

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Evaluación de la efectividad sobre el desove de tres protocolos de inducción hormonal con acetato de buserelina en *Piaractus brachypomus* aplicados en un centro de reproducción de peces amazónicos en Cusco, Perú

Guadalupe Alarcón^{1*}, Luisa Echevarría¹, Cielo Llerena¹, Nancy Mamani², Dany Inga²

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Universidad Peruana Cayetano Heredia

² Centro de Reproducción de Peces Amazónicos - Municipalidad Distrital de Echarati

* guadalupe.alarcon.p@upch.pe

Aceptado para publicación: 01 de Octubre de 2015

ABSTRACT

The assisted reproduction in tropical aquatic species of commercial value is quite disseminated because of its contribution to the economy of emerging regions. Nevertheless, investigations have not been made about the exact dosage of buserelin acetate in *Piaractus brachypomus* (Paco), one of the most important commercial value species. Because of this, the main objective of this investigation is to evaluate the effect of three spawning induction protocols using buserelin acetate on female individuals. The investigation was carried out on the Center for the Reproduction of Amazonian Fishes "Malankiato" located on the province of La Convención on the Cusco region. Twenty-one female individuals with advanced gonadal development during the reproduction period were employed, which were induced using three different hormone protocols: Protocol P1 with 0,004 mg/kg dose, Protocol P2 with a 0,007 mg/kg dose and Protocol P3 with a 0,01 mg/kg dose. The induction was carried out using three different protocols. There were no significant differences on the efficacy of the protocols but it could be determined that the protocol P2 resulted in more spawning females (5/7) and the spawning rate was more constant.

Keywords : Buserelin acetate, Paco, spawning, spawningrate.

RESUMEN

La reproducción asistida en especies acuáticas tropicales de valor comercial es muy difundida actualmente por su aporte a la economía de regiones emergentes, pero a pesar de esto no se han realizado investigaciones precisas sobre la dosificación exacta de Acetato de buserelina en *Piaractus brachypomus* (Paco), una de las especies de valor comercial importante, por esto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de tres protocolos de inducción de desove utilizando Acetato de Buserelina en hembras Paco. El estudio fue realizado en el Centro de Reproducción de Peces Amazónicos Malankiato, La Convención- Cusco, y se utilizaron 21 hembras con características de maduración gonadal avanzada, durante el periodo de reproducción, las cuales fueron inducidas con tres protocolos hormonales diferentes : Protocolo P1 con una dosificación de 0,004 mg./kg, Protocolo P2 con una dosificación de 0,007 mg./kg y Protocolo P3 con una dosificación de 0,01 mg./kg. Los resultados indicaron que no hubo diferencias significativas en la efectividad de los protocolos, pero se pudo determinar que el P2 obtuvo más hembras con desove (5/7) y su índice de desove fue más constante.

Palabras Clave: Acetato de buserelina, Paco, desove, índice de desove.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura, en la actualidad, ha ido posicionándose como una de las principales actividades económicas en las regiones amazónicas, siendo *Piaractus brachyomus*, comúnmente llamado Paco, una de las especies más difundidas en regiones como Loreto, Amazonas, Ucayali, Madre de Dios y Cusco (Dirección General de Acuicultura, 2009). La importancia de esta actividad radica en que se puede obtener hasta 200 Kg. de carne por hectárea, la cual puede ser complementada con agricultura y ganadería (Brack, 2006). En regiones como Cusco, especialmente en la provincia de La Convención que abarca casi el 40 % del territorio total de esta región, se ha ido desarrollando progresivamente la producción acuícola, por sus excelentes condiciones ambientales pues esta provincia cuenta con una altitud de 1047 msnm, temperatura media anual de 23.3 ° C y con la cuenca hidrográfica de Urubamba (Dirección de Informática Cusco, 2001).

Dentro de la cadena productiva de la crianza de peces amazónicos, la producción de semillas es el proceso más importante y el más complicado, pues es uno de los principales puntos críticos dentro de la crianza, ya que actualmente la obtención de alevinos y post larvas es escasa, debido a que son pocos los centros productores de semillas (Dirección General de Acuicultura, 2009).

