



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

**FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y
CIENCIAS DEL MAR**



**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
PESQUERA ACUÍCOLA**

TESIS DE PREGRADO

**Efecto de tres concentraciones de acetato de buserelina en la
emisión de gametos de *Cynoscion analis***

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
PESQUERO**

PRESENTADO POR:

**Br. Alan Aníbal Espinales Rosalez
Br. Jonathan Leonardo Reyes Rodríguez**

TUMBES, PERÚ

2018



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

**FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y
CIENCIAS DEL MAR**



**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
PESQUERA ACUÍCOLA**

TESIS DE PREGRADO

**Efecto de tres concentraciones de acetato de buserelina en la
emisión de gametos de *Cynoscion analis***

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
PESQUERO**

PRESENTADO POR:

**Br. Alan Aníbal Espinales Rosalez
Br. Jonathan Leonardo Reyes Rodríguez**

TUMBES, PERÚ

2018

RESPONSABLES

Br. ALAN ANIBAL ESPINALES ROSALEZ

EJECUTOR

Br. JONATHAN LEONARDO REYES RODRÍGUEZ

EJECUTOR

Dr. AUBERTO HIDALGO MOGOLLÓN

ASESOR

JURADO DICTAMINADOR

Dra. ENEDIA GRACIELA VIEYRA PEÑA

PRESIDENTE

Mg. ALBERTO ORDINOLA ZAPATA

SECRETARIO

Dra. TESSY PERALTA ORTIZ

VOCAL

AGRADECIMIENTO

A Dios, por el regalo maravilloso de la vida, quien cada mañana me permite abrir nuevamente los ojos para seguir adelante. A mis padres por todo el apoyo incondicional antes y durante todo mi proceso de educación.

Br: Alan Espinales Rosalez

Primero agradezco a Dios por mantenerme con vida, por darme sabiduría y así tomar las mejores decisiones en mi vida. A mis padres y hermanas por darme las fuerzas y siempre guiarme por el camino del bien y demás familiares que colaboraron para que hoy este culminado una etapa de mi vida profesional.

Br: Jonathan Reyes Rodríguez

DEDICATORIA

A Dios por guiarme en cada pasó de mi vida,
porque él me enseñó que todo es posible para
el que cree en él.

A mi madre Lida Rosalez, a mi padre Santos
Espinales, a mis hermanos, por esa convicción,
certeza, esfuerzo y perseverancia que
instruyeron en mí desde pequeño.

A mi Esposa por el cariño, la constancia y el
tiempo a lo largo de todo este camino.

A mis distinguidos docentes por todo la
amabilidad y comprensión al compartir sus
conocimientos a lo largo de estos años.

Br: Alan Espinales Rosalez

DEDICATORIA

A Dios por guiarme en cada pasó de mi vida,
porque él me enseñó que todo es posible para
el que cree en él.

A mi madre Nancy Rodríguez, a mi padre Artemio
Reyes, a mis hermanas, por esa convicción, certeza,
esfuerzo y perseverancia que instruyeron en mí
desde pequeño.

A mi esposa Jamilex Borbor por el cariño, la
constancia y el tiempo a lo largo de todo este
camino.

A mis distinguidos docentes por todo la
amabilidad y comprensión al compartir sus
conocimientos a lo largo de estos años.

Br: Reyes Rodríguez Jonathan

TABLA DE CONTENIDO

	Pag.
RESPONSABLES.....	iii
JURADO DICTAMINADOR.....	iv
TABLA DE CONTENIDO	viii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	12
II. ANTECEDENTES	15
III. MATERIAL Y MÉTODOS	19
3.1. Material.....	19
3.1.1. Material biológico	19
3.1.2. Material de laboratorio.....	19
3.1.3. Equipos	20
3.1.4. Reactivos.....	20
3.1.5. Material de oficina	20
3.2. Métodos	21
3.2.1. Acondicionamiento del lugar de la investigación.....	21
3.2.3. Mantenimiento de reproductores en cautiverio.....	22
3.2.4. Parámetros físicos y químicos del agua	22
3.2.5. Alimentación de los reproductores	23
3.2.6. Selección de reproductores para la biopsia	23
3.2.7. Selección de reproductores para la aplicación de la hormona acetato de buserelina	24
3.3. Inducción a la emisión de gametos.....	24
3.3.1. Inducción hormonal en hembras	24
3.3.2. Inducción hormonal en machos	25
IV. RESULTADOS.....	27
4.1. Emisión de gametos en hembras de <i>Cynoscion analis</i>	27
4.2. Emisión de gametos en machos de <i>Cynoscion analis</i>	27
4.3. Parámetros físico químico del agua.....	27
V. DISCUSIÓN.....	29
VI. CONCLUSIONES	32
VII. RECOMENDACIONES.....	33
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

