



Reproducción en cautiverio de *Gymnotus omarorum* (Linnaeus 1758) y su impacto en el desarrollo gonadal bajo distintas condiciones ambientales

López P.A.^{*1,2} ; Sánchez, S.^{3,4} ; Murgas, L.D.S.^{5,6} ; Vigliano, F.A.^{2,3,7} 

¹Cátedra de Piscicultura, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de Rosario (UNR). ²Centro de Investigaciones en Piscicultura Experimental (CIPEX-FCV-UNR, Argentina). Facultad de Ciencias Veterinarias (UNR). Bv. Ovidio Lagos y Ruta Nacional 33, CP 2170, Casilda (Santa Fe, Argentina). ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, Argentina). ⁴Instituto de Ictiología del Nordeste, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste (UNNE). Facultad de Ciencias Veterinarias (UNNE), Sgto. Cabral 2139, CP 3400, Corrientes (Corrientes, Argentina). ⁵Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras (UFLA). ⁶Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brasil). CEP 37200-000, Lavras (Minas Gerais, Brasil). ⁷Cátedra de Histología I y Embriología Básica, FCV-UNR.

 pablolopez@fveter.unr.edu.ar

Resumen

La cría de morenas (*Gymnotus omarorum*) en cautiverio puede contribuir a la preservación de las poblaciones naturales, así como mejorar las condiciones de trabajo de los pescadores de carnada y sostener la demanda de los pescadores deportivos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta de *G. omarorum* a la inducción hormonal de la reproducción combinada con el manejo de factores ambientales, y determinar los efectos de las condiciones de cautiverio sobre la maduración gonadal y el éxito reproductivo. Se realizaron dos experiencias, la primera con grupos a ser inducidos hormonalmente comparada con grupo control (sin inducción). La segunda evaluó la maduración gonadal en grupos mantenidos bajo condiciones seminaturales o de laboratorio. En la primera experiencia, la reproducción se produjo de manera espontánea en los estanques, antes de llevar a cabo la inducción hormonal programada. En la segunda experiencia, las hembras del grupo mantenido en condiciones de laboratorio mostraron un aumento significativo de ovocitos en regresión, así como una reducción significativa en el número de ovocitos vitelogénicos. Sin embargo, los ejemplares de este grupo lograron reproducirse luego de ser trasladados a estanques bajo condiciones seminaturales. Este hecho demostró una recuperación de la capacidad reproductiva. Por otro lado, las hembras del grupo mantenido en condiciones seminaturales no mostraron cambios en el número de ovocitos en regresión. En este grupo, es posible que se hayan dado dos eventos reproductivos de acuerdo con las diferencias de tamaño y la coloración existente en larvas y juveniles capturados al final de la experiencia. Los resultados del presente estudio demuestran que la cría de *G. omarorum* bajo condiciones seminaturales permite desencadenar la reproducción de manera espontánea sin necesidad de llevar a cabo la inducción hormonal, destacándose como una actividad promisoriosa para el desarrollo productivo de esta especie.

Palabras clave: éxito reproductivo, foliculogénesis, juveniles, cultivo, control ambiental

Reproduction of *Gymnotus omarorum* (Linnaeus, 1758) and its impact on gonadal development under different captivity conditions

Abstract. The reproduction and breeding of *Gymnotus omarorum* in captivity could improve the working conditions of bait fishermen, enhance services for sport fishing, and contribute to the preservation of natural populations. This study aimed to evaluate the response of *G. omarorum* to hormonal induction

of reproduction combined with environmental management factors, as well as to determine the effects of captive conditions on gonadal development and reproductive success. Two experiments were conducted. The first included hormonally induced and control groups maintained under semi-natural conditions, where reproduction occurred spontaneously in the fish tanks before the scheduled hormonal induction, approximately 80 days after the capture of wild broodstock. The second experiment compared two groups maintained under different captivity conditions (laboratory and semi-natural). Females kept under laboratory conditions showed a significant increase in regressing oocytes and a significant reduction in vitellogenic oocytes after the beginning of the experiment. However, these specimens successfully reproduced after being transferred to fish tanks under semi-natural conditions, demonstrating a recovery of reproductive capacity. Conversely, females in the semi-natural group did not exhibit changes in the number of regressing oocytes or any negative effects on reproductive performance. Evidence suggests that two reproductive events occurred in this group, as indicated by the size and coloration differences in larvae and juveniles captured at the end of the experiment. Additionally, the capture-to-reproduction interval in fish tanks under semi-natural conditions was shorter than previously reported. These findings highlight that breeding *G. omarorum* under semi-natural conditions can trigger spontaneous reproduction without the need for hormonal induction, making this approach a promising strategy for the productive development and conservation of this species.

Key words: reproductive success, folliculogenesis, juveniles, culture, environmental control.

INTRODUCCIÓN

Gymnotus omarorum (Linnaeus 1758) pertenece al orden Gymnotiformes, un grupo monofilético de peces de agua dulce electrogénicos. Este orden de teleosteos comprende seis familias de las cuales Gymnotidae es la que posee mayor rango de distribución geográfica en las regiones neotropicales de Sudamérica (Albert y Crampton 2006). La morena, como es conocida regionalmente, es el pez más utilizado como carnada en la pesca recreativa de grandes peces carnívoros en Argentina, Brasil y Paraguay.

La pesca recreativa es una importante actividad económica que atrae turismo a la región Litoral de Argentina y al mismo tiempo, moviliza diferentes servicios. El suministro de carnadas tiene una importancia fundamental como servicio para los pescadores deportivos y las cantidades de carnada extraída para la temporada de pesca cobran importancia debido al auge de la actividad en la región. Como consecuencia, esta actividad recreativa genera una fuerte presión extractiva sobre las diferentes especies de *Gymnotus*. Por otro lado, la oferta de morenas presenta estacionalidad ya que su captura está asociada tanto a los períodos de lluvias y sequías como a la temperatura y nivel del agua en los ambientes de la cuenca. Como resultado, los pescadores de carnada sufren fluctuaciones entre la oferta y la demanda que afectan su sustento económico (Peixoto Gervásio 2006, Iwaszkiw et al. 2016).

La reproducción en cautiverio y la cría de ejemplares en estanques podrían permitir una reorganización de la actividad, mejorando las condiciones de trabajo de los pescadores de carnada y la atención a los pescadores deportivos. Al mismo tiempo, la cría en cautiverio podría ser un aporte para la preservación de las poblaciones naturales.

La regulación del ciclo reproductivo se coordina bajo el control de múltiples hormonas naturales de los peces. El eje hipotalámico-hipofisario-gonadal (HHG) integra señales endógenas que recibe de las glándulas endocrinas al ser estimuladas por cambios ambientales. Por lo tanto, la reproducción en los teleosteos está influenciada por todos los cambios que tienen impacto en el ambiente como temperatura, fotoperiodo, disponibilidad de alimento

y factores estresantes (Mommensen y Korsgaard 2008) ajustándose al momento en el que los juveniles pueden desarrollarse con menor dificultad. El factor predictivo más importante en la maduración de la mayoría de las especies de peces en cautiverio es el fotoperiodo, ya que permanece constante y refleja la estacionalidad de manera confiable (Carrillo et al. 2009).

Kirschbaum et al. (2008) obtuvieron reproducciones de varias especies de peces tropicales de agua dulce en cautiverio, aplicando cambios controlados en variables ambientales de las condiciones de cultivo. Las condiciones de laboratorio permitieron imitar las precipitaciones, los cambios en la conductividad y el nivel del agua, simulando la sucesión de estaciones secas y lluviosas en las latitudes de origen de las especies. Los experimentos incluyeron siete especies de Gymnotiformes sudamericanos, entre ellas *Gymnotus carapo*. Rotta et al. (2023) lograron la sincronización masiva de la maduración de reproductores de *G. cf. carapo* mediante el mantenimiento de los ejemplares durante 40 días en agua con conductividad eléctrica de 180 $\mu\text{S cm}^{-1}$.

Algunas variables reproductivas analizadas en experimentos con inducción hormonal en *G. omarorum* denotaron cambios después de la aplicación de extracto bruto de hipófisis (EBH) con un intervalo captura-inducción (IC-I) de una semana. Un IC-I prolongado de 8 y 16 semanas pareció afectar la respuesta a la inducción hormonal de la reproducción en condiciones de laboratorio. Por ese motivo, una estrategia que combine la inducción hormonal con EBH y el manejo del ambiente para simular las condiciones naturales podría amortiguar el efecto negativo de la captura sobre el desarrollo gonadal con un IC-I prolongado (López et al. 2023). Los objetivos de este trabajo fueron evaluar la respuesta de *G. omarorum* a la inducción hormonal combinada con la reducción de la conductividad eléctrica del agua para su reproducción y determinar los efectos de diferentes condiciones de cautiverio sobre la maduración de las gónadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los procedimientos experimentales formaron parte de la tesis doctoral de Pablo A. López (DOC. N°

003779 FCV-UNR), aprobada por el Comité de Ética de la Investigación y el Consejo Directivo de la FCV-UNR) resolución N°: 145/12 (López 2019).