El Paco (*Piaractus brachyomus*), también llamado Pirapitinga o Cachama Blanca, es una especie tropical que habita en toda la zona amazónica; es resistente al manejo en cautiverio, presenta alta docilidad y rusticidad; es resistente a enfermedades y de fácil adaptación a condiciones limnológicas desfavorables por periodos no prolongados (Mesa et al., 2007).

La reproducción de *Piaractus brachyomus*, como toda especie nativa amazónica es fijada por el cumplimiento de determinadas condiciones, en especial las medio ambientales, endocrinas, nutricionales y neuronales; las cuales juegan un papel primordial para desencadenar los procesos metabólicos de los cuales se obtiene la producción final de hormonas (Campos, 2005).

El inicio del proceso reproductivo de esta especie se da con la llegada de la época de lluvias, el cual ocasiona un aumento en el caudal de los ríos, lo que influye a que los peces adultos que se encuentran en lagunas en época seca, migren hacia los grandes ríos

para poder desovar; esta migración se da por estímulos ambientales como la disminución de la concentración de oxígeno, la disminución de la transparencia del agua por movimiento de sedimentos y aumento de la alcalinidad del agua (Campos, 2005). Estos estímulos son detectados por los órganos sensoriales de los peces, desencadenando una serie de procesos a nivel eje hipotálamo – hipófisis – gonadal, una vez llegados los estímulos al hipotálamo se producirá tanto GnRH y Dopamina, esta primera se encargará de estimular a la hipófisis para que produzca FSH y LH, las cuales actúan sobre las gónadas produciendo esteroidogénesis y vitelogénesis (Landines et al., 2005; Zohar et al., 2009).

Por tanto , al exponer al pez a confinamiento no se producen las condiciones que sí se dan en vida natural , reduciendo notablemente el desempeño reproductivo, lo que ocasiona que el pez no desove o disminuya la tasa de fertilidad y viabilidad de las ovas (Valdebenito et al. , 2011; Flores, 2002); por tanto se han utilizado diferentes métodos de inducción hormonal, siendo los más utilizados la hipofisación o uso de extracto de hipófisis de peces, gonadotropinas purificadas, gonadotropina coriónica humana y hormona liberadora de gonadotropina; esta última es la más usada por sus bajos costos y buenos resultados (Ascón, 1992).

La importancia del uso de hormonas liberadoras de gonadotropinas (GnRH y LH-RH) radica en su eficacia, en especial las hormonas análogas sintéticas, las cuales han demostrado ser más potentes y de mayor durabilidad que las hormonas naturales, no generando respuesta inmune en los animales tratados y se puede usar en una amplia variedad de peces. Estas hormonas análogas sintéticas actúan incrementando la producción de GtH I (FSH) y GtH II (LH), llegando a ser 100 veces más eficaz que la hormona natural (Valdebenito, 2008).

Las primeras investigaciones en el uso de análogos de hormonas liberadoras de gonadotropinas realizadas en Perú fueron a comienzos de la década de los noventa, en los cuales se experimentaron con diferentes dosificaciones de Acetato de Buserelina, los cuales establecieron que los mejores resultados se obtuvieron con una dosificación de 2.6 ml / Kg. PV o su equivalente en 0.01 mg / Kg. (Ascón, 1992); pero existen investigaciones que han podido inducir el desove a dosificaciones de 0.0028 mg/Kg., indicando que dosificaciones menores también es suficiente para poder obtener

el desove (Chaves et al., 2011).

Son variados los protocolos establecidos para la inducción del desove en especies amazónicas, pero el más difundido en la actualidad fue establecido por Woynarovich & Woynarovich (1998), quienes recomiendan la división de la dosificación total en dos dosis con un intervalo de 12 horas, la primera aplicación denominada dosis estimulante o preparatoria y la segunda dosis desencadenante o definitiva. La finalidad de la primera dosis es estimular la migración de la vesícula germinal en el ovocito y la segunda dosis ayuda a la rotura de la “vesícula germinal” o disolución de la membrana nuclear, ovulación y desove (Zaniboni y Weingartner, 2007). El presente estudio evaluó el efecto de tres protocolos de inducción de desove usando Acetato de Buserelina en Paco (*Piaractus brachypomus*) sobre el índice de desove.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

La investigación se realizó en el Centro de Reproducción de Peces Amazónicos Malankiato, que es dependiente de la Municipalidad Distrital de Echarati, en la provincia de La Convención, en la región de Cusco; durante la época de lluvias (noviembre 2012 y marzo 2013).

