo como un producto de lujo incluso previo a la revolución. Desde luego es necesaria la promoción y difusión de los distintos platillos con recetas al gusto local. Por supuesto las condiciones de su producción como son: alimentación, tipo de tanques que pueden ser de tierra, hormigón, plástico; ayuno previo al sacrificio, etc. influyen notablemente en los sabores y texturas que presenta la carne al consumidor (Cerdá, 1985).

Por la calidad de su carne, Cuba y República Checa la exportan a Alemania. En Francia, Alemania, Hungría, República Checa, e Israel, se encuentra como platillo gourmet; a manera de ejemplo, en algunos restaurantes de la Plaza de Wenceslao en la Ciudad de Praga, los testículos se preparan en sopa y la carpa frita constituye el principal platillo en la cena de navidad (Balon, 1995).

En México, se le destinó al sector social, es decir, para la comunidad rural de escasos recursos, porque algunos consideran que no tiene buen sabor. Sin embargo, en el Estado de México, Hidalgo, Michoacán y Tlaxcala se preparan platillos que tienen demanda regional, como la carpa a las hierbas que ganó un concurso culinario nacional o bien, los



óvulos fritos, aderezados con jitomate o tomate que le están dando un nuevo valor en el mercado (Rodríguez *et al.*, 2016).

II. 1. 1. Origen

Precisar el origen de un organismo que ha sido cultivado desde hace muchos siglos y tan diverso en formas es complicado ya que no hay suficiente información sólida de sustento, tal como ocurre con las especies que se usan en la industria pecuaria (Balon 1995).

El primer antecesor conocido de la carpa data de hace 2 millones de años, y fue descubierto en un área cercana al Mar Caspio. Desde entonces y hasta hace 11.000 años, la región norte de la tierra, sufrió los efectos de 4 glaciaciones que mermaron drásticamente la distribución y al final de la última glaciación, la carpa ancestral (*Cyprinus carpio carpio*), se desarrolló y se distribuyó desde el área del Mar Caspio hasta el Mar Negro y Mar Aral, a lo largo del oeste del Danubio y la parte este de Asia y de ahí la posterior distribución, que fuera de estas regiones, fue llevada a cabo, por la mano del hombre (Horváth, *et al.*, 1992, Balon, 1995).

Las principales transferencias realizadas tuvieron lugar en la zona superior del Danubio, entre Viena y Bratislava donde los romanos tenían la ciudad de Carnuntum, fundada por el emperador Tiberio, de ahí llevaron las carpas hasta las provincias del oeste y parte de Italia. Los romanos no la utilizaron como recurso alimenticio, ya que ellos solían consumir especies obtenidas de estuarios. Tras la caída del Imperio Romano, la distribución de la carpa fue ejercida por comunidades religiosas y por estados seculares desarrollándose durante los siglos XII y XIII en toda Europa; y se activa la construcción de viveros cerca de lagos donde se llevan a cabo tareas de domesticación (Horváth, *et al.*, 1992).

De acuerdo con Fugita (1933), citado por Alikunhi (1966), la carpa fue introducida a Europa después de las cruzadas, alrededor del año 1150 y fue llevada de Austria a Inglaterra en 1496. Pero, Torbett (1961), citado por Alikunhi (1966) difiere de esta fecha, señalando al año de 1300 o pocos antes cuando se llevó a cabo la introducción en Inglaterra.

La carpa es cultivada en Austria desde 1227, Suecia desde 1560, Dinamarca en 1860 y fue introducida a Norteamérica en 1831. (Alikunhi, 1966). Aunque Baumann *et al.* (1983), difieren y mencionan que fue introducida a Inglaterra durante el reinado de Enrique VIII y de ahí a Norteamérica por la Comisión de Peces de los Estados Unidos entre 1877 y 1896, de donde paso a México.

Pero de acuerdo con Kirpichnikou (1999) durante el periodo glacial la carpa se dividió en tres líneas evolutivas la:

- Europea-trans-caucásica: *Cyprinus carpio carpio*.
- Amur-China: *Cyprinus carpio haematopterus* y
- Asiática Sur-Este: *Cyprinus carpio viridiorolaceus*.

Y, Balon (1995) confirma que el antepasado silvestre de la carpa común se originó en los afluentes del mar Negro, Caspio y Aral en donde, en la época posglacial se dispersó al Este hacia Siberia y China y al Oeste hasta el Río de Danubio ya que en el este asiático



se localiza la subespecie *Cyprinus carpio haematopterus* y en el este europeo *Cyprinus carpio carpio*.

Si bien, Balon (1995) propone que a partir de un origen se formaron dos subespecies, su hipótesis era que la subespecie China no fue domesticada y que probablemente la *C. c carpio*, es la que se dispersó en Europa y posteriormente al mundo.

II. 1. 2. Clasificación

El género de la carpa común, *Cyprinus*, por ser el principal es el que se utiliza como nombre de la familia, Cyprinidae, que agrupa al mayor número de especies de agua dulce a nivel mundial (Miller *et al.*, 2009).

La familia Cyprinidae está constituida por organismos de forma y tamaño variables, pueden tener boca pequeña o grande, terminal, subterminal o inferior, mandíbula sin dientes, con dientes faríngeos dispuestos de una a tres hileras, con membrana branquiósterga generalmente unida al istmo y fisóstomos (Aguilera *et al.*, 1988).

Los ciprínidos al ser un grupo diverso y con amplia distribución incluye entre las especies de interés comercial las llamadas carpas chinas, entre las que se encuentran: carpa común (*Cyprinus carpio*); carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*); carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*); carpa cabezona (*Hypophthalmichthys nobilis*); carpa negra (*Mylopharyngodon piceus*) y carpa brema (*Megalobrama amblycephala*) que fueron introducidas a México durante la década de los setenta con el objetivo de instrumentar el policultivo (Juárez y Palomo, 1980). Otros ciprínidos de interés comercial son las carpas indias, llamadas mayores como son: catla (*Catla catla*), labeo rojo (*Labeo rohita*) y lodera (*Cirrhinus mrigala*), con gran producción, pero menor distribución y éstas no han sido introducidas a México (Rodríguez *et al.*, 2016).

Entre los ciprínidos mexicanos con interés comercial están la acúmara: *Algansea lacustris* (Steindachner, 1895) nativa del Lago de Pátzcuaro, a nivel local constituye un producto de demanda alimenticia, sin embargo, son escasos los esfuerzos para integrar al cultivo comercial a esta especie (Rosas, 1976). Además el género *Notropis*, que debido al pequeño tamaño, se les denomina comúnmente sardinitas de agua dulce, cuenta con varias especies y al igual que la acúmara, aún no se ha logrado el cultivo comercial, sólo se extraen de las cuencas de los Ríos Pánuco y Tamesí (Álvarez del Villar, 1970).

El nombre científico de la carpa se le atribuye a Artedi quién le dio el nombre al género: *Cyprinus* y Linnaeus a la especie, *carpio*. En cuanto a las variedades, debido a la selección de que ha sido objeto, hay un gran número y confusión al respecto, no solo nacional sino internacionalmente (Balon, 1995; Alikunhi, 1996).

La clasificación de la carpa de acuerdo con Nelson, (2006), es la siguiente:

Phylum: Chordata

Subphylum: Craniata

Superclase: Gnathostomata

Clase: Actinopterygii

Orden: Cypriniformes

Familia: Cyprinidae

Género: *Cyprinus*

Especie: *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758)

Nombre común: Carpa



II. 1. 3. Características morfológicas

a. Externas

La cabeza es pequeña con respecto al cuerpo y de forma triangular, la boca subterminal tiene labios gruesos con reborde labial y protráctil hacia abajo, en los bordes se insertan dos pares de barbillas sensoriales: las inferiores cortas y delgadas y las superiores largas y gruesas; la membrana branquiosterga está unida al istmo; los ojos son pequeños con relación a la cabeza, en que se observa un pseudopérculo. En el cuerpo, en la línea lateral hay entre 32 a 38 escamas; en cuanto a las aletas, la dorsal es larga y cuenta con 3 a 4 espinas seguidas de 17 a 22 radios (AD: III – IV, 17- 22), la aleta anal tiene de 3 a 4 espinas y 4 a 5 radios: (AA: III, 4 – 5); ambas poseen la primera espina fuerte y dentada; las aletas pélvicas están en posición torácica; la coloración en estado silvestres es verde olivo en el dorso con vientre verde claro. A partir de este fenotipo, se han desarrollado distintas variedades, por lo que es común encontrar diferencias de color y proporciones corporales (Fig. 5). La aleta caudal es homocerca como en la mayoría de los peces óseos actuales (Torres –Orozco, 1991; Peteri, 2009).

b. Internas

La carpa es un pez óseo con un esqueleto muy ramificado, en la columna vertebral se cuentan de 35 a 36 vértebras anficélicas. El esófago y estómago son poco diferenciados, su intestino es largo y la longitud del tubo digestivo es de 1.5 a 2.5 veces la longitud total del pez, lo cual es condición de peces con alimentación omnívora (Kirpichnikov, 1999).

Como todos los ciprínidos, la carpa carece de dientes en las mandíbulas, pero tiene dientes faríngeos 3:1:1 en cada lado; en el primer arco branquial hay de 21 a 27 branquiespinas distribuidas regularmente, siendo de tamaño medio, típicas de peces con alimentación omnívora ya que las utiliza para filtrar detritus del fondo (Horváth *et al.*, 1992).

La vejiga natatoria tiene posición ventral a la columna vertebral, está formada por dos cámaras unidas en el centro, carácter primitivo. En la parte dorsal de la cavidad celómica se ubican los riñones y ventral a ellos el tubo digestivo, lateral a éste se encuentra la gónada, pareadas, que al madurar, ocupan la mayor parte de la cavidad. En los machos, los testículos son de color blanquecino lechoso; mientras en las hembras, los ovarios que pueden ser de gran tamaño con coloración amarilla – verdosa (Rothbard y Yaron, 1995).

El ovario tiene desarrollo asincrónico, por lo que ocurren varios desoves en temporadas relativamente cortas. En los machos en algunas regiones del país es posible encontrar líquido seminal durante todo el año, por lo que se considera que tienen una espermatogénesis continua (Rodríguez, 1992).

II. 1. 4. Variedades de carpa común

De la carpa se reconoce fundamentalmente: la carpa común, propiamente dicha, (Fig. 1) que tiene el cuerpo cubierto de escamas cicloideas y la carpa espejo (Fig. 2), en México denominada de Israel debido a que fue introducida de ese país, con escasas escamas cicloideas de mayor tamaño distribuidas parcialmente en el cuerpo y que fue obtenida a partir de la selección de la primera; de ambas se han obtenido diferentes morfotipos (Fig.5) que tienen importancia económica ya que determinan los precios del mercado, por ejemplo, la carpa común, alcanza buen precio en Europa, mientras que la espejo es más deseada en Asia (Tave, 1986; Horváth y Orbán, 1995; Pokorny, 1995).

Alikunhi (1966) reconoce entre las variedades de la carpa *Cyprinus carpio*; la que tiene el cuerpo cubierto de escamas: *Cyprinus carpio communis* (Fig. 1); la carpa espejo, *Cyprinus carpio specularis* (Fig. 2) que tiene pocas escamas distribuidas parcialmente y a



la carpa cuero como *Cyprinus carpio coriaceus*, (Fig. 3) porque tiene el cuerpo totalmente desnudo de escamas.



Figura 1. Carpa común (*Cyprinus carpio*).



Figura 2. Carpa espejo (*Cyprinus carpio specularis*).



Figura 3. Carpa cuero (*C. carpio coriaceus*).

Derivada de su amplia distribución y largo periodo de cultivo, en el mundo hay muchos morfotipos de esta especie, entre los más reconocidos están los que se localizan en Europa del Este, en particular, en el Research Institute for Fisheries, Aquaculture and Irrigation Szarvas, Hungría (Instituto de Investigaciones Pesqueras, Acuícolas e Irrigación de Szarvas), en donde el Dr. Janos Bakos, y su grupo de investigadores, iniciaron el Programa de mejoramiento genético, obteniendo a través de cruzas y retrocruzas de diversas variedades seleccionadas de acuerdo con la forma y coloración (Bakos, 1976); lo



que ha hecho que se reconozca como uno de los bancos genéticos de carpa junto con el Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology (Instituto de Investigación en Cultivo de Peces e Hidrobiología), de República Checa, a cargo del Dr. Otomar Linhart y su equipo quienes cuentan con 32 variedades en que se incluyen tanto las propias como las importadas (Irnazarow, 1995; Pokorny *et al.* 1995).

En China, hay otro centro de selección importante, ya que además de las carpas Chinas ya mencionadas, en cuanto a la carpa común, se produjo, entre otras variedades la carpa *Cyprinus carpio rubrofuscus*, con la que se esperaba incrementar la cantidad de óvulos, razón que determinó la amplia redondez de su vientre, causada por el desarrollo de la gónada, de ahí el nombre común en inglés: “big velly” y en castellano barrigona. En proporción, un organismo adulto de esta variedad produce menos carne y tiene mayor altura por el tamaño del vientre, el color del dorso es dorado y el vientre blanco amarillento; alcanza una talla máxima de 80 cm, con un peso de cercano a los 30 kg (Figs. 4) (Aguilera *et al.*, 1988; Juárez y Palomo 1988).



Figura 4. Carpa barrigona (*Cyprinus carpio rubrofuscus*).

Casi en todos los países donde es cultivada han tratado de obtener variedades que se ajusten a los sistemas de producción y región particular (Bakos, 1976; Wohlfarth *et al.*, 1980; Hulata, 1995; Horváth y Orbán, 1995; Sumantadinata, 1995; Irnazarow, 1995; Kohlmann y Kersten 1999; Bekh *et al.*, 2008).

En Europa Central existen varias variedades entre las más conocidas están: La Aischground, Galitzia, Lausitz, Franconia, Bohemia o Wittingau y Húngara; las que se diferencian por la forma del cuerpo, cubierta de escamas, el tamaño relativo de la cabeza y la presencia de protuberancias nucales más o menos desarrolladas. En cuanto a la forma del cuerpo, las razas Aischroung y Galitzia, son robustas y corpulentas, en tanto que en las razas Lausitz, Franconia y Bohemia, la forma es más alargada. También se reconocen: la Tata, de origen Alemán (Fig. 5a); la Rop, seleccionada en Rusia (Fig.5 b); la Sarvage, Húngara que se asemeja a la carpa silvestre por lo alargado de su cuerpo y coloración verdosa, (Fig. 5c); la barrigona, de origen Chino (Figs. 4 y 5d); la Amur, que se considera también como una carpa silvestre (Fig. 5e) y desde luego la espejo dentro de la que se encuentra la Dor 70, (Fig. 5f) seleccionada en la Dor Fish and Aquaculture Research Station, con excelente rendimiento de sus crías y que resiste la depresión por consanguinidad (Wohlfarth *et al.*, 1980; Huet, 1983; Hulata, 1995).

La carpa espejo (*Cyprinus carpio specularis*), denominada internacionalmente, Royal Carp ó mirrow carp, al igual que la carpa común ha sido ampliamente distribuida y seleccionada obteniendo ejemplares de distintas formas y colores (Figs. 5f y 6) (Tave 1986).





Figura 5. Algunas variedades de carpa (Rodríguez et al., 2005).

La carpa coi, de ornato es otra variedad, se basó en la selección de colores que van de mate a metálicos; por su belleza ha sido llevada a distintas partes del mundo donde adornan los estanques, y se les ha llamado, por ésta razón, las flores que nadan (Fig. 6) (Balon, 1985). Las carpas coi, se conocen desde la antigüedad y fueron desarrolladas en Japón, en la Niigata Prefecture en la parte norte de la Isla Hinshu, durante el periodo de Tokugawa entre los siglos XVII y XIX (Rothbard, 1994). En la actualidad es posible encontrar carpas coi tanto con escamas (Fig. 6a, b, y d) como sin ellas (Fig. 6c) (Cherfas *et al.*, 1992; Taniguchi *et al.*, 1986; Rothbard y Yaron, 1995).



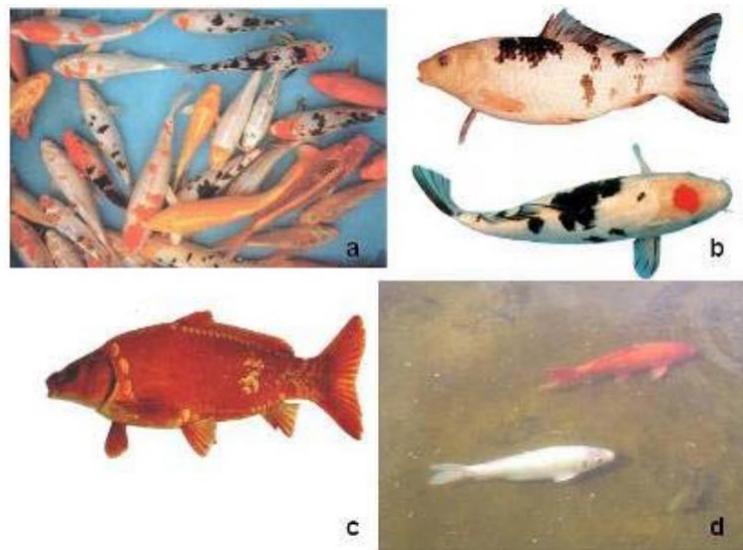


Figura 6. Carpas coi: a, b y d) con escamas y c) carpa espejo coi.

Por lo tanto, las distintas variedades de carpa pueden tener diferente distribución de escamas, colorido, proporción corporal relacionada con la cantidad de carne, además de atributos adaptativos, que les facilitan el desarrollo bajo ciertas condiciones (Rodríguez *et al.*, 2009; Bekh *et al.*, 2008).

II. 1. 5. Distribución mundial

A pesar de ser considerada por varias organizaciones ecologistas como especie invasora, junto con la tilapia constituyen las especies más diseminadas por el mundo, por la facilidad de manejo y reproducción, potencial biótico y rápido crecimiento, características deseables en la producción de alimentos para cubrir las necesidades de las poblaciones en los países sobre todo en vías de desarrollo (Aguilar 2005).

De acuerdo con la FAO (2010), (Fig. 7) se localiza en todos los continentes inclusive en Australia y es dentro de las especies de agua dulce, una de las de mayor dispersión, que por lo general ha sido introducida en presas y bordos (Koehn, 2004).

La producción pesquera de agua dulce a nivel internacional (FAO, 2010; (Fig. 8) y en México, (Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca 2018) (Fig. 9) son sostenidas a partir de estas las carpas y tilapias, lo cual determina su importancia alimentaria.



Figura 7. Distribución mundial de la carpa común. (FAO, 2010).



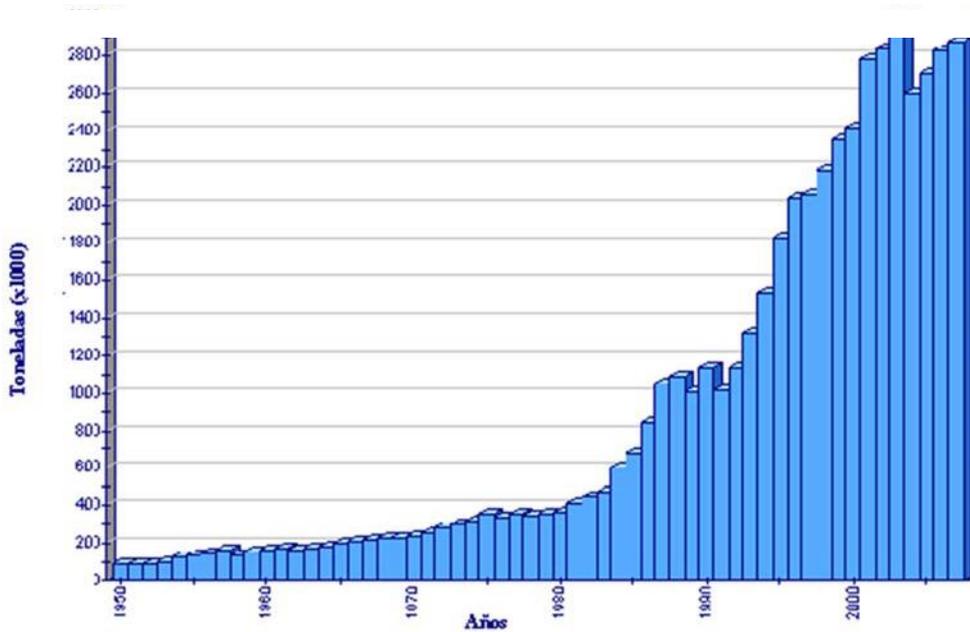


Figura 8. Producción de acuicultura global de *Cyprinus carpio* (Tomado de Peteri, 2009).

II. 1. 6. Variedades de carpa presentes en México

La carpa ha sido introducida a México en múltiples ocasiones, pero se carece de los registros de las variedades, año de introducción y país de procedencia, lo que sí es seguro es que han sido traídas variedades tanto de Europa como de Asia (Rodríguez *et al.*, 2016).

De acuerdo con Cházari (1884) la carpa común, *Cyprinus carpio communis*, fue traída durante el gobierno de Porfirio Díaz hacia el año de 1876, por R. Hessel procedente de los Estados Unidos de América del Norte, en que señala “constituye un grupo de carpas todas escamosas, en los Estados Unidos se le llamaba carpa alemana porque de Alemania fue importada” (Fig. 5a).

El propio Cházari reconocía que “se han señalado muchas variedades de este ciprínido, consistiendo las diferencias en el estado de su piel más o menos cubierta de escamas, en el orden de su coloración y forma con que estas se distribuyen; como por ejemplo: *Cyprinus carpio communis*, con el cuerpo cubierto de escamas (Fig. 1); *Cyprinus carpio specularis*, (rex ciprinorum) (Royal carp, mirror carp, King carp) (Fig. 2) segundo grupo de variedades caracterizado por sus anchas escamas situadas en solo tres o cuatro hileras a lo largo del cuerpo, desiguales e irregulares por lo común, quedando desnudo el resto. El tercer grupo se caracteriza por la otra variedad denominada *Cyprinus carpio coriaceus* sive *nudes* (leather carp= carpa cuero), (Fig. 3) que solo tiene tres hileras de escamas grandes, una a cada lado de la base de la dorsal y otra a lo largo del vientre, con algunas escamas por el pecho y la cola: muy notable y hermosa, el resto de la piel desnuda y suave como un terciopelo, o completamente y en todas sus regiones desprovista de escamas”.

Si bien Cházari reconocía las distintas variedades, inicialmente al parecer se importó la carpa común y fue hasta 1956, cuando el Banco Ejidal trajo de Israel nueve carpas espejo (*Cyprinus carpio specularis*) (Fig. 2) de apenas 2 cm de longitud, que se introdujeron en el Centro Acuícola de Zacatepec, Morelos y constituyeron la base para impulsar el programa



de Piscicultura Rural, y por su procedencia se les denominó “carpa de Israel” (Rodríguez, 1982).

De estas importaciones es de hacer notar que la carpa común, con escamas, en México, hasta la década de los 70’s, se le llamó carpa escamuda, tenía el cuerpo largo, el color era verde oscuro aceitunado con el vientre claro (Fig. 5e) (Rodríguez *et al.*, 2016).

Cuando se importó de China la carpa barrigona (*Cyprinus carpio rubrofuscus*) (Fig. 4), debido a que presenta el cuerpo cubierto de escamas, también algunos le llaman escamuda, aunque no corresponde a aquella, y se diferencia por ser una especie mejorada que fue obtenida en Hong-Kong; de tal manera que a su llegada a México fue llamada *Cyprinus carpio* var. *Hong-Kong*; término incorrecto, ya que en China se le reconoce como *Cyprinus carpio* var. *rubrofuscus*. Actualmente se denomina a todas las carpas con escamas como barrigonas, aunque son una mezcla de todas las variedades importadas (Rodríguez *et al.*, 2016).

Rodríguez *et al.* (2003) realizaron estudios de morfometría propuestos por Balon (1995) en una población de carpa cultivada en el Centro Acuícola de Tezontepec (CAT) utilizando las longitudes: total, patrón, cefálica, altura máxima, a la base del ano, al final de la aleta anal y grosor y al analizar las distintas proporciones, encontraron diferencias significativas en: longitud patrón/longitud cefálica, longitud patrón/altura y longitud patrón/longitud de la base de la aleta anal, que separaban la “europea” (escamuda) de la “barrigona”. La carpa europea tiene el cuerpo alargado y delgado, la cabeza de menor tamaño y menor altura.

Desde la creación del CAT, en el año 1963, se le consideró de referencia de las especies de carpas introducidas hasta el año 2009, en que se cerró, trayendo como consecuencia la pérdida de la carpa negra y brema que ya no se indujeron a la reproducción (Rodríguez *et al.*, 2016).

En cuanto a la carpa espejo fue reintroducida de Israel en 1983 y en 1987, se importó la variedad israelí, Dor 70, que inicialmente llegó a Cuba, de donde fue traída al Centro Acuícola de Tezontepec de Aldama para su propagación (Fig. 5f) (Rodríguez *et al.*, 2016).

En 2010 se reintrodujo de la República Checa la carpa espejo, variedad Pohorelice, además de la carpa común y Tata así como carpa herbívora, plateada y cabezona las cuales fueron confinadas en el Centro Acuícola de Zacapu, Michoacán (Rodríguez *et al.*, 2016).

La carpa coi, por ser considerada especie de ornato, no se cultiva en los centros de la SAGARPA y en general se importa de Asia, solo hay producción en granjas de ornato de los Estados de Morelos, Nayarit y Yucatán (Rodríguez *et al.*, 2016).

Las distintas especies de carpas han sido utilizadas como producto alimenticio, a partir de las crías que se producen en los centros acuícolas de la SAGARPA, de donde son llevadas para poblar y/o repoblar embalses, y, con excepciones a granjas ubicadas en los Estados de Hidalgo y Jalisco. Sin embargo, el potencial económico en la producción de ésta especie todavía no se ha integrado en nuestro país, donde se puede comercializar la carne, las gónadas, la hipófisis e inclusive exportarla (Rodríguez *et al.*, 2016).



II. 1. 7. Distribución en México

La carpa en México es una de las especies con amplia distribución y se ha adaptado a las aguas mexicanas, tal vez, debido a ello, el eminente ictiólogo Álvarez del Villar, en su libro: Peces mexicanos la incluye como parte de la ictiofauna nacional (Álvarez del Villar, 1970; Rodríguez y Maldonado, 1996).

La carpa junto con la tilapia constituyen las especies exóticas con mayor distribución en la República Mexicana, a la primera se le ubica en las cuencas importantes como la del Río Bravo, Pánuco, Balsas, Yaqui, la Cuenca Alta del Río Lerma, de donde se ha pasado a numerosos cuerpos de agua, demostrando así su adaptación a las condiciones naturales de nuestro país, lo que hace difícil precisar su distribución (Álvarez del Villar, 1970).

Ramírez (1963), señala que “entre los depósitos donde la abundancia es más notable, pueden mencionarse la Laguna de Chapala en Jalisco; la de Yuriria en Guanajuato, Cuenca Alta del Río Lerma, incluso los embalses resultantes de la construcción de presas. En el Estado de Hidalgo debe mencionarse la Laguna de Metztitlán y Río que la alimenta, embalse de Endhó y otros. En el de México su distribución abarca casi todo el Estado, incluso la Laguna de Villa Victoria, algunos ríos que alimentan el Sistema Hidroeléctrico de Ixtapantongo y otros más que sería prolífico enumerar. En Chapala, Yuriria, Valsequillo, Tepuxtepec, suele capturarse en volúmenes muy cuantiosos.” Con el paso del tiempo lo anterior ha cambiado significativamente, ocasionado por la contaminación, desecación y/o la introducción de la tilapia.

De acuerdo con las evaluaciones realizadas hasta 1975 por el Fideicomiso para el Desarrollo de la Fauna Acuática, se estableció su presencia en los siguientes Estados: Aguascalientes, Colima, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro y Tlaxcala.

Mientras que el Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca (2018) señala que los Estados con mayor producción de carpa son: Coahuila, Chihuahua, Guanajuato, Estado de México, San Luis Potosí, Tamaulipas y Tlaxcala; así mismo menciona que los Estados que producen ambas especies, con mayor producción de tilapia son: Aguascalientes, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nuevo León, Puebla, Querétaro, Tabasco y Zacatecas; mientras que los Estados que no producen carpa, pero si tilapia son: Campeche, Colima, Chiapas, Guerrero, Oaxaca, Tabasco, Veracruz y Yucatán; y por ende, los Estados en que no hay ninguna de las dos son: Baja California y Baja California Sur, Morelos, Nayarit, Sinaloa y Sonora.

La tilapia introducida a México en 1964, (Morales, 1974), con menos tiempo en el país, también se ha aclimatado bien y en algunos estados ha desplazado inclusive a la carpa, como es el caso de la Presa del Bosque, Estado de Michoacán, en que ahora la especie dominante es tilapia; en otros, debido a las condiciones climáticas es la carpa la especie preponderante como ocurre en el Estado de Tlaxcala, que por la calidad y temperatura del agua la favorece. Como ejemplo en la Presa de Atlangatepec, la carpa, es la especie que soporta la principal pesquería que constituye la fuente de alimentación y generación de recursos a través de la comercialización que de ella se hace (Rodríguez *et al.*, 2019).

Lo anterior ha repercutido en la producción de éstas especies, ya que de acuerdo con el Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca (2018) durante el año 2016 la producción de carpa, que en años previos tenía el 3er lugar se fue deslizando hasta ocupar el 8º con una producción de 53,417 toneladas, siendo superada por especies marinas; mientras que la tilapia alcanzó 179,919 toneladas, ocupando el 2º lugar en la producción nacional, solo superada por la sardina.



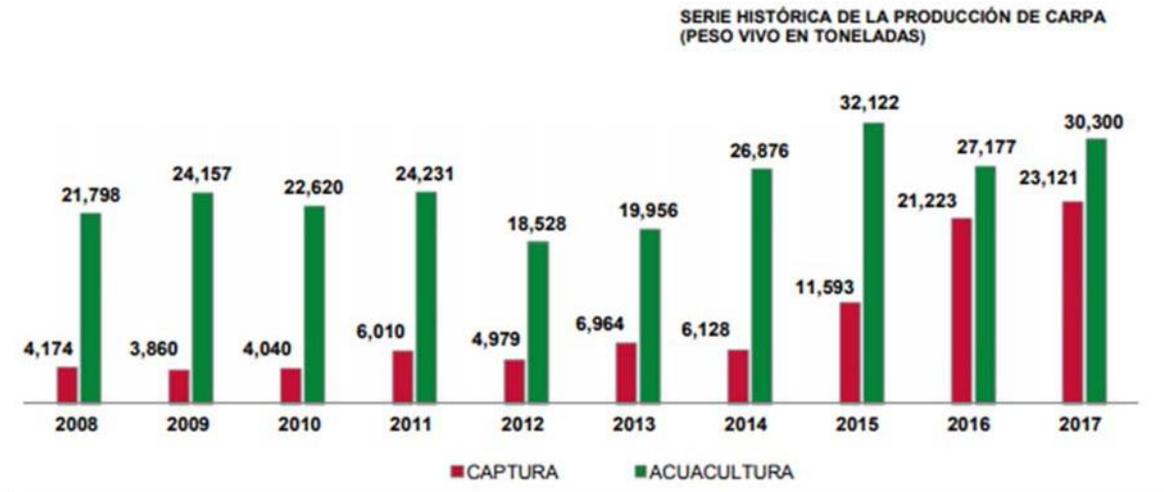


Figura 9. Serie de 10 años de la producción nacional de carpa. (AEAP, 2018).