Experimento 1: aplicaciones de EBH en condiciones seminaturales. Se prepararon seis tanques de plástico reforzado con fibra de vidrio (PRFV) de 2,5 m de ancho x 3,0 m de largo con 0,25 m de profundidad, en las dos terceras partes de su superficie y 0,75 m en el tercio restante de la misma, para la aclimatación de reproductores antes de las aplicaciones de EBH. Fueron instalados bajo sombra parcial de árboles con fotoperiodo natural en un campo de Santa Ana de los Guácaras (Corrientes). Los tanques se llenaron con agua de red domiciliar y después de transcurridas 24 horas, se fertilizaron con estiércol de vaca a razón de 225 g/m². Luego, fueron sembrados con ejemplares de *Eichhornia crassipes* y *Salvinia auriculata* para otorgar condiciones seminaturales al ambiente de cría.

Se emplearon 60 ejemplares silvestres adultos de *G. omarorum* que fueron capturados a finales de octubre de 2015 con longitud total media (LTm) y peso medio (PTm) de 208,92 ± 13,11 mm y 27,80 ± 6,27 g, respectivamente, sexados mediante ultrasonido con un dispositivo Berger LC2010 con transductor plano de frecuencia variable 5,5 MHz. Los peces permanecieron en una bandeja con solución anestésica de benzocaína 100 ppm durante esta maniobra. El sexo también fue corroborado mediante la comparación del tamaño del ano respecto del poro genital (Rotta et al. 2007). Luego, fueron distribuidos aleatoriamente en grupos de 10 ejemplares, 5 hembras y 5 machos en cada tanque. Los ejemplares se mantuvieron con plancton, larvas de insectos e insectos producidos naturalmente en el estanque, con la adición de larvas de mosquitos 3 días a la semana.

El inicio de las precipitaciones de verano se utilizó como factor de sincronización que actúa como desencadenante en el eje HHG para la maduración total de las gónadas en *Gymnotus* (Kirschbaum y Wiczorek 2002). La conductividad eléctrica del agua se registró al comienzo del experimento cuando se sembraron los reproductores y antes de retirar los reproductores para la inducción artificial (Tabla 1). Los valores se registraron con un equipo Hanna HI99300 al inicio del experimento y en el momento de la pesca de reproductores.

Los reproductores fueron pescados después de 102 días de cultivo en los tanques. Se recuperó una pequeña cantidad de ejemplares para el ensayo (n = 23). Los ejemplares fueron trasladados al laboratorio, colocados en cajones de plástico con 50 litros de agua en cada uno, vegetación proveniente de los tanques de cultivo y aireación constante. Los 23 ejemplares recuperados se dividieron en dos grupos para realizar una inducción hormonal, de acuerdo con resultados previos obtenidos (López et al. 2023), de la siguiente manera:

Grupo con Tratamiento Hormonal (TEBH12): 17 ejemplares provenientes de los tanques n° 1, 2, 3, 4 y 5, fueron inyectados dos veces con EBH con 8 horas de intervalo entre dosis (1ª dosis: 0,5 mg kg⁻¹; 2ª dosis 5 mg kg⁻¹). Doce horas después de la dosis final, se les efectuaron masajes abdominales en sentido caudo-cranial;

Grupo Control (GC): 6 ejemplares del tanque n° 6 utilizados como control, a los que se le inyectaron 0,5 y 1

ml de solución fisiológica estéril con intervalo de 8 horas entre dosis y se los masajó 12 horas después de la última inyección.

El tiempo transcurrido desde la captura de los reproductores hasta el momento de la inyección del EBH se denominó IC-I (López et al. 2023).

Experimento 2: efectos del cautiverio sobre la maduración de las gónadas. Se realizó un nuevo experimento en el Instituto de Ictiología del Nordeste (Corrientes, Argentina) para evaluar los efectos de las condiciones de cautiverio sobre la maduración en 98 animales adultos (LTm 206,67 ± 29,64 mm; PTm 26,84 ± 9,13 g), 58 hembras y 40 machos.

Los ejemplares fueron capturados en octubre de 2016 en ambientes naturales e inmediatamente sexados mediante ultrasonido con un dispositivo Berger LC2010 con transductor plano de frecuencia variable 5,5 MHz. Los peces permanecieron bajo efecto de anestesia durante la maniobra, al igual que en el experimento 1. El sexo también fue corroborado mediante la comparación del tamaño del ano respecto del poro genital (Rotta et al. 2007).

Al día siguiente fueron separados en grupos de la siguiente manera:

Grupo Control (GC): 7 hembras y 4 machos que fueron sacrificados y muestreados al inicio de la experiencia (día 0).

Grupo en Condiciones de Laboratorio (GCL): 30 hembras y 21 machos en condiciones de laboratorio en 3 piletas de 2,5 x 3,0 m y 0,5 m de profundidad con refugios para los animales fabricados con tuberías de PVC de diferentes tamaños y diámetros dentro del agua. Se distribuyeron 10 hembras y 7 machos en cada pileta. Se agregaron plantas acuáticas flotantes (*Eichhornia crassipes* y *Salvinia auriculata*) después del registro de una alta mortalidad durante los primeros días.

Grupo en Condiciones Seminaturales (GCSN): 21 hembras y 15 machos al aire libre en 3 tanques de PRFV de tamaño similar a las piscinas de GCL bajo sombra parcial de malla plástica (80%). Se colocaron 7 hembras y 5 machos en cada tanque. Se introdujeron en el agua tuberías de PVC de diferentes tamaños y diámetros, y las mismas especies de plantas acuáticas que en el grupo anterior para dar refugio a los animales el día 0 de la experiencia.

Los tanques o piletas se llenaron con agua de pozo y se fertilizaron con estiércol de vaca a razón de 225 g/m². Se suministraron trozos de pescado diariamente. La conductividad disminuyó de forma natural para los reproductores de GCSN como resultado de la lluvia, mientras que esta variable se mantuvo constante en GCL.

Se extrajeron hembras y machos al azar de cada grupo experimental entre 12 y 31 días después del inicio del experimento (Figura 1) para evaluar las variaciones inducidas por las condiciones de cautiverio. Después de la segunda extracción, los animales restantes de GCL se transfirieron a estanques al aire libre y se colocaron en las mismas condiciones que GCSN. Luego de 30 días del traslado, se volvieron a muestrear hembras y machos de ambos grupos (Figura 1).

Después de 126 días desde el inicio del experimento (Figura 1) se corroboró la evidencia de eventos

reproductivos utilizando red de marco en cada unidad experimental de los diferentes grupos. El IC-I se reemplazó por Intervalo Captura-Reproducción (IC-R), definido por la diferencia en días entre la captura de reproductores en los ambientes naturales y la ocurrencia del primer evento reproductivo en cautiverio.

Los estanques se cosecharon 140 días después del inicio del experimento. Los juveniles recolectados fueron sometidos a biometría.

En los momentos de muestreos indicados en la Figura 1, los ejemplares fueron sometidos a eutanasia por inmersión en una solución de benzocaína (200 ppm). Posteriormente,

se seccionó su médula y se pesaron. Luego, se abrieron para la extracción de las gónadas. Los ovarios y los testículos se pesaron para el cálculo del índice gonadosomático (IGS), después se fijaron en solución de Bouin durante 16 horas y finalmente se transfirieron a etanol al 70%. Posteriormente, las muestras se incluyeron en parafina para realizar preparaciones histológicas. Los bloques se cortaron con un espesor de 3 μm . Las preparaciones se tiñeron con hematoxilina y eosina y la evaluación del desarrollo gonadal se realizó con un microscopio Leica DM750 equipado con cámara digital Leica EC3.

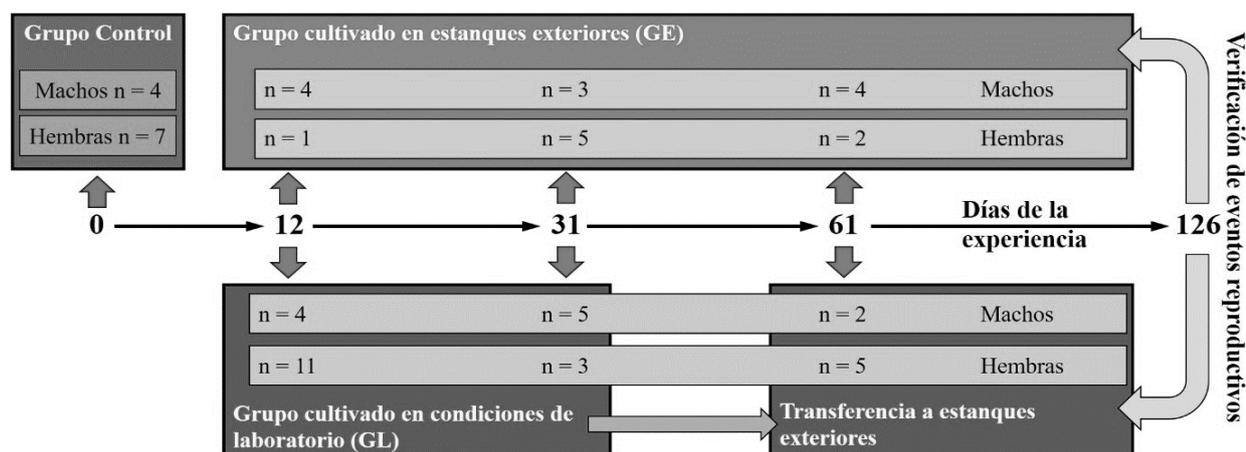


Figura 1. Esquema de muestreos de la experiencia 2. Las flechas verticales indican los días en los que se realizaron los muestreos en los distintos grupos.