Este centro cuenta con 190 especímenes para reproducción de los cuales 63 son Paco (*Piaractus brachypomus*), 82 Gamitanas (*Colossoma macropomun*), 8 Paiches (*Arapaima gigas*), 11 Boquichicos (*Prochylodus nigricans*) y 26 carpas (*Cyprinus spp.*), los que están distribuidos en 5 estanques de 600 m² cada uno.

El centro de reproducción está ubicado en la zona de Selva alta, a una altitud de 400 msnm. y con una temperatura media que fluctúa entre los 18 y 24 °C. Las características físico-químicas del agua del Centro de Reproducción se encontraron dentro de los rangos permisibles para la crianza de especies amazónicas, esto garantizó un buen desarrollo sexual de los reproductores. En el cuadro 1 se hace referencia a algunos de ellos.

Tamaño de muestra

Se utilizaron todos los Pacos hembras que cumplían con el criterio de estar listos para desove. Se muestrearon 21 animales en total (7 animales por protocolo).

Selección de reproductores

La selección de los animales se hizo buscando las hembras que presentaban características externas como abdomen abultado y flácido, así como también la papila urogenital enrojecida y dilatada.

Esta evaluación se realizó aislando a los animales con la ayuda de una red de uso acuícola, los cuales fueron sujetados con toallas para evitar posibles daños en el pez. Luego se procedió a realizar una biopsia ovárica, para poder determinar cuántas de las hembras elegidas por sus características externas tenían un porcentaje alto de ovocitos listos para ser fecundados.

La biopsia ovárica consistió en introducir una cánula por el conducto ovopositor de las hembras para extraer pequeñas muestras de ovocitos, los cuales fueron hidratados con solución Serra (alcohol 60%, formol 30% y ácido acético glacial 10%), esto permitió observar con mayor facilidad el tamaño y ubicación del núcleo, facilitando así poder determinar cuál es el grado de madurez de estos. Para determinar el grado de madurez de los ovocitos (figura 1), se observó la posición del núcleo de los mismos, si éste se encontraba en medio de la célula se concluía que estaba inmaduro, si se encontraba en migración hacia uno de los polos de la célula se determinaba que estaba maduro y si por el contrario el núcleo se encontraba en la periferia de la célula se deducía que estaba sobremaduro. Por tanto, cuando se observó al estereoscopio, se buscó que la muestra tuviera un porcentaje mayor al 70 % de células maduras, lo cual se determinó por medio del conteo de ovocitos maduros en el campo visual del estereoscopio, este procedimiento se repitió tres veces por muestra, para una mayor confiabilidad (Woynarovich & Woynarovich, 1998).

Inducción hormonal

Se usó CONCEPTAL ®, nombre comercial de Acetato de Buserelina 0.004 mg / ml (análogo de GnRH), que tiene la finalidad de ayudar a la maduración de los ovocitos y desencadenar el desove.

Para la elaboración de los protocolos de inducción se usó como base los establecidos por Woynarovich y Woynarovich (1998), utilizando una dosis estimulante y una dosis desencadenante con un intervalo de 12 horas cada uno. En el Cuadro 2 se detallan las dosis de los protocolos, así como también se detalla que porcentaje de la dosis total constituye la dosis estimulante y la desencadenante.

La dosis total utilizada dependió directamente del peso de los animales, por tal motivo se procedió a pesar cada hembra seleccionada, para luego ser colocadas en las artesas del laboratorio hasta el momento de su inducción, estas artesas estaban divididas con mallas, colocando en un lado al macho y al otro la hembra, esto para poder estimular adecuadamente a la hembra .