ÍNDICE DE TABLAS

	Pag.
Tabla 1. Dosificación de la hormona acetato de buserelina en hembras según cada tratamiento.....	25
Tabla 2. Dosificación de la hormona acetato de buserelina en machos según cada tratamiento.....	26T
Tabla 3. Registro del oxígeno (mg/l) previo a los días de inoculación.....	28
Tabla 4. Registro de la temperatura (°C)previo a los días de inoculación.....	28
Tabla 5. Registro de la salinidad (‰) previo a los días de inoculación.....	28
Tabla 6. Peso y longitud de especímenes hembras de <i>Cynoscion analis</i> capturadas.....	29
Tabla 7. Peso y longitud de especímenes machos de <i>Cynoscion analis</i> capturados.....	30

Efecto de tres concentraciones de acetato de buserelina en la emisión de gametos de
Cynoscionanalis

Br. Alan Anibal Espinales Rosalez¹
Br. Jonathan Leonardo Reyes Rodríguez¹
Dr. Auberto Hidalgo Mogollón²

RESUMEN

En el presente estudio se determinó el efecto de tres dosis de acetato de buserelina en la emisión de gametos en reproductores de *Cynoscionanalis*. El estudio se realizó en el mes de noviembre del año 2017 en el laboratorio de producción de larvas Larvidob ubicado en la provincia de Santa Elena - Ecuador. La proporción sexual fue de 1:1, machos y hembras fueron separados y colocados en dos tanques de 1000 L. El peso promedio y la longitud de las hembras y los machos fueron de 246,7 g y 29,6 cm, 242,9 g y 29,6 cm respectivamente. Se aplicaron a las hembras tres tratamientos con dosis 2,5 ml, 3 ml y 3,5 ml de acetato de buserelina/kg de peso del pez y un tratamiento control sin inocular. A los machos se les aplicó tres tratamientos con dosis de 0,5 ml, 1 ml y 1,5 ml de acetato de buserelina/kg de peso del pez y un tratamiento control sin inocular. La inoculación en las hembras se realizó en dos aplicaciones, primero se aplicó el 10% y luego de 12 h el 90% restante. La inoculación en los machos se realizó en dos aplicaciones, primero se aplicó el 50% y luego de 12 h el 50% restante. Los reproductores fueron monitoreados post-inoculación, transcurridas 30 horas se observó que definitivamente no emitieron gametos. Se concluye que ninguna de las concentraciones aplicadas de acetato de buserelina indujeron a la emisión de gametos en la especie *Cynoscionanalis*.

Palabras clave: *Cynoscionanalis*, acetato de buserelina, inoculación, reproductores, gametos.

¹Estudiante de la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera de la Universidad Nacional de Tumbes.

²Profesor Principal de la Escuela de Ingeniería Pesquera Acuícola de la Universidad Nacional de Tumbes.

Tesis presentada para obtener el título profesional de Ingeniero Pesquero
Universidad Nacional de Tumbes
Facultad de Ingeniería Pesquera y Ciencias del Mar
Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera
Calle Los Ceibos S/N Puerto Pizarro, Tumbes-Perú
E-mail: jonasreyes0605@gmail.com, alanespinales20166@gmail.com, aubertohtm@gmail.com

Effect of three concentrations of buserelin acetate on the emission of gametes from
Cynoscion analis

Br. Alan Anibal Espinales Rosalez¹
Br. Jonathan Leonardo Reyes Rodríguez¹
Dr. Auberto Hidalgo Mogollón²

ABSTRACT

In the present study, the effect of three doses of buserelin acetate on the emission of gametes in breeders of *Cynoscion analis*. The study was conducted in the month of November of the year 2017 in the Larvidob larvae production laboratory located in the province of Santa Elena - Ecuador. The sex ratio was 1:1, males and females were separated and placed in two tanks of 1000 L. The average weight and length of females and males were 246,7 g and 29,6 cm, 242,9 g and 29,6 cm respectively. Three treatments were applied to the females with doses 2,5 ml, 3 ml and 3,5 ml of buserelin acetate/kg of fish weight and a control treatment without inoculation. Three treatments were applied to the males with doses of 0,5 ml, 1 ml and 1,5 ml of buserelin acetate/kg of fish weight and a control treatment without inoculation. The inoculation in the females was done in two applications, first 10 % was applied and after 12 hours the remaining 90 %. The inoculation in the males was done in two applications, first 50 % was applied and after 12 hours the remaining 50 %. The reproducers were monitored post-inoculation, after 30 hours it was observed that they definitely did not emit gametes. It is concluded that none of the applied concentrations of buserelin acetate induced the emission of gametes in the *Cynoscion analis* species.