También, se tomaron muestras de aproximadamente 100 mg de ovocitos que fueron fijados en líquido de Serra para realizar el recuento de ovocitos en cada hembra.

En las hembras se determinaron:

- Diámetro del ovocito (μm): se registró a partir de las muestras fijadas en líquido de Serra con lupa estereoscópica Leica L568.

- Fecundidad absoluta = número de ovocitos totales en la muestra x (peso ovárico / peso de la muestra) (Escobar et al. 2011).

- $\text{IGS} = (\text{peso del ovario} / \text{peso del ejemplar}) \times 100$.

- Frecuencia relativa de las diferentes etapas del desarrollo de los ovocitos: los ovocitos se contaron en 5 campos aleatorios con un aumento de 100X para cada muestra. Fueron clasificados en las categorías de desarrollo de la especie (Ishiba et al. 2009). Luego, se estableció la frecuencia relativa de las diferentes fases del desarrollo de los ovocitos.

Por otra parte, en los machos se determinó:

- $\text{IGS} = (\text{peso del testículo} / \text{peso del ejemplar}) \times 100$.

- Frecuencia relativa de diferentes etapas de desarrollo gonadal: se contaron túbulos seminíferos con diferentes etapas de desarrollo del epitelio germinativo

en 5 campos aleatorizados con un aumento de 100X para cada espécimen. Fueron clasificados de acuerdo con las categorías de desarrollo para el género (Ishiba et al. 2009). Luego, se estableció la frecuencia relativa de las diferentes fases del desarrollo.

Todas las mediciones se realizaron con el software Image J (v. 1.51j8) sobre imágenes digitalizadas. El análisis estadístico se realizó con el software JMP, versión 5.1.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC). Las diferencias entre cada grupo de tratamiento a diferentes días de muestreo se analizaron mediante ANCOVA y la prueba de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). Se utilizó la prueba de Mann-Whitney para analizar diferentes tratamientos en el mismo día de muestreo.

RESULTADOS

Aplicaciones de EBH en condiciones seminaturales.

En el área donde se realizó el estudio, se registraron precipitaciones de 366,5 y 227,4 mm durante los meses de diciembre de 2015 y enero de 2016, respectivamente. Se registró una fuerte reducción de la conductividad, en todos los estanques (Tabla 1).

Tabla 1. Conductividad del agua ($\mu\text{S cm}^{-1}$) en los estanques en el inicio de la experiencia 1 y en el momento de la recuperación de los ejemplares.

Evento (Fecha)	Estanque					
	1	2	3	4	5	6
Siembra de reproductores (23/10/15)	162	168	166	180	177	181
Recolección de reproductores (02/02/16)	18	23	28	19	20	22

Los ejemplares reproductores recuperados para la inducción hormonal fueron menos numerosos que los sembrados originalmente. Al momento de la captura,

la presencia de juveniles permitió verificar al menos un evento reproductivo previo en cinco estanques (Tabla 2).

Tabla 2. Stock de reproductores y captura de juveniles. Estanque desafectado, sin reproductores (asterisco).

Evento (Fecha)	Estanque					
	1	2	3	4	5	6
Siembra de reproductores (23/10/15)	10	10	10	10	10	10
Recolección de reproductores (02/02/16)	3	4	3	5	2	6
Recolección de juveniles (02/02/16)	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	NO	SÍ
Recolección de juveniles (06/03/16)	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	*

El 2 de febrero de 2016 se capturaron 86 ejemplares juveniles en total (Tabla 2), con tallas superiores a 21 mm. Todos los juveniles presentaron las características bandas negras de la especie en el tegumento. Las bandas tenían una coloración tenue y estaban restringidas a la región superior del cuerpo en ejemplares de menos de 25 mm. Estas bandas eran más oscuras en los peces de mayor tamaño, hasta 45 mm, y se extendían desde la región dorsal hasta los flancos, sin alcanzar la aleta ventral, de manera similar a lo observado en ejemplares adultos (Figuras 2A, 2B y 2C).



Figura 2. Juveniles recolectados en los estanques junto con la recuperación de reproductores. Nótese el bandeo característico de la especie a partir de los 22 mm de LT. A, B y C coloración y extensión de bandas características de la especie; D muestra de juveniles capturados el 06/03/2016. Barra = 10 mm.

Por otro lado, los reproductores fueron inducidos a la reproducción con EBH y no se observaron comportamientos relacionados con el desove durante las 12 horas posteriores a la segunda inyección en los ejemplares tratados. Después de este periodo se realizaron masajes abdominales para eliminar la posibilidad de obtención de gametos viables. Tanto en los grupos tratados como en el control, no

se obtuvieron resultados positivos. Los reproductores se mantuvieron en el laboratorio durante un día para comprobar la ocurrencia de desoves posteriormente al tratamiento. No se recuperaron huevos de ninguna bandeja.

Después de los procedimientos descritos en el párrafo precedente, los reproductores fueron devueltos a sus respectivos estanques, excepto los peces del n° 5 y 6. Los dos ejemplares del estanque n° 5 se distribuyeron en los estanques n° 1 y 3. Los ejemplares del estanque n° 6 se colocaron en el estanque n° 5, donde no había juveniles.

Finalmente, 30 días después de las inyecciones hormonales, se realizó una segunda recuperación de juveniles en los cinco estanques que alojaban reproductores, inclusive del tanque n° 5 correspondiente a ejemplares del GC (Tabla 2). En esta ocasión, se recuperaron larvas y juveniles que midieron entre 12 y 75 mm, presentando diferentes características de coloración, de acuerdo con diferentes edades dentro de cada estanque (Figura 2D). Las larvas fueron de color marrón homogéneo con LT menor a 17 mm, mientras que los juveniles (n= 59) midieron entre 22 y 75 mm y presentaron las bandas características del género.

Efectos del cautiverio sobre la maduración de las gónadas. En el segundo experimento, el diámetro de los ovocitos en GCL mostró diferencias estadísticas respecto al control (día 0) y a los 12 días de la experiencia, demostrando un aumento a los 31 días del experimento (Figura 3A). Por otro lado, esta variable en las hembras del GCSN mostró un aumento ya en el día 12, diferenciándose estadísticamente del control (Figura 3B). Las hembras del GCSN mostraron a los 12 días valores significativamente mayores respecto a los hallados en el GCL (Figura 3C). Por el contrario, las hembras del GCL mostraron ovocitos significativamente más grandes que los del GCSN a los 31 (Figura 3D) y 61 días del ensayo (Figura 3E).

La fecundidad absoluta en las hembras no mostró diferencias significativas a lo largo del experimento dentro de los grupos experimentales (Figuras 4 A y B). La comparación entre grupos para el mismo día de muestreo presentó valores mayores en las hembras del GCSN después de 31 días en ensayo (Figura 4 C). Aunque, GCSN y GCL no difirieron estadísticamente en el último muestreo (Figura 4 D).

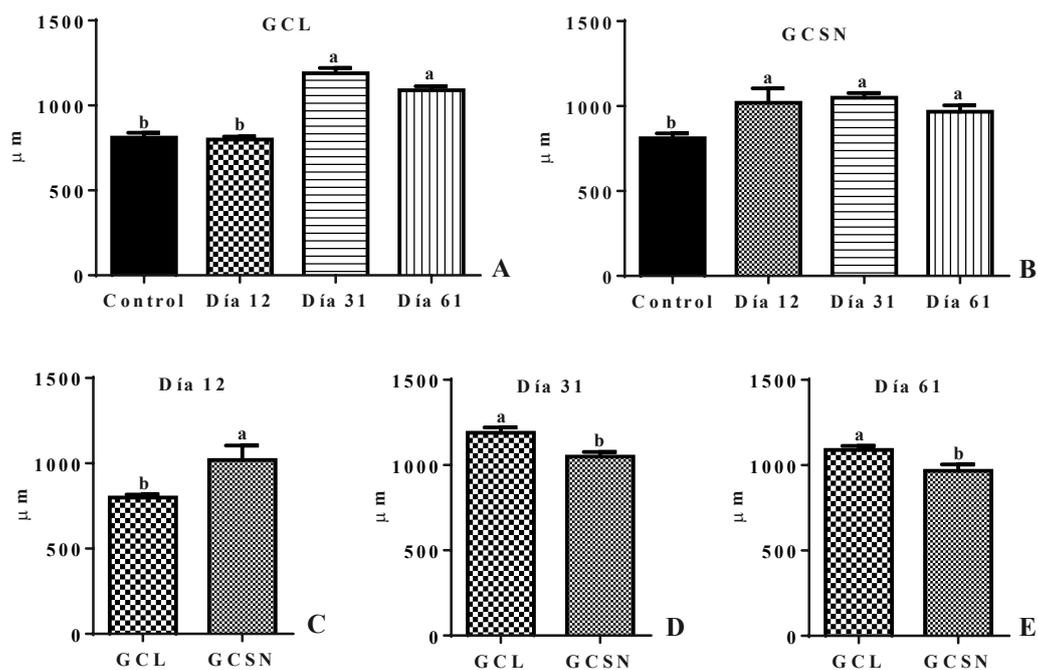


Figura 3. (A) Diámetro de los ovocitos (um) en GCL. (B) Diámetro de los ovocitos en GCSN. (C, D y E). Comparación del diámetro de los ovocitos entre tratamientos para las mismas fechas de muestreo. Barras superiores indican error estándar. Letras distintas entre grupos o días de muestreo indican diferencias estadísticamente significativas.