La inoculación de la hormona se realizó vía intraperitoneal, con jeringa de 10 ml y aguja de 21 x 1 ½, el sitio de aplicación fue debajo de las aletas abdominales, tratando de aplicarlo entre las superposición de las escamas, para evitar posibles daños.

En el Cuadro 3 se detalla de forma resumida la metodología utilizada, desde la captura de los animales hasta la fertilización de las ovas.

Verificación de desove

Después de la aplicación de la dosis desencadenante, se procedió a controlar la temperatura del agua durante cada hora, así como el comportamiento de desove de la hembra Paco, el cual consiste en intranquilidad característica por movimientos circulares repetitivos en la artesa acompañados de ronquidos profundos emitidos por el macho.

Desove

Luego que se comprobó que la hembra estaba a punto de desovar se procedió a sacarla del agua, se secó todo el abdomen y se la colocó en una esponja para evitar daños. Luego se masajeó el abdomen hasta que desovaran los ovocitos, estos fueron colocados en un recipiente seco para evitar la hidratación.

Luego se procedió a pesar los ovocitos obtenidos con una balanza analítica, posterior a esto se procedió a fertilizar con el semen del macho directamente sobre los ovocitos, inmediatamente estos fueron hidratados con agua y con ayuda de una pluma se revolvió para una mejor unión de los ovocitos con el espermatozoide . Los datos del peso de ovocitos obtenidos en cada hembra fueron registrados para su posterior análisis.

Evaluación de efectividad de los protocolos

Mediante los datos obtenidos en el desove, se determinó la efectividad de cada protocolo por medio del Porcentaje de Ovulación, que es el número de hembras que ovularon sobre el número de hembras inducidas por cien, expresado en porcentaje (%).

También se evaluó el Índice de Desove, que es el peso de ovas obtenidas sobre el peso de la hembra que desovó por cien, expresado en porcentaje (%).

Análisis estadístico

Las variables analizadas fueron:

El porcentaje de ovulación que midió la efectividad de los protocolos y fue analizada con la prueba Chi cuadrado (X^2).

El peso de desove obtenido, que fue evaluado a través de la prueba de Shapiro Wilk, para determinar la distribución de los datos de la variable y con la prueba de Kruskal Wallis para la determinación de diferencias estadísticas entre protocolos.

El Índice de Desove que fue evaluado por coeficiente de variación (CV).

El análisis de los datos fue realizado con el Programa Estadístico SPSS.

RESULTADOS

El estudio realizado dio como resultado que no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($X^2=1.1667$, $p < 0.558$), pero al determinarse la efectividad se observó que en el protocolo P2 (0.007 mg/Kg.) tuvo una efectividad de 71.4 % (5/7), seguido del protocolo P1 (0.004mg/Kg.) con una efectividad de 57.1% , y en tercer lugar el protocolo P3 (0.01 mg/Kg.) con una efectividad de 42.9 % (3/7) como se observa en el Cuadro 4.

Se evaluó el peso de ovas obtenido mediante la prueba de Kruskal Wallis, debido a que los datos no presentaron una distribución normal según la prueba de Shapiro Wilk ($p < 0.05$), sin encontrarse diferencias significativas entre grupos. En el Cuadro 4 se puede apreciar el peso de las ovas obtenidas por pez en todo el experimento, alcanzando un rango de peso de ovas de 60 - 730 gr. en el protocolo P1, 460-1186 gr. en el protocolo P2 y 330-645 gr. en el protocolo P3.

El coeficiente de variación (CV) para el índice de desove fue de 68,81 % y 48,5 % para el P1 y P3 respectivamente, lo que indica que tienen mayor variabilidad que el CV de P2 (19,64 %). (Cuadro 5). El tiempo transcurrido desde el momento de la aplicación de la dosis desencadenante hasta la presentación del desove fue muy variable, en el caso del protocolo P2 el tiempo se mantuvo entre 10 – 15 horas , a diferencia del protocolo P1 y P3 que registraron tiempos de desove de entre 7 – 18 y 8-18 horas respectivamente (Cuadro 5).