En un país tan rico en recursos acuícolas como México, en ocasiones éstos no son manejados adecuadamente, a pesar de que existen leyes y normas para protegerlos, ya que no están actualizadas con respecto al recurso y región; ya que las capturas máximas sostenibles y las tallas comerciales se deben calcular *in situ*, porque las condiciones donde se desarrollan determinan el crecimiento y la madurez sexual, dos eventos fundamentales para establecer el tamaño de la luz de malla para la captura que determinan la sustentabilidad del recurso pesquero, o en caso de ser necesario la veda, (Rodríguez *et al.*, 2019).

Para que los recursos pesqueros se constituyan en fuentes inagotables, es necesario realizar la adecuada administración, en que se debe de considerar entre otras características: la longitud, peso, edad en la que alcanza la madurez sexual, número de ovoposiciones al año, potencial biótico, así como elaborar el modelo de crecimiento, evaluar el esfuerzo pesquero, etc. a partir de los cuales se podrá definir la duración y la conveniencia o no del establecimiento de vedas, así como, la estimación de las tallas comerciales que, por supuesto, tendrán que ser calculadas por región climática porque como ya se explicó, la temperatura es uno de los principales factores que influyen en el crecimiento y madurez sexual (Rodríguez *et al.*, 2019).



II. 2. CICLO BIOLÓGICO. FASES DE DESARROLLO

La carpa no requiere de condiciones especiales en ninguno de sus estadios; además es resistente a las variaciones del ambiente, casi sin problemas, razones que han determinado su amplia distribución mundial (FAO, 2010).

De acuerdo con Woynarovich y Horváth, (1980); Huet, (1983); Horváth *et al.*, (1992); Rothbard y Yaron, (1995), la carpa puede completar el ciclo biológico al cabo de dos años, lo cual depende de las condiciones climáticas donde se cultiva.

II. 2. 1. Desarrollo embrionario

El óvulo en la mayoría de los peces óseos es telolécito, el desarrollo embrionario se lleva a cabo en el polo animal, presenta micrópilo, poro por el cual debe penetrar el espermatozoide durante la fecundación. En la carpa, cómo en todos los seres vivos con reproducción sexual, el desarrollo embrionario se lleva a cabo en el óvulo de uno a dos mm. de diámetro, dependiendo del tamaño de la hembra, con color amarillo-anaranjado brillante, que después de unos 4 a 5 minutos de haber sido expulsado se torna adhesivo (Horváth *et al.*, 1986a; Rodríguez, 1992; Rothbard y Yaron, 1995).

Los espermatozoides tienen aproximadamente 45 micras de diámetro, la motilidad una vez activados al entrar en contacto con el agua es de dos minutos después de este tiempo decae y disminuye su poder fecundante. Pero este tiempo se considera suficiente, ya que el micrópilo de la hembra, por donde penetra, solo permanece abierto este tiempo. Los óvulos no fecundados son blanquecinos, opacos y antes de 48 horas se desintegran (Rodríguez *et al.*, 2009).

Como son huevos adherentes, se fijan a algún sustrato como pastos, tule donde se desarrollarán, presentan la condensación del citoplasma formado por una sola célula, después por división origina dos y así sucesivamente se lleva a cabo la segmentación, blastulación, gastrulación hasta la eclosión del alevín, el cual aún conserva parte del saco vitelino, que durante todo el proceso nutre al embrión (Rodríguez y Garza, 1985; Bardach *et al.*, 1986).

En el Centro Piscícola de Tiacaque, Edo. de México se encontró que el huevo incubado en las botellas Zoug con un flujo de 5 L/minuto y a una temperatura promedio de 26 °C, la oculación se presenta a las 26 horas de la fecundación y las primeras eclosiones se presentaron a las 36 horas (Rodríguez y Garza, 1985), (Cuadro 1).

Cuadro No. 1. Duración del desarrollo embrionario con diferentes temperaturas.

Temperatura °C	Lugar	Tiempo
12 – 25	Hokkaido, Japón*	7 días/16 Hrs.
18 –22	Japón*	3 días/18 Hrs
28 – 32	Cuttak * India	2 días
25	Centro Acuícola de Chilpancingo, Gro.*1	3 días
18	Centro Acuícola de Chapingo, Edo. de México*2	5 días
26	Centro Acuícola Tiacaque*3	36 horas

*Tomado de Alikunhi (1966); *1Com. Personal Biol. Ángel Hernández; *2Biol. Raúl Arriaga; *3Rodríguez y Garza, (1985).

El 80% de los huevos son viables, así mismo se estima que en condiciones naturales la mortalidad es elevada estimándose en 80%; las causas son variadas como el ataque por depredadores como peces, anfibios, insectos adultos y sus larvas; infecciones causadas por hongos o bacterias; así como cambios bruscos de temperatura y la contaminación entre otros (Woynarovich y Horváth, 1980; Bermúdez *et al.*, 2000).



II. 2. 2. Larva

Bajo este término de acuerdo con diversos autores como Nikolsky (1963); Woynarovich y Horváth (1980) y Horváth *et al.* (1986) Bardach *et al.*, (1986) se reconoce la fase del ciclo biológico, posterior al desarrollo embrionario en donde se pueden diferenciar dos subfases, la prelarva y larva.

En la prelarva, los individuos tienen nado poco activo y vertical hacia la superficie, de donde se dejan “caer” después de nadar por periodos cortos, y la mayor parte del tiempo se mantienen pegados a algún sustrato con la glándula adherente que se ubica al final de su cabeza; este estadio es la fase posterior a la eclosión; la duración está en función de la temperatura, a 22 °C requiere de 1.5 días.

La prelarva no tiene terminado el desarrollo de la boca, intestino, ano y branquias funcionales, carece de aire en la vejiga natatoria, por mencionar algunos y el saco vitelino provee del material y energía necesarios para continuar con el desarrollo y crecimiento. Al terminar de formarse todos los órganos, el saco vitelino decrece y la respiración que en su inicio era por difusión a través de la piel; se transforma en branquial.

Al final del estado prelarva, se ha completado el desarrollo de todos los órganos, se torna activa y nada con frecuencia hacia la superficie por aire para llenar la vejiga natatoria y es entonces cuando el ajuste hidrostático se obtiene y ya puede nadar como pez, asumiendo la posición horizontal y por lo tanto transformándose en larva.

La mayoría de las larvas, también llamadas alevines, tienen espaciados los melanóforos ó carecen de ellos, de tal manera que no tienen protección contra los rayos ultravioleta del sol, así que requieren de estar en lugares sombreados.

El llenado de la vejiga natatoria marca un punto importante en el ciclo biológico, porque poco después la larva comienza a tomar alimento externo, aún cuando todavía conserva un 20 – 30% del saco vitelino, el cual le asegura la sobrevivencia, cuando le es difícil encontrar alimento externo disponible.

La duración de este estadio también se ve influido por la temperatura, se tienen estimaciones de 5 a 10 días. En esta etapa como en la anterior, la mortalidad es elevada, siendo en términos generales las mismas causas.

II. 2. 3. Crías

La etapa de cría inicia cuando los alevines han absorbido el saco vitelino y se convierten en nadadores activos en busca de alimento; en este estadio consumen zooplankton que forma el 55% y bentos el 45% del alimento consumido, y se distribuyen, en general a las orillas del cuerpo de agua donde es abundante y la temperatura más elevada (Peteri, 2009).

II. 2. 4. Juveniles

El inicio de la etapa juvenil es difícil establecer, ya que el cambio es paulatino, pero de acuerdo con Nikolsky, (1963); (Woynarovich y Horváth, 1980); Horváth *et al.*, (1986b), se puede afirmar que el individuo es similar al adulto en forma y hábitat, pero sexualmente inmaduro, lo que determina que carezcan de dimorfismo sexual, aunque son gonocóricos.

Por lo tanto, se presentan algunos cambios con respecto al estadio anterior, el más representativo es el adquirir el hábitat característico de la especie, que es bentónico, donde buscan en el fondo de los cuerpos de agua insectos y sus larvas, así como detritus, sobre todo los ricos en materia orgánica para alimentarse; su boca protráctil, le facilita la remoción



del fondo y la alimentación bentófica por lo que se encuentran cerca de los fondos lodosos o en media agua.

II. 2. 5. Adultos

Los adultos son los que han alcanzado la madurez sexual, la cual, en las regiones cálidas de nuestro país se alcanza al primer año de vida, a diferencia de países fríos en donde puede ocurrir al segundo o tercer año. En este estadio se presentan las características tanto morfológicas, como ecológicas de la especie (Huet, 1983; Rodríguez, 1985).

Los adultos se distribuyen en el fondo de los cuerpos de agua en que prefieren los suelos lodosos ricos en materia orgánica donde se alimentan de bentos y de restos vegetales en descomposición (Ramírez, 1963; Horváth *et al.*, 1986a).

La carpa es un organismo omnívoro con un amplio espectro de alimentación, que realiza durante el día, durante el crepúsculo, se le ve con agitando el fondo con vigor en busca de gusanos y otros organismos bentónicos entre los pastos y malezas a lo largo de las superficies marginales; es capaz de perforar fondos suaves hasta 12 cm. y en sustrato arcilloso duro hasta 6 cm, por sus hábitos removedores, al disolver las sales alteran el pH, además de que incrementan la turbidez del agua, haciendo difícil la convivencia con otras especies sobre todo aquellas que requieren de luz para alimentarse o que utilizan el fondo en la elaboración de sus nidos (Alikunhi, 1966; Peteri, 2009).

La carpa ajusta su dieta de acuerdo con la disponibilidad de alimento, pero muestra especial preferencia por organismos del bentos de los grupos: Chironomidae, Ephemeridae; Tricóptera, Tubificidae, y Moluscos, así como vegetales en putrefacción, plancton epífito; entre el zooplancton, consumen rotíferos como: *Brachionus*, *Platyas*, *Keratella* etc.; crustáceos como: *Cyclops*, *Daphnia*, *Gammarus*, *Bosmina* etc. (Alikunhi, 1966; Bardach *et al.*, 1986; Horváth *et al.*, 1986).

Tiene rápido crecimiento y en condiciones naturales puede alcanzar 75 cm de longitud y peso de hasta 15 k., en México hay reportes de organismos de 130 cm y 28 k (Ramírez, 1963; Álvarez del Villar, 1970; Aguilera *et al.*, 1986)

En cuanto a la edad que pueden alcanzar de acuerdo con los siguientes reportes, se ha documentado en Inglaterra carpas de 15 años y 11 k de peso; en Japón, la talla máxima es de 1.53 m y 45 k de peso (Alikunhi, 1966). En Chapala se han encontrado ejemplares de 1.30 m y 28 k de peso (Ramírez, 1963).

Desde luego, el crecimiento está influido por las condiciones climáticas y disponibilidad de alimento, según Huet (1983) en Europa crece en el primer año de 9 a 12 cm y de 35 a 50 g; obtiene 250 a 500 g en el segundo año y de 1000 a 1500 g en el tercero. Mientras que Alikunhi (1966), señala que en condiciones naturales alcanza 180 mm y 104 g en el primer año; 340 mm y 364 g en el segundo y 380 mm y 302 g en el tercero.

En la época de reproducción, hacia el final de la primavera, las hembras presentan el abdomen abultado y la abertura genital es amplia y prominente, (Fig. 10); mientras que los machos pueden o no tener el abdomen abultado, pero cuando se les presiona los flancos suavemente eyaculan, en su caso, el poro genital es profundo y estrecho; con tubérculos nupciales del tamaño de la cabeza de un alfiler en el opérculo y aletas pectorales, ocasionalmente en todo el cuerpo (Fig. 11) en algunas hembras pueden presentarse y existen machos que nunca los desarrollan, estas superficies son usadas para excitar durante el cortejo a la hembra (Bardach *et al.*, 1986; Horváth *et al.*, 1986a; Rodríguez *et al.*, 2016).



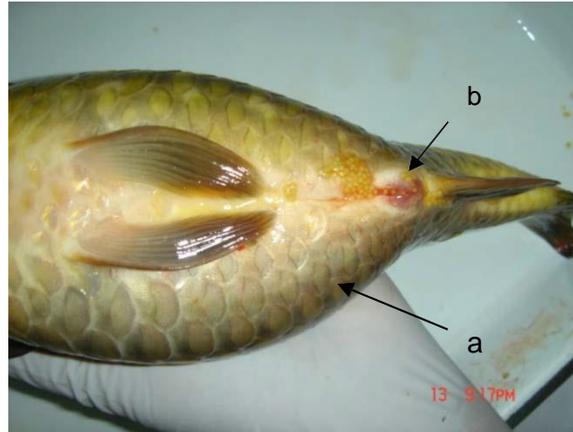


Figura 10. Hembra madura a) se marca el desarrollo de las gónadas en los flancos del cuerpo y b) poro genital turgente con presencia de óvulos.



Figura 11. Macho maduro, a) con tubérculos nupciales en escamas; b) poro genital.

La madurez sexual depende de las condiciones climáticas en donde la temperatura, y el fotoperiodo la disparan. En Europa central las hembras maduran después de 4 años y los machos a los 3; en Japón a los 3 y 2 años respectivamente. En aguas cálidas como en el sureste de África, ambos maduran en el primer año. En Malaca, se encontraron carpas maduras a los 6 meses. En la India, se ha reportado que la carpa escamuda traída de Tailandia, madura entre los 6 y 8 meses (Ramírez, 1963; Alikunhi, 1966; Álvarez del Villar, 1970; Bardach *et al.*, 1986; Maddocks y Cundiff, 1998; Peteri, 2009).

Una hembra de un kilogramo produce aproximadamente 100,000 huevecillos (Ramírez, 1963). Aunque su número varía con relación al peso y longitud, (Cuadro 2) al respecto Nikolsky (1963) reporta:



Cuadro No. 2. Número de huevos con relación a la longitud total de la hembra.

Long. (cm.)	No. de huevos
30 - 40	181 000
40 - 45	229 000
45 - 50	375 000
50 - 55	428 000
60 - 65	525 000
65 - 70	525 000

La carpa es polígama, durante el desove una hembra es fecundada por dos o más machos, los que en general son más pequeños. La relación de una hembra por dos machos es muy adecuada, pues asegura la reproducción natural en los cuerpos de agua; mientras que en condiciones de crianza la proporción puede ser de uno a uno, y aún de una hembra por un mililitro de semen ya que cada mililitro ésta formado por 3.75×10^9 espermatozoides (Horváth *et al.*, 1986a; Rodríguez *et al.*, 1991).

El apareamiento en condiciones naturales es difícil de observar, prefieren los lugares poco profundos y con sustrato, hierbas u otros objetos del medio para favorecer la adhesión del huevecillo. La fecundación es externa, durante el cortejo, los machos siguen a la hembra rozándose los cuerpos, finalmente el macho efectúa movimientos bruscos que excitan a la hembra quien expulsa los óvulos a intervalos, seguida por el macho que a su vez eyacula, fecundándolos, este proceso se repite pocos minutos después (Ramírez, 1963; Horváth *et al.*, 1986a).

Los huevos son adheridos a las hierbas u otros objetos del medio tan pronto son desovados, si no es así muere. Los machos después de cinco días aproximadamente, dependiendo de las condiciones, pueden ser capaces de fecundar otra hembra. En esta especie no hay elaboración de nido ni cuidado de la hueva (Ramírez, 1963; Horváth *et al.*, 1986a).

II. 2. 6. Relación con los factores físico – químicos

La carpa se desarrolla en medios lénticos, necesita de lugares poco profundos con buena superficie para incrementar el intercambio de oxígeno atmosférico. El oxígeno disuelto puede proceder del aire o de la función clorofiliana que realizan los vegetales, la cantidad va a estar determinada por la temperatura, presión atmosférica, respiración, diversas oxidaciones tanto orgánicas como inorgánicas; por lo tanto el agua es el elemento que más influye en el crecimiento de los peces y cada especie, para su desarrollo, requiere que reúna ciertas características, físicas y químicas, entre las que destacan para la carpa de acuerdo con Ramírez (1963); Woynarovich y Horváth (1980); Rothbard y Yaron, (1995), las siguientes:

Temperatura. Para el buen desarrollo y crecimiento, la carpa necesita que la temperatura del agua éste arriba de los 18 °C, puede mantenerse con menores, pero el crecimiento se verá disminuido ya que es un ciprínido de aguas cálidas (Huet 1983; Horváth *et al.*, 1992; Billard, 1995).

Al respecto autores como Huet (1983), Hickling, (1991) y Billard (1995) mencionan que, a 10 °C, la carpa se abstiene de alimentarse; a 5 °C se tornan torpes. En Europa en condiciones controladas, cuando la temperatura es de 10 °C, se va hacia el fondo en donde casi no se mueve ni se alimenta hasta que la temperatura se incrementa, pudiendo pasar así un largo periodo.



Luz. En un cuerpo de agua es un factor importante, debido a que de ella depende que los vegetales puedan realizar la fotosíntesis de la que se obtiene oxígeno y materia orgánica, constituyendo de esta manera, al primer eslabón de la cadena alimenticia; además, influye en la distribución del plancton. Como se comprenderá, los cuerpos de agua turbios son poco productivos, pero si tienen materia orgánica en descomposición y reúne las demás características, la carpa se desarrollará normalmente (Peteri, 2009).

Entre las principales características químicas se encuentran:

El oxígeno. Es un factor limitante, aunque la carpa puede soportar de 1 a 2 mg/L, pero sus requerimientos normales son de 5 mg/L; a partir de los 3 mg/L empieza su límite inferior y actúa desfavorablemente sobre su metabolismo, aunque es capaz de sobrevivir. Una concentración de 0.5 mg/L tiene efecto letal, el pez tiene el hocico abierto a causa de la asfixia, los opérculos levantados y las branquias separadas (Huet 1983; Bardach *et al.*, 1986).

El pH entre 6.5 a 8.5 es el adecuado para promover el crecimiento y la producción de peces. El agua ácida les hace disminuir el apetito, lo que reduce el crecimiento debido a algún efecto tóxico; además se vuelven vulnerables a los parásitos y enfermedades (Bardach *et al.*, 1986; Rothbard y Yaron, 1995).

Otro factor químico que se puede mencionar es la contaminación que constituye un problema de gran importancia porque afecta el desarrollo normal de las poblaciones existentes en los cuerpos de agua y en ocasiones puede causar la muerte. Los contaminantes pueden ser partículas en suspensión o sustancias de origen industrial, agrícola o humano, siendo su efecto muy diverso (Billard, 1995).

II. 2. 7. Enfermedades

Dentro de las enfermedades más comunes de la carpa, están las de origen parasitario causadas por bacterias como las *Pseudomonas*; protozoarios de los géneros: *Costia*, *Ichthyophthirus*, *Elimeria*, *Tricodina*; hongos como *Saprolegnia* y *Achlya*; gusanos como la sanguijuela piscícola, *Piscícola geometra*, *Ligula intestinalis* y *Dactylogyrus*, crustáceos como *Argulus foliaceus*, *Lernaea cyprinacea* etc. (Bauer *et al.*, 1973; Bardach *et al.*, 1986; Billard, 1995; Peteri, 2009).

Entre las enfermedades producidas por el medio están las causadas por la contaminación por ejemplo cuando el pH del agua es de cinco, los peces segregan mucho mucus y el borde de las branquias se vuelve parduzco, y se tornan torpes nadando lentamente, muriendo en las orillas. En aguas con pH superiores a nueve, los peces tienen las branquias quemadas, y también mueren por asfixia (Bauer *et al.*, 1973; Billard, 1995).

II. 2. 8. Depredadores

Los principales depredadores de huevo y crías son las larvas y algunos adultos de insectos acuáticos de los órdenes: Coleóptera, Hemíptera y Odonata que son voraces, inclusive pueden competir con ellas por el alimento. Sin embargo, estos mismos grupos al ser bentónicos sirven como alimento de las carpas jóvenes y adultas. Entre los coleópteros depredadores están: *Disticus marginalis* e *Hidrophilus piceus*; de los Hemípteros están: *Naucoris cimicoides*, *Notonecta glauca* y *Nepa cinérea*; entre los Odonatos los siguientes: Agrinidae, Aeschnidae y Libellulidae (Billard, 1995; Peteri, 2005).

En cuanto a peces depredadores están los carnívoros como *Micropterus salmoides* (lobina negra), *Chirostoma spp.*, (pescado blanco y charal), e *Ictalurus* (los bagres), gracias a ello, se puede establecer el equilibrio entre la carpa que es muy prolífica y ellos, sin



embargo, si no se explota adecuadamente esta última, puede romper el equilibrio por la destrucción de los nidos de estas especies (Ramírez, 1963; Billard, 1995).

Entre los vertebrados depredadores están los ajolotes, ranas y aves piscívoras como el Martín Pescador, la Garza Real, patos, cisnes y pollas de agua que consumen una importante cantidad de crías y además compiten por el alimento (Ramírez, 1963; Bauer *et al.*, 1973; Billard, 1995).

II. 3. GÓNADA MASCULINA EN TELEÓSTEOS

El conocimiento de los mecanismos que regulan la función reproductora de los teleósteos, sobre todo de las especies de interés económico es un requisito indispensable para el desarrollo de la Acuicultura, ya que, una vez adquiridos los conocimientos sobre el proceso reproductor y su regulación en una especie determinada es posible controlar en cierta medida las distintas etapas de la reproducción.

En los teleósteos, como en todos los seres vivos con reproducción sexual, los procesos reproductores tienen ritmos endógenos controlados por los relojes biológicos internos y detonados por señales ambientales. La época de reproducción ocurre durante los periodos ambientales óptimos para la progenie; dependiendo de la latitud geográfica en la que se llevó a cabo la historia de vida particular de cada especie (Redding y Patiño, 1993).

Para que la reproducción tenga éxito es preciso que se produzca la sincronización de la madurez sexual de machos y hembras con las variaciones de los factores ambientales, lo cual permitirá que los individuos maduren simultáneamente y en el momento idóneo para garantizar una mayor supervivencia de la progenie. Esta sincronización de los individuos con los factores ambientales resulta de gran importancia en el ciclo reproductivo de los teleósteos, que presentan cambios cíclicos en sus niveles hormonales y viven en un medio que experimenta marcadas variaciones estacionales en factores tales como luz, temperatura, oxígeno disuelto, salinidad y disponibilidad de nutrientes, entre otros; así, cada individuo debe disponer de un sistema que reciba e integre la información procedente tanto del exterior como del interior y determine que el sistema endocrino regule, a su vez, todos los eventos fisiológicos que conducirán a la reproducción. Estas complejas funciones se llevan a cabo a través de múltiples interacciones que tienen lugar a lo largo del eje cerebro-hipófisis gónada (Redding y Patiño, 1993).

Los peces captan los estímulos ambientales, tales como los cambios en la química del agua, en la presión atmosférica; la duración de los periodos de luz; la presencia del sexo contrario; el incremento en la disponibilidad de los sustratos para desovar al sumergirse la vegetación, entre otros, lo cual desencadena la maduración final de los gametos y el desove (Harvey y Hoar, 1979).

De acuerdo con la Base de Datos, Fish Base (2000)(www.fishbase.org), hay más de 30,000 especies de peces de las cuales el 98% son gonocóricos y permanecen toda su vida como hembras o machos, en general, sin dimorfismo sexual; y el resto, el 1.98% son los vertebrados más interesantes desde el punto de vista de la determinación sexual, ya que se puede encontrar diferentes tipos de sexualidad como hermafroditismo simultáneo característico de *Serranus cabrilla*; o hermafroditismo secuencial con la inversión sexual en estado adulto, después de la primera maduración, común en los peces marinos tropicales y subtropicales en que se puede presentar protandria, en que primero madura el sexo masculino y se revierte al femenino como en: *Lates calcarifer*, *Pagellus acarne*, *Sparus*



auratus y *Boops salpa*; ó protoginia que en la primera madurez se comportan como hembras y se revierte a machos, propio de: *Anguila*, *Monopterus albus*, *Coris julis* y *Epinephelus taurina*, lo anterior ha motivado muchos estudios sobre los mecanismos de la determinación del sexo y la diferenciación sexual (Yamamoto, 1969; Hunter y Donaldson, 1983).

Los organismos gonocóricos de acuerdo con los procesos de diferenciación gonadal, pueden ser clasificados en tres grupos:

- Gonocóricos primarios. Aquellos en que el desarrollo gonadal procede de una gónada indiferenciada que se transforma directamente en ovario o testículo, como ocurre en la carpa (*Cyprinus carpio*) (Komen, *et al.*, (1993).
- Gonocóricos secundarios. Las gónadas se desarrollan en ovarios con ovocitos. Posteriormente los ovocitos degeneran por apoptosis en la mitad de los embriones y se transforman en testículos; como en *Gambusia affinis* (Koya, 2003).
- Gonocóricos terciarios. Los juveniles inicialmente poseen una gónada intersexual bipotencial, que luego se desarrolla directamente en un ovario o un testículo, como en *Anguila anguila* (Beulbens *et al.*, 1997).

El conocimiento de la diferenciación sexual en los peces tiene una aplicación práctica, ya que permite inducir la inversión sexual con hormonas, que tiene importancia para el acuicultor ya que incrementa la producción de crías monosexuales con menor tiempo de engorda y calidad de carne ya que se evita la reproducción a tallas tempranas y con ello la sobrepoblación en estanques que es causa de enanismo; ejemplo típico en tilapia (Müller, *et al.*, 1996).

La producción de lotes monosexuales se hace por la administración de hormonas esteroides, en edades tempranas: estrógenos si se quiere feminizar y andrógenos si lo que se pretende es producir machos. Las hormonas se mezclan con el alimento o diluidas en el agua (Rodríguez, 1992).

II. 3. 1. Anatomía del aparato reproductor masculino de teleósteos

El aparato reproductor de los teleósteos está constituido por los testículos, en los que se encuentran las células germinales, intersticiales de Sertoli y de Leydig; los conductos espermáticos y en algunos casos órganos copuladores (Lagler *et al.*, 1984).

Testículos

Los teleósteos poseen dos testículos alargados en posición ventrolateral a la vejiga natatoria, a lo largo del cuerpo, con acomodo bilateral en la cavidad celómica, en la parte posterior están los conductos deferentes que conducen al poro genital, ubicado entre el ano y los conductos urinarios. El tejido conectivo que los mantiene en esta posición es el mesorquio; en general, están constituidos por dos estructuras elongadas que se fusionan en la parte posterior para formar un solo conducto espermático que comunica al poro urogenital (Billard *et al.*, 1982; Lagler *et al.*, 1984; Rodríguez, 1992).

En la mayoría de los teleósteos son órganos pares en forma de saco, pero su estructura puede variar en las distintas especies, por ejemplo: en las anguilas están conformados por una serie de lamelas pequeñas semicirculares, mientras que en los gobios como *Acanthogobius fluviatilis* son muy pequeños semejantes a un hilo y en *Ogilbia pearsei* son en forma de frijol con pliegues en la superficie; en otras especies pueden ser más complejos (Zohar, 1989; Montiel, 1989).



El tamaño y peso de los testículos varía de acuerdo con el estado de maduración sexual, el peso puede llegar a ser hasta el 12% o más del corporal. El color de los testículos es blanco cremoso con superficie lisa. En los testículos maduros, los túbulos espermáticos son suficientemente largos en algunas especies, de tal modo que producen una apariencia hasta cierto punto granular (Lagler *et al.*, 1984).

Algunos teleósteos presentan órganos copuladores formados de diferentes maneras: por la papila urogenital, la cual suele ser muy alargada, o bien, desarrollan estructuras similares a órganos copulares simples como el gonopodio, que se deriva de la aleta anal, o presentan estructuras copuladoras similares a pene con tapa carnosa y pseudoclaspers como es el caso del aparato copulador de *Ogilbia pearsei* (Lagler *et al.*, 1984; Montiel, 1989).

El elemento principal de los testículos de los vertebrados superiores son los tubos seminíferos en los cuales se realiza la espermatogénesis. En los peces maduros las células germinales están agrupadas fuera de los testículos en el cordón ventral del tejido conectivo de acuerdo con la descripción clásica de Turner (1919, citado por Roosen y Runge, 1977). En los estadios subsecuentes se encuentran en los septos del tejido conectivo y presentan movimiento amiboideo. Las células germinales se mueven hasta la periferia donde se acumulan formando una masa al final de la pared de los lóbulos, encerrándose en los cistos de los testículos.

Cuando han alcanzado el tamaño máximo se transforman en espermatogonias. La proliferación de espermatogonias es gradual, y tiene relación con el número de reproducciones que va a tener en un ciclo anual o bien a lo largo de su vida (Rodríguez, 1992).

De acuerdo con la estructura y acomodo de los tubos seminíferos, Nagahama, (1983) ha propuesto tres estructuras testiculares reconocidas por Grier y Uribe (2009):

- 1) *Testículo tubular anastomosado*. En la periferia del testículo y hacia los conductos deferentes tienen compartimientos germinales formando asas, integrando una red ramificada y anastomosada. Este tipo de testículos es característico de peces tales como salmónidos y ciprínidos.
- 2) *Testículo lobular con espermatogonias no restringidas a la periferia*. En la periferia del testículo hay compartimientos de células germinales extendidos con formación de lóbulo cerrado. Las espermatogonias se localizan a lo largo de los lóbulos. Durante la espermiación los espermatozoides son liberados en el lumen lobular hacia los conductos deferentes; este tipo se encuentra en la mayoría de los teleósteos.
- 3) *Testículo lobular con espermatogonias restringidas a la periferia*. Los compartimientos germinales están en la periferia del testículo terminando a ciegas. Sin embargo, las espermatogonias no están distribuidas a lo largo de los lóbulos, se limitan a los extremos distales en la periferia de los testículos. Durante la espermatogénesis los quistes migran hacia los conductos deferentes como células maduras en el interior. Este tipo es característico de los *Atherinomorpha*.



Los testículos maduros, tienen un gran número de túbulos llenos de células germinales, responsables de la espermatogénesis, el intersticio entre ellos está formado por células intersticiales de Sertoli y Leydig, fibroblastos y vasos sanguíneos.

Células intersticiales, Células de Leydig

Las células de Leydig están usualmente ubicadas en la periferia, aisladas o en pequeños grupos en el revestimiento entre los túbulos de los testículos. En testículos de salmónidos inmaduros se ha demostrado que forman racimos, mientras que en los maduros estas células generalmente se distribuyen individualmente en estrechos espacios intertubulares, indicando con esto su migración hacia los túbulos durante el desarrollo del testículo (Nagahama *et al.*, 1978).

Las células de Leydig tienen la ultraestructura típica de las células productoras de esteroides, son células grandes, poligonales con retículo endoplasmático liso y mitocondria tubular, se originan del tejido conectivo de células semejantes a fibroblastos que están en el intersticio generalmente solas o raramente formando una doble capa en cada uno de los tubos seminíferos (Nagahama *et al.*, 1982).