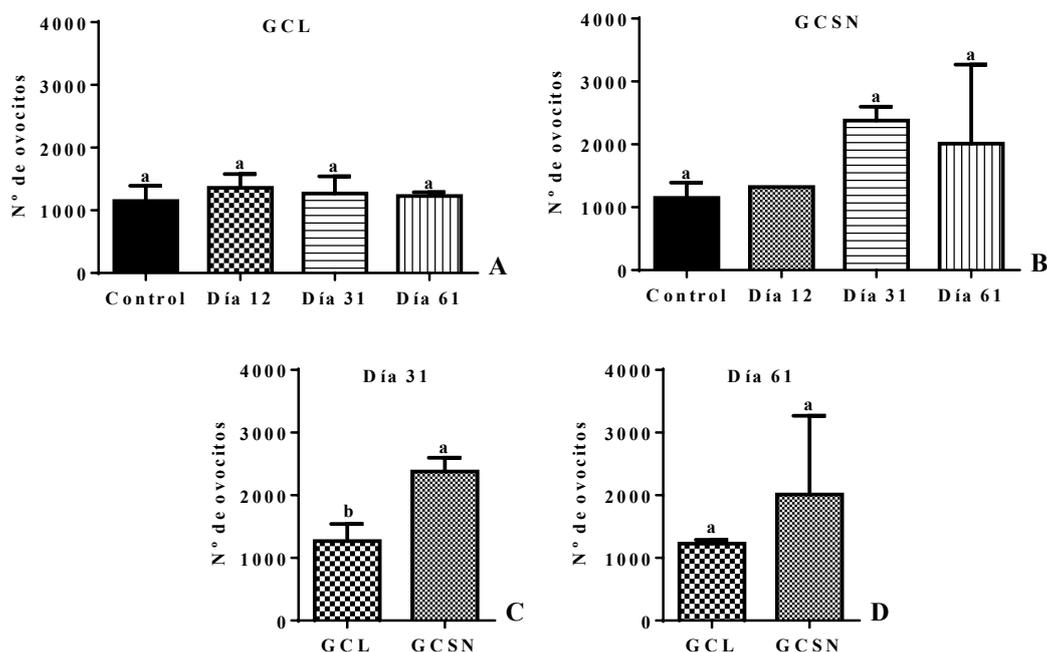


Figura 4. Valores medios (\pm error estándar) de la fecundidad absoluta por grupo de tratamiento (A, B) y días de muestreo (C, D). Letras distintas entre grupos o días de muestreo indican diferencias estadísticamente significativas. En B no se indica letra para el día 12 ya que el dato corresponde a una única hembra y por tanto no fue tomada en cuenta para el análisis estadístico.

El IGS de las hembras mostró diferencias significativas a lo largo de la experiencia en ambos grupos. Fue significativamente mayor después de 61 días desde el inicio del ensayo en GCL con respecto al grupo control. Este hecho reflejó que el IGS aumentó significativamente sólo después de que los animales fueron transferidos a los estanques externos (Figura 5A). En GCSN las diferencias se observaron antes porque el IGS fue significativamente mayor en el día 31 del ensayo y después disminuyó

considerablemente (Figura 5B).

Los valores de IGS en hembras tuvieron variaciones importantes entre días de muestreo dentro de los grupos de tratamiento a lo largo de la experiencia (Figura 5 A y B). Mientras que a los 31 y 61 días esas variaciones eran mayores dentro de cada grupo, al comparar el IGS para el mismo día de muestreo entre grupos, no se obtuvieron diferencias significativas (Figuras 5 C y D).

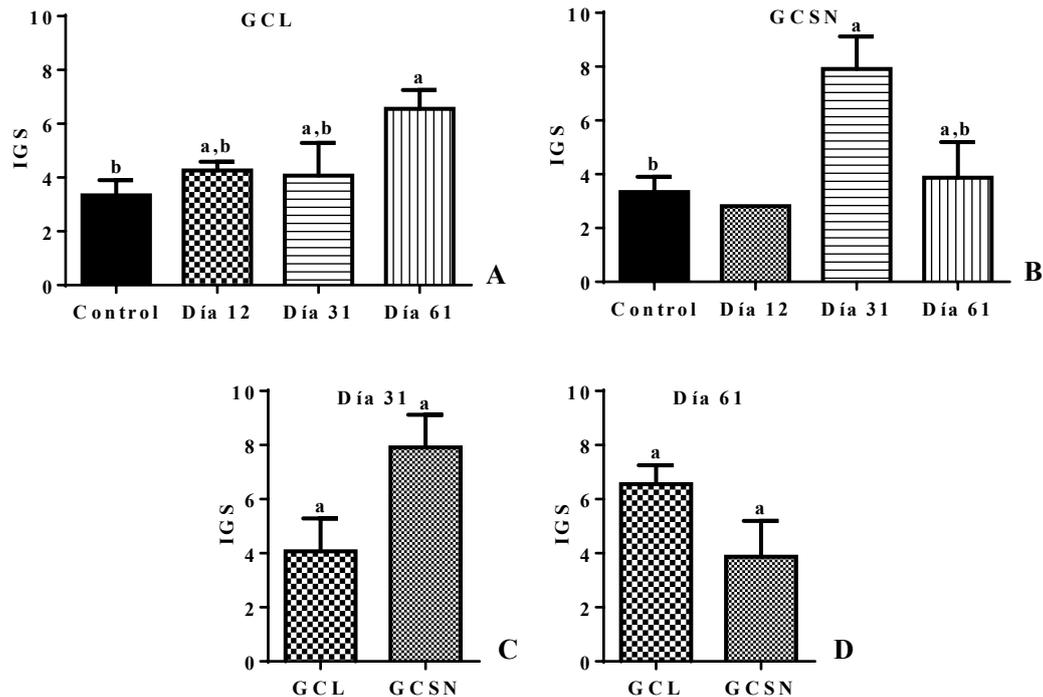


Figura 5. Valores medios (\pm error estándar) del IGS en hembras por grupo de tratamiento (A, B) y días de muestreo (C, D). Letras distintas entre grupos o días de muestreo indican diferencias estadísticamente significativas. En la figura B no se indica letra para el día 12 ya que el dato corresponde a una única hembra y por tanto no fue tomada en cuenta para el análisis estadístico.

Se identificaron todos los estadios de ovocitos descritos para la especie (Ishiba et al. 2009). Las ovogonias se evidenciaron como células redondeadas con un núcleo grande que ocupó gran parte del volumen celular. El núcleo presentó cromatina laxa y nucléolo conspicuo. Los ovocitos previtelogénicos iniciales se identificaron como células de mayor tamaño con abundante citoplasma homogéneo y basófilo con un núcleo eucromatínico y numerosos nucléolos periféricos. Los ovocitos previtelogénicos finales mostraron un tamaño aún mayor. Se caracterizaron por la aparición de alvéolos corticales. Los ovocitos vitelogénicos fueron fácilmente reconocidos como las células más grandes con un citoplasma ocupado completamente por gránulos de vitelogenina. Los ovocitos en regresión presentaron forma irregular con aspecto desorganizado y reabsorción de los gránulos de vitelogenina (Figura 6).