Keywords: *Cynoscion analis*, buserelin acetate, inoculation, reproducers, gametes

¹Student of the Professional School of Fishing Engineering of the National University of Tumbes.

²Principal Professor School of Aquaculture Fisheries Engineering of the National University of Tumbes.

Thesis presented to obtain the professional title of Fisheries Engineer
National University of Tumbes
Engineering Faculty of Fisheries and Marine Sciences
Academic Professional School of Fisheries Engineering
Calle Los Ceibos S / N Puerto Pizarro, Tumbes-Peru
E-mail: jonasreyes0605@gmail.com, alanespinales20166@gmail.com, aubertoht@gmail.com

I. INTRODUCCIÓN

La acuicultura en el Perú tiene un escaso nivel de desarrollo, comparado con otros países de la región y está orientada al cultivo de pocas especies. Al primer semestre de 2008 el 82,91 % del área otorgada (19 110,06 ha) correspondió a la actividad acuícola marina y 17,09 % (3 938,93 ha) a la actividad acuícola continental. Los cultivos más desarrollados son los de concha de abanico y langostino, cuyas producciones son destinadas principalmente a la exportación (FAO, 2016).

Asimismo, el cultivo de trucha se desarrolla en las zonas alto andinas y está dirigido tanto al mercado local como al de exportación. Otras especies cultivadas en zonas tropicales son peces nativos (gamitana, paco y boquichico), y su producción se orienta al mercado local. Finalmente, la tilapia es cultivada en selva alta región San Martín para consumo local y en la costa norte del país, para mercado interno y para exportación (PRODUCE, 2007).

Para la diversificación de especies de cultivo en la región Tumbes, se vienen realizando diversas investigaciones, por parte del sector privado como del sector público (Imarpe, 2008). Las especies *Cynoscion* spp., tienen una buena aceptación en el mercado nacional e internacional por su excelente calidad de carne, lo que las hace especies interesantes para la investigación, constituyendo una buena alternativa para el cultivo.

Chavarria (2012), indicó que las especies *Cynoscion* spp., pertenecen a la familia Scianidae, cuyos miembros se conocen comúnmente como corvina. Se encuentran presentes en todo el mundo, casi en su totalidad son de aguas tropicales. Habitan en aguas cercanas a la costa sobre fondos arenosos y lodosos a poca profundidad, pero algunas viven en aguas profundas entre los 100 y 600 m, también se les encuentra en lagos, lagunas y estuarios, se alimentan de sardinas, langostinos, cefalópodos, peces y calamares pequeños. Son carnívoras y en su mayoría comestibles, algunas son de carne muy apetecida y apreciada por su buen sabor y de gran importancia comercial en toda América.

Estas especies utilizan los estuarios como zonas estacionales de crecimiento durante su fase juvenil y como áreas de nutrición en su fase adulta. Es una especie estenohalina al presentar poca tolerancia a las variaciones en la concentración de sales; generalmente se encuentra en aguas de 21‰ a mayor salinidad. Entre las características físicas que presenta esta especie están: una cabeza cónica, poco comprimida, parte dorsal del cuerpo color gris

metálico, lados plateados, aletas dorsal y caudal oscuras; aletas pectoral, ventral, anal y parte posterior ventral ligeramente anaranjado (Chavarria, 2012).

Las especies *Cynoscion*spp., en hábitat natural suelen tener desoves en casi todo el año, pero con mayor intensidad en los meses de primavera y verano, la longitud en la cual alcanza su primera madurez sexual es a la talla de 20,2 cm (Linares, 2011 citado en Pérez, 2013).

El acetato de buserelina conocido comercialmente como conceptual es un inductor hormonal de tipo heteroplástico de uso veterinario disponible en el mercado de Ucayali, su presentación es en solución inyectable de 10 ml. La inoculación del producto se da por vía intraperitoneal en la región media lateral del cuerpo a la altura del origen de las aletas ventrales y también en el pliegue que se ubica detrás de la aleta pectoral, la dosis inoculada se fija de acuerdo al peso y el sexo del pez, las hembras requieren mayor dosis que los machos, por lo que es importante saber reconocer las características morfológicas diferenciales de ambos sexos (Rebaza y Deza, 1997, citado en Gómez y Sanjinéz, 2010).