Células cisto ó Sertoli

En el tejido intersticial del testículo se encuentran las células de Sertoli cuya función principal es regular la síntesis de testosterona. Por su ultraestructura y su histoquímica que demuestra la presencia del esteroide 3β hidroxí - deshidrogenasa (3β -HSD), enzima que está involucrada en la síntesis de hormonas esteroides, representan el sitio más importante para la síntesis de andrógenos (Grier y Uribe, 2009).

Las células cisto, o de Sertoli, regulan la entrada de nutrientes, factores de crecimiento, de diferenciación y de mitógenos apropiados a las células germinales, a la vez que las protege de agentes dañinos y de su propio sistema inmune, además se encargan de dar soporte estructural y de sintetizar andrógenos, necesarios para la espermatogénesis; se originan en las paredes del túbulo seminífero y se encuentran rodeando a las células germinales que se encuentran en los cistos, son lipoides, positivas al colesterol ((Schulz *et al.*, 2005).

Una diferencia importante entre los vertebrados amniotas y los peces teleósteos es el tipo de espermatogénesis y la organización de las células de Sertoli. En los amniotas, en un momento preciso, una célula de Sertoli contacta con varios clones de células germinales a la vez, pero solo puede mantener un cierto número de ellas que es característico de cada especie y que en última estancia, determina el tamaño del testículo y la cantidad de espermatozoides producidos. En los peces teleósteos la espermatogénesis es cística y ello implica que todas las células germinales de un espermatociste determinado deriven de una sola espermatogonia primaria. Esta, al dividirse sincrónicamente, constituye un clon de células germinales isogénicas bordeadas por extensiones citoplasmáticas de las células de Sertoli que les acompañan durante todo el proceso de espermatogénesis. Durante la fase mitótica, las células germinales de un espermatociste aumentan en número al igual que las células de Sertoli asociadas y a diferencia de lo que ocurre en los mamíferos, con la fase meiótica la proliferación de estas no cesa pero se reduce considerablemente (Schulz *et al.*, 2005).



Espermatozoide

Los espermatozoides de los teleósteos difieren al de otros vertebrados en aspectos morfológicos como es la forma de la cabeza, longitud de flagelo, posición y número de mitocondrias, sin embargo, todos ellos tienen la misma función, transportar el material genético al ovocito (Lahnsteiner y Patzner, 2008).

Los espermatozoides presentan: cabeza, cuello, pieza media y flagelo; pero a diferencia de otros vertebrados carecen de acrosoma, innecesario para este grupo, ya que el ovocito tiene micrópilo, poro por el que se introducen para llevar al cabo la fecundación; por lo general la cabeza tiene forma esférica u oval. El cuello o pieza media sigue el patrón estructural común consistente en un flagelo central rodeado por una vaina mitocondrial, siendo éstas escasas y no modificadas, están en función de la especie; y se sitúan en un collar bajo el núcleo; el flagelo es un cilindro largo y delgado, con una longitud entre 25-100 μm y 0.4-1 μm de diámetro también presenta la forma típica de 9 + 2 pares de microfibrillas; solo en la anguila, sigue el patrón de 9 + 0, careciendo de las fibras centrales (Ulloa – Rodríguez *et al.*, 2017).

Las diferencias en la ultraestructura de la parte media son causadas por la posición del aparato centriolar, número y tamaño de las mitocondrias y del retículo endoplasmático. En cuanto al número de flagelos en general solo hay uno, aunque puede variar como el espermatozoide aflagelado, típico de *Gymnarchus niloticus*, así como espermatozoides biflagelados presentes en la familia Apogonidae (Lahnsteiner y Patzner 2008).

También, se diferencian del resto de los vertebrados, en que permanecen inactivos dentro de los testículos y solo se activan en contacto con el agua debido en algunas especies al pH y en otras al cambio osmótico. Los espermatozoides son viables por muy corto tiempo que varía, de acuerdo con la especie, de 30 a 120 segundos (Bobe y Labbé, 2010).

Existen varios reportes que mencionan que la ultraestructura del espermatozoide puede proporcionar información acerca de la posición taxonómica y la conducta reproductiva de los peces (Billard, 1970). Por ejemplo, en la mayoría de los teleósteos que tienen fecundación externa se presentan cabezas esféricas, ovaladas o acorazonadas, con pequeña pieza media, mientras que los espermatozoides de los peces vivíparos con fertilización interna la cabeza es alargada con canal central y una pieza media de mayor tamaño (Alavi *et al.*, 2008).

El poder fecundante del espermatozoide está en función de la madurez fisiológica que alcanza una vez que ha sido hidratado; en la carpa, están presentes espermatozoides de diferentes edades y la tasa de fertilización no se ve afectada, además el pH del fluido seminal influye en la motilidad, cuya duración varía con la edad, especie y condiciones ambientales (Billard, 1986).

La morfología tiene relación con la motilidad y por lo tanto con el poder fecundante, de acuerdo con Cruza, (1969), las principales anomalías que la afectan son dos: primarias y secundarias; y pueden tener un efecto negativo en la capacidad de fertilización. Las anomalías primarias son: Todas las anomalías de la cabeza, incluyendo células inmaduras; dobles flagelos y gotas de citoplasma proximal en flagelo y cercanas a la cabeza; las anomalías secundarias son: gotas libres o distales del protoplasma en el flagelo; flagelos curvados o doblados y cabezas sin flagelo.



En ciprínidos el espermatozoide es de tipo primitivo, con cabeza esférica y pieza media pequeña; se ha reportado relación entre la motilidad y el material mitocondrial que está en la base de la pieza media del espermatozoide, responsable de la síntesis de ATP, a su vez, la duración de la motilidad está en relación con el tiempo necesario para encontrar al óvulo y fecundarlo (Emel'yanova y Makeeva, 1985).

La motilidad del espermatozoide está determinada en general por la disminución de la presión osmótica, debido a ello, la estructura del flagelo se desorganiza y al cabo de 30 – 60 s deja de moverse. El hecho de emplear soluciones salinas para incrementarla es porque actúan haciendo que la presión osmótica cambie lo suficiente para que el flagelo no se desorganice y continúe moviéndose ((Billard, 1970; Billard *et al.*, 1995; Islam *et al.*, 2011).

El movimiento flagelar del esperma tiene relación con el AMPc; sin embargo, también hay explicaciones alternativas basadas en que la alta concentración de K⁺ (20> nM) en el fluido seminal constituye un factor inhibitor importante, mientras que iones bivalentes, en especial de Ca²⁺, son estimuladores potentes (Schulz y Miura, 2002; Alavi y Cosson, 2006).

En la trucha arco iris se encontró que al aplicarle 17, 20 – P hubo incremento en la concentración de K⁺ en el fluido seminal, correlacionado positivamente con el nivel circundante de esteroides, pero no con el volumen del líquido seminal (Yaron, 1995).

Lo anterior sugirió que la 17 α 20 β DP puede tener efecto directo sobre el balance NA/K – ATPasa en el conducto espermático. En la trucha café se ha demostrado que la gonadotropina puede inducir directamente la secreción de K⁺ en el interior del lumen y la reabsorción del Na⁺, como consecuencia del transporte iónico; el fluido seminal tiene una baja concentración de Na⁺ y alta de K⁺, lo cual mantiene la quiescencia del esperma hasta su liberación en el agua (Sierra y Olivera, 2000).

La capacitación de la motilidad del esperma requiere de la estimulación del ducto espermático por la gonadotropina o por la 17 α 20 β DP, producida a partir de la 17 α OH Progesterona (Cosson, 2008).

Características químicas del fluido seminal

La composición iónica del fluido seminal en muchas especies de ciprínidos fluctúa entre 74 \pm 23 nMNa y 77 \pm 10 mMK en la carpa común es de 94 mMNa, 67.8 mMK, 0.02 mMMg, 12.5 mMCa y sin cloro. En cuanto al pH en un gran número de ciprínidos fluctúa entre 7.6 y 8.6 con presión osmótica promedio de 33 mOsm/K (Billard, *et al.*, 1986).

El plasma seminal de acuerdo con Schulz y Miura, (2002) contiene cationes tales como Na, K, Ca y compuestos orgánicos como glúcidos, proteínas y lípidos.

Espermatogénesis en los teleósteos

La espermatogénesis está definida como la formación, desarrollo y maduración del gameto masculino, espermatozoide, siendo en los peces un proceso similar al de los vertebrados superiores y tiene lugar dentro de los testículos a partir de células germinales, las espermatogonias (Billard *et al.*, 1982; Grier y Uribe, 2009).

La estructura testicular de los peces difiere del modelo característico de los tetrápodos, en el sentido de que los testículos no poseen epitelio seminífero lineal y permanente; en ellos, las espermatogonias están situadas en la parte basal del lóbulo y



separadas de la membrana basal mediante delgadas franjas de células de Sertoli (Grier *et al.*, 1980 y Grier, 1981).

Existe controversia acerca del origen y renovación de las espermatogonias, según Grier (1981), se forman a partir de las células germinales ubicadas en la periferia del testículo y, de acuerdo con Zanuy y Carrillo (1987), el origen es intersticial. En las lampreas las células germinales primordiales (CGP) se mueven a través del endodermo del saco vitelino y migran vía dorsal hacia el mesenterio de la cresta genital.

En todos los vertebrados las gónadas se forman a partir del desarrollo de dos linajes celulares distintos: las células germinales, llamadas también células germinales primordiales (CGP) y el mesodermo gonadal somático que las rodea. En los mamíferos y otros tetrápodos las glándulas adrenales y las gónadas se desarrollan a partir de un primordio común situado cerca del lado dorsal del epitelio celómico, en la región donde se desarrolla el tejido del mesonefros. La proliferación más lateral o córtex da lugar al ovario y la porción medular da origen a los testículos y al tejido adrenocorticotropo. En estado indiferenciado las mencionadas formaciones coexisten y, una de ellas empieza a desarrollarse mientras la otra se inhibe. En teleósteos la gónada deriva de un solo primordio germinal desarrollándose directamente de la parte correspondiente al córtex de los vertebrados. Los estudios más claros acerca de la formación de las gónadas se han realizado en el medaka japonés (*Oryzias latipes*) donde se ha corroborado que básicamente, las gónadas se forman sin que en ello contribuya significativamente el mesonefro. En esta especie, durante la gastrulación tardía, unas pocas células germinales situadas alrededor de la región posterior del esbozo embrionario migran, después del alineamiento bilateral, hasta formar un primordio en la región dorsal del epitelio celómico. Posteriormente se forman dos grupos, uno a cada lado, que darán lugar a las gónadas. Este tipo de organización tan particular podría ser responsable de la gran diversidad de patrones sexuales existentes entre los teleósteos (Zanuy *et al.*, 2009).

La espermatogénesis puede ser continua como en guppy; discontinua con superposición de ciclos, como en carpa, o ciclos bien separados como en truchas (Billard, 1986).

Las fases de la espermatogénesis propuesta por Nagahama, (1983) ha sido actualizada por Grier y Uribe, (2009), quienes proponen que la maduración y desarrollo de los espermatozoides se divide en tres fases:

- 1) Proliferación y crecimiento. Es la etapa de proliferación mitótica de las espermatogonias que dan origen a los espermatocitos primarios, que entran en meiosis I, produciendo dos células, los espermatocitos secundarios, que al dividirse en la meiosis II generarán 4 espermátidas. Las espermátidas permanecen en estado de latencia hasta que el pez recibe los estímulos ambientales. Durante esta etapa, los quistes incrementan su tamaño de manera importante.
- 2) Maduración o espermiogénesis. Una vez recibidos los estímulos, inicia el proceso de espermiogénesis o maduración del espermatozoide. Cuando las espermátidas se convierten en espermatozoides, desarrollan el flagelo, pierden la mayor cantidad de citoplasma conservando solo el centriolo, mitocondrias y el núcleo propiamente dicho.



- 3) Espermiación. Las espermátidas se transforman en espermatozoides maduros por transformación morfológica. Los espermatozoides salen del quiste que los contiene para llegar a los conductos deferentes y consecuentemente, salen del pez para fertilizar los gametos femeninos (Fig. 12).

El término espermiación fue usado en anfibios y corresponde a la separación de los espermatozoides de las células de Sertoli y su liberación. El esperma se hidrata por el fluido seminal que se forma en el lóbulo y otra parte en el epitelio del vas deferente (Billard, 1970).

La hidratación del esperma incrementa la presión intralobular, permitiéndoles migrar hasta el vas deferente, en donde son almacenados hasta que se produce la liberación a través de la papila genital, que involucra mecanismos nerviosos (Billard, 1970).

Los modelos de la espermatogénesis son diferentes para las distintas especies, por ejemplo en la carpa en que las células germinales están presentes todo el año; mientras que en la trucha, hay una sucesión regular de varias células germinales a través del ciclo, de tal manera que la producción de esperma en la carpa es continua y en la trucha temporal (Billard, 1982).

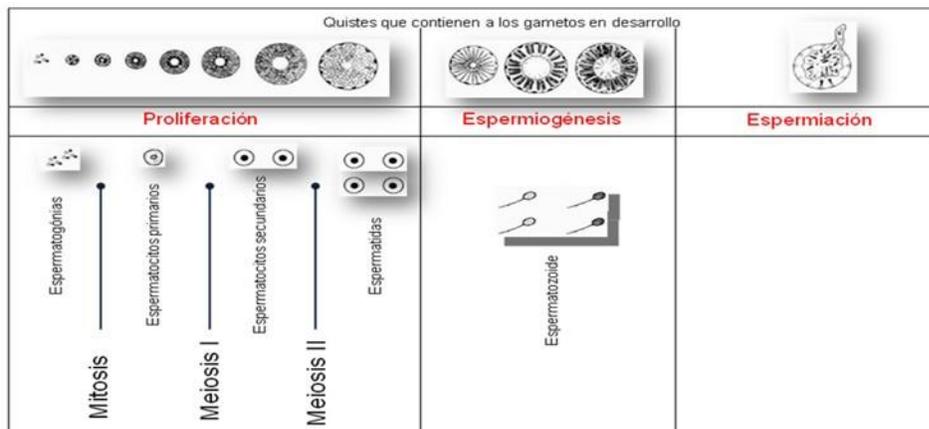


Figura 12. Desarrollo de los espermatozoides en los peces. (Tomado de Nagahama, 1983).

Conducto Espermático

Durante el desarrollo embrionario, el conducto espermático se forma a partir de las células somáticas de la pared del celoma. A diferencia de los demás vertebrados no deriva del conducto nefrítico o conducto de Wolff. Las células epiteliales del conducto principal poseen numerosas microvellosidades con actividad fosfato alcalino en su superficie apical y abundantes mitocondrias. Esto sugiere que estas células están involucradas en el transporte de sustancias de bajo peso molecular y en consecuencia regulan la composición iónica y presión osmótica del fluido seminal las cuales influyen directamente en la motilidad del esperma (Nagahama, 1983; Billard, 1990).

El conducto espermático de las especies que tienen testículos del tipo tubular está formado del conducto o vaso eferente y el conducto principal o vaso deferente. Cuando se ha completado la espermiogénesis los espermatozoides son liberados a la luz tubular y de allí al conducto deferente desde donde son emitidos al exterior (Zanuy *et al.*, 2009).



En algunos teleósteos se han encontrado unas estructuras glandulares bilaterales, formadas aparte de los conductos espermáticos y denominadas vesículas seminales (Grier, 1981). En ellas probablemente no se almacene esperma, además de que no se desarrollan a partir del conducto de Wolff; por esta razón no se consideran homólogas a las estructuras de igual nombre que poseen los vertebrados superiores (Billard, 1986). Sin embargo, en la carpa dorada se ha encontrado una estructura protrusible en la parte media ventral de la pared del conducto espermático, la que se ha considerado homóloga a la vesícula seminal, cuya función es esencialmente reservorio de esperma sin función glandular (Takahashi y Takano, 1972).

II. 3. 2. Fisiología del testículo. Modelo general Eje cerebro-hipófisis-gónadas

La reproducción sexual es compleja porque involucra la sincronización con el ambiente para el desarrollo y maduración de los gametos. El sistema endócrino es el encargado de modular el proceso (Mateos *et al.*, 2002).

La espermatogénesis y ovogénesis son gobernados fisiológicamente por el eje cerebro – hipófisis - gónadas, a partir de los estímulos ambientales, se activa en la pubertad poniendo en marcha el proceso reproductivo (Mateos *et al.*, 2002) (Fig. 13).

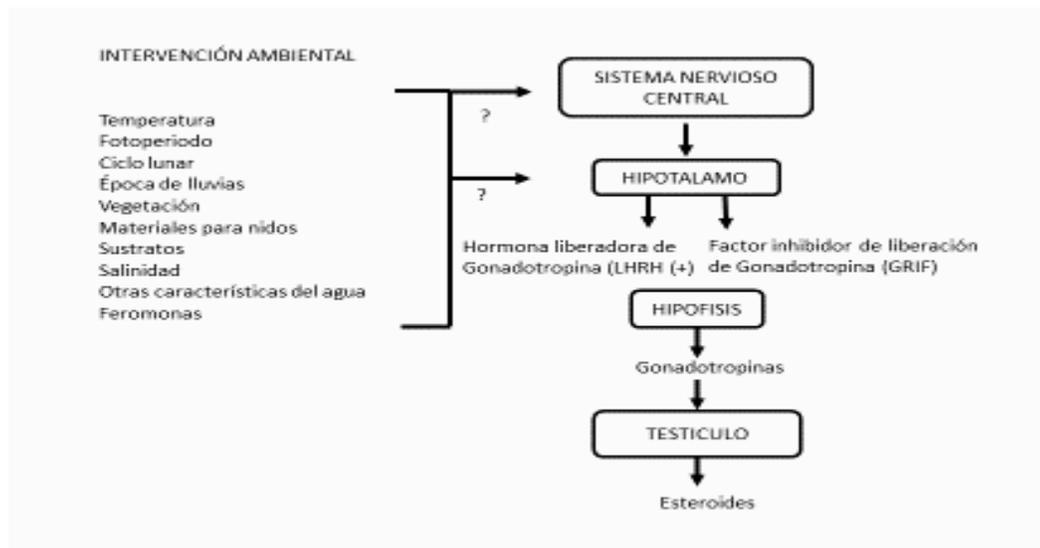


Figura 13. Eje cerebro – hipófisis - gónadas. (Tomado de Patiño 1995).

- A) *Cerebro*. El cerebro recibe los estímulos captados por los órganos sensoriales a través de la vista, olfato, línea lateral, lóbulos olfatorios, óptico, médula espinal y glándula pineal, estas señales nerviosas, son captadas y convertidas en señales químicas por el hipotálamo; que determina el enlace entre el sistema nervioso con el sistema endócrino.
- B) *Hipotálamo - Hipófisis*. En el hipotálamo hay neuronas que sintetizan las hormonas liberadoras de gonadotropinas, (HLRH, en castellano ó GnRH, por sus siglas en inglés), cuyo órgano blanco es la adenohipófisis, con la que se comunica vía axónica.



Desde el aislamiento y caracterización de la GnRH en salmón se acepta que la mayoría de los peces óseos poseen dos formas de GnRH en sus cerebros (cGnRH II y sGnRH específica); sin embargo, recientemente ha sido reportada una tercera forma (sbGnRH), la cual sería el principal liberador endógeno de LH y la forma fisiológica más importante para inducir la maduración final de los ovocitos, la ovulación y el desove en los perciformes. Esta conclusión sugiere que sbGnRH es la forma de GnRH que debe ser objeto de las futuras investigaciones, tendientes a explicar los efectos sobre la disfunción reproductiva observada en peces bajo condiciones de cautiverio (Zohar y Mylonas, 2001).

La acción de la hormona liberadora (GnRH) estimula en la hipófisis, a las células gonadotropas localizadas en el pars distalis proximal, la síntesis de las dos hormonas gonadotropas: 1) Gonadotropina tipo I, (GtH I), también llamada Concavalina AI (Con AI) nomenclatura usada en peces, que corresponde a la hormona folículo estimulante (FSH), que tiene bajo peso molecular e interviene en el proceso de incorporación de vitelo al citoplasma del ovocito y 2) Gonadotropina tipo II, (GtH II) ó Concavalina A II (Con A II) llamada hormona luteinizante (LH), que interviene en el proceso de maduración con la inducción a la esteroidogénesis, espermatogénesis, espermiogénesis, espermiación, maduración del ovocito y ovulación (Zohar, 1989; Thomas, 1994; Nagahama et al., 1995;); debido a ello, los niveles plasmáticos elevados de FSH se determinan durante estadios tempranos de la gametogénesis; mientras que la concentración de LH es alta durante la maduración gonadal, es decir, tanto en espermiación como en ovulación (Hadi et al., 2008) (Fig. 10).

En varios teleósteos se han aislado sus gonadotropinas; sin embargo, dos son las de importancia para inducir la madurez: 1) la del salmón del pacífico, (*Oncorhynchus sp*), denominada Gonadotropina de salmón purificada (SG-G100), y de la carpa (*Cyprinus carpio*), llamada Gonadotropina de carpa purificada (CPE), ambas cuentan con las dos gonadotropinas y se comercializan (Donaldson y Hunter, 1982).

Gónadas. Las gonadotropinas viajan por el torrente sanguíneo hasta las gónadas, donde estimulan la esteroidogénesis. En las gónadas masculinas está regulada por la GtH II (Fig. 11). Las células de Leydig y Sertoli, esteroidogénicas, intervienen en la producción de andrógenos (Fostier, 1983). Durante las primeras fases de la espermatogénesis, la FSH estimula a las células de Leydig a producir 11-ketotestosterona, hormona que activa a las células de Sertoli a producir activina B que actúa sobre las espermatogonias regulando el proceso de espermatogénesis y espermiogénesis (Pankhurst, 2008).

Una vez que la espermiogénesis es completada, toma lugar la espermiación; consistente en la expulsión de espermatozoides hacia los vasos deferentes del tracto genital donde son almacenados y adquieren la motilidad (Nagahama, 1983; Zohar, 1989).



La espermiación se encuentra regulada por la hormona inductora de la maduración (MIH), la $17\alpha, 20\beta$ - Dihidroxi - pregnen - 3-ona, ($17\alpha, 20\beta$ DP), producida por el espermatozoide a partir del esteroide precursor 17α -hidroxiprogesterona sintetizado por en respuesta a la gonadotropina. La función del $17\alpha, 20\beta$ DP es el de incrementar el pH del conducto espermático, lo que influye de manera positiva en la síntesis de AMP cíclico que interviene en la adquisición de motilidad por parte de los espermatozoides (Nagahama, 1994).

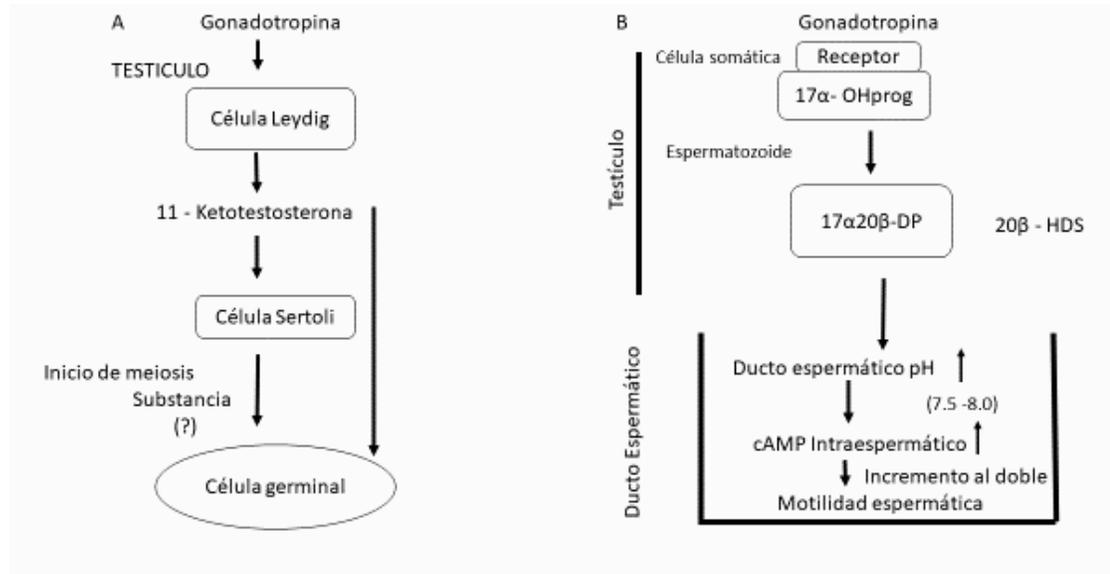


Figura 14. Regulación hormonal en el testículo de teleosteos. (Tomado de Yaron, 1995).

Los componentes del sistema endócrino actúan de manera estrecha y regulada; culminando con las concentraciones necesarias de testosterona para el mantenimiento adecuado de los caracteres sexuales secundarios en las especies que las presentan como tubérculos nupciales en el opérculo y aletas pectorales como en la carpa; prominencia de la mandíbula inferior en trucha, desarrollo de giba en *Cichlassoma urophthalmus*, etc., y la maduración del espermatozoide, necesaria para la fertilidad (Grier, 1981; Nagahama *et al.* 1982 y Billard y Cosson, 1982).



II. 4. HORMONAS EMPLEADAS EN LA INDUCCIÓN AL DESOVE EN TELEÓSTEOS

El estudio de la fisiología de la reproducción ha derivado en el aislamiento y purificación de hormonas, con lo cual la acuicultura se ha visto beneficiada con el empleo de distintas hormonas en la reproducción inducida, estímulo al crecimiento, control del sexo y maduración inducida, lo cual mejora la rentabilidad de las granjas acuícolas (Rodríguez, *et al.*, 2016).

La necesidad de producir crías en granjas inicio la carrera del control hormonal en la reproducción inducida de peces, sobre todo en los de importancia comercial con la utilización de hormonas que inciden en distinto nivel del eje endocrinológico, estando entre las más utilizadas las siguientes:

II. 4. 1. Hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH)

En el año de 1971 se aisló y caracterizó en cerdos y ovinos la LHRH, determinándose que es un decapeptido y desde entonces empezó la carrera para emplearla en la inducción al desove en peces (Muñoz, 2009).

De acuerdo con Donaldson y Hunter (1983), los primeros investigadores en utilizar LHRH para inducir la reproducción de la carpa (*Cyprinus carpio*) fueron Breton y Weil en 1973; y en 1975, se publicó un reporte sobre el uso de la LHRH para desovar cinco especies de peces chinos nativos.

La LHRH ha sido empleada con éxito para inducir la ovulación de teleósteos como el ayú (*Plecoglossus altivelis*), carpa dorada (*Carassius auratus*), carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*), carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*), brema, *Megalobrama amblycephala*, carpa cabezona (*Hypophthalmichthys nobilis*), carpa negra (*Mylopharyngodon piceus*), lenguado japonés (*Limanda yokohamae*), gobio (*Acanthogobius flavimanus*), carpa común (*Cyprinus carpio*), tenca (*Tinca tinca*), salmón del pacífico (*Oncorhynchus kisutch*). Como la LHRH tiene degradación enzimática rápida y su vida media es menor a 30 minutos; se buscó obtener compuestos sintéticos análogos que presenten mayor tiempo de permanencia en el organismo, lográndose en 1972 el primer análogo sintetizado que fue el des-Gly10-LHRH (1-9) etilamida, nonapéptido análogo que tiene una actividad biológica similar a LHRH de mamíferos. La sustitución de la posición 6 con D-Alanina dió origen al análogo D-Ala6 LHRH, superior en actividad al anterior; y, con la combinación de estas dos sustituciones se obtuvo al análogo D-Ala6, des Gly10-LHRH (1-9) etilamida (LHRHa D-Ala6). A partir del LHRHa D-Ala6 se sintetizaron 32 nuevos análogos al sustituir la posición 6 por D-serina (But) o D-Triptófano (Donaldson y Hunter, 1983).

Los científicos chinos fueron los primeros en inducir la ovulación en peces usando el análogo (D-Ala⁶-Des-Gly-NH²)-LH-RH etilamida, conocida también como LHRH-a, en la carpa plateada, *Hypophthalmichthys molitrix*; en la carpa herbívora, *Ctenopharyngodon idella* y en la carpa negra *Mylopharyngodon piceus*. Pero al igual que con la LHRH, se requiere de continuar las investigaciones para determinar dosis óptimas, y establecer formas de empleo como en solución, en emulsión, aceitosa, en pellets (Muñoz, 2009).

Otros investigadores han demostrado la eficacia de la LHRHa sintética, para producir la ovulación en hembras maduras de ayú *Plecoglossus altivelis*, obteniendo la ovulación, dos días después del tratamiento (Hirose e Ishida, 1974); la espermiación en



machos de carpa dorada (Weil y Crim, 1983); en el salmón *Oncorhynchus keta* es efectiva para inducir la ovulación e inclusive peces marinos (Kiewek, 2004).

Del hipotálamo del salmón del pacífico se ha aislado un decapeptido semejante a la LHRH, aparentemente menos activo que la LHRH en bioensayos *in vitro* en rata. Sin embargo, este decapeptido denominado GRH ha demostrado que puede inducir la ovulación en el salmón del pacífico, siendo más efectivo (Kah *et al.*, 2007).

Otros análogos sintetizados a partir de la hormona liberadora de la gonadotropina del salmón son [D-Arg6-Pro9-NET]-sGnRH, [D-Ala6-Pro9-NET]-sGnRH y [(imBz)-DHis6-Pro9-NET]-sGnRH. Estos nuevos compuestos presentan una actividad biológica 30 - 50 veces mayor que la LHRH por tener una lenta degradación *in vivo* y por poseer una mayor afinidad con los receptores específicos de la hipófisis (Zohar, 1989).

Lam (1982) han determinado que cuando los peces han sido inducidos en años previos con HCG, son menos sensibles a la LHRHa D-ALA⁶ y requieren una dosis mayor. Dentro de LHRHa, Conceptal (Hoechst) es una solución inyectable compuesto sintético de nueve aminoácidos cuyo nombre genérico es busarelina, con fórmula empírica: C₆₂H₉₀N₁₆O₁₅ y peso molecular de 1281.4.

GRIF

A inicios de los ochentas se encontró una sustancia denominada factor inhibidor de la hormona liberadora de las gonadotropinas, GRIF, en la carpa dorada *Carassius auratus*; y se sugirió que este puede ser otro mecanismo para inducir la ovulación en aquellos peces en que el GRIF esté presente (Donaldson y Hunter, 1983; Chang y Peter, 1983).

Li *et al.*, (2002) consideran que el GRIF puede ser la dopamina, ya que juega un papel importante en la regulación de la liberación de gonadotropinas de la glándula hipófisis, por lo que el empleo de la dopamina y su antagonico el pimozide, uno u otro, solos o en una combinación con un adecuado LHRHa, pueden ser un medio efectivo para inducir la ovulación.

La inducción utilizando LHRH más dopamina se le conoce como Método Linpe en honor a sus desarrolladores los doctores Lin y Peter y dio origen a la hormona comercial Ovaprim (Lin y Peter, 1991).