El número de ovogonias, ovocitos previtelogénicos iniciales y finales en el GCL no mostró diferencias significativas a lo largo de la experiencia (Figuras 7 A, C y E). Tampoco se encontraron diferencias estadísticas en los ovocitos previtelogénicos iniciales del GCSN (Figura 7 D). En este último grupo, el número de ovogonias mostró una reducción significativa a los 31 días en comparación con el control (Figura 7 B) mientras que, el número de ovocitos previtelogénicos finales mostró un aumento significativo al final del experimento en comparación con los muestreos anteriores (Figura 7 F). Por otro lado, el número de ovocitos vitelogénicos en hembras del GCL mostró una reducción significativa a los 12 y 31 días del ensayo en comparación con el control (Figura 7 G). Se observó una disminución significativa en el número de ovocitos vitelogénicos en las hembras del GCSN a los 61 días del experimento,

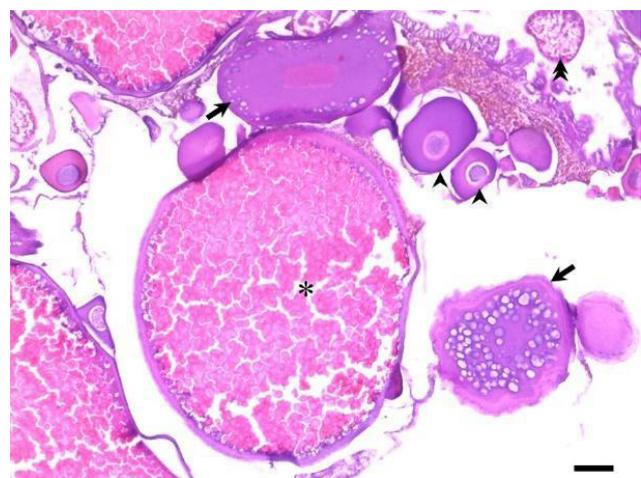


Figura 6. Estadios de desarrollo de ovocitos en *Gymnotus omarorum*. Ovocitos previtelogénicos iniciales (cabezas de flecha), ovocitos previtelogénicos finales (flechas), ovocito vitelogénico (asterisco) y ovocito en regresión (doble cabeza de flecha). Barra = 200 μ m.

respecto al muestreo anterior (Figura 7 H). Asimismo, fue destacable el aumento significativo del número de ovocitos en regresión registrado en hembras del GCL después de 12 días de cautividad que luego, disminuyó a valores similares a los del control para el día 31. Posteriormente, mostraron un aumento significativo a los 61 días de la experiencia (Figura 7 J).

No se observaron diferencias significativas en el número de ovogonias y ovocitos en diferentes etapas de desarrollo entre hembras de diferentes grupos de tratamiento cuando se comparó la misma fecha de muestreo.

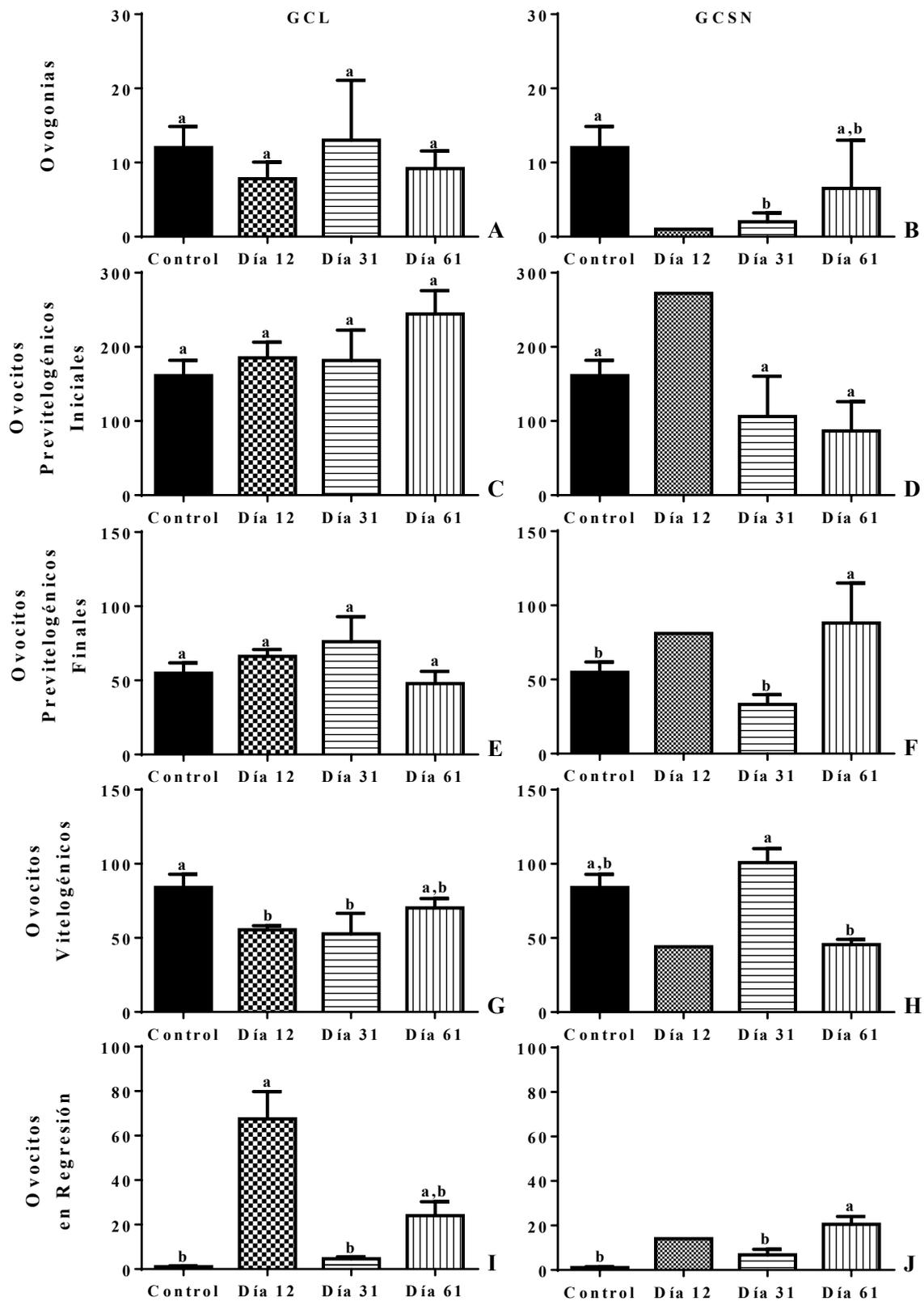


Figura 7. Valores medios (\pm error estándar) del número de ovogonias/ovocitos en distintos estadios de desarrollo por grupo de tratamiento. Letras distintas entre días de muestreo indican diferencias estadísticamente significativas. En B, D, F, H y J no se indican letras para el día 12 ya que el dato corresponde a una única hembra y, por tanto, no fue tomada en cuenta para el análisis estadístico.

Las ovogonias y ovocitos en reabsorción fueron los menos frecuentes entre los diferentes tipos celulares y estadios de desarrollo, destacándose el aumento de los ovocitos en regresión del GCL el día 12 de muestreo (Figura 8). Los ovocitos previtelogénicos iniciales fueron

los más frecuentes en ambos grupos de tratamiento en todos los días de muestreo excepto el día 31 del ensayo en GCSN cuando los ovocitos vitelogénicos fueron el estadio más abundante (Figura 8).

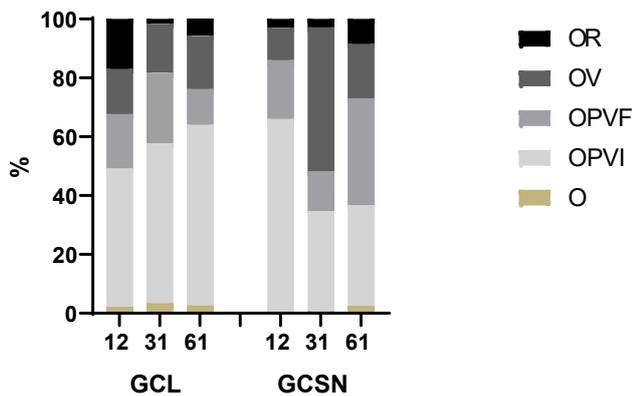


Figura 8. Frecuencia relativa de ovogonias y distintos estadios de desarrollo de ovocitos en *Gymnotus omarorum*

bajo distintas condiciones de alojamiento. O: ovogonias; OPVI: ovocitos previtelogénicos iniciales; OPVF: ovocitos previtelogénicos finales; OV: ovocitos vitelogénicos; OR: ovocitos en regresión.

La media del IGS en machos no mostró diferencias significativas dentro de cada grupo experimental a lo largo de la experiencia (Figuras 9 A y B). Tampoco se encontraron diferencias significativas para el mismo día de muestreo comparando GCL y GCSN (Figuras 9 C, D y E).

Se identificaron todas las etapas de desarrollo de los túbulos seminíferos descritas para la especie (Figura 10) (Ishiba et al. 2009).

Se identificaron todas las etapas de desarrollo de los túbulos seminíferos descritas para la especie (Figura 10) (Ishiba et al. 2009).