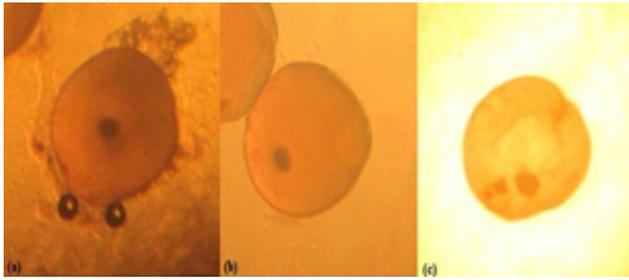


Figura 1. Etapas de maduración del ovocito. (a) ovocito inmaduro (b) ovocito maduro (c) ovocito sobremaduro



Figura 2. Caso de prolapso ovárico presentado en pez inducido con el protocolo P3 (0.01mg/kg)

Cuadro 1. Parámetros de calidad de agua del centro de reproducción de peces amazónicos.

PARAMETROS	
Temperatura	24 °C
pH	7
Dureza	14 mg/l
Alcalinidad	18 mg/l
Cloruros	2 mg/l
Nitratos	0 mg/l
Oxígeno disuelto	7.5 mg/l
Amonio	0.32 mg/l
Amoniaco	0.003 mg/l

Cuadro 2. Modelo de protocolos utilizados

	Dosis total (mg/Kg.)	Dosis estimulante	Dosis desencadenante
Protocolo 1 (P1)	0,004	30%*	70%*
Protocolo 2 (P2)	0,007	60%*	40%*
Protocolo 3 (P3)	0,01	20%*	80%*

* Porcentaje de la dosis total

Cuadro 3. Flujograma de toda la metodología utilizada



Cuadro 4. Dosificación y respuesta de cada animal al protocolo aplicado.

N°	PESO (Kg.)	ACETATO DE BUSERELINA (mg/pez)	DESOVE	% OVULACIÓN
P1 (0,004 mg)	1	4,9	SI	57,14
	2	5,26	SI	
	3	4,75	SI	
	4	6,5	NO	
	5	5,7	NO	
	6	8	NO	
	7	9,6	SI	
P2 (0,007 mg)	1	5,7	NO	71,43
	2	5,7	SI	
	3	4,9	SI	
	4	5,9	SI	
	5	6,3	NO	
	6	6	SI	
	7	7,98	SI	
P3 (0,01 mg)	1	5,3	SI	42,86
	2	6,8	NO	
	3	4,62	NO	
	4	5	SI	
	5	6,5	SI	
	6	5,7	NO	
	7	6,5	NO	

Cuadro 5. Determinación del índice de desove en base al peso de ovas (gramos) de los animales que desovaron.

	Nº	PESO (Kg.)	BUSERELINA (mg/pez)	PESO OVAS (gr.)	TIEMPO DE DESOVE	INDICE DE DESOVE	COEFICIENTE DE VARIACION
P1 (0,004 mg)	1	4,9	0,0196	0,626	7	13	68,81
	2	5,26	0,02104	0,73	9	14	
	3	4,75	0,019	0,06 ^a	18	1	
	7	9,6	0,0384	0,635	15	7	
P2 (0,007 mg)	2	5,7	0,0399	0,56	12	10	19,64
	3	4,9	0,0343	0,46	14	9	
	4	5,9	0,0413	0,67	15	11	
	6	6	0,042	0,85	10	14	
	7	7,98	0,05586	1,186	15	15	
P3 (0,01 mg)	1	5,3	0,053	0,33	14	6	48,5
	4	5	0,05	0,645	16	13	
	5	6,5	0,065	0,4	15	6	

^a : hembra que presentó desove incompleto

DISCUSIÓN

En el presente estudio se logró obtener desove con los tres protocolos a una temperatura de agua de 24°C, lo cual es poco usual en la reproducción de peces amazónicos, pues lo óptimo para estas especies se encuentra entre los 27 - 29°C (Landines & Mojica, 2005; Woynarovich & Woynarovich, 1998), siendo esta última la temperatura óptima para estas especies.