II. 4. 2. Gonadotropinas

Las gonadotropinas son hormonas peptídicas glucoproteicas de origen hipofisario, aunque en mamíferos se producen también en placenta. Son proteínas poliméricas que pueden ser fácilmente dissociadas en dos subunidades distintas llamadas alfa y beta. La subunidad beta es la que determina la especificidad hormonal. La mayor parte de las hormonas peptídicas son sintetizadas a partir de proteínas precursoras de mayor peso molecular llamadas prohormonas. Estos precursores son escindidos específicamente en determinados puntos mediante digestión proteolítica, para dar lugar a la hormona funcional (Malkinson, 1980).

Las gonadotropinas empleadas para la inducción a la ovulación y espermiación en peces pueden ser de dos tipos atendiendo a su procedencia: de peces o de mamíferos.



La gonadotropina purificada de peces se produce desde 1970, debido a que presentan mayor efectividad en la inducción al desove. Las gonadotropinas purificadas o parcialmente purificadas han sido obtenidas a partir de las siguientes especies: carpa común (*Cyprinus carpio*), salmones (*Oncorhynchus tshawytscha*, *Oncorhynchus keta* y *Oncorhynchus gorbusha*), bagre (*Heteropneustes fossilis*), tilapias (*Oreochromis mossambicus*, *Sarotherodon spirilus*), lenguado (*Pseudopleuronectes americanus*) y anguila (*Muraenesox cinereus*), trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), bonito (*Katsuwonus pelamis*), dorada japonesa (*Pagrus major*), corvina (*Micropogonias undulatus*), atún patudo (*Thunnus obesus*), Pez limón (*Seriola dumerilii*), lubina estriada (*Morone saxatilis*), fundulo (*Fundulus heteroclitus*), fletan (*Hippoglossus hippoglossus*), anguila japonesa (*Anguila japonica*) y la lubina (*Dicentrarchus labrax*) (Donaldson y Hunter, 1983; Zanuy *et al.*, 2009).

Sin embargo, la alta especificidad biológica de las hormonas gonadotropas ocasiona que la hormona de una especie no tenga los efectos esperados sobre el proceso reproductor de otra.

Una de las principales desventajas que presentan estos compuestos es su elevado costo de purificación, por lo que únicamente una preparación parcialmente purificada de gonadotropina del salmón del pacífico (*Oncorhynchus sp.*), SG-G100, se expende comercialmente con valor de 349 dólares por 10 gramos. Esta hormona ha sido utilizada para inducir la ovulación y espermiación del pez dorado (*Carassius auratus*), bagre (*Heteropneustes fossilis*), lisa (*Mugil cephalus*), ayú (*Plecoglossus altivelis*), sabalote (*Chanos chanos*), lenguado japonés (*Limanda yokohamae*), pacu (*Colossoma mitrei*), salmones (*Oncorhynchus kisutch* y *Oncorhynchus tshawytscha*) (Donaldson y Hunter, 1983). La otra gonadotropina comercial es la parcialmente purificada de carpa (CPE) que es ampliamente utilizada para los ciprínidos chinos e indios, en que un vial de 10 gramos cueste 299 dólares, precios del año 2018.

Estas se utilizan mayormente por presentar las siguientes ventajas:

- 1) Son libres de otras hormonas pituitarias.
- 2) Puede ser almacenada por varios años sin perder su actividad.
- 3) Presenta una potencialidad estandarizada.
- 4) Son solubles en agua o solución salina.

Por otro lado, la efectividad de inducir con gonadotropinas de peces está en función de la especificidad de especies, es decir para inducir salmónidos se requieren menores dosis de SG-G100 que en los no salmónidos y el estado de madurez gonadal en el momento del tratamiento.

En cuanto a las gonadotropinas obtenidas de mamíferos, con aplicación a la inducción al desove, de acuerdo con Zanuy y Carrillo (1987) se tienen:

- 1) Las hipofisarias:
 - a) Hormona Folículo Estimulante (FSH)
 - b) Hormona Luteinizante (HL)
- 2) Hormonas extraídas de las envolturas embrionarias y suero sanguíneo:
 - a) Gonadotropina Coriónica Humana (GCH)
 - b) Gonadotropina purificada de suero de mujer menopáusica (HMG)
 - c) La Gonadotropina obtenida del suero de yegua preñada (PMSG o PSM)



Las hormonas gonadotropas de mamíferos para inducir la reproducción en teleósteos, ofrecen ventajas entre las que pueden mencionarse: 1. Son fáciles de conseguir; 2. Se almacenan por largos periodos; 3. La calidad es estándar; 4. Son competitivas en costo; 5. Eliminan la necesidad de matar donantes; 6. Evitan la colecta, procesamiento y preservación de la hipófisis de peces.

La hormona gonadotropina coriónica humana (GCH) es una glicoproteína producida por la placenta de mamíferos y se encuentra en grandes cantidades en la orina de la mujer durante los tres primeros meses del embarazo lo que permite su fácil obtención para fines comerciales; ha sido útil para inducir a un gran número de especies, sola o acompañada de otras; aunque Fresh Water Commercial Fish Artificial Propagation Work Groups in Fujian, Jaingu, Zhejiang and Shanghai, (1977; citados por Donaldson y Hunter 1983), han reportado que si se usa repetitivamente puede alargar el periodo refractario como resultado de una respuesta inmune.

La GCH ha sido utilizada para inducir al desove a numerosas especies: mandí (*Pimelodus clarias*), curimbatá (*Prochilodus sp.*), boca chica (*Prochilodus reticulatus*), sábalo (*Prochilodus platensis*), dorado (*Salminus maxillosus*), dorada (*Brycon moorei*), charme (*Dormitator latifrons*) (Luchini, 1990).

Las inyecciones de gonadotropina tienen potente efecto tóxico en la espermatogénesis (mantenimiento, restauración, iniciación, etc.) de varias especies de peces. Hadi – Alavi, *et al.*, (2008) mencionan que el desarrollo testicular está asociado, en el caso de los salmónidos, con el incremento en los niveles de la FSH en sangre; y que el incremento en los niveles de LH al final del ciclo reproductivo se debe a los receptores específicos en el tejido intersticial esteroidogénico.

Sundararaj y Goswami, (1966) señalan que la PMSG y la LH han sido eficientes para inducir la ovulación de *Heteropneustes fossilis* y ser efectivos inductores de la ovulación en los peces pero que no tienen ninguna ventaja de precio y/o de efectividad.

II. 4. 3. Hipofisación

La inducción al desove en teleósteos en cautiverio tuvo sus inicios en los años 30´S empleando el método de hipofisación, que utiliza a la glándula hipófisis por su contenido en gonadotropinas (Rodríguez y Garza. 1985; Patiño, 1995).

La primera inducción fue realizada en Argentina por Bernardo Houssay en 1931, con extracto de hipófisis de *Prochilodus platensis* mediante inyecciones intraperitoneales en el bagre (*Cnesterodon decemaculatus*), con la finalidad de obtener ovulación. El método fue perfeccionado por Rodolfo von Ihering, quien en el año de 1934 en colaboración con Azevedo logró el desove en cautiverio del curimbata (*Prochilodus argenteus*) en Brasil (Donaldson y Hunter, 1983).

Durante esta época, en la ex-Unión Soviética se utilizaban hipófisis de mamíferos para tratar de inducir el desove de esturión (*Acipenser stellatus*) sin resultados positivos. Y fue hasta 1937 en que Gerbil'skii logró el desove utilizando extractos pituitarios de la misma especie. La técnica fue ampliamente establecida en 1950, utilizándose en una gran variedad de especies como: carpa negra (*Mylopharyngodon piceus*), carpa cabezona (*Hypophthalmichthys nobilis*), carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*), carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*), *Catla catla*, *Labeo rohita*, *Cirrinhus mrigala*, carpa común (*Cyprinus carpio*), mandí (*Pimelodus clarias*), piavá (*Leporinus sp.*), curimbatá



(*Prochilodus sp.*), bagre sapo (*Rhamdia quelen*), pacu (*Colossoma mitrei*), cachama (*Colossoma macropomun*), pámpano (*Mylossoma sp.*) (Sheperd y Bromage, 1988; Luchini, 1990).

La metodología de la hipofisación varía entre especies y estudios a realizar, generalmente relacionado con el protocolo de preparación de los extractos pituitarios, la dosis a inyectar y el número e intervalo de inyecciones. Dos inyecciones son administradas, una dosis inicial, o preparatoria, en la cual se aplica entre el 10 y 50% de la dosis total, y entre 12 y 24 horas posteriores se aplica una dosis final, definitiva, o resolvente, que comprende el porcentaje restante de la dosis total (Rodríguez y Garza, 1985; Zohar, 1989).

Hasta mediados de la década de los 70, se recurrió a la utilización de nuevas técnicas del control hormonal ya que la hipofisación presentaba varias desventajas entre las que se encuentran de acuerdo con Nagahama, (1983); Donaldson y Hunter, (1983):

- 1) Falta de estandarización de las dosis utilizadas, por cuanto las hipófisis son tomadas de peces con grado variable de madurez sexual, reflejándose en la variación de la potencialidad de los extractos utilizados.
- 2) La presencia de otras hormonas en la hipófisis, causa efectos deletéreos, inhibiendo o modificando el efecto de las gonadotropinas.
- 3) Se requiere de una gran cantidad de peces donantes con menor o igual valor comercial que los reproductores a ser inducidos.
- 4) En el caso de utilizar pituitarias heteroplásticas el pez al que se las suministra, genera anticuerpos contra la gonadotropina inicialmente inyectada, lo que reduce considerablemente la efectividad de subsecuentes hipofisaciones, llegando incluso a ser totalmente inactivada la hormona por reacción inmunitaria.

A pesar de lo anterior, la hipofisación ha sido usada en especies de difícil reproducción en cautiverio, así como en zonas donde no es posible encontrar gonadotropinas de mamíferos y/o en especies particulares, donde se puede extraer la hipófisis de un donante y aplicarla al receptor, en general con buenos resultados.

Hay varias formas de preservar la glándula para conservar su potencia como inductor hormonal (Rodríguez y Garza, 1985; Zohar, 1989) a continuación se enuncian las más utilizadas:

- 1) Una vez obtenida la glándula se coloca en acetona durante 12 horas, renovando esta solución donde permanecerá el mismo tiempo, posteriormente se sitúa en un desecador protegida de la luz hasta el momento de su utilización.
- 2) La hipófisis se conserva en alcohol siguiendo el mismo procedimiento que en el caso anterior.
- 4) La glándula es conservada en glicerina, en 1 mililitro de glicerina se colocan entre 20 a 40 glándulas hipofisarias donde se almacenan hasta ser usadas.
- 5) La glándula liofilizada tanto de salmón como de carpa que se comercializan, como ya se mencionó, son extractos parcialmente purificados de hipófisis de la especie correspondiente, a los cuales se le agrega un aditivo para prolongar el tiempo de almacenamiento y la porción que contiene la actividad gonadotrópica ésta previamente calibrada por radioinmunoensayo.



Las ventajas de este último método sobre la aplicación de extractos crudos de hipófisis conservadas en solución son: El extracto es completamente soluble; es fácil de usar ya que solo se añade solución salina; la solución no contiene ninguna célula "extraña" que pudiera desencadenar una respuesta inmune en el pez receptor; el extracto está calibrado para contener la cantidad adecuada para inducir exitosamente el desove; en la dosis recomendada el extracto está tratado para conservar la potencia total al menos durante tres años, siempre y cuando se almacene a 4° C; es higiénico y libre de patógenos (Zohar, 1989).

En general, la glándula fresca, congelada y descongelada, seca o liofilizada se debe de macerar para obtener el sobrenadante que es donde se encuentran las hormonas gonadotropas y el que se inyecta a los reproductores (Rodríguez y Garza, 1985).

A pesar de que se han realizado muchas investigaciones en lo que se refiere a la estandarización de las dosis para las diferentes especies, aún no ha sido posible establecerlas, esto se debe en gran parte a la carencia de valoración del extracto hipofisario, a la edad, sexo y estado de madurez del pez donador, como también por el método de extracción y técnica utilizada para preservarla (Epler *et al.*, 1979).

Para establecer la dosis es necesario considerar la distancia filogenética entre el donante y el receptor; el estado de madurez del pez receptor, ya que, a menor madurez sexual, mayor es la dosis requerida para inducir el desove y viceversa (Chaudhuri, 1976; Harvey y Hoar, 1979; Lam, 1982).

En México la hipofisación se empezó a usar en 1971, los antecedentes disponibles los presenta Arana, (1976), en que indujo con hipófisis de carpa espejo (*Cyprinus carpio specularis*) a la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*) logrando el desove. Actualmente la técnica es rutinaria para inducir al desove a todas las carpas chinas importadas a nuestro país (Cruz y Murillo, 1992).

Como ya se explicó, las gonadotropinas parcialmente purificadas obtenidas de los peces son varias, sin embargo, dos son las que mayormente se comercializan; la de salmón y carpa; de ésta última se ha demostrado que puede ser cinco veces más potente que la SG-100, y además es eficiente en un mayor número de especies (Idler y Bung Ng, 1979).



II. 5. CALIDAD ESPERMÁTICA

En la reproducción de peces uno de los factores que afecta el potencial de fertilidad es la calidad espermática, la cual se define como la habilidad del espermatozoide para fertilizar al óvulo; la evaluación se realiza a partir de parámetros cualitativos como: color y consistencia; y cuantitativos como: volumen, No. de espermatozoides por mililitro, viabilidad, motilidad, fragmentación del DNA entre otras (Cosson, 2008; Bobe y Labbé, 2010; Hajirezaee *et al.*, 2010).

En general, los estudios se basan en la evaluación de ovocitos en hembras y son escasas las investigaciones que se enfocan en la calidad del semen, olvidando que también contribuye al sostenimiento de la producción de especies tanto comerciales como en peligro de extinción (Cabrita *et al.*, 2014).

II. 5.1. Extracción del semen

El semen el cual contiene a los espermatozoides debe ser colectado de reproductores que tengan un día de ayuno, para evitar en lo posible la contaminación con heces, orina, sangre y agua ya que activan la motilidad ((Rodríguez, *et al.*, 2009).

En la mayoría de las especies el semen se extrae mediante ligera presión abdominal en dirección opérculo - caudal, en los flancos donde se localizan las gónadas. El material de colecta ésta en función de la especie ya que algunas producen pequeñas cantidades de apenas unos microlitros mientras que otras pueden alcanzar más de 50 mililitros en un eyaculado; por lo que se usan: cajas de cultivo celular, cuando se espera abundante volumen ya que se les puede adaptar vacío para extraer el semen, tubos de centrifuga graduados, a los que también se les puede adaptar vacío; crioviales graduados, tubos capilares; pipetas de plástico; jeringa sin aguja; catéter sin introducirlo profundo para no lesionar la gónada; micropipeta (Rodríguez *et al.*, 2009).

II. 5.2. Color y viscosidad

El semen en los teleósteos, dependiendo de la etapa del ciclo reproductivo es homogéneo, blanco y cremoso, cualquier cambio de color se atribuye a la contaminación por materia fecal, bilis o sangre (Bustamante *et al.* 2018).

La viscosidad es calificada subjetivamente en una escala de 0 - 4, siendo cero el menor grado y se determina aspirando la muestra con micropipeta, se deja caer el semen y se observa el filamento, normalmente debe caer gota a gota o formar una filancia no mayor de 2 cm de longitud; cuando la filancia es mayor de 2 cm se considera anormal. Esta característica está relacionada con la concentración espermática (Cruz, 2001; Bastardo *et al.*, 2004).

II. 5.3. Número de espermatozoides

El número de espermatozoides por mililitro en peces en general es de varios millones, por lo cual se requiere de diluir para poder contarlos con precisión en la Cámara de Neubauer, pero antes hay que considerar que los espermatozoides de los teleósteos se activan con el agua, de tal manera que hay distintas soluciones que los mantienen inmovilizados en función de la especie (Rodríguez, 1992).

Por ejemplo en la carpa, la muestra de 50 mL de semen se mezcla con 950 mL de suero fisiológico y 500 mL de formol al 4%, formando así una solución madre que se puede conservar en refrigeración por un periodo. De ésta solución, mezclada con vórtex, se toma la submuestra con la que se carga la cámara de Neubauer, dejar reposar por 5 minutos



para que se lleve a cabo la sedimentación de las células, y se procede a la cuantificación bajo microscopio a 40X (Rodríguez *et al.*, 2007).

El número de espermatozoides por mililitro en peces se puede determinar usando las pipetas de la Cámara de Neubauer, o bien modificando la metodología como se refiere en el ejemplo, hasta métodos más sofisticados con equipo especializado como es la determinación a través del espectrofotómetro, propuesta por Ciereszko y Dabrowski, (1993), la cual una vez estandarizada la curva patrón permite, midiendo la absorbancia de una suspensión espermática, estimar el número de espermatozoides por mL.

Otro método es a partir de microscopía de fluorescencia por medio de la interacción entre la radiación y la materia, en el cual el material absorbe radiación de una fuente específica y rápidamente emite luz cuya energía es menor (mayor longitud de onda) que la de la radiación que ha absorbido (Nynca y Ciereszko, 2009). Este determina las células teñidas con el colorante específico, que cuando es excitado por la luz de un rayo láser se torna fluorescente, por lo tanto, la cantidad de fluorescencia es directamente proporcional al número de células (Pineda *et al.*, 2004).

La citometría de flujo para el recuento de células también se ha propuesto como un método que permite hacer la estimación del número de espermatozoides por mililitro (Hossain *et al.* 2011; Nynca *et al.*, 2016).

II. 5. 4. Motilidad espermática

La motilidad de los espermatozoides está dada por su correcta morfología y su viabilidad; esta prueba es importante ya que de su vigor dependerá en gran parte el éxito de la fecundación. En los teleósteos, los espermatozoides son inmóviles en los conductos deferentes y en la eyaculación y la activación metabólica se adquiere al iniciar el contacto con el medio acuoso, ya sea agua dulce, salobre y/o fluido ovárico perdiéndose pocos segundos después (Rurangwa *et al.*, 2004).

La motilidad espermática ha sido evaluada de diferentes maneras de acuerdo con el objetivo de estudio. El uso de contraste de fase o microscopía de campo oscuro ha mejorado considerablemente las posibilidades de observar tanto la cabeza como el flagelo de los espermatozoides; también la grabación de vídeo de alta velocidad con luz estroboscópica proporciona imágenes estáticas de alta calidad del movimiento flagelar en diferentes posiciones sucesivas (Fauvel *et al.*, 2010).

La motilidad puede ser clasificada subjetivamente de acuerdo con el porcentaje de células en movimiento, como: 0, cuando no se observa ningún movimiento; 1, cuando el 25% de las células están en movimiento; 2, cuando el 50% de las células están en movimiento; 3, cuando el 75% de células están en movimiento y 4, cuando más del 75% de las células están en movimiento (Borges *et al.*, 2005).

Entre de los sistemas sofisticados en que la tecnología avanza, en la última década se desarrolló el Computer Assisted Sperm Analysis (CASA) que permite comparar los parámetros de movimiento y velocidad de los espermatozoides bajo diferentes condiciones fisiológicas, e integrar posiciones sucesivas de las cabezas en movimiento en marcos consecutivos de grabaciones de vídeo para calcular las trayectorias y velocidad (Fauvel *et al.*, 2010).



II. 5. 5. Viabilidad espermática

La viabilidad espermática se refiere a la integridad de la membrana celular del espermatozoide, esta prueba se basa en protocolos de doble tinción con la finalidad de diferenciar los espermatozoides vivos de los muertos (Rodríguez 1992). A continuación, se presentan algunas metodologías que varían de acuerdo con el equipo disponible, solución, kit y especie.

Tinción de eosina – nigrosina, esta tinción evalúa la viabilidad con base a la absorción de la cabeza del espermatozoide del colorante eosina, basado en el siguiente criterio: los espermatozoides muertos son teñidos de color rojo o rosa que indica la permeabilidad a la eosina debido a la captación parcial o completa del colorante y los espermatozoides no teñidos son catalogados como vivos (Rurangwa *et al.*, 2004).

La forma en que ha sido utilizada por diferentes autores varía, en el cuadro 3, se muestra un resumen de su empleo.

Cuadro 3. Especies y metodología en que se ha usado la tinción de eosina – nigrosina.

Especie	Metodología	Autor
<i>Brycon henni</i>	Mezclar semen diluido 1:1000 μ L en solución isosmótica y 5 mL de eosina - nigrosina.	Tabares <i>et al.</i> , 2006
<i>Brycon opalinus</i>	Mezclar un agota de semen en solución de eosina-nigrosina (5% eosina B y 10% nigrosina; pH = 6.9), realizar un frotis y observar bajo microscopio a 100X.	Viveiros <i>et al.</i> , 2012
<i>Colossoma macropomum</i>	Mezclar semen a una relación 1:10 (5% eosina y 10% nigrosina; pH 6.9), realizar un frotis y observar bajo microscopio; contar un total de 300 espermatozoides por muestra.	Maria <i>et al.</i> , 2012
<i>Danio rerio</i>	Tomar una muestra de semen y mezclar en solución compuesta de 5 g eosina y 10 g nigrosina, realizar un frotis y observar bajo microscopio a 100X.	Gerber <i>et al.</i> , 2016
<i>Piaractus mesopotamicus</i>	Mezclar 10 μ L de semen en 90 μ L de eosina - nigrosina (5% eosina y 10 % nigrosina), realizar un frotis por duplicado y proceder a la visualización en microscopio; contar un total de 200 espermatozoides por muestra.	Kuradomi <i>et al.</i> , 2016
<i>Pangasianodon gigas</i>	Mezclar una gota de semen en solución de eosina - nigrosina (0.2 g eosina, 1 g de nigrosina, 0.3 g de citrato de sodio deshidratado y 20 mL de agua destilada), realizar un frotis y proceder a la visualización en microscopio a 100X; contar un total de 40 espermatozoides vivos y muertos, a partir de cinco puntos diferentes.	Kriangsak <i>et al.</i> , 2010
<i>Prochilodus lineatus</i>	Mezclar 30 μ L de semen en 90 μ L de eosina nigrosina, realizar un frotis y proceder a la visualización en microscopio a 40X; contar un total de 400 espermatozoides por muestra.	Romagosa <i>et al.</i> , 2010
<i>Lutjanus argentimaculatus</i>	Mezclar 10 μ L de semen en 30 μ L de eosina - nigrosina (5% eosina y 10% nigrosina), realizar un frotis y dejar secar por 30 minutos para su evaluación bajo microscopio.	Vuthiphandchai <i>et al.</i> , 2009



Entre las técnicas innovadoras para evaluar la viabilidad están los marcadores de ADN fluorescentes: Hoechst 33258, kits que contienen marcadores específicos (SYBR 14/PI) o el Yoduro de propidio (PI) que permiten una observación simultánea de espermatozoides vivos y muertos (Fauvel *et al.*, 2010).

Al parecer se utiliza en mayor número de especies el SYBR 14/PI; la viabilidad espermática se determina como en las otras metodologías con base a la tinción de la cabeza. Los espermatozoides vivos se tiñen con fluorescencia verde, mientras que los muertos se tiñen de color rojo (Oropesa, *et al.*, 2015).

II. 5. 6. Morfología

Otra de las pruebas de la calidad espermática es la morfología ya que aquellos espermatozoides anormales tienden a baja fertilidad. La morfología es fácil de caracterizar ya que pueden utilizarse kits comerciales o soluciones que permiten detectar las anomalías en las que inclusive se pueden hacer mediciones de: longitud de la cabeza, ancho, área, perímetro, forma: redonda, elíptica, rugosidad, alargamiento, regularidad, longitud del flagelo, diámetro del flagelo, extensiones laterales en el flagelo, longitud de la pieza intermedia, anchura anterior de la pieza intermedia, anchura posterior y vesículas núcleo entre otras (Alavi *et al.*, 2008).

Sin embargo, anomalías más comunes son: microcefalia, macrocefalia, doble cabeza, sin pieza intermedia, doble flagelo, doblado o con microgotas de citoplasma entre las principales que alteran el poder fecundante (Cruea, 1969).



III. JUSTIFICACIÓN

De acuerdo con Billard, (1986) la espermatogénesis en los teleósteos puede ser continua como en guppy; discontinua con superposición de ciclos, como en carpa común, o bien tener ciclos definidos como en salmónidos.

De tal manera que los estímulos que desencadenan la espermatogénesis son diferentes en las distintas especies, pudiendo pasar de continua a discontinua, por lo que dadas las condiciones ambientales del Centro Acuícola de Tezontepec de Aldama en el Estado de Hidalgo, se pretende determinar si la espermatogénesis en la carpa cumple con lo señalado por Billard (1986), por otro lado, se sabe que la espermatogénesis se ve influida por factores exógenos como temperatura, fotoperiodo, concentración de oxígeno etc. como por endógenos, determinados por la edad del organismo, si es de primera reproducción, periodo de reproducción, estado de salud; de tal manera que uno de los objetivos del estudio es determinar si la producción de semen en la carpa, bajo las condiciones del CATA es todo el año y de que manera influye la talla en la madurez sexual.

Por otro lado, en la acuicultura y concretamente en la piscicultura, la reproducción inducida juega un papel determinante en la posibilidad de completar ciclos de producción a partir de la generación de la propia "semilla", crías, y desde sus inicios en los años 30'S con la utilización de la hipófisis ha habido avances significativos sobre todo por el entendimiento de la endocrinología de la reproducción y su aplicación en la inducción a la reproducción con las investigaciones de Chaudhuri (1976); Epler *et al.*, (1979) y Lam (1982) entre otros, cuyos resultados culminan con el aislamiento de la LHRH, y sus análogos, compuestos que tienen una actividad biológica 30 - 50 veces mayor debido a la lenta degradación *in vivo* y por poseer una mayor afinidad con los receptores específicos de la hipófisis (Zohar, 1989).

En éste contexto, dentro de las LHRH análogas que se comercializan en México, esta Conceptal, de Química Hoechst, solución inyectable de nueve aminoácidos cuyo principio activo es el Acetato de Buserelina 0,0042 mg/ml, con fórmula empírica: $C_{62}H_{90}N_{16}O_{15}$ y peso molecular de 1281.4, con la que se inducirá a la espermatogénesis de la carpa en distintos meses del año, para probar su efectividad, en substitución de la hipófisis que tradicionalmente se usa.

Otro auxiliar en la reproducción inducida es el incremento del tiempo de motilidad espermática que tiene efecto directo en la tasa de fecundación, de tal manera que se probaran distintas soluciones con el objetivo de determinar la más adecuada a esta especie, ya que la motilidad está ligada a la presión osmótica del fluido seminal (Nagahama, 1983; Billard, 1990).



IV. ZONA DE ESTUDIO

El estudio se realizó en el Centro Acuícola de Tezontepec (CAT), localizado en el Municipio del mismo nombre, dentro de la región geográfica Valle del Mezquital; al sur del estado de Hidalgo, entre las latitudes norte 20°15', al sur 20°06'; y de longitud 99°13', al oeste 99°21' de longitud oeste; representa el 0.7% de la superficie del estado. El municipio de Tezontepec de Aldama colinda al norte con los municipios de Tepetitlán, Chapantongo, Chilcuautla y Mixquiahuala de Juárez; al este con los municipios de Mixquiahuala de Juárez, Tlahuelilpan y Tlaxcoapan; al sur con los municipios de Tlaxcoapan y Tula de Allende; al oeste con los municipios de Tula de Allende y Tepetitlán. Tiene una altitud de 2004 msnm, con clima semiseco templado, temperatura media anual de 16.6°C, precipitación pluvial de 500 milímetros por año, el período de lluvias es de mayo a octubre (Inegy, 1995).

El Centro tiene 2,42 hectáreas de estanquería para larvas, crianza y reproductores y 0.18 de edificaciones que integran oficinas, sala de incubación, laboratorio, almacén general, bodega de alimento y casas habitación (fig. 15) (FIDEFA, 1976).

El suministro de agua es de 120 L/s que recibe por gravedad de dos manantiales, la temperatura promedio del agua es de 22° C ± 1, que mantiene durante todo el año, con pH que oscila entre 7.1 – 7.8; por lo tanto, es agua alcalina con dureza total de 360 a 420 mg de CaCO₃/L, el oxígeno disuelto oscila entre 4.4 a 6 mg/l. (Román y Becerril, 1991).

Este Centro inició operaciones en 1965 y se dedicó a la producción de ciprínidos asiáticos: carpa común (*Cyprinus carpio*); carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*); carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*); carpa cabezona (*Hypophthalmichthys nobilis*); carpa negra (*Mylopharyngodon piceus*) y carpa brema (*Megalobrama amblycephala*) fue el más importante productor de crías de América Latina, ya que atendía la demanda de carpas en diferentes fases de desarrollo: alevines, crías, juveniles y adultos de los Estados de Chiapas, Guanajuato, Hidalgo, Michoacán, Puebla, Quintana Roo, Tlaxcala, Sonora y Veracruz (Rodríguez y Garza 1985).

Pero la producción de crías de carpa en México se vio afectada, debido a que se obtenían a partir de la reproducción inducida que se realizaba en el CATA que fue cerrado en el año 2009 por conflicto ejidal, con lo que se perdió la carpa negra y brema, en la actualidad, a partir de 2017 es operado por la comunidad ejidal (Rodríguez, *et al.*, 2016).



Figura 15. Vistas panorámicas del Centro Acuícola de Tezontepec de Aldama, Hidalgo.



V. OBJETIVO GENERAL

Establecer en la carpa común (*Cyprinus carpio*):

- Las características de la producción de semen en un ciclo anual, como indicador de la madurez sexual.
- El efecto de la hormona liberadora de la hormona gonadotropa análoga (LHRHa) en la inducción a la espermiogénesis con respuesta a las 12 y 24 horas.

V. 1. *Objetivos particulares*

- Determinar si hay producción de semen es continua durante el año.
- Establecer las diferencias en la dinámica de la producción de semen con respecto a la estación “natural” de desove, definida por las hembras, temporada de calor Vs. fría.
- Establecer la relación entre la producción de semen y la talla de los organismos.
- Evaluar el efecto de la inducción a la espermiogénesis utilizando la LHRHa (Conceptal) con dosis de 0.004 µgr/k en la calidad del semen con tiempo de respuesta a las 12 y 24 horas de la inducción, a través de las diferentes estaciones del año.

V. 2. *Hipótesis*

El ciclo de reproducción de la carpa común (*Cyprinus carpio*) está modulado por los factores físicos, químicos y biológicos de su hábitat, por lo que se espera establecer correlaciones entre la producción de semen, a través de las variables medidas, y la temporalidad del hábitat a partir de los meses de muestreo.



VI. METODOLOGIA

La presente investigación se realizó en el CATA, y se efectuó en dos fases. En la primera se describe el comportamiento de la producción de semen y su calidad como indicador de la madurez sexual a lo largo del año. La calidad del semen se evaluó en cada organismo determinando el volumen, número de espermatozoides/mL, mL de semen/kg de peso del individuo, número total de espermatozoides, densidad y motilidad, para lo cual se muestrearon 193 organismos en los diferentes meses del año; y la fase II, experimental en la que se probó el efecto de la hormona análoga LHRH y la motilidad empleando diferentes soluciones activadoras.