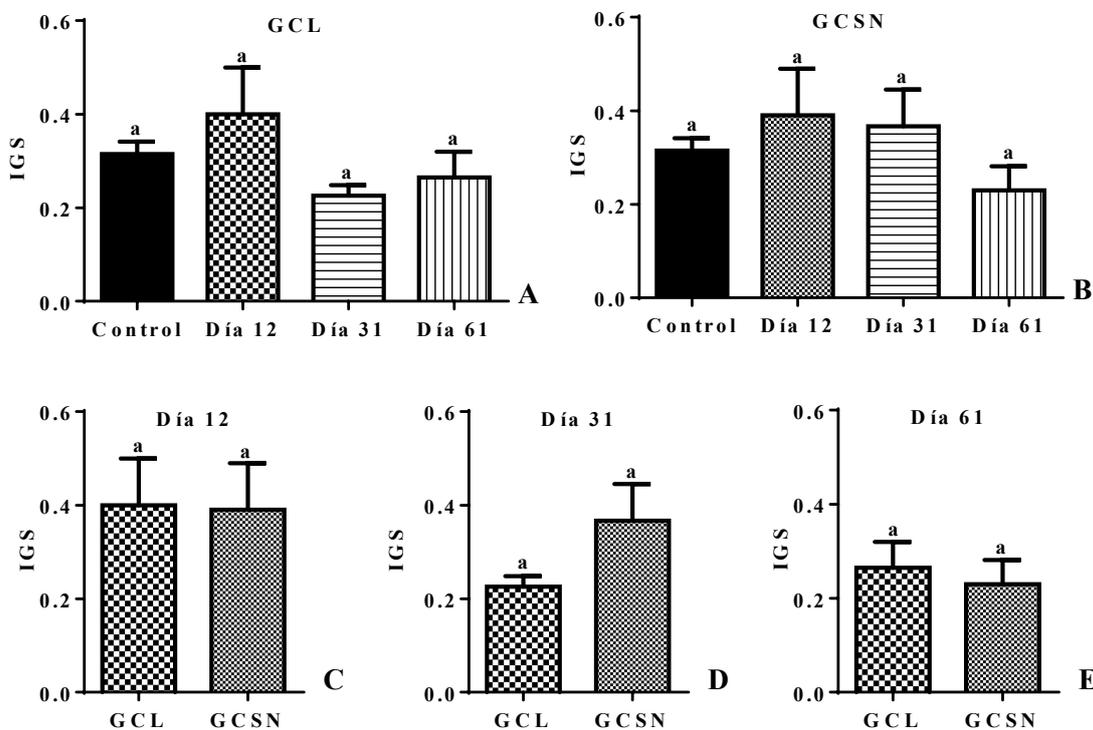


Figura 9. Valores medios (±error estándar) del IGS en machos por grupo de tratamiento (A, B) y días de muestreo (C, D, E). Letras idénticas en los grupos indican que no existen diferencias estadísticamente significativas.

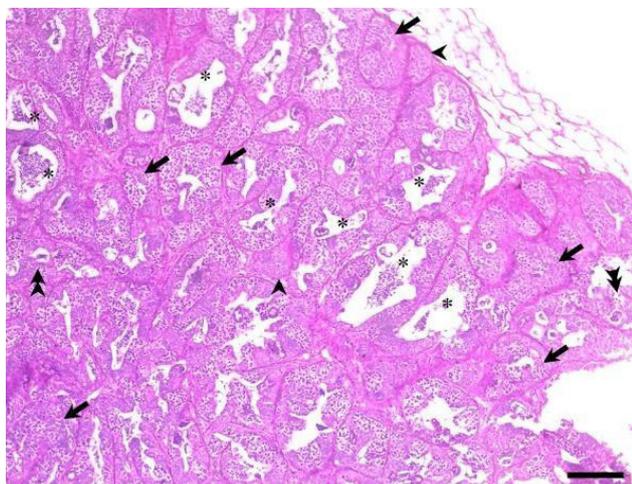


Figura 10. Estadios de desarrollo de túbulos seminíferos en *Gymnotus omarorum*. Desarrollo inicial (cabezas de flecha), desarrollo intermedio (flechas), desarrollo final (asterisco) y túbulos en regresión (doble cabeza de flecha). Barra = 100 μ m.

En contraste con la descripción de las hembras, no se observaron variaciones significativas en las etapas de desarrollo de los túbulos seminíferos a lo largo de la experiencia dentro de cada grupo de tratamiento (Figura 11) ni cuando se comparó cada estadio entre los machos de estadio GCL y GCSN para un mismo día de muestreo.

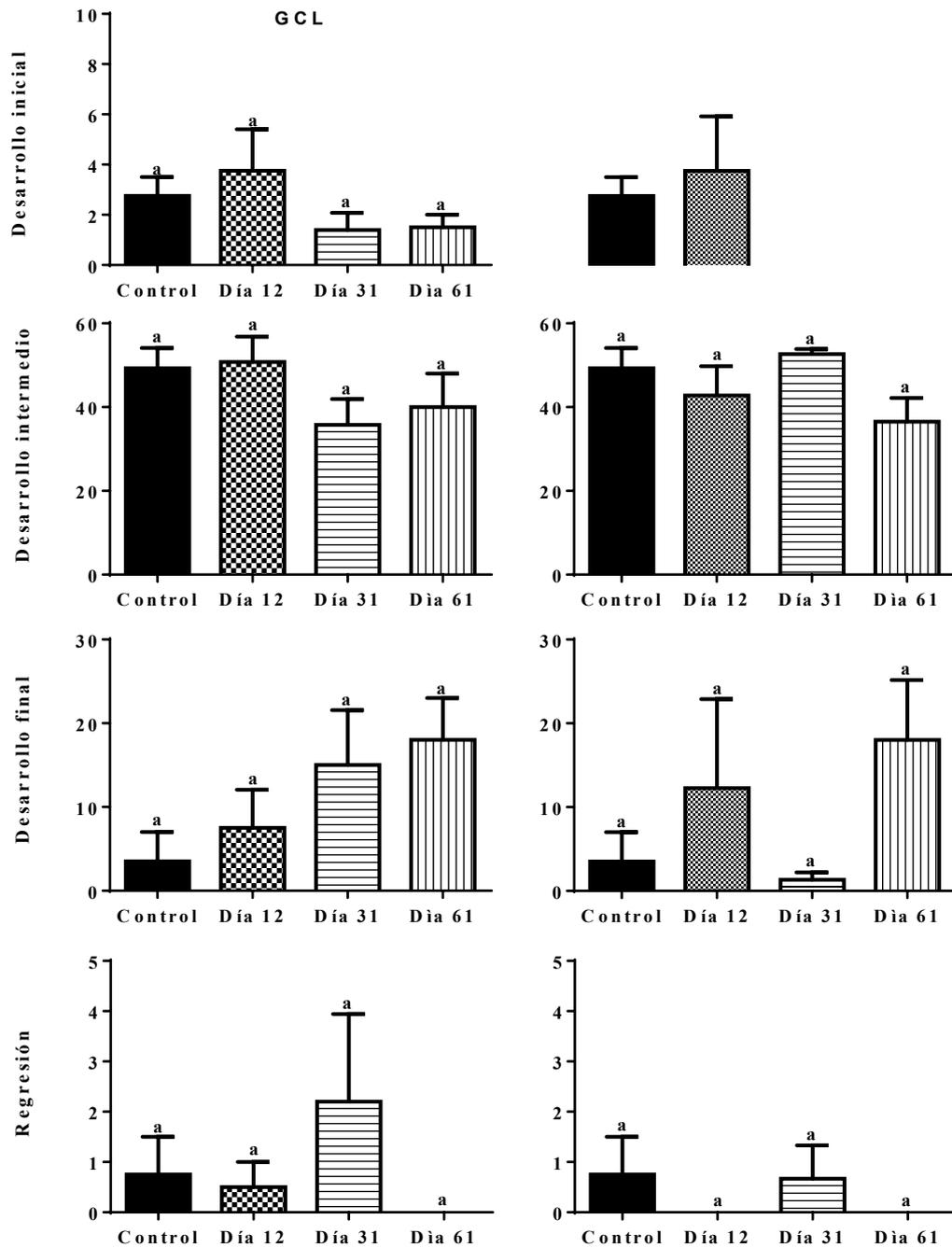


Figura 11. Valores medios (\pm error estándar) del número de túbulos seminíferos en distintos estadios de desarrollo por grupo de tratamiento. Letras distintas entre días de muestreo indican diferencias estadísticamente significativas.

En relación con las diferentes frecuencias de estadio de desarrollo descritas, los túbulos seminíferos en desarrollo intermedio fueron los más frecuentes en ambos grupos de tratamiento para todos los días de muestreo. La frecuencia de túbulos en desarrollo final mostró una tendencia a aumentar con el avance de los días de experiencia en ambos grupos de tratamiento (Figura 12).

Finalmente, 126 días después del inicio de la

experiencia fueron confirmados eventos reproductivos en ambos grupos experimentales. Se recuperaron treinta y cuatro juveniles, en total. Presentaron al menos dos grupos de diferentes tamaños definidos por su longitud y peso en el momento de la captura, tanto en GCL como en GCSN (Figura 13). Se observó una distribución bimodal en el tamaño de los juveniles en los tres estanques correspondientes a cada grupo.

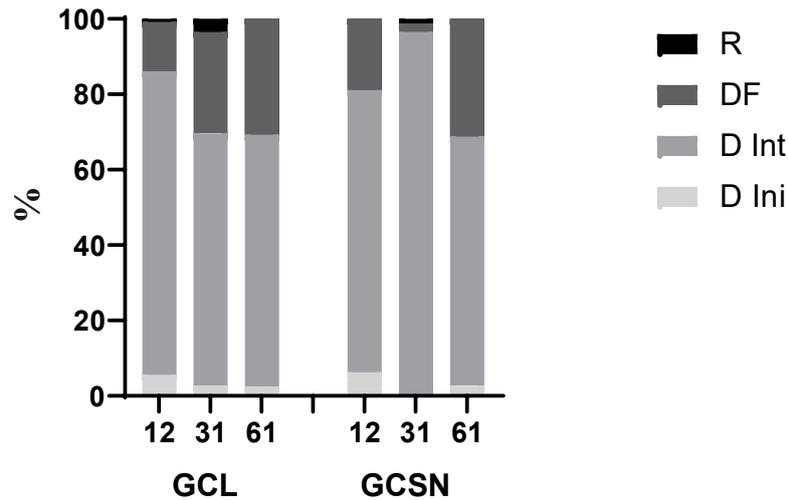


Figura 12. Frecuencia relativa de los distintos estadios de desarrollo de túbulos seminíferos en *Gymnotus omarorum* bajo distintas condiciones de alojamiento. D Ini: desarrollo inicial; D Int: desarrollo intermedio; DF: desarrollo final; R: regresión.