Al comparar los tratamientos, el protocolo P2 (0.007 mg/Kg.) dio un mayor número de hembras con desove, con una dosificación menor a la utilizada en la misma especie, que es usualmente de 0.01 mg/Kg. (Villanueva et al., 1993), dosis que ha dado mejores resultados en *Colossoma macropomun* (Ascón, 1992), El P3 de nuestro estudio (0.01 mg/Kg.) dio una menor proporción de hembras desovadas, en comparación a los resultados obtenidos en la especie *Colossoma spp.* (Freeman et al., 2007), existiendo una variación en la respuesta por especie.

El índice de desove obtenido con el protocolo P2 (12%) tuvo una tendencia a ser mayor entre los protocolos, estando dentro del rango normal en la reproducción de peces amazónicos, pues se considera que la cantidad desovada por las hembras debe ser del 10 - 20 % con respecto a su peso. (Woynarovich & Woynarovich, 1998). En cuanto a la variabilidad de cada grupo, el P2 (CV = 19,64%) tiene los resultados menos variables, por tanto sería el protocolo de elección, pues es más constante y sus índices de desove se mantienen dentro del rango permisible.

Reportes anteriores (Andrade y Yasuni, 2003) nos refieren que el tiempo de desove debe ocurrir entre las 10 – 14 horas después de la aplicación de la dosis desencadenante; en este estudio el tiempo de desove, tanto el P2 y P3, se encuentra dentro de este rango, a diferencia del P1, en el cual el tiempo de desove de una de las hembras tratadas fue de 18 horas. En casos como este, la temperatura del agua juega un papel primordial pues a menor temperatura del agua, el tiempo de desove se alarga; se ha demostrado que en lugares de mayor temperatura, el tiempo de desove disminuye considerablemente (Chaves et al., 2011; Paulino et al., 2011), esto pone en evidencia que es fundamental un adecuado manejo del medio ambiente para poder obtener resultados óptimos al aplicar protocolos hormonales para inducción de desove.

Dentro del grupo de hembras tratadas en el P1 se presentó un caso de desove incompleto, en el cual una hembra de peso de 4,75 Kg. desovó solo 60 gr., dando un índice de desove de 1 % ; este tipo de hallazgos son muy frecuentes en estudio de campo pero no son reportados, Woynarovich & Woynarovich (1998) mencionan que este tipo de complicaciones al momento del desove se debe en su mayoría a estrés asociado con el medio ambiente conjuntamente con una dosificación deficiente, pero otra explicación a la presencia de estos casos es que durante la biopsia ovárica, pudo haber un error en el conteo de ovocitos maduros, dándonos un porcentaje mayor al real, ocasionando que solo se desove los ovocitos maduros hasta el momento, produciendo que el peso de ovas sea menor a lo esperado.

También se presentó un caso de prolapso ovárico (Woynarovich & Woynarovich, 1998) o también llamado "Ovocitos Empedrados" (Criscuolo, 2012) (Figura 2). Una hembra que había sido inducida en P3, presentó un endurecimiento del abdomen y necrosis de ovocitos, produciendo obstrucción de la papila urogenital. Algunas investigaciones (Criscuolo, 2012; Woynarovich & Woynarovich, 1998) relacionan este estos hallazgos con una sobredosificación hormonal, pero hasta la actualidad no se ha podido demostrar esta hipótesis.

CONCLUSIONES

Con los 3 protocolos aplicados se consiguió desove en hembras Paco, pero solo uno mantuvo un índice de desove constante (P2) y sin complicaciones, a diferencia de los otros dos protocolos (P1 y P3), lo cual indicaría que es el mejor protocolo para ser usado en la zona de investigación.

RECOMENDACIONES

Los datos obtenidos en esta investigación deben ser usados en lugares con características ambientales similares al lugar de estudio, pues solo así se podrá obtener los resultados esperados.

Se recomienda que se investigue las causas específicas de la presentación del prolapso ovárico, que si bien es cierto ha sido reportado, pero no se ha precisado sus causas específicas, así podríamos tener una mayor optimización de recursos durante la etapa reproductiva.