Fase I. Madurez sexual de los machos a través del año

El manejo de los organismos fue el siguiente, en los estanques rústicos del CATA donde se encontraban machos mantenidos con agua procedente de manantial con temperatura de $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ y alimentados con alimento concentrado de acuerdo con los usos del centro se capturaban y se seleccionaron aquellos organismos que a suave presión abdominal emitían semen, fluido de color lechoso y oleoso, a través de la papila urogenital, que corresponde al estadio V de la Escala de Maduración Empírica de Nikolsky (1963).

Los ejemplares se transferían a la sala de reproducción a una pileta de 1.10 m de ancho por 1.5 m de largo y 0.40 m de profundidad, con agua corriente, donde eran mantenidos sin alimento para evitar la contaminación con heces durante la extracción seminal.

El manejo de los organismos fue el siguiente, para evitar en lo posible el estrés y facilitar la manipulación se anestesiaban en una solución de xilocaína, preparada con 3.5 g disueltos en 20 litros de agua, solución en la que se sumergían hasta llevarlos a anestesia profunda, considerada cuando perdían el equilibrio, se iban al fondo de la tina y reducían el movimiento opercular. Una vez anestesiados se tomaba el peso con balanza Ohaus con décimas de gramo, se hacía la extracción del semen y se devolvían a la pileta para su recuperación y mantenimiento (Rodríguez, 1992).

Para la extracción del semen, se secó el vientre con franela húmeda y con suave masaje entre las aletas pectorales y pélvicas en sentido cráneo caudal se expulsó el fluido seminal por la papila urogenital y se colectó en tubo de ensaye de centrífuga graduado. El semen fue llevado al laboratorio donde se mantuvo en refrigeración durante las evaluaciones espermáticas.

El volumen del semen se tomó directo del tubo de centrífuga y, considerando el peso del organismo, se calcularon los mL/kg; el número de espermatozoides por mililitro se determinó de la lectura en la Cámara de Neubauer, utilizando solución diluyente, la densidad, se calculó de la relación de 100 μL de semen y su peso en una balanza analítica Sartorius con capacidad máxima de 160 g, (Rodríguez, 1992).



Fase II. Experimental

Experimento 1. Inducción Hormonal

En lo general se les dio a los organismos el mismo tratamiento que en la fase I, con las siguientes adecuaciones.

Una vez anestesiados los organismos, podían permanecer fuera del agua y su manejo para los distintos procedimientos fue sobre hule espuma húmeda para evitar la pérdida de la mucosidad y escamas. La identificación de los individuos se hizo por tatuaje en la cabeza, utilizando bolígrafo sin tinta, y presionándolo tratando de traspasar la piel superficial, se les asignó número consecutivo en la misma dirección para evitar confusiones, y se aplicó azul de metileno como desinfectante además de que también sirve como colorante temporal (Rodríguez, 1992).

Los individuos seleccionados durante los meses de estudio, fueron divididos en dos grupos: control y experimental, en ambos casos de cada uno se formaron dos subgrupos, uno, con respuesta a las 12 horas y el otro, a las 24 horas. En los cuatro subgrupos se caracterizó el semen al tiempo respuesta correspondiente: C1 – T₁₂ (Control de 12 horas); C2 – T₂₄ (Control de las 24 horas); E1 – T₁₂ (Experimental de 12 horas) y E2 – T₂₄ (Experimental de 24 horas). Después de pesados y tatuados de acuerdo con el grupo que les correspondía se les aplicaba la LHRHa, (Conceptal, del Laboratorio Química Hoechst) con concentración de 0.004 mg/K, manteniendo separados los grupos de acuerdo con el tiempo de respuesta, a los organismos del grupo control se les inyectó intramuscular suero fisiológico 0.3 mL/kg.

El efecto de la inducción se evaluó a las 12 y 24 horas, dependiendo del subgrupo, extrayéndose el semen al que se le realizaba las mismas determinaciones que en la fase I.

Experimento 2. Motilidad

La motilidad fue evaluada por observación directa del porcentaje de movilidad espermática bajo microscopio óptico, movilidad masal, tomándose dos tiempos: el primero de mayor vigor, T₁ y el segundo cuando éste decae entre el 30 – 40 por ciento, T₂, hasta que cesa.

Las soluciones probadas para incrementar la motilidad fueron: a) ringer, preparada con 7.0 g de cloruro de sodio, 0.25 g de cloruro de potasio y 0.3 g de cloruro de calcio anhidro, aforadas en un litro de agua destilada; b) salina, se utilizaron 8.7 g de cloruro de sodio en un litro de agua y la c) fertilizante que estaba compuesta por 3 g de urea, 4 g de cloruro de sodio en un litro de agua; se utilizó agua como control, (directa del estanque) (Rodríguez *et al.*, 2009).

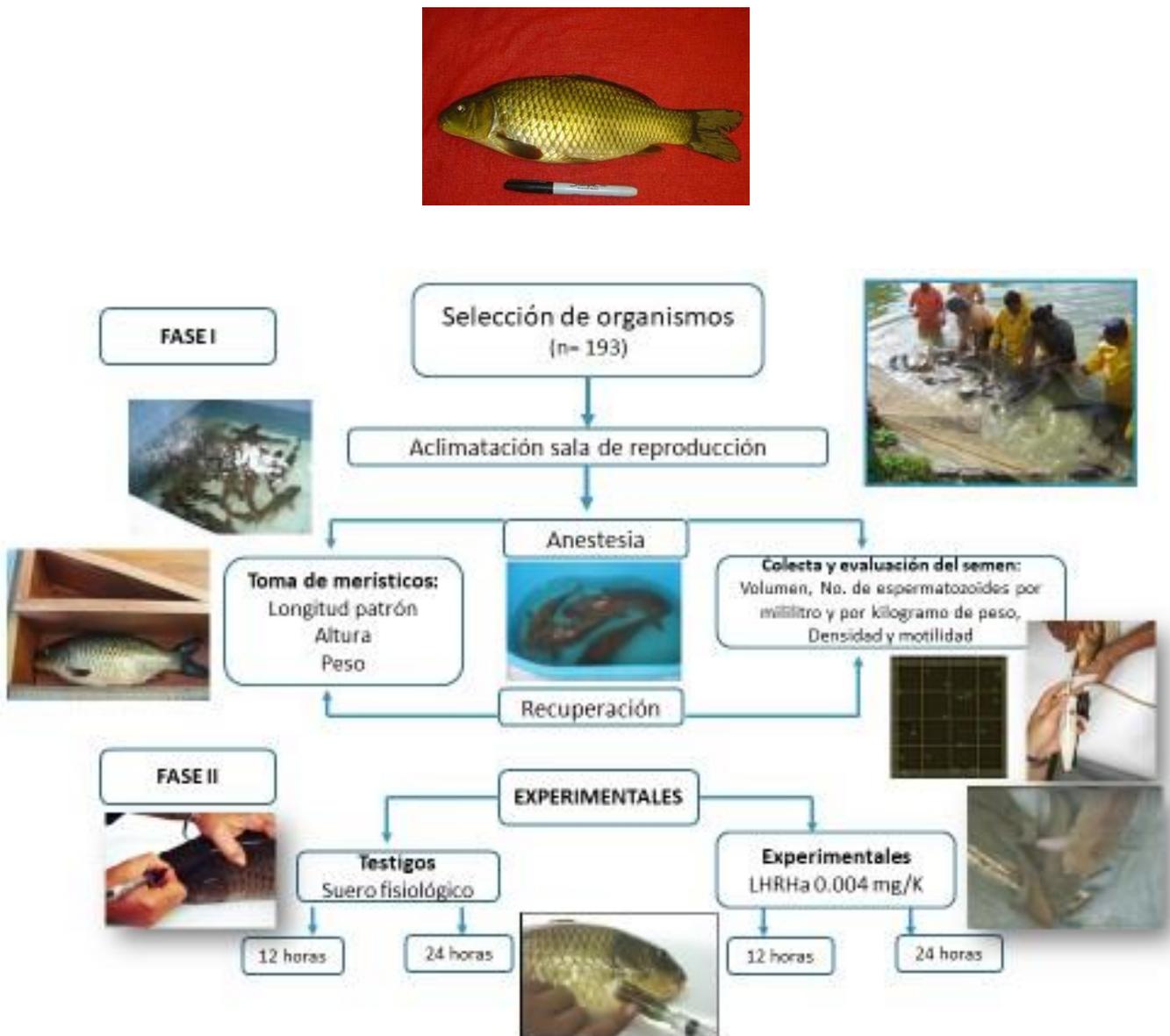
Las bases de datos se generaron en la hoja de cálculo Excel y los análisis se efectuaron empleando los softwares SPSS V. 20 y JMP V.10. En la fase I del estudio se realizaron gráficas exploratorias de las variables de las características del semen entre los meses y; los resultados fueron expresados como media ± desviación estándar de la media (DS) y fueron sometidos al análisis de varianza de una vía (ANOVA), utilizando como factores los meses, y la Prueba post hoc de Tukey para establecer subconjuntos.



Con la finalidad de correlacionar las variables medidas con la temporalidad, se efectuó un análisis multivariado en su modalidad discriminante, comparando las épocas de: primavera – verano y otoño – invierno.

En la fase II, experimental de inducción, se utilizó el ANDEVA de dos vías, es decir, se evaluó por mes y tratamiento/hora. En el experimento de motilidad, los resultados fueron expresados como media \pm desviación estándar de la media (DS) y fueron sometidos al análisis de varianza de una vía (ANOVA), utilizando como factores los tratamientos, y la Prueba post hoc de Tukey para establecer subconjuntos.

DIAGRAMA DE FLUJO



VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VII. Fase I. Determinación de la madurez sexual en machos de carpa común en un ciclo anual.

La gran diversidad de los teleósteos y las condiciones donde se desarrollan determinan que algunas especies tengan ciclos reproductivos estacionales definidos por las estaciones climáticas; mientras que en otros no hay restricción en la producción seminal una vez que han madurado. El indicador de la madurez sexual es la emisión de semen que en un organismo maduro, dependiendo de la temporada reproductiva, se puede colectar en cantidad (Billard, 1986; Billard y Cosson, 1992).

Por lo tanto, en la carpa común, en los meses de muestreo, el indicador de la madurez fue la presencia de semen, del que se evaluó: volumen, volumen de semen por kilogramo de peso, número de espermatozoides/mL, número de espermatozoides total y densidad, cuyos resultados promedio, así como media \pm desviación estándar de la media (DS) se resumen en el Cuadro 4.

La fig. 16 presenta la distribución del peso corporal de los machos durante el ciclo anual de muestreo, es evidente que la curva de pesos presenta una clara asimetría con sesgo positivo, señalando que los organismos medidos en los distintos meses presentaban tallas distintas. El peso promedio fue de 297.2 g.

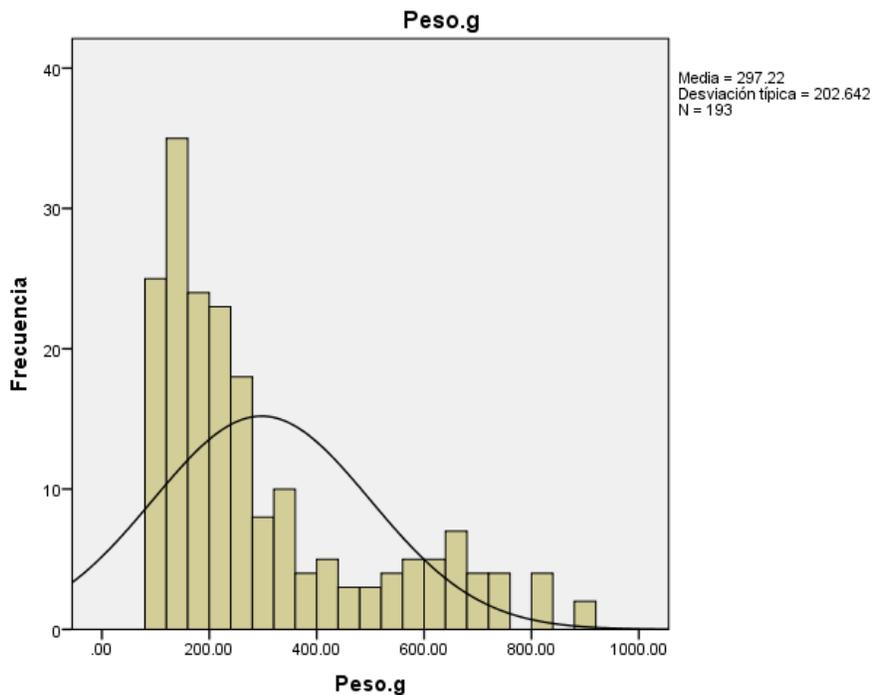
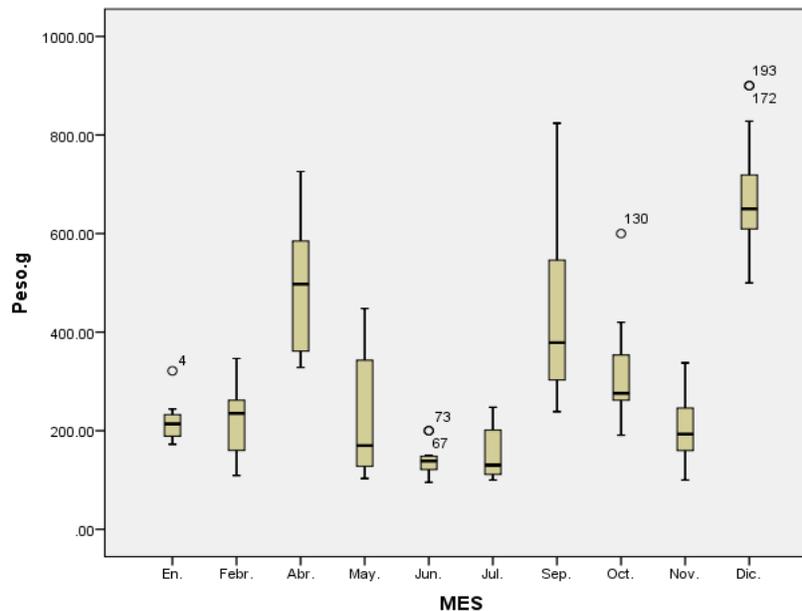


Figura 16. Distribución de frecuencias del peso de los organismos a través del año.



Cuadro 4. Estadísticos descriptivos (media \pm D S) de las diversas variables del semen de la carpa común (*Cyprinus carpio*) durante un ciclo anual. (Letras diferentes como superíndices en las medias indican diferencias significativas ($p < 0.05$, prueba *post hoc* de Tukey).

Variable	Enero	Febrero	Abril	Mayo	Junio	Julio	Sep.	Octubre	Nov.	Dic.
Peso (g)	220.6 ^{ab}	223.6 ^{ab}	502.7 ^d	237.3 ^b	136.3 ^a	154.5 ^a	438.9 ^{cd}	328.3 ^{bc}	205.7 ^a	673.0 ^e
	± 46.5	± 74.7	± 148.6	± 131.3	± 28.1	± 49.0	± 177.6	± 138.0	± 58.2	± 106.6
Volumen (mL)	0.30 ^{ab}	0.38 ^{ab}	6.02 ^d	2.27 ^{ab}	1.25 ^a	1.07 ^a	1.18 ^{cd}	0.50 ^{bc}	0.59 ^a	3.50 ^e
	± 0.20	± 0.22	± 5.43	± 0.92	± 1.00	± 0.87	± 0.87	± 0.37	± 0.61	± 3.27
mL/K	1.53 ^a	2.01 ^a	12.35 ^c	11.60 ^c	8.46 ^b	7.00 ^a	2.62	1.72 ^a	3.06 ^a	5.04
	± 1.31	± 1.69	± 9.21	± 5.67	± 7.93	± 5.05	± 1.63	± 1.42	± 3.19	± 4.46
Densidad	1.12 ^{cd}	1.21 ^d	0.87 ^a	0.93 ^{abc}	0.89 ^{ab}	1.09 ^{bcd}	0.90	1.01 ^{abc}	1.02 ^{abcd}	0.91
	± 0.11	± 0.28	± 0.11	± 0.07	± 0.12	± 0.15	± 0.11	± 0.16	± 0.17	± 0.10
No. espz X 10⁺⁶	32338.8 ^a	33148.39 ^a	24950.00 ^a	37985.16 ^b	36632.52 ^a	40053.74 ^b		28164.28 ^a	30881.00 ^a	
	± 9142.52	± 13804.6	± 8060.00	± 7559.07	± 12467.95	± 12614.94		± 7099.80	± 7526.36	
No. Total de espz X 10⁺⁶	8659.70	12358.36	141355.00	84017.33	41912.53	41216.06		15818.57	17921.21	
	± 2854.90	± 8627.99	± 129010.67	± 33593.10	± 31600.71	± 32691.46		± 13906.35	± 22976.63	

**Figura 17.** Diagramas de caja del peso corporal de *C. carpio* en los diferentes meses del año.

Respecto de la talla de los machos, los organismos de mayor peso se muestrearon en el mes de diciembre, con promedio de 673 g, seguidos del mes de abril con 502.7 g y septiembre con 438.9 g. Si la talla correspondiera con la madurez, en estos meses se debía de colectar los mayores volúmenes seminales; sin embargo, no fue el caso, aunque eran los de mayor peso, no se colectaron los mayores volúmenes, y los mililitros por kilo, indicadores de ella, fueron menores, salvo el mes de abril que se relaciona con la época reproductiva (Cuadro 4; figs. 17, 18 y 19).



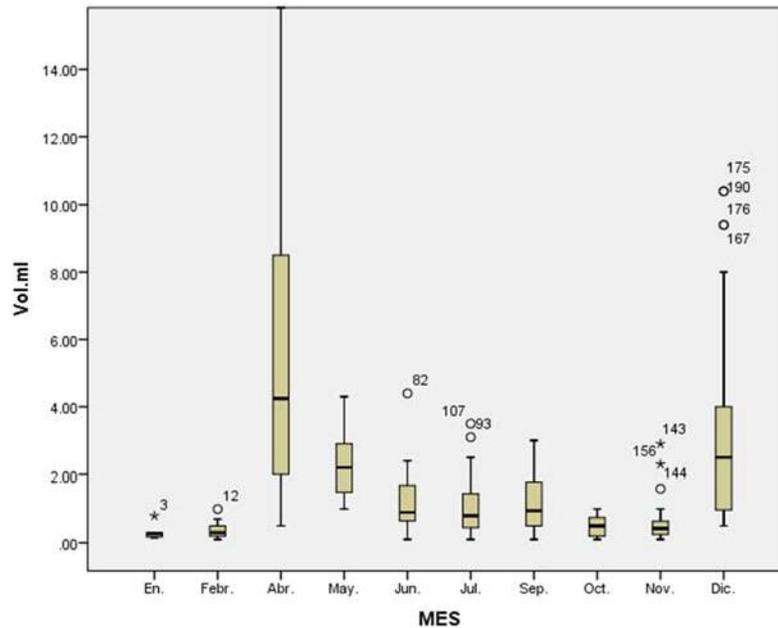


Figura 18. Diagrama de caja del volumen (mL) seminal de *C. carpio* en los diferentes meses del año.

El análisis del volumen de semen por mes con la Prueba post hoc de Tukey determinó diferencias significativas ($P < 0.5$) entre el bloque 1 que reúne a los meses de enero, febrero, octubre, noviembre, julio y junio; respecto del bloque 2 en que se encuentran los meses de noviembre, julio, junio y mayo; y del bloque 3, en que se ubican abril y diciembre (fig. 18).

Lo anterior denota que los meses de menor volumen corresponden a enero, febrero, octubre y noviembre; seguidos de los meses de julio, junio, septiembre y mayo; y los meses en que se obtuvo el mayor volumen correspondieron a abril y diciembre (Cuadro 4).

El volumen seminal es variable durante el periodo reproductivo, al inicio y final de la temporada disminuye; mientras que en otras se produce en promedio la misma cantidad, lo cual puede estar incidiendo en los resultados (Rodríguez *et al.*, 1991; Bekh *et al.*, 2008; Bustamante *et al.*, 2018).

Por otro lado, durante el ciclo anual no fue posible muestrear los mismos organismos, lo cual dificulta la interpretación y análisis, ya que la producción de semen depende de la estacionalidad, de la duración del periodo reproductivo, del momento del muestreo con respecto al ciclo reproductivo que es diferente para cada especie y determinado por la producción de ovas, que no siempre es sincrónica con la de espermias (Cruz y Murillo, 1992).

Por otro lado, aunque los meses de abril y diciembre tuvieron el mayor volumen de semen, puede estar influenciado por el peso de los organismos, ya que coincide en que en ellos están los organismos de mayor talla; por lo cual, al relacionándolo con el peso del organismo, solo abril conserva su tendencia alta, como ya se señaló, mientras que el mes de diciembre fue inferior a los meses de abril y septiembre en que el volumen promedio se mantuvo similar (figs. 18 y 19).



Al comparar el volumen de semen obtenido por otros autores como Rodríguez y Maraón, (1993) en organismos de 200 g, en las distintas estaciones del año, se tuvo 1.5 mL en primavera; 0.8 mL en verano; 0.4 mL en otoño y 0.5 mL en invierno y aunque en este estudio fue por meses, al reunirlos por estación del año en promedio, se obtuvo para primavera 4.1 mL, para verano 1.1mL, en otoño 0.72 mL y en invierno 1.39 mL. en todos los casos valores superiores y marcan tendencia a decrecer dependiendo de la estación, salvo la temporada de invierno en que probablemente la talla de los organismos determina que se incremente el resultado.

Los menores volúmenes del semen (Cuadro 4; fig. 18); se obtuvieron en los meses de otoño e invierno; que de acuerdo con los requerimientos reportados por otros autores no corresponden al periodo reproductivo de la especie, sin embargo, bajo las condiciones del CATA, es posible tener semen aunque en menor cantidad; por otro lado, la desviación estándar fue mayor en los meses de abril y diciembre en que el volumen fue mayor, lo cual implica la variabilidad de la madurez sexual en la población de estudio.

Una forma de corroborar lo anterior, es por medio de la relación entre el volumen y el peso del organismo (mL/kg), (Cuadro 4); para esta variable el análisis de varianza mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los meses y la Prueba post hoc de Tukey indicó que enero, febrero, septiembre, octubre noviembre y diciembre son diferentes de abril, mayo, junio y julio (fig. 19).

Los resultados de los mL/kg, ponen de manifiesto que los meses que alcanzaron los mejores valores correspondieron a abril, mayo, junio y julio, que pertenece a la estación reproductiva, determinada por la madurez de las hembras, indicando con ello que es el periodo reproductivo de la especie (fig. 19).

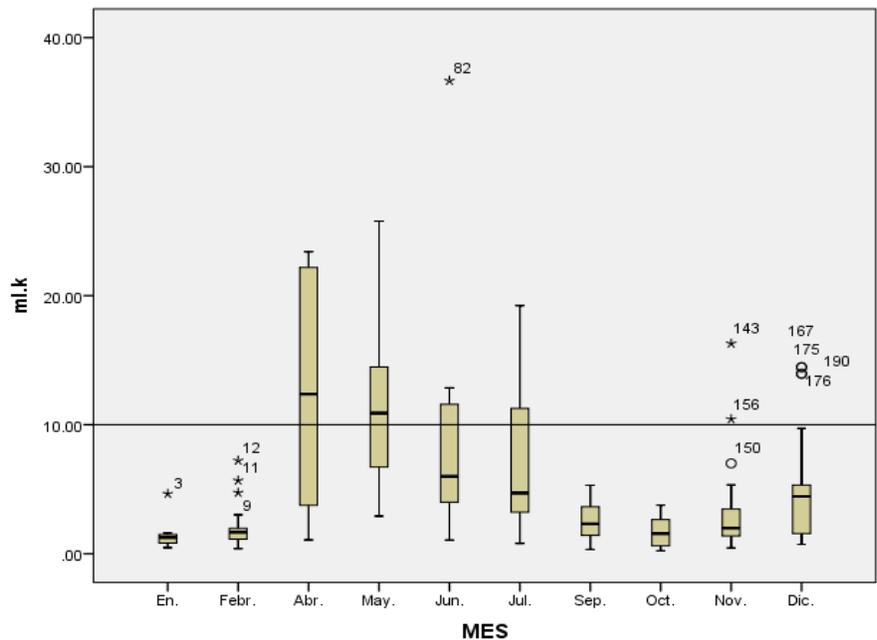


Figura 19. Diagrama de caja de los mililitros de semen/kg de *C. carpio* en los diferentes meses del año.



Al tratar de encontrar una posible correlación entre los pesos de los organismos con su volumen de semen, o con los ml/kg de peso corporal, se obtuvieron las figuras 20 y 21, en las cuales aunque no se pudo establecer una correlación significativa entre las variables, puede observarse que hay peces de talla pequeña con alto volumen y/o mL/kg, que peces de talla grandes, aunque hay una tendencia de mayor volumen en peces grandes, mientras que en la correlación entre mL de semen con el peso, ésta tendencia se invierte, aunque tampoco se obtuvo correlación significativa.

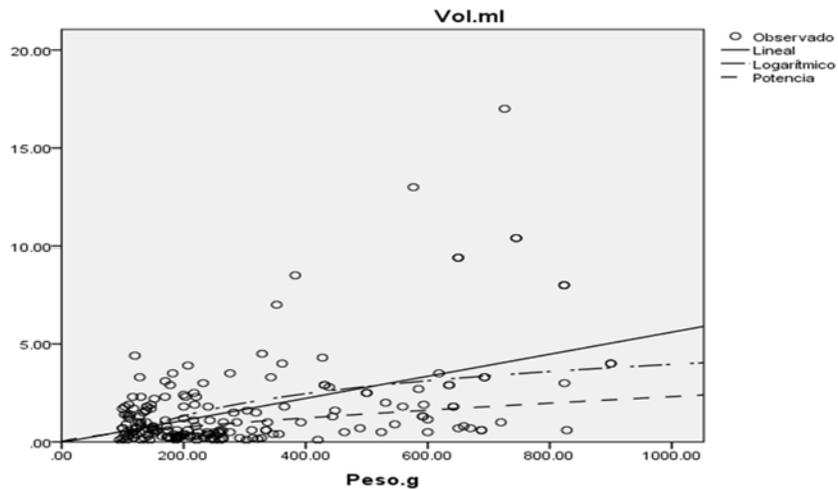


Figura 20. Gráfico de correlación lineal, logarítmica y potencial del peso del organismo contra el volumen de semen.

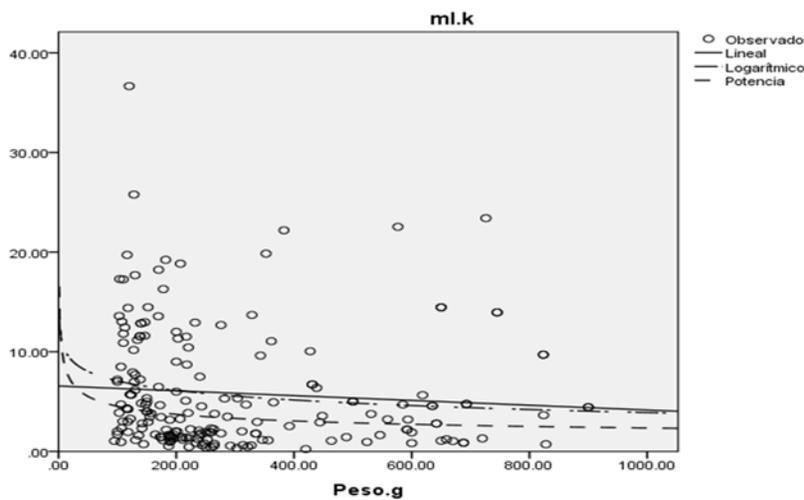


Figura 21. Gráfico de correlación lineal, logarítmica y potencial del peso del organismo contra los mililitros por kilo.

Luego entonces es posible encontrar organismos maduros tanto grandes como pequeños, con buena producción de semen, debido a ello, el volumen de diciembre no necesariamente corresponde a un pico reproductivo, sino más bien al efecto del peso de los organismos que se confirma con el análisis de promedios de mililitros por kilo (fig. 19).



Por otro lado, aunque las condiciones de cultivo, son similares durante el año, este resultado refleja la influencia del fotoperiodo en la producción seminal, planteando como ya se señaló un periodo de abril a julio como de mayor producción y otro de septiembre a febrero, de menor producción.

Aunque en carpa esta reportado que el periodo de reproducción corresponde a los meses cálidos (Horváth *et al.*, 1986a; Bekh *et al.*, 2008), en países de Europa del este como República Checa la estación reproductiva de esta especie está acotada al mes de mayo, y no es posible obtener semen de manera natural el resto del año, mientras que en México y en particular bajo las condiciones climáticas de cultivo del CATA en que la temperatura del agua se mantiene $22^{\circ}\text{C} \pm 1$; se puede obtener semen durante todo el año, aunque en menor cantidad, debido probablemente a una espermatogénesis poco activa como señalan Barry *et al.* (1990); Billard y Cosson (1992) y se requiere de estimulación hormonal para incrementar la producción.

La variable del número de espermatozoides por mililitro, en el análisis de frecuencia denotó una distribución normal, que determina su consistencia como variable de respuesta (fig. 22). En cuanto al número de espermatozoides por mililitro se determinó que el valor promedio fue de 34.5×10^9 (Cuadro 4). El análisis de varianza reportó diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los meses y la prueba post hoc de Tukey estableció que abril, octubre, noviembre, enero, febrero y junio son diferentes que mayo y julio, sin embargo, el valor promedio se considera como adecuado para la especie bajo las condiciones del CATA (fig. 23).

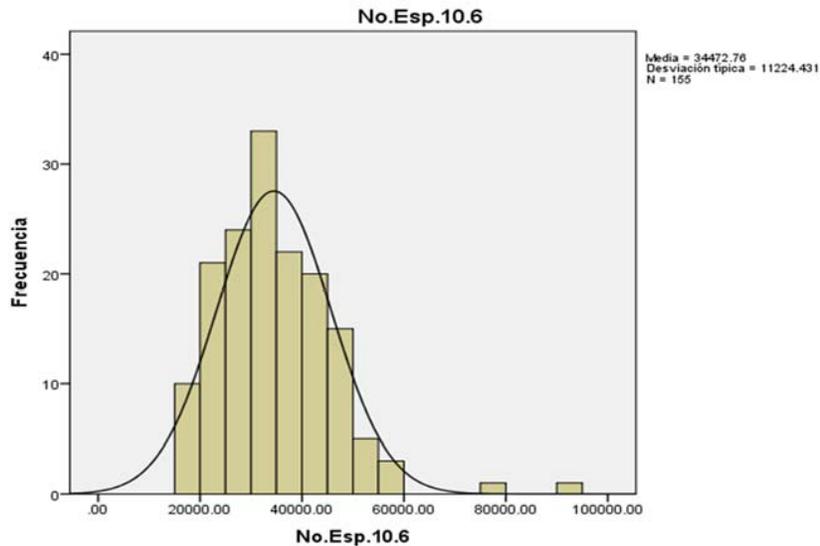


Figura 22. Distribución de frecuencia del número de espermatozoides/mL por 10^6 de *C. carpio*.