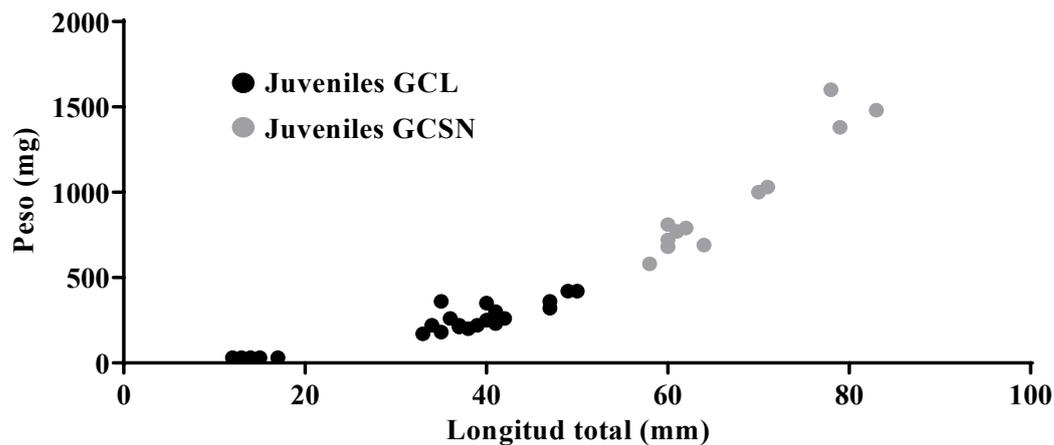


Figura 13. Distribución de pesos y tallas de juveniles de *Gymnotus omarorum* recolectados en los estanques de los tratamientos GCL y GCSN.

DISCUSIÓN

Los peces de ambientes lénticos no necesitan inducción hormonal para el desove cuando se pueden simular las condiciones naturales (Andrade y Yasui 2003). No obstante, el control de la reproducción en condiciones de cautiverio tiene especial relevancia debido a la importancia de la producción de juveniles en calidad y cantidad para la piscicultura (Soares de Oliveira et al. 2004).

La maduración en Gymnotiformes se ha logrado experimentalmente con la disminución de la conductividad del agua, aumentando su nivel y simulando precipitaciones. Estas tres variables son representativas de las condiciones ambientales de los cuerpos de agua en la época de lluvias. Por lo contrario, la regresión gonadal se logró mediante el aumento de la conductividad del agua, simulando la bajante

de una cuenca hídrica (Kirschbaum 1987, Kirschbaum y Wieczorek 2002, Kirschbaum y Schugardt 2002).

La reproducción de *G. carapo* se logró en condiciones controladas en cautiverio para lo que sólo fue necesaria la manipulación de la conductividad (Kirschbaum y Wieczorek 2002). En dicha experiencia, los autores obtuvieron el primer desove 125 días después de la reducción de la conductividad del agua, pero los animales acumularon 18 meses en cautiverio hasta ese primer evento reproductivo. Este constituye el primer registro del IC-R para la especie, en condiciones de cautiverio.

En el experimento 1, las lluvias registradas durante el tiempo de adaptación al cautiverio de los animales redujeron de manera importante la conductividad del agua como lo denotan los datos de la Tabla 1, cambiando las condiciones ambientales. Los eventos reproductivos

espontáneos tuvieron lugar antes de que se llevara a cabo la inducción hormonal programada, lo que se deduce de las fechas en que ocurrieron los eventos de la Tabla 2. Estos hechos contrastan con la recomendación realizada por Rotta (2004) sobre la anticipación de la captura de reproductores para que desoven en el siguiente periodo reproductivo. Barbieri y Barbieri (1985) informaron sobre una reabsorción generalizada de ovocitos en la etapa final de maduración sin producirse desove después de la captura de morenas silvestres. Los reproductores capturados después del pico de reproducción de una temporada reproductiva estarían preparados para desovar al inicio de la siguiente temporada, 9 a 10 meses después de su captura. Durante este experimento se pudieron verificar más de dos eventos reproductivos dentro de un intervalo de 45 días, en la misma temporada reproductiva. Las reproducciones comenzaron en los estanques antes de que transcurrieran 80 días desde la captura de los reproductores silvestres de acuerdo con la coloración y tamaño de los juveniles nacidos durante la experiencia.

Por otro lado, los reproductores se trasladaron para su inducción y permanecieron en el laboratorio 3 días antes de que fueran devueltos a los estanques. Aparentemente, la maduración gonadal no se vio afectada porque 30 días después de la devolución se recolectaron larvas con tallas aproximadas a los 12 mm LT corroborando la ocurrencia de nuevos desoves en distintos grupos de reproductores.

Durante el experimento 2 se verificó el efecto del cautiverio sobre el desarrollo gonadal y el éxito reproductivo. El análisis de las variables reproductivas presentó cambios que podrían estar relacionados con el tiempo en cautiverio y las condiciones ambientales de cultivo. Las hembras de GCL mostraron un aumento significativo de ovocitos en regresión, así como una reducción significativa en el número de ovocitos vitelogénicos después del inicio del experimento, evidenciados en la Figura 8. El diámetro de los ovocitos aumentó en GCSN a los 12 días de la prueba (Figuras 3 B y C), mientras que los cambios en esta variable se observaron después de los 31 días en las hembras del GCL, evidenciando una recuperación de la maduración gonadal. Los ejemplares de este grupo lograron reproducirse exitosamente luego de ser trasladados a los estanques en condiciones seminaturales. Este hecho demostró una rápida recuperación de la capacidad reproductiva, lo que podría relacionarse a que *Gymnotus* es un género de desove múltiple o parcelado (Iwaszkiw et al. 2016). En este grupo ocurrieron dos eventos reproductivos durante el experimento, dadas las diferencias de tamaño y color de las larvas y juveniles colectados el día 140. La reabsorción de ovocitos después de la captura de reproductores en ambientes naturales podría afectar solamente al lote de ovocitos maduros cuando los animales se alojan en condiciones seminaturales. Este hecho parece tener un efecto coincidente con el incremento del IC-I en condiciones ambientales desfavorables porque podría afectar a más de un lote de ovocitos anulando el efecto de la inducción hormonal (López et al. 2023).

Los valores más altos de fecundidad absoluta presentados en la Figura 4C por las hembras del GCSN después de 31 días de experimento podrían estar relacionados con una mejor adaptación al cautiverio en

estas condiciones de cultivo como fue propuesto por Rotta (2004).

En este trabajo, las hembras mantenidas en condiciones seminaturales en el experimento 1 fueron sometidas a una reducción de conductividad promedio de $150,7 \mu\text{S cm}^{-1}$ en 102 días, desde su captura hasta la recuperación de los reproductores. La presencia de juveniles evidenció reproducciones espontáneas en el 83% de los estanques. De acuerdo con el patrón de tamaño y coloración de los juveniles recolectados durante la experiencia, los eventos reproductivos se dieron nuevamente antes de lo descrito en la bibliografía (de Souza y de Andrade 1984, Kirschbaum y Wieczorek 2002).

Según Kirschbaum y Wieczorek (2002), un embrión de *G. carapo* con saco vitelínico puede medir entre 3 y 5 mm. Las larvas de morenas de hasta tres semanas de edad, alcanzan 17 mm de LT y son de color marrón uniforme. A las cuatro semanas y media, los juveniles tienen una LT de unos 21 mm y aparecen algunas bandas características en la parte superior del cuerpo. Luego, la coloración se intensifica permaneciendo limitada a la región dorsal del cuerpo. Los juveniles criados en condiciones controladas con alimentación *ad libitum*, en seis semanas y media miden hasta 32 mm de LT y con ocho semanas y media, hasta 39 mm. A las diez semanas y media, los peces alcanzan 54 mm de LT y la pigmentación llega hasta la musculatura de la aleta anal. A las quince semanas y media, miden aproximadamente 90 mm y el patrón de coloración es más intenso.

Los primeros juveniles recuperados en la experiencia 1 tenían entre 21 a 45 mm de LT. Sin embargo, con 23 mm de LT presentaban bandas de pigmentación tenues sobre la mitad superior del cuerpo y los de mayor tamaño presentaron patrón de bandas completo, limitado a la musculatura del cuerpo. Apenas 33 días después, en la segunda captura realizada, los mayores midieron hasta 75 mm de LT y presentaron bandas de coloración más intensa. La pigmentación, así como el desarrollo corporal en condiciones seminaturales, podrían completarse de manera más precoz dado que los patrones de bandas y la LT no se corresponden con las edades observadas en condiciones controladas (Kirschbaum y Wieczorek 2002).