REFERENCIAS

Ascón, G. (1992). Producción de alevinos de Gamitana (*Colossoma macropomun*) y Paco (*Piaractus brachypomus*) mediante el uso de dos técnicas de reproducción inducida. *Folia Amazónica*, 4(1), 123-131.

Andrade, D. & Yasuni, G. (2003). O manejo da reproducao natural e artificial e sua importancia na reproducao de peixes no Brazil. *Revista Bras. Reproducao animal*, 27(2), 166- 172

Brack, A. (2006). El Perú puede ser una potencia en Acuicultura. *Revista de la Sociedad de Comercio Exterior del Perú*. Recuperado de <http://www.comexperu.org.pe/archivos%5Crevista%5CDiciembre06%5C portada.pdf>

Campos, L. (2005). Algunos parámetros físicos, químicos y bioecológicos que influyen en el comportamiento migratorio de la "Gamitana" *Colossoma macropomun* en el Río Ucayali.

Comunicaciones del Coloquio Internacional sobre biología de las poblaciones de peces de la Amazonia y piscicultura. (pp. 44- 51).

Chaves, L., Lozada, L., Motta, P. & Murcia, B. (2011). Evaluación de la reproducción inducida de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*) con Acetato de Buserelina. *Archivo de medicina veterinaria*, 6, 47-55.

Criscuolo, E. (2012). Ovulacao de matrizes de *Piaractus mesopotamicus* e o papel do prostaglandina f2 α . Disertacao maestrado. Centro de Aquicultura da Faculdade de Ciencias Agrarias e Veterinarias de Universidade Estadual Paulista, Brasil.

Dirección de Informática Cusco. (2001). Conociendo Cusco. Instituto Nacional de Estadística e Informática, Perú, (pp. 30-45).

Dirección General de Acuicultura. (2009). *Plan Nacional de Desarrollo Acuicola. Ministerio de la Producción*. Recuperado de <http://www.produce.gob.pe/index.php/acuicultura/plan-nacional-de-desarrollo-acuicola>.

Flores, C. (2002). Respuestas neuroendocrinas al estrés en peces teleósteos. *Revista de Ictiología, Argentina*, 10, 57-78.

Freeman, B., Nico, L., Osentoski, M., Jelks, H. & Collins, T. (2007). Molecular systematic *Serrasalmus*: Deciphering identities of piranha species and unraveling their evolutionary histories. *Zootaxa*, 1484, 1-38.

Landines, M. & Mojica, H. (2005). Manejo y reproducción de Carácidos. Instituto Colombiano de Desarrollo Rural. Colombia. (pp. 91-104).

Mesa, M. & Botero, M. (2007). La Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*), una especie potencial para el mejoramiento genético. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20(1),79-86.

Paulino, M., Miliorini, A., Murgas, L., Lima, F. & Felizardo, V. (2011). Desempenho reprodutivo do Pacu, Piracanjuba e Curimba inducidos com extrato de Buserelina. *Boletim do instituto de pesca*, 37, 39-45

Valdebenito, I., Paiva, L. & Berland, M. (2011). Atresia folicular en peces teleósteos. *Archivo Medicina Veterinaria*, 23,11-25.

Valdebenito, I. (2008). Terapias hormonales utilizadas en el control artificial de la madurez sexual en peces de cultivo: una revisión. *Archivo médico veterinario*, 40, 115-123.

Villanueva, C., Gutiérrez, W. & Zaldivar, J. (1993). Reproducción artificial de los principales Peces Amazónicos. Determinación de la época de dosificación hormonal. Centro de investigaciones veterinarias, tropicales y de altura (IVITA). (pp. 51-52).

Woynarovich, A. & Woynarovich, E. (1998). Reproducción artificial de las especies *Colossoma* y *Piaractus*. *Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero*, 1, 39.

Zaniboni Filho, E. & Weingartner, M. (2007). Tecnicas da Inducao da reproducao de peixes. migradores. *Revista Brasileira de Reproducción Animal*, 31(3), 367-373.

Zohar, Y., Muñoz-Cueto, J. & Elizur Olivier, K. (2010). Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165, 438-455.