La inconstancia de esta variable en la especie ha sido reportada por varios autores y aún en el mismo individuo, y tiene explicación en la fisiología de la gametogénesis, ya que durante la espermiación se presenta la hidratación del semen, que determina el grado de fluidez y por lo tanto la densidad y variabilidad en el número de espermatozoides por mililitro, además de la carencia de vesícula seminal que los acumule, lo cual también explica



la diferencia encontrada entre los valores máximos y mínimos (Clemens y Grant, 1965; Billard *et al.*, 1995).

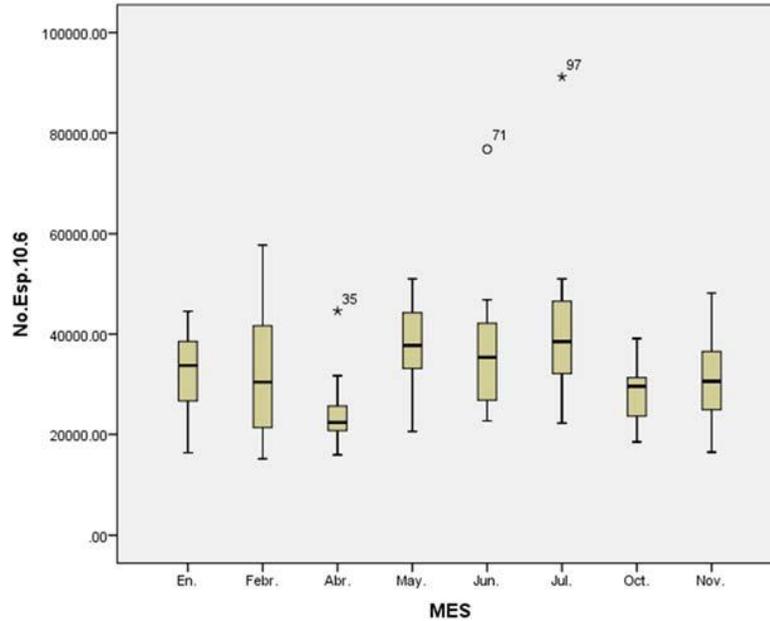


Figura 23. Diagrama de caja del número del número de espermatozoides/mL en *C. carpio* en los diferentes meses del año.

La variabilidad de los resultados con respecto al número de espermatozoides por mililitro, también ésta en función de la variedad, edad, talla de los organismos, tipo de alimentación, condiciones físico químicas en que se mantienen, así como si son individuos de primera reproducción y la fase del ciclo reproductivo en que fueron muestreados; además del método y diluyente empleado para la determinación (Biegniewska *et al.*, 2010).

El número de espermatozoides por mililitro promedio anual determinado en la presente investigación fue de 34.5×10^9 , siendo diferente al determinado por Billard *et al.*, (1983), quienes establecen 20.9 y 23.1×10^9 espermatozoides por mililitro, cuantificado por densidad óptica; Saad y Billard (1987a) reportan 25×10^9 ; Barry *et al.*, (1990) determinó 1.52×10^9 y 2.02×10^9 por conteo con hemocitómetro; mientras que Rodríguez y Marañón (1993) cuantificaron 37.3×10^9 con Cámara de Neubauer y Biegniewska *et al.*, (2010) $18.7 \pm 3.1 \times 10^9$.

La producción total de espermatozoides está en función del volumen y número por mililitro, en el Cuadro 4 se presentan los valores promedio con la desviación estándar obtenidos durante el año. Esta variable se relaciona con el volumen y número de espermatozoides, de tal manera que el número total de espermatozoides promedio se estimó en 42.7×10^9 reportado en el mes de abril con un organismo que produjo 17 mililitros.

Lo anterior tiene relevancia en las granjas acuícolas cuando se utiliza la fecundación artificial en cualquiera de los métodos: húmedo, seco o súper seco, en donde autores como Rothbard (1981) indican que son necesarios de 2 a 3 cc de semen por litro de óvulos; mientras que Horváth y Tamás (1986a) recomiendan 10 mililitros por kilogramo de huevo. En condiciones experimentales Saad y Billard, (1987b) encontraron que 17000 espermatozoides son necesarios para fecundar un óvulo.



Las cantidades de semen recomendadas por éstos autores son excesivas, al relacionarlas con el número de espermatozoides por mililitro, ya que un litro tiene 650 000 óvulos y un kilo 500 000, debido a ello, un macho es capaz de fecundar a varias hembras; ya que un mililitro de semen tiene del orden de 34.5×10^9 espermatozoides, por lo tanto se puede reducir el número de reproductores en la acuicultura intensiva, previa selección de los mismos, lo cual reduce los costos de producción.

La densidad fue la variable cuyo análisis de frecuencia determinó distribución normal (fig. 24), los resultados de los valores promedio con el error estándar de la media en los diferentes meses se presentan en el cuadro 4. El valor promedio más bajo se presentó en abril con 0.87; y el mayor de 1.21 se determinó en febrero. En el resto de los meses considerado como fríos, el valor superó la unidad, salvo en diciembre y en los meses considerados cálidos fue menor de la unidad; lo cual se puede relacionar con la madurez del macho, por lo que se asume que la densidad más adecuada para el proceso reproductivo es menor de uno.

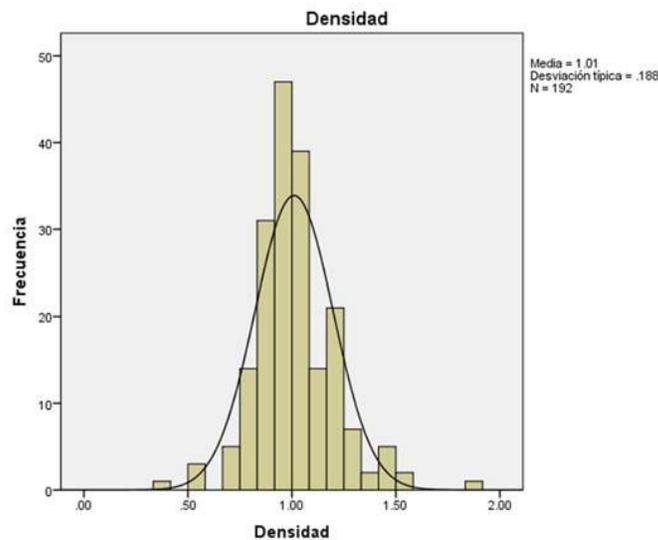


Figura 24. Análisis de frecuencia de la densidad del semen de la carpa (*C. carpio*).

Lo anterior sugiere que el semen maduro tenderá a una densidad ligeramente menor de uno. Con respecto a ésta variable existen escasos reportes entre los que se encuentran el de Stancey *et al.*, (1994) en que señalan el valor de uno para la densidad del semen en *Cyprinus carpio*.

La densidad tiene relación directa con el número de espermatozoides por mililitro e inversa con el volumen, (figs. 18, 19 y 22) debido al proceso de hidratación del semen previa a la eyaculación, ya que en el caso de los teleósteos y en particular de la carpa hay cambios en la densidad del semen relacionados con la madurez, presentando semen fluido en la estación de desove (Clements y Grant, 1965; Billard, 1970).

El periodo de reproducción determinado por la madurez de las hembras, de abril a septiembre, ha sido reportado para la carpa por Huet (1983); Woynarovich y Horváth (1980) quienes señalan que se puede tener más de un desove anual siempre y cuando la temperatura del agua sea superior a los 22° C; y en el fotoperiodo, el día sea más largo que



la noche, condiciones que se cumplen en el CATA, siendo entonces la temperatura y el fotoperiodo los estímulos desencadenantes de la espermatogénesis, ya que de acuerdo con Barry *et al.*, (1990); Billard y Cosson (1992) la temperatura desempeña un papel determinante en el complejo proceso endócrino que dispara la espermatogénesis en la carpa por el incremento de los niveles de GtH estimulando la producción de precursores de esteroides, los cuales son convertidos en andrógenos por las enzimas esteroidogénicas activas en los testículos.

En el año de 1990 en el CATA de acuerdo con los reportes de Cruz y Murillo (1992) la mejor eficacia de los desoves fue en el mes de septiembre, pero la mayor producción de crías se obtuvo en mayo, de tal manera que concuerdan con el periodo reproductivo determinado en ésta investigación, a través de la producción de semen, también reportada en Israel, en donde las condiciones climáticas son similares a las de éste centro acuícola (Rothbard, 1981).

Si bien, no era un objetivo de ésta investigación conocer la talla mínima de madurez, se pudo establecer que en el CATA los machos alcanzan la madurez sexual a tallas pequeñas, ya que se encontraron organismos menores de 100 g y de un año de edad que a suave presión de los flancos del cuerpo expulsaban semen. Mientras que Billard y Cosson (1992), reportan que en Polonia los machos maduran cuando tienen un peso de 187 g a los trece meses de edad; en Israel y sureste de Asia se alcanza a los seis meses y al sur de Francia en el segundo año (Billard, 1995).



VII. Fase I. 2. Dinámica de la producción de semen con respecto a la temporada reproductiva determinada por las hembras, estación cálida, y no reproductiva, estación fría.

Ante la dificultad de encontrar lotes homogéneos en cuanto a las características morfométricas, lo que sin duda tuvo un efecto en la heterogeneidad de las respuestas medidas, en la primera fase de la investigación (cuadro 4), se seleccionaron los meses en que no se determinaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en los pesos de los organismos, encontrando que corresponden a los meses de enero, febrero, mayo junio, julio y noviembre, que también se relacionan con la estación “natural” de desove, ya señalada, determinada por la madurez de las hembras y la estación no reproductiva (fig. 25). En esta figura también se señalan las distribuciones de talla de esta variable en el recuadro derecho del mismo.

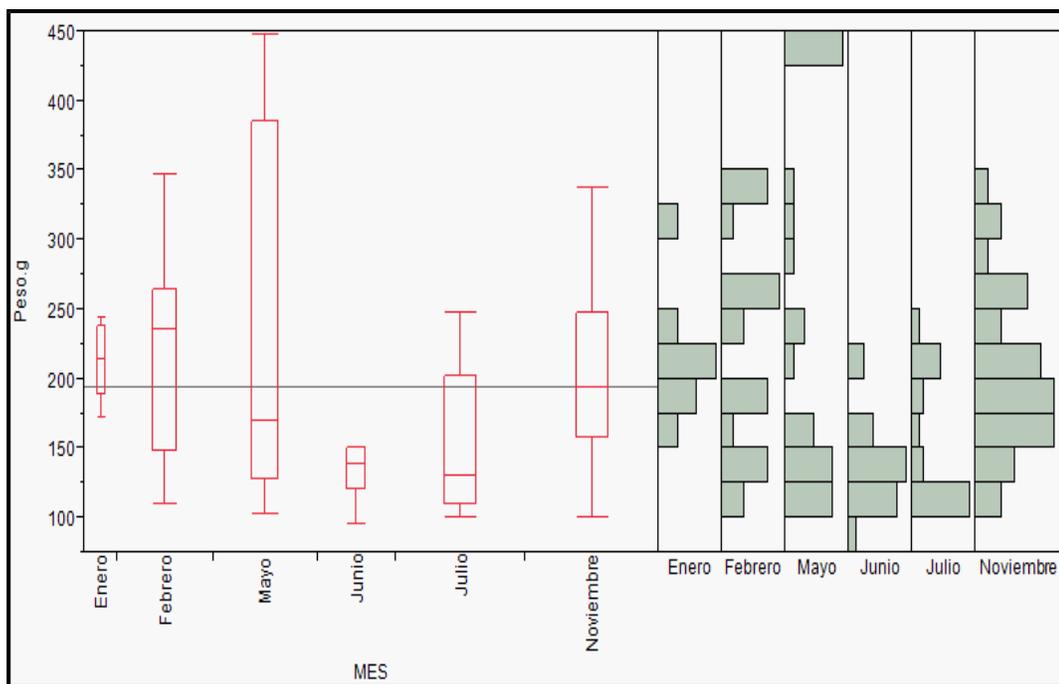


Figura 25. Diagrama de caja e histograma del peso corporal de *C. carpio*.

A partir de esta premisa, se realizó el análisis de cada una de las variables de estudio: volumen del semen, mililitros por kilogramo de peso, densidad, número de espermatozoides por mililitro y número total de espermatozoides, considerando enero, febrero y noviembre como temporada fría, no reproductiva y mayo, junio y julio como la estación “natural” de desove y temporada de calor, encontrando con respecto al volumen, que los dos grupos presentan diferencias significativas ($P < 0.05$) como se muestra en la fig. 26.



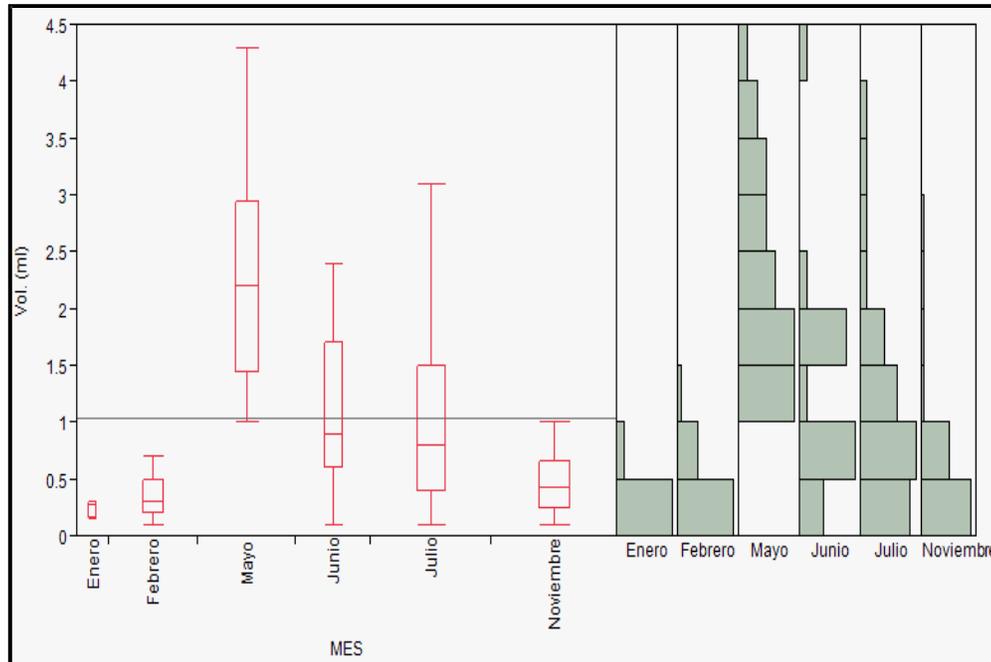


Figura 26. Diagrama de caja e histograma del volumen de semen de *C. carpio*.

El volumen en el caso de los meses cálidos alcanzó en promedio 1.51 mL, mientras que en la época fría solo se consiguió 0.48 mL, al respecto Mehdi *et al.*, (2010), obtuvieron en la época de reproducción para la carpa coi entre 0.55 a 0.70 mL. de semen.

Desde luego, como ya se señaló, el volumen, número de espermatozoides por mililitro y número total de espermatozoides están interrelacionados, y en la figura 27, se observa cómo están ligados al volumen y por supuesto que al igual que el volumen la mayor cantidad se obtuvo en el mes de mayo y la menor en enero,

El análisis anterior, confirmó que aunque es posible encontrar organismos chicos o grandes con semen todo el año; la producción se ve afectada por efecto del fotoperiodo, ya que la temperatura permanece a $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$, de tal manera que se observa el efecto en el volumen de semen producido y el efecto en los mililitros por kilogramo, densidad, número de espermatozoides por mililitro y número de espermatozoides totales como se demuestra en el análisis discriminante. (Fig. 28, Cuadro 5).

En cuanto a la densidad, se determinó que es ligeramente mayor en la temporada de frío y menor en la época cálida, lo cual también fue determinado por Mehdi *et al.*, (2010), en la carpa coi.

Como se observa en la fig. 28, las variables que mejor discriminan a los grupos son el volumen del semen y los mililitros por kilo, ya que la densidad y el número de espermatozoides por mililitro, son característicos de la especie, y desde luego, el número total de espermatozoides se ve influenciado por el volumen.



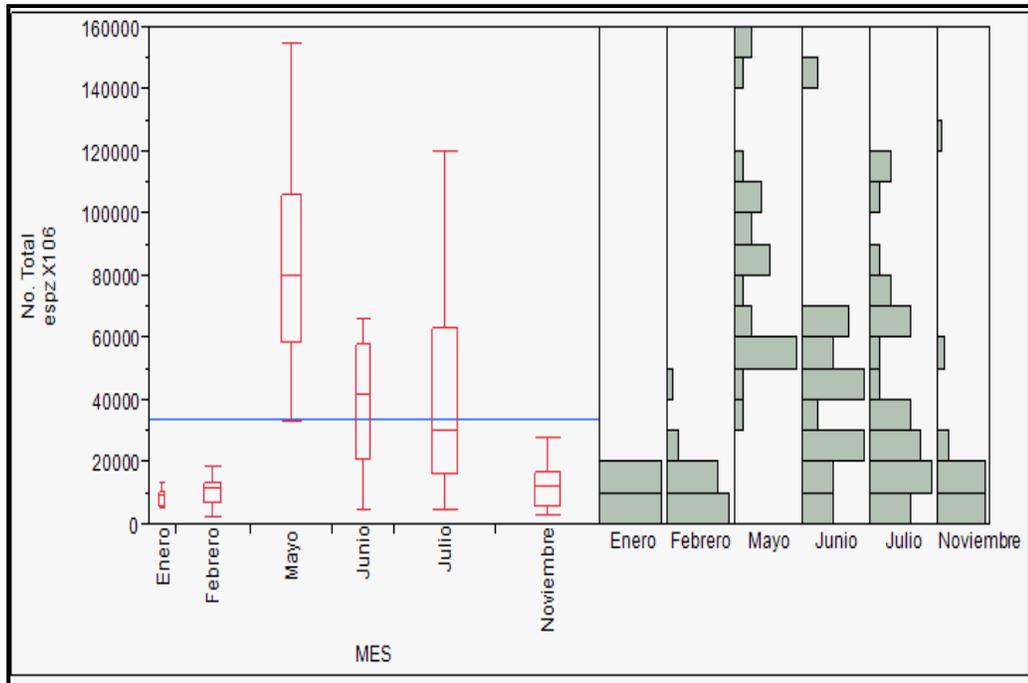


Figura 27. Diagrama de caja e histograma del número total de espermatozoides en *C. carpio*.

Cuadro 5. Estadísticos descriptivos del peso, volumen, mililitros/kg, densidad, número de espermatozoides por mililitro, número total de espermatozoides temporada fría (1) y cálida (2) en la carpa común (*Cyprinus carpio*).

Medias por Grupo							
Grupo	n	Peso (g)	Vol. (ml)	mL/kg	Densidad	No. espz. X 10 ⁹	No. total de espz. X 10 ⁹
1 (O – I)	63	214.12	.48	2.49	1.10	31.8	14.7
2 (P- V)	75	177.51	1.51	8.91	.99	38.5	55.6
TODOS	138	194.22	1.04	5.98	1.04	35.5	37.0

El análisis de lo anterior pone de manifiesto que el volumen y los mililitros por kilo, son las variables que más se ven afectadas por las temporadas climáticas que de alguna manera están ligadas a la estación “natural” de desove de las hembras y por lo tanto de la especie; y como ya se señaló, en el caso de los machos, es posible obtener semen todo el año, pero en la temporada cálida se producirá en mayor cantidad.



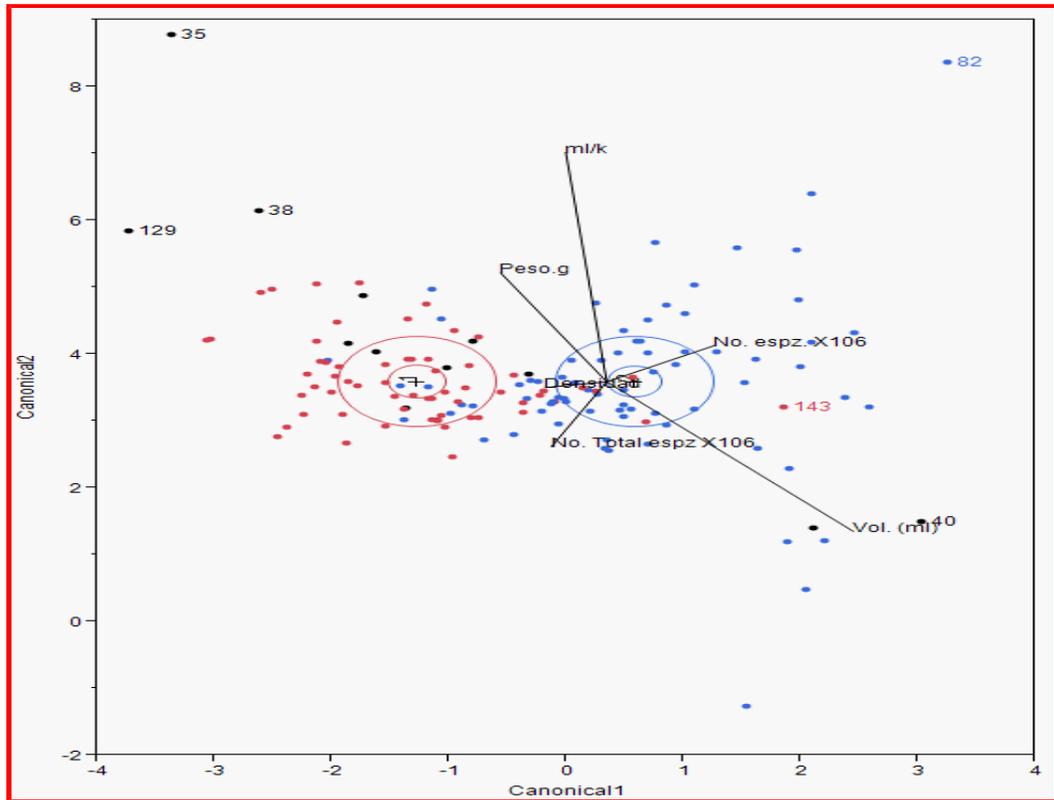


Figura 28. Gráfico de canónicas comparando las variables entre las estaciones fría (rojo) y la cálida (azul).



VII. 2. Fase experimental

VII. 2. 1. Inducción hormonal

En las granjas donde se cultiva ésta especie, es necesario determinar cuál es el periodo óptimo de respuesta a la inducción para colectar el semen. Esta fase se diseñó para contestar a esta pregunta. Las variables de respuesta fueron las mismas de la fase I como indicadores del efecto de la LHRHa a las 12 y 24 horas después de la inducción.

Los resultados de los tratamientos por mes, con respecto al volumen demuestran que no es contundente el efecto de la LHRHa, toda vez que hay meses en que no hay diferencia significativa ($P>0.5$), entre el grupo control y experimental: meses de febrero, junio y octubre, mientras que en los meses de noviembre y mayo hay un ligero efecto de mayor volumen en el grupo tratado con la hormona en respuesta a las 12 horas (fig. 29).

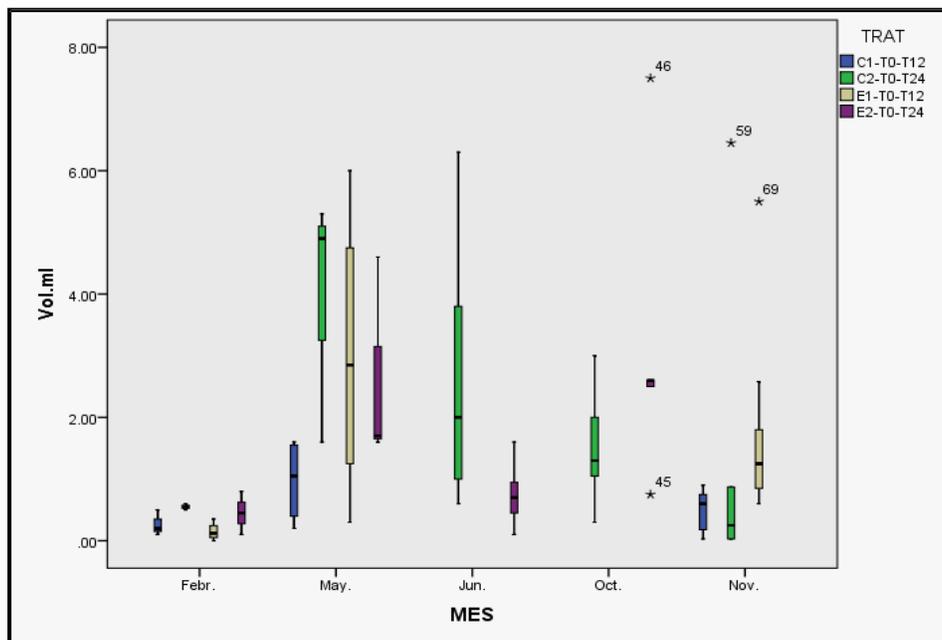


Figura 29. Diagrama de caja del volumen de semen por mes de los grupos de *C. carpio*, control y tratado con hormona LHRHa, a las 12 y 24 horas.

Los resultados en cuanto al volumen obtenido por tratamiento, y meses, confirma lo encontrado en el análisis anterior; es decir, que no hay diferencias significativas entre tratamientos, tiempo de respuesta y por mes ($P>0.05$) ya que el efecto de la hormona tampoco es concluyente, toda vez que solo en el mes de mayo y noviembre, hay un ligero incremento en los grupos experimentales en el tiempo de respuesta de 12 horas, interesante que el mes de mayo, corresponde a la temporada reproductiva; y noviembre, marca el inicio de la temporada fría (fig. 30).



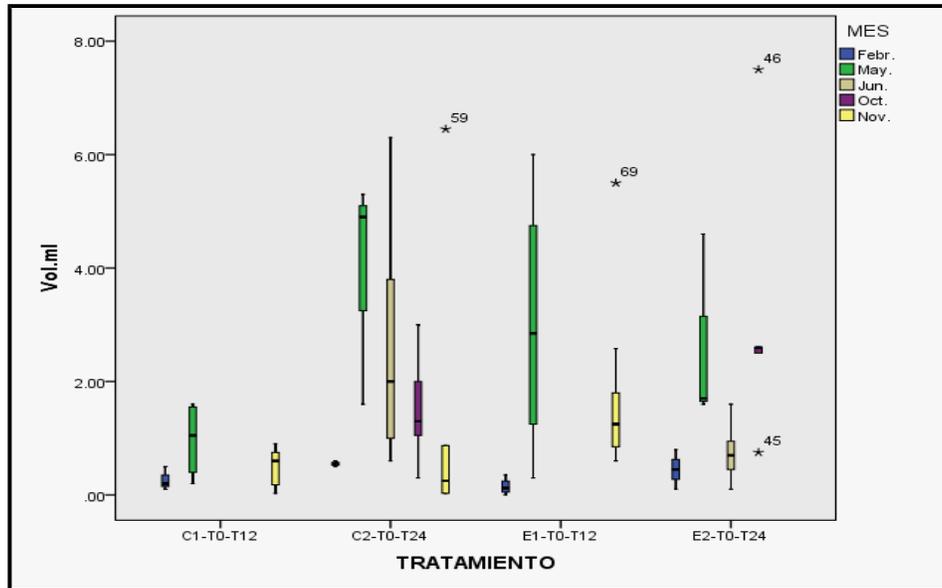


Figura 30. Diagrama de caja para el volumen de semen por tratamiento y mes en *C. carpio*.

Con respecto al volumen de semen se determinó que en el caso de los subgrupos testigos de las 12 y 24 horas presentaron en promedio menor cantidad, que al tiempo “0”, siendo ligeramente mayor a las 24 horas; mientras que en el grupo experimental la mayor cantidad se produjo a las 12 horas a pesar de tener un valor inicial ligeramente menor que el grupo evaluado a las 24 horas; en ambos casos los resultados después de la inducción fueron ligeramente superiores al tiempo “0”; sin embargo, el análisis de varianza como ya se indicó, no reportó diferencias significativas ($P > 0.05$) en los organismos que hubo respuesta (Cuadro 6).

El decaimiento del volumen de semen a las 12 y 24 horas en el grupo testigo, denota que los machos requieren mayor tiempo y condiciones para reanudar la espermiogénesis; mientras que el ligero incremento en el grupo experimental, se explica como resultado del efecto de la aplicación de la hormona que incide en la activación, pero no es suficiente el estímulo (Billard *et al.*, 1989). Sin embargo, como ya se señaló en el análisis de los meses, tratamiento, volumen, este ligero incremento solo se presentó en el mes de mayo.

Por otro lado, en el grupo testigo con respuesta a las 12 horas, se determinó que a las “12” horas 9 organismos no tuvieron semen, de los cuales 3 tampoco tuvieron a las “0” horas; en los testigos de 24 horas hubo 6 organismos que no tuvieron respuesta a las “24”; de los cuales 2 tampoco a las “0” horas; en el caso de los experimentales de las 12 horas, 6 no tuvieron a las “0” horas y solo 2 de ellos tuvieron una ligera respuesta a las 12 horas; mientras que el experimental de 24 horas fue el que mayor número de organismos presentó sin semen a las “0” horas, siendo 12 y a las 24 se incrementó a 14. Esto confirma que la hormona solo en el mes de mayo estimuló ligeramente la espermatogénesis, ya que en el resto de los meses no denota su efecto.



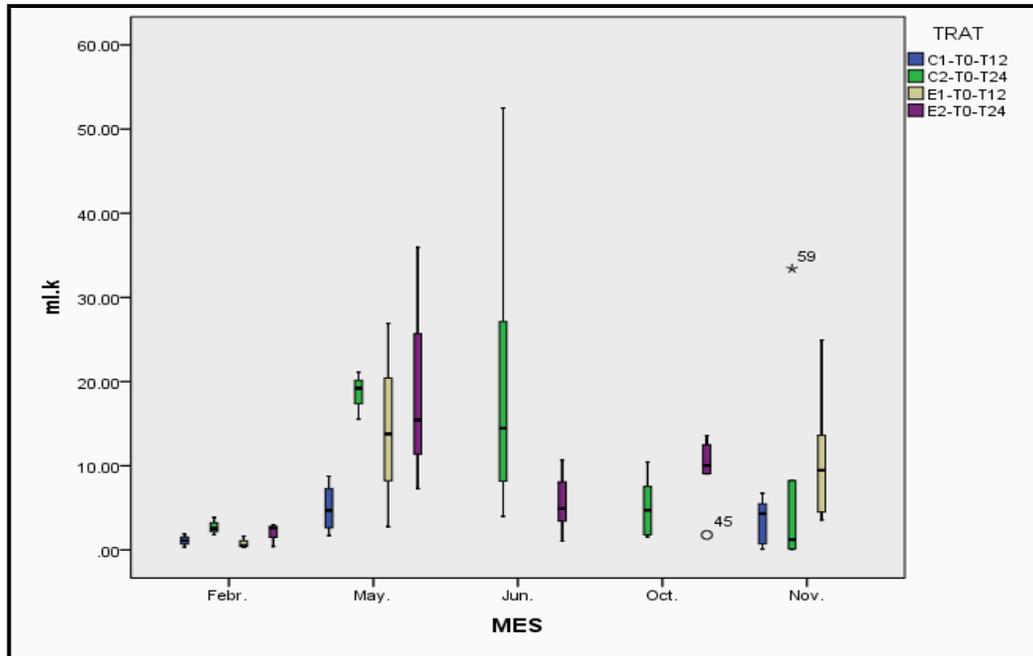


Figura 31. Diagrama de caja de la producción de semen (ml/kg) por mes y tratamiento en *C. carpio*.