De acuerdo con la fecha de siembra, el IC-R en estanques de piscicultura en condiciones seminaturales fue inferior a los registros existentes (de Souza y de Andrade 1984, Kirschbaum y Wieczorek 2002) dado que en los estanques se capturaron juveniles con LT entre 22 a 45 mm (Figuras 2 A, B y C) con el patrón de bandas característico de la especie completo el día 102 (Tabla 2). Por lo tanto, la reproducción había comenzado con anterioridad a los 80 días desde la captura de los reproductores silvestres.

El uso de pequeños estanques para el mantenimiento de reproductores podría ser un método sostenible para la cría de *G. omarorum* dado que, se puede mantener el control de los reproductores, los desoves y los juveniles dentro de cada unidad de cría. Este método podría evitar el uso de grandes áreas para el mantenimiento de reproductores y facilitar la separación de los juveniles durante la temporada de reproducción evitando el canibalismo entre peces de diferentes tamaños.

La disminución continua de la conductividad del agua durante varias semanas fue el desencadenante utilizado en condiciones experimentales por Kirschbaum y Wieczorek (2002) que condujeron a la maduración gonadal y la fertilización en acuarios. La disminución en la conductividad del agua también se registró en ambos experimentos de este trabajo, con el comienzo de las lluvias (Tabla 1). De esta manera, la acumulación de agua de lluvia en una reserva puede ser una medida de manejo que podría permitir la inducción de la reproducción cuando las lluvias en el transcurso de una temporada reproductiva fueran escasas.

En el primer experimento, se mantuvieron todos los ejemplares reproductores en adaptación, bajo idénticas condiciones. Si bien, la mortalidad de ejemplares en las unidades de cultivo utilizadas fue alta, este hecho pudo deberse a diferentes motivos. Uno de ellos podría ser las peleas territoriales en las poblaciones de los estanques (Zubizarreta et al. 2020) y otro, el exceso de la capacidad soporte de las unidades con escasez de alimento vivo suplementario que no alcanzara a cubrir las necesidades de manutención. Sin embargo, las condiciones seminaturales otorgadas al cultivo fueron suficientes para que se produjeran eventos reproductivos entre los ejemplares restantes. Son necesarios futuros estudios sobre la alimentación de los reproductores en estas condiciones para generar información acerca de la manutención de los mismos a escala para una producción comercial.

CONCLUSIONES

La reproducción de *G. omarorum* es posible con ejemplares reproductores capturados al inicio de una temporada reproductiva y mantenidos en estanques bajo condiciones seminaturales. El IC-R en *G. omarorum* con una disminución de la conductividad eléctrica del agua de aproximadamente 150 $\mu\text{s cm}^{-1}$ es menor a 80 días. El uso de estanques con superficie de 7,5 m² y volumen aproximado de 3,1 m³, resulta eficiente para la reproducción de *G. omarorum*.

ORCID

López, P.A.  <https://orcid.org/0000-0002-8297-2262>
 Sánchez, S.  <https://orcid.org/0000-0002-8093-5759>
 Murgas, L.D.S.  <https://orcid.org/0000-0002-0066-7505>
 Vigliano, F.A.  <https://orcid.org/0000-0003-3741-9270>

REFERENCIAS

1. Albert JS, Crampton WGR. Diversity and Phylogeny of Neotropical Electric Fishes (Gymnotiformes). En: Electoreception. Springer New York; 2006. p. 360-409. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/0-387-28275-0_13
2. Andrade DR, Yasui GS. O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. *Rev Bras Reprodução Anim.* 2003; 27(2): 166-172.
3. Barbieri MC, Barbieri G. Reprodução de *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758), na Represa do Lobo (SP). Morfologia e histologia de ovário. Variação sazonal. (Teleostei, Gymnotidae). *Rev. B ras. Biol.* 1985; 3-12.
4. Carrillo M, Zanuy S, Bayarri MJ. El control ambiental de la reproducción de los peces con especial referencia al control del ciclo sexual, de la pubertad y de la precocidad. En: Carrillo MA, Espinosa de los Monteros J, editores. La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura. Madrid: Fundación Observatorio Español de Acuicultura; 2009. p. 173-246.
5. de Souza JR, de Andrade DR. Produção de sarapó *Gymnotus carapo* (Pisces: Gymnotidae) em cativeiro. *Rev Ceres.* 1984; 31(176): 308-309.
6. Escobar E, Regidor HA, Iwaszkiw J, Mosa SG. Análisis comparativo de la fecundidad del Sábalo *Prochilodus lineatus* en ambientes Lóticos y Lénticos de la Argentina. *Rev Aquatic.* 2011; (34): 1-11.
7. Ishiba R, Quagio-Grassiotto I, França GF. Aspectos estruturais do desenvolvimento gonadal e relação gonadossomática de machos e fêmeas ao longo do ciclo reprodutivo anual em *Gymnotus* cf. *carapo*. En: XXI Congresso de Iniciação Científica da UNESP. São José do Rio Preto. 2009; p. 9909-9918.
8. Iwaszkiw JM, Zappietro EG, Ferriz RA, Chiamonte GE. Aportes a la biología de *Gymnotus omarorum* (Teleostei) de la Laguna Blanca, Parque Nacional Río Pilcomayo, Formosa: estado de condición, desarrollo gonadal y temporada reproductiva. *Rev Mus Arg Cs Nat.* 2016; 18 (2): 201-210.
9. Kirschbaum F. Reproduction and development of the weakly electric fish, *Pollimyrus isidori* (Mormyridae, Teleostei) in captivity. *Environ Biol Fishes.* 1987; 20: 11-31.
10. Kirschbaum F, Schugardt C. Reproductive strategies and developmental aspects in mormyrid and gymnotiform fishes. *J Physiol-Paris.* 2002; 96(5-6): 557-566.
11. Kirschbaum F, Wieczorek L. Entdeckung einer neuen Fortpflanzungs-strategie bei südamerikanischen Messerfischen (Teleostei: Gymnotiformes: Gymnotidae): Maulbrüten bei *Gymnotus carapo*. *Verh Aquar.* 2002; 2: 99-107.
12. Kirschbaum F, Leyendecker U, Nyogen B, Schulz C, Weitkamp H, Didhiou S, Thomas M, Schugardt C. Environmental control of cyclical reproduction of tropical freshwater fish: Evidence from comparative experimental data. *Cybium.* 2008; 32(3): 294-296.
13. López PA. Optimización de la reproducción de morenas (*Gymnotus* sp.) en condiciones de laboratorio mediante la utilización de diferentes protocolos de inducción hormonal. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario, Casilda, Argentina. 2019. 83 pp.
14. López PA, Rodrigues Ferreira Machado M, de Oliveira Felizardo V, Murgas LDS, Vigliano FA. Respuesta reproductiva a la inducción hormonal en *Gymnotus* sp. (Teleostei : Gymnotiformes). *Rev Vet.* 2023; 34(2): 61-68.
15. Mommsen TP, Korsgaard B. Vitellogenesis. En: João Rocha M, Arukwe A, Kapoor BG, editors. Fish

- reproduction. Enfield, NH, USA: Science Publishers. 2008; p. 113-169.
16. Peixoto Gervásio MS. Uso e conservação de recursos naturais relacionados com a pesca desportiva e a exploração de iscas vivas no Pantanal Mato-Grossense, Brasil. *Ensaios e Ciência Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde.* 2006 Aug 5;10(1):181–194. Disponible en:<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=26012756016>
 17. Rotta MA. Aspectos biológicos e reprodutivos para a criação da Tuvira (*Gymnotus* sp.) em cativeiro-I. Corumbá; 2004. (Documentos / Embrapa Pantanal ISSN 1517-1973; 74).
 18. Rotta MA, Pedroso MF, Acorci LC. Determinação do sexo da tuvira *Gymnotus* sp. através da imagem de ultra-som. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento Embrapa Pantanal.* Corumbá. 2007.
 19. Rotta MA, Rodrigues RB, Pedroso MF, Acorci Filho LC, de Lara JAF, Streit Jr DP. Mass synchronization of gonadal maturation in banded knifefish broodstock (*Gymnotus* cf. *carapo*). *Aquaculture.* 2023; 574: 739702.
 20. Soares de Oliveira M, Cândido Pereira RA, Kawakami de Resende E, Mayumi Ishikawa M, Fernandes dos Santos J, Soares J, et al. Avaliação da qualidade de água para manutenção de tuviras (*Gymnotus* cf. *carapo*) em cativeiro, na unidade experimental do Porto da Manga, Corumbá, Pantanal de Mato Grosso Do Sul, Brasil. En: 1º Congresso Brasileiro de Produção de Peixes Nativos de Agua Doce. Corumbá; 2004. p. 6.
 21. Zubizarreta L, Quintana L, Hernández D, Mello FT De, Meerhoff M, Honjii RM, Moreira RG, Silva A. Seasonal and social factors associated with spacing in a wild territorial electric fish. *PLoS One.* 2020; 15(6): e0228976.