El volumen del semen al relacionarlo con el peso de los organismos establece la unidad de comparación (mL/kg) y el análisis entre los meses y por tratamiento denotó que como en la variable anterior no hay diferencia significativa ($P>0.5$), en el mes de febrero y noviembre, la respuesta entre los controles y experimentales fue similar, entre los tratamientos de 12 y 24 horas; en el mes de junio, los valores de mL/kg son mayores en el grupo control de 24 horas con respecto al experimental; en octubre el grupo experimental de 24, fue ligeramente superior que el control; en el mes de mayo, se observa una mayor variabilidad en los experimentales y con media mayor que el control de 12 horas (fig. 31).

En cuanto a los resultados de mL/kg por tratamiento y mes, se observa que no hay diferencia significativa ($P>0.5$) entre los meses de estudio y tratamientos, solo que los subgrupos experimentales de 12 y 24 horas tienen mayor dispersión de resultados en los meses de mayo y noviembre. Por otro lado, en el mes de noviembre, cuando los organismos al tiempo "0" no tenían semen, la hormona no fue capaz de inducir la espermiación en ambos grupos, 12 y 24 horas (fig. 32).



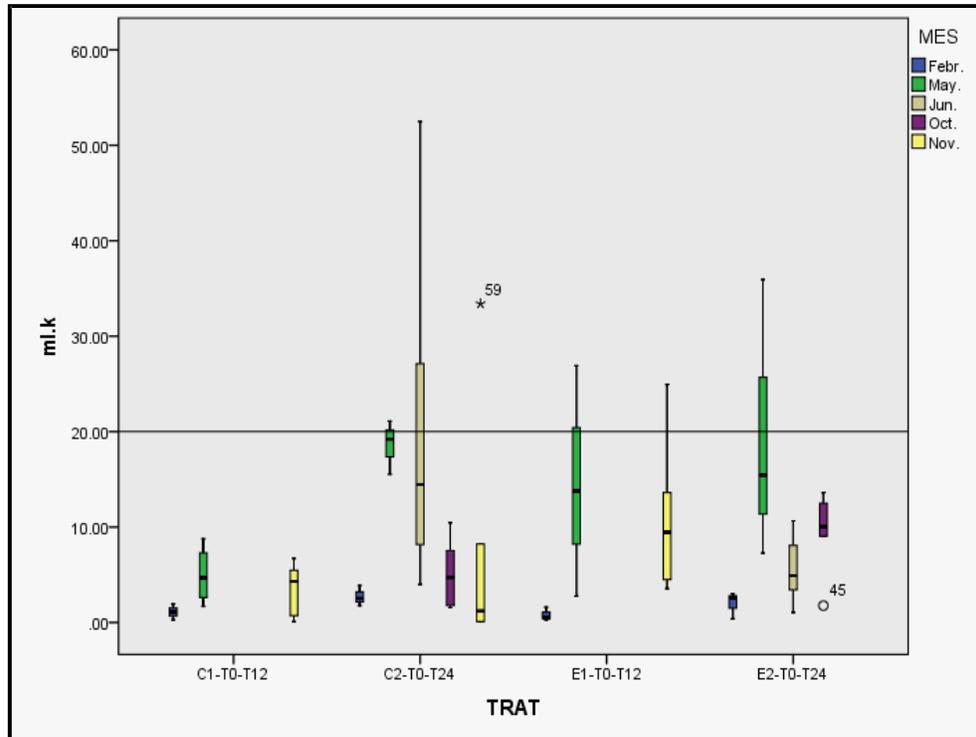


Figura 32. Diagrama de caja de los mL/kg de semen por tratamiento y mes en *C. carpio*.

Para esta misma especie, Billard *et al.*, (1987) en organismos de 1 a 3 kilos, utilizados como control, determinó en promedio en el tiempo inicial (T_0) 0.23 mL/kg el cual se redujo a 0.08 mL/kg a las 24 horas; mientras que los tratados con LHRHa con dosis de 10 μ g/K encontró (T_0) 0.0; (T_{24}) 4.12, valores similares a los encontrados en este estudio a pesar de que los organismos son de menor tamaño. Sin embargo, en su estudio, aunque tuvo en el tiempo (T_0) organismos que no reaccionaron, a partir de los resultados obtenidos en los tiempos posteriores se vio el efecto de la hormona en la estimulación de la espermiogénesis.

Roelants *et al.* (2000), indujeron organismos de tres kilos con sGnRH- A y Pimozine administrada oral y con inyección intraperitoneal, y obtuvo a las 12 horas con el primer tratamiento 2.2 mL/kg y a las 24, 3.5 mL/kg y con el segundo 1.5 mL/kg a las 12 horas y 4.4 mL/kg a las 24 horas, valores por debajo de los obtenidos con organismos de menor peso y LHRHa en ésta investigación, pero que sin embargo, bajo las condiciones del CATA no son significativos, toda vez que son similares a los obtenidos sin estimulación a los que se obtuvieron en la fase I de ésta investigación (Cuadros 4 y 5).



Noviembre	D. S.					±1.41	±2.47	±0.62	±4.43
	Densidad					0.87	0.85	1	0.87
	D. S.					±0.22	±0.12	±0.14	±0.06
	No. Espz X 10 ⁹					35.2	32.1	25.3	27.7
	D. S.					±5.1	±4.9	±5.7	±7.1
	NTE X 10 ⁹					26.2	30.1	8.0	86.5
	D. S.					±11.6	±23.0	±4.4	±94.2
	Peso	180.5	180.5	162.08	162.08	205.86	205.86	181.5	181.5
	D. S.	±62.94	±62.94	±40.13	±40.13	±70.65	±70.65	±45.82	±45.82
	Vol. (ml)	0.4	0.19	0.69	1.05	1.81	1.21		1.8
	D. S.	±0.12	±0.14	±0.57	±0.77	±2.09	±2.17		
	mL/kg	2.75	1.42	4.48	6.42	10.05	6.63		8.04
	D. S.	±1.12	±1.16	±3.25	±4.06	±10.65	±11.72		
	Densidad	0.81	0.88	0.87	0.99	0.86	1.07		0.98
	D. S.	±0.1	±0.23	±0.11	±0.1	±0.08	±0.11		
	No. Espz X 10 ⁹	32.4	31.6	31.1	26.8	26.8	29.5	27.0	17.8
	D. S.	±7.5	±7.1	±9.2	±7.4	±7.8	±10.0	±5.6	±4.7
	NTE X 10 ⁹	14.3	6.8	21.7	27.4	48.5	26.7		
	D. S.	±6.2	±5.1	±19.0	±17.1	±53.9	±46.5		

C1 - T₀ = Control de 12 horas al tiempo "0"C1 - T₁₂ = Control de 12 horas al tiempo "12"C2 - T₀ = Control de 24 horas al tiempo "0"C2 - T₂₄ = Control de 24 horas al tiempo "24"E1 - T₀ = Experimental de 12 horas al tiempo "0"E1 - T₁₂ = Experimental de 12 horas al tiempo "12"E2 - T₀ = Experimental de 24 horas al tiempo "0"E2 - T₂₄ = Experimental de 24 horas al tiempo "24"

El número de espermatozoides por mililitro en el resumen total de (T₁₂) y (T₂₄) horas tanto en los subgrupos testigos y experimental disminuyó, en los inducidos se tuvo en (T₁₂) un valor de 24.9 X 10⁹ y en (T₂₄) 21.9 X 10⁹, (Cuadro 6), éste último el menor obtenido en las dos fases; sin embargo, se consideran valores aceptables porque al compararlos con organismos entre 750 y 1000 g de peso, inducidos con un miligramo de CPE, después de 24 horas tuvieron 24.6 X 10⁹ y en los estimulados con 4 miligramos, se determinaron 20 X 10⁹ de acuerdo con Saad y Billard, (1987a); aunque si están por debajo del valor promedio de la fase I que fue de 34.5 X 10⁹.

Lo anterior, contrasta con lo reportado por Billard *et al.*, (1983) quienes consideran que el número de espermatozoides colectados en la carpa se puede incrementar con la inducción de LHRH. Aunque, en términos de espermatozoides por mililitro en lugar de incrementar decreció, pero en términos de producción final, en los experimentales a las 24 horas el número total fue dos veces el valor inicial, debido al volumen, sin embargo, no todos los organismos respondieron a la estimulación hormonal, sobre todo en el mes de noviembre (Cuadro 6).

La densidad calculada al inicio en los grupos testigos y experimentales fue menor a 1, salvo en los experimentales de (T₁₂) en que fue ligeramente mayor. De acuerdo con los resultados de la fase I, se considera que en ambos grupos los espermatozoides ya se habían hidratado y por lo tanto estaban maduros. Autores como Clemens y Grant, (1965); Billard, (1970); Berlinsky *et al.*, (1997) han señalado que cuando a un macho se le extrae frecuentemente el semen, se puede presentar decremento en la densidad como ocurrió con los resultados en los testigos en (T₁₂) y (T₂₄), en tanto que en los experimentales hubo un



ligero aumento; y no se determinaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre tratamientos y horas (Cuadro 6).

Por otro lado, la densidad del fluido seminal ésta determinado por la concentración de espermias, teniendo una correlación inversa (Clemens y Grant, 1965). En ésta investigación, en el grupo testigo disminuyó, al igual que el conteo de espermias, mientras que en los experimentales se incrementó ligeramente, pero al igual que con los testigos, el conteo de espermias fue menor, sin embargo, en ambos casos la densidad se mantuvo por debajo de 1.

A continuación se presentan los resultados obtenidos del análisis discriminante de los meses de estudio; determinando para el mes de febrero y octubre, que aunque los grupos son diferentes, no hay diferencias significativas entre los resultados de los experimentales contra el grupo control para ambos tratamientos; mientras que para mayo y noviembre, de igual manera se diferencian los subgrupos, pero para el mes de mayo el control de 24 horas se traslapa con los experimentales, de tal manera que realmente no hay un efecto de la hormona, y similar situación se presenta para el mes de noviembre, que confirma lo antes expuesto (fig. 33).

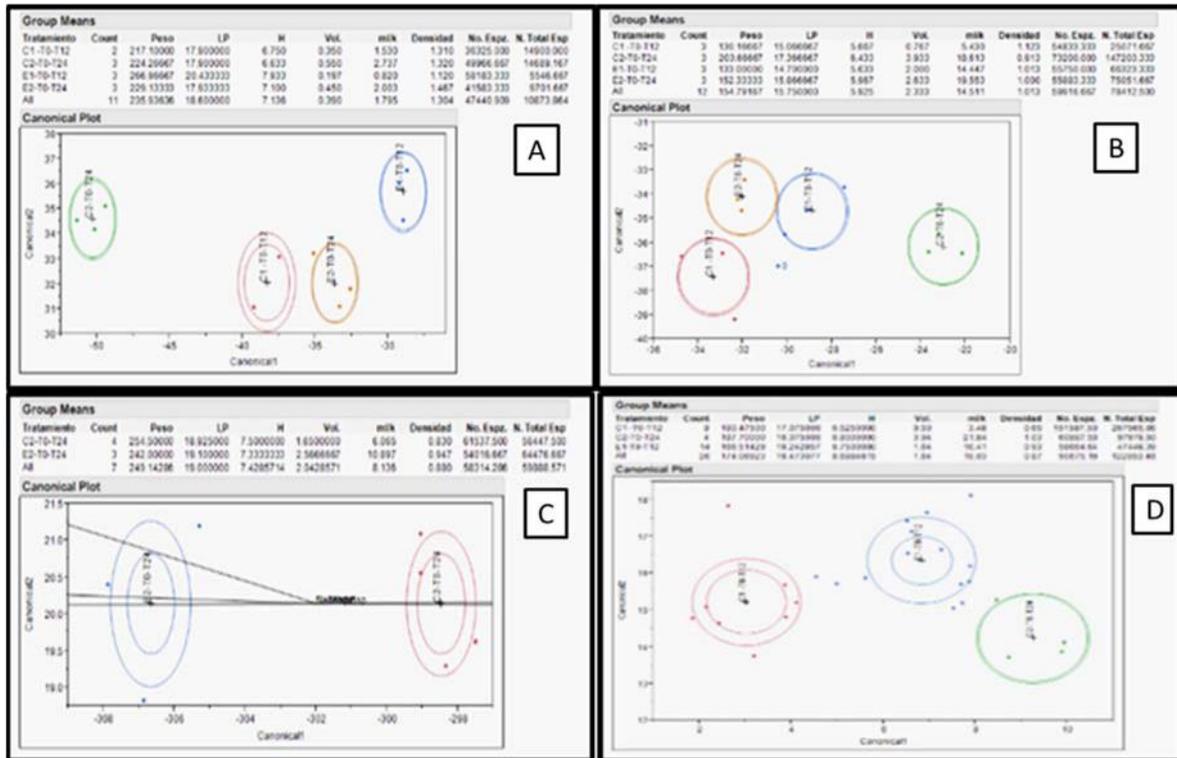


Figura 33. Análisis discriminante de los grupos testigos y experimentales. Se indican los meses muestreados febrero (A); mayo (B); octubre (C) y noviembre (D).

Con los resultados obtenidos se demuestra que la HLRHa, con dosis de 0.004 $\mu\text{L}/\text{kg}$ (Conceptal del Laboratorio Química Hoechst) no estimula la espermatogénesis de los machos de carpa, aunque la dosis fue menor a la utilizada por Billard *et al.*, (1983), que empleó 10 $\mu\text{L}/\text{kg}$ y 50 $\mu\text{L}/\text{kg}$, obteniendo mejores resultados con la primera. Estos autores señalan que es necesario realizar más investigaciones sobre las HLRHa ya que la respuesta a 50 $\mu\text{L}/\text{K}$ no tuvo el efecto esperado y de hecho el volumen decreció. Peter



(1980), encontró en la carpa dorada que altas dosis de LHRHa causa decremento en la secreción de hormona gonadotropa, por otro lado, cada análogo tiene receptores específicos que determinan su efectividad.

El hecho de tener dos tiempos de respuesta (T_{12}) y (T_{24}), estuvo con relación a que existen diferentes posturas respecto al periodo óptimo al inducir ya que Saad y Billard (1987a) utilizan 24 horas como tiempo de respuesta y otros autores como Woynarovich y Horváth (1980), asignan 12 horas. De acuerdo con los resultados obtenidos, en los organismos testigo y experimentales, las menores diferencias en las variables analizadas con respecto al (T_0) se presentaron en el (T_{12}), por otro lado, se ha reportado que después de 48 horas declina la producción de semen aunque haya sido estimulada, como demostraron Billard *et al.*, (1987a). Estos mismos autores utilizando CPE con dosis de 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ obtuvieron mayor producción a tiempo (T_{24}), después a las (T_{48}) y a partir del (T_{96}) fue decreciendo hasta el octavo día; el decremento se presentó a partir de las 48 horas aun cuando los peces no habían sido muestreados previamente.

Lo anterior se apoya con los resultados obtenidos por autores como Stancey *et al.*, (1994), que encontraron que 14 horas después de la inducción con Ovaprim, obtuvieron la mayor producción de semen, comparativamente con otras hormonas como la $17\alpha 20\beta\text{-P}$ y que el costo de ambas es similar; sin embargo, con la segunda se reduce el manejo de los organismos, ya que se utiliza disuelto en el agua, de tal manera que el estrés es mínimo. Por otro lado, el uso de feromonas está abriendo un nuevo campo de estudio de la madurez de las especies de interés comercial.

Las hormonas más empleadas para inducir la maduración y por lo tanto la espermiación son:

- a) CPE, que es la que mejor funciona (Billard *et al.*, 1983; Saad y Billard, 1987a);
- b) LHRH y sus análogos, desde inyección o en implantes con resultados variados, ya que en inyección funciona mejor (Billard, 1983; Well y Crim, 1983; Berlinsky, *et al.*, 1997); y pimizide (Billard, 1987).
- c) La Gonadotropina Coriónica Humana; la Gonadotropina y la Prolactina (Billard 1983),
- d) La $17\alpha 20\beta\text{-P}$ (Barry *et al.*, (1990); la 11 ketotestosterona (Billard, 1987).

Sancey *et al.*, (1994) plantean que en la inducción a la reproducción existen técnicas invasivas en las que se utilizan hormonas y las técnicas no invasiva en que la manipulación del medio o social lo regula, dentro de éstas últimas en el caso de los machos, está cobrando relevancia el hecho de que se ha demostrado que las hembras maduras estimulan la espermiación en machos no estimulados debido a la liberación de feromonas (Billard *et al.*, 1989).

Apoyando lo anterior, se ha demostrado que la GtH puede ser estimulada por la feromona liberada durante la maduración final del ovocito. Desde luego, el incremento en GtH es producido por un aumento de la LHRH en la hipófisis, la cual inicia el mecanismo. Por lo tanto en la producción de semen, la interacción de los sexos debe ser tomada en cuenta (Billard *et al.*, 1989; Billard y Cosson, 1992).



VII. 2. 2. Motilidad

Otra característica de la evaluación del semen es la motilidad de los espermatozoides, ya que numerosos estudios sugieren que la duración en peces está relacionada con la capacidad de fertilización, limitante en la fecundación, porque depende de ella que el espermatozoide localice y fecunde al óvulo, quien conserva el micrópilo abierto durante un minuto (Kudo, 1982; Biegniewska *et al.*, 2010; Berois *et al.*, 2011).

En general se acepta que la motilidad de los espermatozoides en las especies de agua dulce es de corta duración y es deseable incrementarla; por otro lado, los espermatozoides de los teleósteos son inmóviles dentro del testículos y se mantienen inmóviles cuando se diluyen en soluciones isosmóticas, pero cuando se exponen a medios hiposmóticos, se activan inmediatamente como es el caso en la carpa (Billard y Cosson, 1992; Bastani *et al.*, 2010; Bustamante *et al.*, 2018).

Los resultados de la motilidad evaluada en un grupo de machos, con diferentes soluciones, se presentan en el cuadro 7, al respecto, se determinaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos en T_1 y T_2 ; y la Prueba de Tukey estableció que el tratamiento con solución fertilizante es diferente que los demás. Al evaluar éstos resultados, se determina que la solución fertilizante, mantiene por más tiempo su poder fecundante, ya que la duración de la motilidad considerando los tiempos T_1 y T_2 , se incrementaron al menos al doble con respecto a las otras soluciones (fig. 34).

Cuadro 7. Estadísticos descriptivos (media \pm D. S.) de la motilidad espermática con tres soluciones activadoras en la carpa común (*Cyprinus carpio*).

Estadístico	TA ₁ (seg.)	TA ₂ (seg.)	TR ₁ (seg.)	TR ₂ (seg.)	TS ₁ (seg.)	TS ₂ (seg.)	TF ₁ (seg.)	TF ₂ (seg.)
Promedio	45.3	107.8	46.8	128.8	49.1	120.3	109	470
D.S.	10.9	32.1	9.7	68.8	9.6	26.9	31	144
Valor Máximo	85	191	71	339	70	178	190	657
Valor Mínimo	27	48	20	55	35	76	65	231

TA₁= Agua, tiempo 1

TA₂= Agua, tiempo 2

TR₁= Solución Ringer, tiempo 1

TR₂= Solución Ringer, tiempo 2

TI₁= Solución Salina, tiempo 1

TI₂= Solución Salina, tiempo 2

TF₁= Solución Fertilizante, tiempo 1

TF₂= Solución Fertilizante, tiempo 2

El T_1 alcanzado con la solución fertilizante fue de 109 s en promedio, y con el agua de 45.3; el T_2 fue de 10 minutos con la solución fertilizante y de 107.8 s en agua; por otro lado, se considera que el decaimiento del movimiento flagelar que da inicio al T_2 ésta asociado al decremento del ATP intracelular (Morizawa *et al.* 1983; Billard y Cosson 1992).

De acuerdo con los resultados obtenidos por Saad y Billard (1987b); Alavi y Cosson (2006) la presión osmótica que debe tener la solución para activar los espermatozoides de carpa es de 150 mOsm/kg que es similar a la del líquido seminal, y, Bastami, *et al.*, (2010) señalan que la motilidad de los espermatozoides de la carpa se inicia en medios con una presión osmótica inferior a 150 - 200 mOsm/kg⁻¹, y que la exposición de los espermatozoides a condiciones osmóticas extremas produce cambios en la morfología y por lo tanto en la capacidad de movimiento, que es lo que ocurre con la orina.



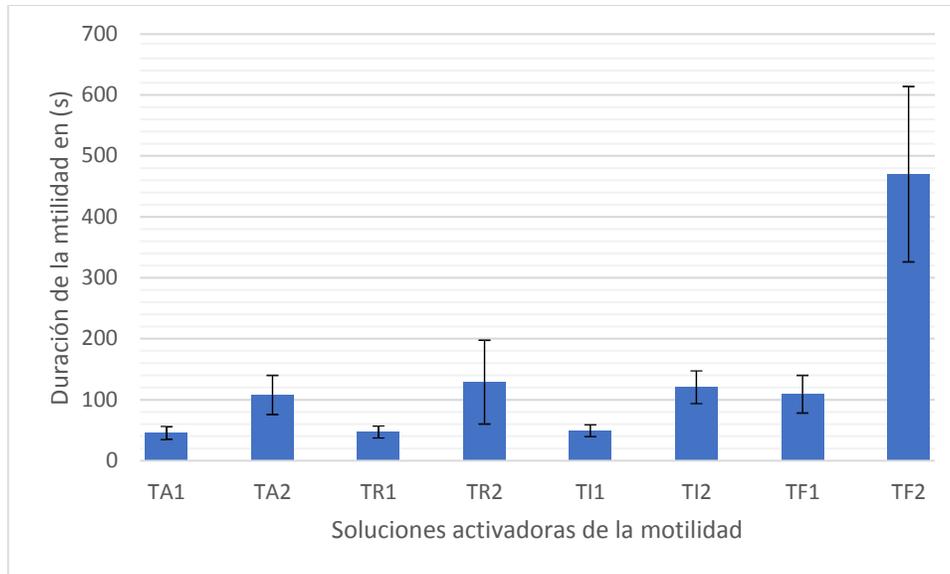


Figura 34. Motilidad promedio y desviación estándar entre el T_1 y T_2 con respecto a las diferentes soluciones.

La mayor parte de la utilización de ATP está vinculada a la dineína ATP-asa localizada en el axonema del flagelo (Inaba *et al.*, 1999; Cosson *et al.*, 2008a, b). En los espermatozoides de carpa, la concentración de ATP se reduce a valores de un tercio a una décima parte del contenido inicial durante la motilidad intensa. Por otro lado, la forma de almacenar el semen se debe seleccionar con atención para mantener la concentración de ATP y la carga de energía de adenilato el mayor tiempo posible cerca de los valores fisiológicos.

El movimiento flagelar en la trucha es inhibido por el potasio, mientras que en la carpa lo promueve (Billard y Cosson, 1992; Morizawa *et al.*, 1993). Saad y Billard (1987b) encontraron que con la solución compuesta de NaCl 45 mM, KCl 5 mM, Tris 20 mM con pH de 8, alcanza minuto y medio en comparación con los 30 s con agua, por lo tanto el pH también juega un papel en la motilidad debiendo estar entre 7.5 a 8.5.

Bastami, *et al.*, (2010) encontraron que la motilidad en carpa utilizando una solución formada de: 50 mM de NaCl, 30 mM de KCl, 30 mM de Tris, pH = 8.5 y otra de: 50 mM de NaCl, 40 mM de KCl, 30 mM de Tris, pH = 8,5, obtuvieron con la primera 627 ± 3.5 s y 89 ± 2.54 de porcentaje de motilidad y con la segunda 510 ± 7.07 s y 86 ± 1.5 de porcentaje de motilidad.

La cantidad de diluyente utilizado para cuantificar la motilidad depende de la especie, Billard y Cosson (1992), Saad *et al.*, (1988), Bustamante *et al.*, (2018), recomiendan 1/1000 para la activación simultánea de todos los espermatozoides; mientras que Ciereszko *et al.*, (2000) utilizan 10 microlitos de semen por 100 microlitos de solución activadora, Bastami, *et al.*, (2010), para que la activación sea uniforme, primero prediluye el semen en una solución isotónica, de ahí toma 10 μ l del semen diluido (en 2000 μ L) y agrega las soluciones a evaluar.

La variación en la tasa y la duración de la motilidad entre los diferentes machos también se pueden atribuir al efecto de la contaminación del semen durante la extracción,



ya sea con agua, materia fecal u orín y la falta de condiciones ambientales para el almacenamiento que provocan la activación (Rodríguez *et al.*, 2009; Bastami, *et al.*, 2010). Aunque también hay referencias que señalan que la motilidad varía en vigor y duración, entre machos y aún entre el mismo macho dependiendo de la madurez, condiciones de alimentación, edad, factores ambientales, periodo de reproducción o dilución y desde luego la composición iónica y la osmolaridad de la solución empleada (Ciereszko *et al.*, 2000; Akcay *et al.*, 2004).

Tomando en cuenta lo anterior, la estimación de la motilidad se ve influenciada por múltiples factores, es decir, depende si las células espermáticas son muchas o pocas lo cual determina que el porcentaje de motilidad pueda resultar sobrevalorado o subvalorado; también explica la diversidad de tiempos de motilidad reportados para la misma especie.

En ésta investigación, aunque el semen no fue diluido y no se utilizó una cantidad determinada, pero si similar, todos los tratamientos utilizados tuvieron la motilidad espermática del T₁ y T₂ similar al agua y la solución fertilizante la aumentó significativamente, razón por la que se recomienda utilizarla en la reproducción artificial de la carpa.



VIII. CONCLUSIONES

Del análisis de los resultados se puede afirmar que el volumen del líquido seminal es un buen indicador de la madurez sexual, sobre todo al relacionarlo con los mL/Kg de peso del organismo.

Dadas las condiciones climáticas y del agua del Centro Acuícola de Tezontepec es posible extraer semen todo el año, aunque en mayor proporción en los meses cálidos, considerados como la estación “natural” de desove, determinada por la madurez de las hembras, que en los fríos.

Los machos producen semen no en función de su talla, sino de la madurez, influenciada por la estación del año, por lo que es posible encontrar organismos pequeños y grandes que tengan buenas cantidades de semen, o que carezcan de él.

El número de espermatozoides por mililitro, presenta variabilidad debido al estado de madurez del organismo, causada por la hidratación de los espermias y las condiciones climáticas.

El promedio del número de espermatozoides por mililitro determinado para la carpa común fue de 34.5×10^9 .

La densidad promedio del semen en la estación natural de desove es ligeramente menor de 1.

La inducción con LHRHa solo incrementó ligeramente en el mes de mayo el volumen del semen, sin alterar significativamente la calidad del mismo, pero no tuvo efecto en el resto de los meses de estudio.

De acuerdo con los resultados se establece que el empleo de la LHRHa, Conceptal de Química Hoechst no incrementa significativamente la producción de semen, razón por la que no se recomienda su uso.

En cuanto a la motilidad se establece que en agua la mayor actividad dura 45 s y a los 107s declina totalmente.

La motilidad puede ser incrementada utilizando solución fertilizante, con duración de 109 s en el primer movimiento, vigoroso y 470 s en el segundo, cuando decae hasta que cesa.



IX. LITERATURA CITADA

Aguilar, V. (2005). Especies invasoras: una amenaza para la biodiversidad y para el hombre. CONABIO. Biodiversitas: 7 – 10.

Aguilera, P., Quintana, A. y Zarza, E. (1986). *Piscicultura de agua dulce*. Manual Recetario. Bagre- Carpa- Tilapia. SEPESCA. México. 461 p.

Aguilera, P., Zarza, E. y Sánchez, R. (1988). La carpa y su cultivo. FONDEPESCA. Secretaría de Pesca. México. 46 p.

Aizen, J., Hollander-Cohen, L., Shpilman, M., y Levavi-Sivan, B. (2017). Biologically active recombinant carp LH as a spawning-inducing agent for carp. *Journal of Endocrinology* 232 (3): 391- 402.

Alavi, S., y Cosson, J. (2006). Sperm motility in fishes (II) effects of ions and osmolality: A review. *Cell Biology International*.

Alavi, S., Cosson, J., Coward, K., y Raffiee, G. (2008). *Fish Spermatology: Implications for aquaculture management*. Oxford, UK. Alpha Science International. 475 pp.

Alikhuni, K. H. (1966). Synopsis of biological data of common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus), 1758 (Asia and Far East). FAO Fisheries Synopsis No.31.1. FAO, Rome, Italy. 77 pp.

Álvarez del Villar, J. (1970). Peces mexicanos. Comisión Nacional Consultiva de Pesca. México. 166 p.

Álvarez, P. (2000). Marco Institucional del Desarrollo Acuícola en México. *In: Estado de Salud de la Acuicultura*. SEMARNAP. INP. DGIA. México. 1 -17 pp

Anónimo, (1976). Centros de reproducción y especies piscícolas. Fideicomiso para el Desarrollo de la Fauna Acuático. México. 64 pp.

Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca (2018). Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. Consultado en línea: https://www.conapesca.gob.mx/work/sites/cona/dgppe/2018/ANUARIO_ESTADISTICO_2017.pdf.

Bakos, J. (1976). Cross breeding Hungarian races of common carp to develop more productive hybrids. FAO. Thechnical Conference on Aquaculture.

Balon, E. K. (1995). Origin and domestication of the wild carp, *Cyprinus carpio*: from Roman gourmets to the swimming flowers. *Aquaculture*. 129. 3-48.

Bardach, J., Ryther, J., y McLarney, W. (1986). *Acuicultura. Crianza y Cultivo de Organismos de Agua Dulce y Marinos*. AGT Editor. México. 884 pp.

Barry, T., Katsumi, A., Takuji, O., y Isao, H. (1990). The shift from C-19 to C-21 steroid synthesis in spawning male common carp, *Cyprinus carpio*, is regulated by the



inhibition of androgen production by progestogens produced by spermatozoa. *Biology of Reproduction*. 43: 105 -112.

Bastami, K. D., Imanpour, M. R., y Hoseinifar, S.H. (2010). Sperm of feral carp *Cyprinus carpio*: optimization of activation solution. 18: 771-776.

Bastardo, H., Guedez, C., y León, M. (2004). Características del semen de trucha arco iris de diferentes edades, bajo condiciones de cultivo en Mérida, Venezuela. *Zootecnia Tropical*. 22(3): 1.8.

Bauer, O., Musselius, V., y Strelkov, Y. (1973). Diseases of pond fishes. Israel Program for Scientific Translations. Jerusalem. 220 pp.

Baumann, P., Jaeger, J. y Elliot, K. (1983). Freshwater Companion Fisherman's Van Nostrand Reinhold Company Limited. 203 pp.

Bekh, V., Hrytsyniak, I. Bogeruk, A., Lukanova, I., Bialowas, H. Imazarow, I., Rakus, K. Jurecka, P. Pilarczyk, A. Kurkubet, G., Domanchuk, V., Jeney, Z., Gorda, S., Bakos, J., Kocour, M., Gela, D., Slechtova, V., Kopecka, J., Slechta, V., Rodina, M., Flajshans, M., Tarazevich, E., Semenov, A., Kniga, M. Sazanov, V., Dudarenko, A. y Vashkevich, L. (2008). Catalogue of carp breeds (*Cyprinus carpio* L.) of the countries of central and Eastern Europe. Russian. Ministry of Agriculture of the Russian Federation.

Bermúdez, E., Rodríguez, M., Escárcega, y S., Marín, L. (2000). Cultivo de carpa. *In: Estado de Salud de la Acuicultura*. SEMARNAP. INP. DGIA. México. 183 -216 pp.

Berois, N., Arezo, M., y Papa, N. (2011). Interacciones de gametos en peces teleósteos: la envoltura del huevo. Estudios básicos y perspectivas como biomonitor ambiental. *Biol. Res*. 44: 119-124.

Berlinsky, D., King, V., Hodson, G., y Sullivan, C. (1997). Hormone induced spawning of summer flounder *Paralichthys dentatus*. *J. World Aquaculture Science*. 28 (1):79-86.

Beulbens, K., Eding, E., Gilson, P., Olivier, F., Komen, J., y Richter, C. (1997). Gonadal differentiation, intersexuality and sex ratios of European eel (*Anguilla anguilla* L.) maintained in captivity. *Aquaculture*, 153: 135-150.

Biegniewska, A., Zi, M., Rurangwa, E., Ollevier, F., Swierczynski, J., y Skorkowski, E. F. (2010). Some differences between carp (*Cyprinus carpio*) and African catfish (*Clarias gariepinus*) spermatozoa motility. *J. Appl. Ichthyol*. 26: 674-677.

Billard, R. (1970). Ultrastructure comparée de spermatozoides de quelques poissons Téléosteés. *In: Comparative Spermatology*. Ed. B. Baccetti. Academic Press, New York. Págs. 71 – 77.

Billard, R. (1986). Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reproduction Nutrition Développement*. 26 (4): 877 – 920.

Billard, R. (1990). Sermatogenesis in teleost fish. *In: Marshall's Physiology of Reproduction*. (Edt. Lamming, G.). Fourth Edition. Vol. 2. Reproduction in the male. Churchill Livingstone. Edinburgh, London, Melbourne and New York. Pág 183 – 212.



- Billard, R. (1995). Les carpes. Biologie et élevage. INRA, Paris. 387 pp.
- Billard, R., Fostier, A., Weil, C. y Breton, B. (1982). Endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 39: 65-79.
- Billard, R., Choisis, J. P., y Reinaud, P. (1983). Stimulation of spermiation in carp in response to LHRH and D-ALA 6-LHRH 6thylamide. *Aquaculture*, 35, 173-176.
- Billard, R., y Cosson, J. (1992). Some problems related to the assessment of sperm motility in fresh water fish. *J. Exp. Zool.* 261:122 – 131.
- Billard, R., Cosson, J., Crim, L., y Suquet, M. (1995). Sperm physiology and quality. *In: Broodstock management and eggs and larval quality.* Edit. Bromage, N., Roberts, R. Blackwell Science. Great Britain. Pp. 25 – 52.
- Bobé, J., y Labbé, C. (2010). Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165(3): 535 - 548.
- Borges, A., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Zanini, R., Amaral, F., Grillo, M.L., Oberst, E.R., y Wassermann, G.F. (2005). Biochemical composition of seminal plasma and annual variations in semen characteristics of jundiá *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pimelodidae). *Fish Physiol. Biochem.* 31, 45–53.
- Breton, B., Horoszewicz, L., Billard, R. y Bieniarz, K. (1993). Temperature and reproduction in tech: effect of a rise in the annual temperature regime on gonadotropin level, gametogenesis and spawning.I. The male. *Reprod. Nutr. Dev.*, 20 (1A): 105-18.
- Breton, B., y Weil, C. (1973). Endocrinologie comparee effets du LH/FSH-RH synthétique et d'extraits hypothalamiques de carpe sur la secretion d'hormone gonadotropic en vivo chez la carpe (*Cyprinus carpio* L.) *C. R. Hebd Seances Acad. Sci.* 277, 2061-2064.
- Bustamante – González, J., Cortés –García, A., y Rodríguez – Gutiérrez, M. (2018). Crecimiento y calidad espermática en trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss* (Teleostei: Salmonidae) durante la temporada reproductiva. *Hidrobiológica*. 28 (2): 163 – 170.
- Cabrita, E., Martínez, S., Gavaia, P. J., Riesco, M. F., Valcare, D., Saeasquete, C., Herráez, M. y Robles, V. (2014). Factors enhancing fish sperm quality and emerging tools for sperm analysis. *Aquaculture*. 432: 389-401.
- Cerda, J., Pou, M., Gallego, L., y Comas, M. (1995). Economic importance of mirror carp (*Cyprinus carpio* var. *specularis*) release in agricultural irrigation ponds on the island of Mayorca, Spain. *Aquaculture*. 129: 475 – 478.
- Chang, J. P. y Peter, R. E. (1983). Effects of dopamine on gonadotropin release in goldfish. *Carassius auratus*. *Neuroendocrinology* 36, 351–357.
- Chaudhuri, H. (1976). Use of hormones in induced spawning of carp. *Fish. Res. Board Can.* 33: 940 947.



Cházari, E. (1884). Piscicultura de Agua Dulce. Secretaría de Pesca. Edición Facsimilar. (1984). México. 828 pp.

Cherfas, N., Peretz, Y., y Ben – Dom, N. (1992). Inheritance of the orange type pigmentation in Japanese carp (koi) in the Israeli stock. Israeli J. Aquacult.- Bamidge. 44: 32-34.

Ciereszko, A., y Dabrowski, K. (1993). Estimation of sperm concentration of rainbow trout, white fish and yellow perch using a spectrophotometric technique. Aquaculture. 109: 367-373.

Clemens, H., y Grant, B., (1965). The seminal thinning response of carp (*Cyprinus carpio*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*) after injections of pituitary extracts. COPEIA. No. 2.

Cosson, J. (2008). Methods to Analyse the Movements of Fish Spermatozoa and their Flagella. In: Fish spermatology. Eds. Alavi, S.M.H., Cosson, J., Coward, K., Rafiee, G. Alpha Science, Oxford, pp. 64-102.

Cruea, D., (1969). Some chemical and physical characteristics of fish sperm. Trans. Am. Fish. Soc., 98: 785- 788

Cruz, C. (2001). Técnicas de laboratorio para la evaluación de la calidad seminal en peces. Orinoquía. 58(1): 155-163.

Cruz, G., y Murillo, L. (1992). Estrategias para el manejo de reproductores de ciprínidos. In: Temas actuales sobre reproducción de teleósteos. Edit. Martha Rodríguez. Secretaria de Pesca. Universidad Autónoma Metropolitana. México. 37 -56 pp.

Donaldson, E. M. Hunter, G., y Dye, H. M. (1982). Induced ovulation in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), 2: preliminary study of the use of LH-RH and two high potency LH-RH analogues. Agris Science.

Donaldson, E. M., y Hunter, G. (1983). Induced final maturation ovulation, and spermiation in cultured fish. In: Fish Physiology. Edit W. S. Hoar and D. J. Randall y E. M. Donaldson E. Vol. IXB: Academic Press. 351-395.

Emel'yanova, N., y Makeeva, A. (1985). Ultrastructure of spermatozooids of some cyprinid fishes (Cyprinidae), J. Ichthyol., 25 (4): 66 - 75.

Epler, P., Marosz, E., y Bieniarz, K. (1979). Effect of teleost pituitary gonadotropins on the in vitro maturation of carp oocytes. Acuaculture. 18: 379-382.

FAO. (2010). Yearbook of Fisheries Statistic Summary Tables. <http://www.fao.org/fi/statist/summtab/default.asp>.

Fauvel, C., Suquet, M., y Cosson, J. (2010). Evaluation of fish sperm quality. Journal of Applied Ichthyology. 26(5): 636-643.



[FIDEFA. \(1976\). Centros de Reproducción de Especies Piscícolas. Secretaría de Industria y Comercio. México. 64 pp.](#)

FISH BASE. (2010). www.fishbase.org

Fostier, A., Jalaber, T., Billard R., Breton R., y Zohar Y. (1983). The gonadal steroids. *In: Fish physiology*. Edit. W. S. Hoar and D. J. Randall & E. M. Donaldson. Vol. 9A. Academic Press. Cap 7.

Gerber, D., Varela, S., Schwartz, J., Dahl, C., Lucia, T., Bilhalva, L., y Kunde, E. (2016). Toxicity evaluation of parboiled rice effluent using sperm quality of zebrafish as bioindicator. *Ecological Indicators* 61: 214–218.

Grier, H. (1981). Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fish, *Am. Zool.* 21:345- 357.

Grier, H., Linton, J., Leatherland, J., y de Vlaming, V. (1980). Structural evidence for two different testicular types in teleost fishes. *Am. J. Anat.* 159: 331 – 357.

Grier, J. H. y Uribe, A. M. (2009). The testis and spermatogenesis in teleosts. *In: Reproductive Biology and Physiology of fishes (Agnathans and bony fishes)*. Edit. Jamieson, B.G.M. Science Publishers. USA. 119-141.

Hadi - Alavi, S. M., Cosson, J., Coward, K. y Rafiee, G. (2008). *Fish spermatology*. Alpha Science International. Oxford, U.K.

Hajirezaee, S., Amiri, B. M., y Miruaghefi, A. (2010). Fish milt quality and major factors influencing the milt quality parameters: A review. *Afr. J. of Biotechnol.* 9 (59): 9148-9159.

Harvey, B., y Hoar, W. (1979). *Teoría y práctica de la reproducción inducida en los peces*. Centro Internacional de Investigación para el Desarrollo. Otawa, Ont. CIID. 48 pp.

Hickling, C. (1971). *Fish Culture*. Faber and Faber. London. 317 pp.

Hirose, K., y Ishida, R. (1974). Induction ovulation in the ayu, *Plecoglossus altivelis*, with LH-releasing hormone (LH-RH). *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 40, 1235-1240.

Horváth, L., Tamás, G., y Coche, A. (1986). *La carpa común. Parte 1. Producción masiva de huevos y prealevines*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. 87 pp.

Horváth, L., y Orbán, L. (1995). Genome and gene manipulation in the common carp. *Aquaculture*. 129:157-181.

Horváth, L., Tamás, G. y Seagrave, C. (1992). *Carp and Pond Fish Culture*. Fishing News Books, Blackwell Scientific Publications Ltd., UK, 154 pp.



Hossain, M., Johannisson, A., Wallgren, M., Nagy, S., Siqueira, A.P. y Rodríguez, M., (2011). Flow cytometry for the assessment of animal sperm integrity and functionality: state of the art. *Asian Journal of Andrology*. 13 (3): 406–419.

Huet, M. (1983). Tratado de piscicultura. Ediciones Mundi Prensa, Madrid. 728 p.

Hulata, G. (1995). A review of genetic improvement of the common carp (*Cyprinus carpio* L.) and other hybrids by crossbreeding, hybridization and selection. *Aquaculture* 129: 143-155.

Hunter, G. A., y Donaldson, E. (1983). Hormonal sex control and its application to fish culture. *In: Fish Physiology*. Edit. W. S. Hoar and D. J. Randall & E. M. Donaldson. Vol. 9B: Academic Press. 223 - 303.

Idler, D., y Ng, T. B. (1983). Teleost gonadotropins: isolation, biochemistry, and function. *In: Fish physiology*. Edit. W. S. Hoar, and D. J. Randall, D. & E. M. Donaldson. Vol. IX A., Cap. 5.

Inegy. (1995). Cuaderno Estadístico Municipal. Tezontepec de Aldama. Estado de Hidalgo. Gobierno del Estado de Hidalgo, Inegy, H. Ayuntamiento Constitucional de Tezontepec de Aldama. México. 120 pp.

Irnazarow, I. (1995). Genetic variability of polish and Hungarian carp lines. *Aquaculture*. 129:215-219.

Islam, S., y Akhter, T. (2011). Tale of Fish Sperm and Factors Affecting Sperm Motility. A Review. *Advances in Life Sciences*. 1 (1): 11-19

Juárez, R., y Palomo, G. (1988). Acuicultura. Bases Biológicas del Cultivo de Organismos Acuáticos. Consejo Nacional para la Enseñanza de la Biología, A. C. Compañía Editorial Continental, S. A. de C. V. México. 95 pp.

Kah, O., Lethimonier, C., Somoza, G., Guilgur, L. G., Vaillant, C., y Lareyre, J. J. (2007). GnRH and GnRH receptors in metazoa: A historical, comparative, and evolutive perspective. *Gen Comp Endocrinol* 153: 346 -364 pp

Kiewek, N. (2004). Contribución al conocimiento de la reproducción en cautiverio de la cabrilla sardinera *Mycteroperca rosacea*. Tesis de Maestría. CIBNOR. México. 93 pp.

Kirpichnikov, S. (1999). Genetics and breeding of common carp. Institute National de la Recherche Agronomique, CEDEX. Paris, France. Editions. 98 pp.

Koehn, J. (2004). Carp (*Cyprinus carpio*) as a powerful invader in Australian waterways. *Journal Freshwater Biology*. 49, 882–894.

Kohlmann K., y Kersten P. (1999). Genetic variability of German and foreign common carp (*Cyprinus carpio* L.) populations. *Aquaculture*. 173: 435-445.

Komen, J., y Richter, C. (1993). Sex control in carps. *In: Recent Advances in Aquaculture – IV*. Edit. J. F. Muir, y R. J. Roberts. Blackwell Scientific Publications. London. 786 pp.



Koya, Y., Fujita, A., Niki, F., Ishihara, E., y Miyama, H. (2003). Sex differentiation and pubertal development of gonads in the viviparous mosquitofish *Gambusia affinis*. *Fisheries Science*. 66: 63 -70.

Kriangsak, M., Niwooti, W., y Doungporn, A. (2010). Effects of extender type, sperm volume, cryoprotectant concentration, cryopreservation and time duration on motility, survival and fertilization rates of Mekong giant catfish sperm. *Journal of Science and Technology*. 4(03): 417-427.

Kudo, S. (1992). Ultrastructure and ultracytochemistry of fertilization envelope formation in the carp eggs. *Develop. Growth and Devr.* 24 (4): 327 – 339.

Kuradomi, Y., Sousa, T., Foresti, F., Schulz, W., Bogerd, J., Moreira, G., Furlan, R., Almeida, A., Maschio, R. y Batlouni, R. (2016). Effects of re-stripping on the seminal characteristics of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) during the breeding season. *General and Comparative Endocrinology*. 225: 162–173.

Lagler, K., Bardach, J., Miller, R., y Passino, D. (1984). *Ictiología*. AGT. S. A. México. 489 pp.

Lahnsteiner, F., y Patzner, R. A. (2008). Sperm morphology and ultrastructure in fish. *In: Fish Sermatology*. Edit. Alavi, M. H., Cosson, J., Coward, K., y Raffieree, G. Alpha Science International. Oxford, U. K. 1- 61 pp.

Lam, T. (1982). Applications of endocrinology to fish culture. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39: 111 -137.

Li, S., Lin, R., y Wong, A. (2002). Effects of gonadotropin-releasing hormone on growth hormone secretion and gene expression in common carp pituitary. *Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol* 132: 335-341.

Lin, H., y Peter, R. (1991). *Aquaculture*. *In: Cyprinid Fishes. Systematic, Biology and Exploitation*. Edit. Winfield, I., Nelson, J. Chapman and Hall. Great Britain. 622 pp.

Luchini, L. (1990). Revisión y compilación sobre técnicas de reproducción inducida. *Boletín de Red regional de Acuicultura*. Bogotá - Colombia). 4 (1), 3-8.

[Maddocks](#), K. [y Cundiff](#), J. (1998). *The Beekay Guide to Carp Rigs* Ed. Agentura Fox, pp. 206.

Malkinson, A. M. (1980). *Acción hormonal*. Cuadernos de Biología. Editorial Omega. España. 74 pag.

Maria, N., Costa, H., Pincheiro, J., y Falanghe, C. (2012). Hormonal induction and semen characteristics of tambaqui *Colossomama macropomum*. *Cigoto* 20 (1): 39-43.

Mateos, J., Mañanos, E., Carrillo, M. y Zanuy, S. (2002). Regulation of follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) gene expression by gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and sexual steroids in Mediterranean Sea bass. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 132: 75-86.



Mehdi, Taati M., Jafaryan, H., Mehrad, B., y Golpour, A. (2010). Changes of ovarian fluid compositions and sperm quality parameters in koi (ornamental *Cyprinus carpio*) during spawning season. ABAH Bioflux, Volume 2, Issue 2.

Miller, R., Minckley, W., y Norris, S. (2009). *Peces dulceacuícolas de México*, Conabio/Simac/Ecosur/Consejo de Peces del Desierto, Ciudad de México. 559 p.

Montiel, R. (1989). Estudio de la anatomía del aparato genital del pez ciego de Yucatán *Olgibia pearsei* (Hubbs 1938), durante su época reproductiva. Servicio Social. DCBS. UAM – X. 35 pp.

Morales, A. (1974). El cultivo de la tilapia en México. Datos Biológicos. Instituto Nacional de Pesca. INP/SI: i24. Subsecretaría de Pesca. México. 25 pp.

Morizawa, M., Suzuki, K., Shimizu, H., Morisawa, S., y Yasuda, K. (1983). Effects of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. J. Exp. Biol. 107: 95 – 103.

Müller - Belecke, A., y Hörstgen – Schwark, G. (1996). Sex determination in tilapia (*Oreochromis niloticus*) sex ratios in homozygous gynogenetic progeny and their offspring. Aquaculture 137, 57–65.

Muñoz, J. (2009). Cerebro y reproducción en peces: Bases Neurales y neuroendócrinas. In: La reproducción de los peces. Aspectos básicos y su aplicación en acuicultura. Edit. Cient. Carrillo, M. Fundación Observatorio Español de Acuicultura. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. 40 – 69 pp.

Nagahama, Y. (1983). The functional morphology of teleost gonads, 223-265. In: Fish physiology. Vol. IXA, Edit. W. S. Hoar, D. J. Randall & E. M. Donaldson. Press, New York, London.

Nagahama, Y. (1994). Endocrine regulation of gametogenesis. Fisheries International Journal of Development Biology. 38: 217-229.

Nagahama, Y., Clarke W., y Hoar W. (1978). Ultrastructure of putative steroid-producing cells in the gonads of coho (*Oncorhynchus kisutch*) and pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*). Can. J. Zool., 56, 2508 - 2519.

Nagahama, Y., Kagawa, H., y Young, G. (1982). Cellular sources of sex steroids in teleost gonads. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 39: 56 - 64.

Nagahama, Y., Yoshikuni, M., Yamashita, M., Tokumoto, T., y Katsu, Y. (1995). Regulation of oocyte growth and maturation in fish. Current Topics in Developmental Biology. 30: 103-145.

Nelson, J. (2006). Fishes of the world. Department of Biological Sciences, Universidad of Alberta, Canada. Wiley-Interscience, 4th. Edition. New York 624 p.

Nikolsky, G. (1963). The ecology of fishes. New York, Academic Press.



Nynca, J., y Ciereszko, A. (2009). Measurement of concentration and viability of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) spermatozoa using computer-aided fluorescent microscopy. *Aquaculture*. 292: 256-258.

Nynca, J., Dietrich, G.J., Liszewska, E., Judycka, S., Dobosz, S., Krom, J., y Ciereszko, A. (2016). Usefulness of a portable flow cytometer for sperm concentration and viability measurements of rainbow trout spermatozoa. *Aquaculture*. 451: 363-366.

Oropesa, L., Hidalgo, M., Fallola, C., y Gil, C. (2015). Effects of exposure to 17-alpha-ethynylestradiol on sperm quality of tench (*Tinca tinca*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 120: 318-325.

Pankhurst, N. (2008). Gonadal steroids: Functions and patterns of change. *In: Fish Reproduction*. Eds. Joao, R. M., Arukwe, A. & B. G. Kapoor. Science Publishers. pp. 67-111.

Patiño, R. (1995). Manipulations of the Reproductive System of Fishes by Means of Exogenous Chemical. Texas Cooperative Fish and Wildlife Research Unit, Texas. 30 pp.

Peter, R. E. (1980). Serum gonadotropin levels in mature male goldfish in response to luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) and Chlormadinone acetate (D-Ala)-LH-RH ethylamine. *Can. J. Zool.* 58:1100-1104.

Peter, R. E. (1982). Neuroendocrine control of reproduction in teleosts. *Can J. Fish Aquat. Sci* 39:48-55.

Peter, A. (2009). *Cyprinus carpio*. *In: Cultured aquatic species fact sheets*. Edit. Valerio Crespi and Michael New. FAO. Digital

Pineda, S. H., Jaramillo, P. J. E., Echeverri, D. M., y Olivera, A. M. (2004). Triploidía en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*): posibilidades en Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 17(1): 45-52.

Pokorny, J., Flajshans, M., Hartvich, P., Kvasnicka, P. y Pruzina, I. (1995). Atlas kapru chovanych v Ceske Republice. Editorial Victoria. 69 p.

Ramírez, R. (1963). Las carpas. Secretaría de Industria y Comercio. Serie: Trabajos de divulgación. No. 41, Vol. V. 17 pp.

Redding, M. y Patiño, R. (1993). Reproductive physiology. *In: Physiology of Fishes*. Evans, D. H. (Ed.) CRC Press. pp. 503-535. 111.

Rodríguez, M. (1982). Fernando Obregón y la piscicultura en México. Secretaría de Pesca. México. 84 p.

Rodríguez, M. (1992). Técnicas de Evaluación Cuantitativa de la Madurez Gonádica en Peces. México: AGT Editor. 79 p.

Rodríguez M., Contreras, D., Rodríguez, K., Cortés, A., y Hernández, H. (2009). Evaluación de la reproducción inducida en Ciprínidos. *In: Contribuciones Metodológicas al Conocimiento de los Recursos Naturales*. Edit. Luis Ayala; Raúl Gío; Nuri Trigo. Universidad



Nacional Autónoma de México; Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco. México. 115- 126 pp.

Rodríguez, M., Cortes, A., Contreras, D., y García, E. (2019). Ordenamiento Pesquero en Tlaxcala. Actualización biológica - pesquera, socioeconómica y estimación de indicadores del esfuerzo pesquero en la Presa de Atlangatepec. SAGARPA, CONAPESCA. 197 – 219 pp. (En prensa).

Rodríguez, M., Cortés, A., y Guardiola, K. (2016), Carpa común (*Cyprinus carpio*). Bases de la reproducción inducida. CBC. UAM. 49. México. 125 pp.

Rodríguez, M. y Garza, G. (1985). Técnicas para la reproducción inducida de *Cyprinus carpio specularis*. Departamento El Hombre y su Ambiente. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana. 10 pp.

Rodríguez, M., Garza, G., y Marañón, S. (1991). Evaluación anual del líquido seminal de *Cyprinus carpio rubrofuscus* en organismos de primera reproducción. Universidad Ciencia y Tecnología 1(4): 53 – 59.

Rodríguez, M., Linhart, O., Gela, D., Rodina, M., Slechta, V., y Slechtova, V. (2003). Caracterización de la variabilidad proteica, morfométrica y reproductiva de la carpa común en México y la República Checa. Informe Técnico Final del Convenio Conacyt, Cooperación Bilateral. 18 pp.

Rodríguez, M., y Maldonado – C. (1996). La acuicultura en México. Bases conceptuales y preceptos. Oceanología. 3(11): 7 - 26.

Rodríguez, M., y Marañón, S. (1993). Relación del factor de condición múltiple con la reproducción de machos en la carpa *Cyprinus carpio*. Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Vol. 20 (1):105 -113.

Roelants, I., Mikolajczyk, T., Epler, P., Ollevier, F., Chyb, J., y Breton, B. (2000). Induction of spermiation in common carp after enhanced intestinal uptake of sGnRHA – A and pimozide. Journal of Fish Biology. 56: 1398 -1407.

Romagosa, E., Souza, E., Sanches, A., Baggio, M. y Bombardelli, A. (2010). Sperm motility of *Prochilodus lineatus* in relation to dilution rate and temperature of the activating medium. Journal of Applied Ichthyology. 26:678-681.

Roman, X., y Becerril, E. (1991). Optimización de inductores hormonales para la reproducción de la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella* (Cuvier y Val.) en el Centro Acuícola de Tezontepec de Aldama. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Tesis profesional. 80 pp.

Roosen - Runge, E. (1977). The process of spermatogenesis in animals. Cambridge University Press. London; New York. 214 pp.

Rosas, M. (1976). Peces Dulceacuícolas que se Explotan en México y Datos Sobre su Cultivo. Edit. Tercer Mundo. Instituto Nacional de Pesca. 135 pp.



Rothbard, S., (1981). Induced reproduction in cultivated cyprinids-the common carp and the group of Chinese carps. 1. The technique of induction spawning and hatching. *Bamidgeh*. 22: 42 -47.

Rothbard, S. y Yaron, Z. (1995). Carps (Cyprinidae). *In: Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Eds. Bromage, N. R. Roberts, R. J. Blackwell Science, Oxford, pp. 321-352.

Rurangwa, E., Kime, D. E., Ollevier, F., y Nash, J. P. (2004). The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in culture fish. *Aquaculture*. 234: 1-28.

Saad, A., y Billard, R. (1987a). Spermatozoa production and volume of semen collected after hormonal stimulation in the carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*. 65: 67 – 77.

Saad, A., y Billard, R. (1987b). The composition and use a sperm diluent in the carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*. 66: 329 -345.

Schulz, R., Menting, S., Bogerd, J., França, I., Vilela, A., y Godinho, H. (2005). Sertoli cell proliferation in the adult testis-Evidence from two species belonging to different orders. *Biol. Reprod*. 73: 891-898.

Schulz, R. W. y Miura, T. (2002). Spermatogenesis and its endocrine regulation. *Fish Physiology and Biochemistry*. 26: 43-56.

Sheperd, C. J., y Bromage, N. R. (1988). *Intensive fish farming*. 404 pp.

Sierra, R.A. y Olivera, M. (2000). Interacción entre gametos: como lo logra el espermatozoide. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 13(2): 148-155.

Stancey, N., Zheng, W., y Cardwell, J. (1994). Milt production in common carp (*Cyprinus carpio*): stimulation by a goldfish steroid pheromone. *Aquaculture*. 127: 265 – 276.

Sumantadinata, K. (1995). Present state of common carp (*Cyprinus carpio* L.) stocks in Indonesia. *Aquaculture*. 129. (1-4): 205 – 209.

Sundararaj, B. I., y Goswami, S. V. (1966). Effects of mammalian hypophysial hormones, placental gonadotropins, gonadal hormones and adrenal corticosteroids on ovulation and spawning in hypophysectomized catfish. *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *J. Exp. Zool*. 161, 287–296.

Tabares, J., Montoya, F., Arboleda, L., Echeverri, A., Restrepo, F., y Olivera, M. (2006). Efecto de la pluviosidad y el brillo solar sobre la producción y características del semen en el pez *Brycon henni* (Pisces: Characidae). *Revista de Biología Tropical*. 54(1): 179-187.

Takahashi, H., y Takono, K. (1972). Morphogenesis of accessory reproductive organs in male goldfish *Carassius auratus*. *Bull. Fac. Hokkaido Univ*. 23: 53 - 64.

Taniguchi, N., Kijima, A., Tamura, T., Takegami, K., y Yamasaki, I. (1986). Color, growth and maturation in ploidy – manipulated fancy carp. *Aquaculture*. 57: 321 – 328.



Tave, D. (1986) Genetics for Fish Hatchery Managers. Department of Fisheries and Allied Aquacultures Alabama Agricultural Experiment Station. 293 p.

Thomas, P. (1994). Hormonal control of final oocyte maturation in sciaenid fishes. Perspectives in comparative endocrinology. 619 - 625.

Torres – Orozco, R. (1991). Los Peces de México. AGT. 248 pp.

Ulloa - Rodríguez, P., Figueroa, E., Díaz, R., Lee - Estevez, M., Short, S. y J. G. Farías. (2017). Mitochondria in teleost spermatozoa. Mitochondrion. 34: 49-55.

Viveiros, M., Orfão, I.H., Nascimento, F., Corrêa, M., y Caneppele, D. (2012). Effects of extenders, cryoprotectants and freezing methods on sperm quality of the threatened Brazilian freshwater fish pirapitinga-do-sul *Brycon opalinus* (Characiformes). Theriogenology. 78: 361-368.

Vuthiphandchai, V., Chomphuthawach, S., y Nimrat, S. (2009). Cryopreservation of red snapper (*Lutjanus argentimaculatus*) sperm: Effect of cryoprotectants and cooling rates on sperm motility, sperm viability, and fertilization capacity. Theriogenology. 72(1): 129-138.

Weil, C., y Crim, L.W. (1983). Administration of LHRH analogues in various ways: effect on the advancement of spermiation in prespawning landlocked salmon, *Salmo salar*. Aquaculture 35: 103 - 115.

Weil, C., y Crim, W. (1982). A study of methods of administering LHRH analogs: advancement of spermiation in the landlocked salmon (*Salmo solar*) in: C. J. J. J. Richter and H. J. Th. Goos (eds.), Reproductive Physiology of Fish. PUDOC, Wageningen. pag. 26.

Wohlfarth, G., Lahman, M., y Hulata, G. (1980). The story of “Dor – 70” a select strain of the Israeli common carp. Bamidgeh. 32 (1): 3-5.

Woynarovich, E., y Horváth, L. (1980). The artificial propagation of warm – water finfishes – a Manual for Extension. FAO Fisheries Technical Paper No. 201. Rome. 183 pp.

Yamamoto, T. O. (1969). Sex differentiation. In: Fish Physiology. Edit. W. S. Hoar, D. J. Randall & E. M. Donaldson E. Vol. 3. Academic Press. 117 -175 pág.

Yaron, Z. (1995) Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. Aquaculture. 129: 49 – 73.

Zanuy, S., y Carrillo, M. (1987). La reproducción de los teleósteos y su aplicación en acuicultura. In: Reproducción en acuicultura. Plan de formación de técnicos superiores en acuicultura. Edit. Espinosa de los Monteros y Labarta U. CAICYT. Madrid, España. 131 pp.

Zanuy, S., M. Carrillo, M., Rocha, A. y Molés G. (2009). Regulación y control hormonal del proceso reproductor de los teleósteos. In: La reproducción de los peces. Aspectos básicos y su aplicación en acuicultura. Edit. Cient. Carrillo, M. Fundación Observatorio



Español de Acuicultura. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Pp 97 – 154.

Zohar, Y. (1989). Fish reproduction: its physiology and artificial manipulation. *In*: Fish Culture in Warm Water Systems: Problem and Trends. Edit. Shilo, M. & Sarig, S. Florida, p. 65-119.

Zohar Y., y Mylonas C. C. (2001). Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*. 197: 99 - 136.