Conociendo las desventajas que conlleva el monocultivo en una región y el riesgo socio económico que este representa, se hace necesario buscar nuevas alternativas de cultivos para complementar la acuicultura del langostino en la región Tumbes, entre ellas está la especie *Cynoscion analis*, una especie nativa, de buena aceptación y que tiene mercado nacional e internacional, es por ello que pensando que en algún momento se quiera cultivar comercialmente esta especie, se requiere de alevines, los que pueden ser obtenidos de gametos emitidos mediante la administración de la hormona acetato de buserelina en dosis que se requieran, potencialmente para lograr la emisión de sus gametos.

*Cynoscion*spp., son un recurso hidrobiológico de importancia comercial tanto desde el punto de vista económico como alimenticio, la población mundial sigue creciendo de una forma exponencial y demanda de una mayor producción de alimento para satisfacer sus necesidades, por eso en el presente trabajo de investigación se medirá el efecto al aplicar tres dosis de la hormona acetato de buserelina en la especie *Cynoscion analis* para la emisión de gametos, con lo que se obtendrían alevines para realizar cultivos de engorde en la región de Tumbes como alternativa a la acuicultura de langostino.

Es por ello que se han planteado como objetivos de la investigación:

Determinar el efecto que tienen las dosis de 2,5 ml, 3 ml y 3,5 ml de acetato de buserelina/kg de peso del pez sobre la emisión de gametos en hembras de *Cynoscion analis*.

Determinar el efecto que tienen las dosis de 0,5 ml, 1 ml y 1,5 ml de acetato de buserelina/kg de peso del pez sobre la emisión de gametos de machos de *Cynoscion analis*.

II. ANTECEDENTES

Investigaciones sobre inducción a la reproducción de *Cynoscion analis*, no se han encontrado, pero se tienen algunas experiencias con otras especies de peces utilizando diversos inductores entre ellos el acetato de busserelina, por citar algunos de ellos:

Palacios, Rosales, y Rabinovich (2015), evaluaron el efecto del fotoperiodo y la temperatura sobre la maduración y reproducción de la especie *Cynoscion phoxocephalus* (corvina-cherela). Se comprobó que una excesiva cantidad de horas de oscuridad asociadas a una baja temperatura afectan el desarrollo de la vitelogénesis, encontrándose los ovocitos inmaduros. El mismo resultado se evaluó para los machos, en donde se encontró esperma viable en temperaturas altas. Sin embargo, cuando se evaluó la temperatura, se determinó que este parámetro afectó el desarrollo de los ovocitos de manera directa, observando que a temperaturas altas hay mayor desarrollo y maduración. Por el contrario, a temperaturas bajas hay un menor porcentaje de ovocitos desarrollados. Similares resultados se obtuvieron al evaluar el fotoperiodo, en donde se obtuvieron mejores resultados en cuanto al desarrollo de los ovocitos con horas de luz proporcional al medio natural.

Contreras et al. (2014), evaluaron la inducción al desove de *Centropomus poeyi* con dosis únicas de 100 y 200 µg de GnRH-a/hembra. Cuatro hembras y dos machos con pesos de entre 4,2 y 6,8 kg. Las hembras fueron implantadas con dosis únicas de 100 y 200 µg de GnRH-a/hembra. Los machos recibieron dosis únicas de 100 µg de GnRH-a. Se observaron desoves 27 horas después de que los peces fueron implantados con la hormona, no así para la hembra que se utilizó como control. El diámetro de los huevos fertilizados fue de $614,52 \pm 51,95$ µm y $621,76 \pm 63,18$ µm respectivamente. Se obtuvieron aproximadamente más de cuatro millones de huevos. El porcentaje de fertilización varió entre 18 % y 100 %. El porcentaje de eclosión fue de 68%. La talla promedio de los alevines fue $1,53 \pm 0,13$ mm y se obtuvo un total de 3 128 000 alevinos.

Espinoza, Perea, Buitrón, y Catcopargo (2010), evaluaron el efecto de inyecciones de acetato de busserelina (un análogo de GnRH; GnRH_a) sobre el desove y espermiación de *Engraulis ringens*. Además, se utilizó domperidona (DOM) para eliminar un posible control dopaminérgico en la liberación de gonadotropinas endógenas en esta especie. Se inyectaron intraperitonealmente ejemplares maduros con 0,005 µg GnRH_a/g de pez;

0,005 µgGnRHa/g de pez + 0,01 mg DOM/g de pez o solución salina a 0,9% (SS). Hubo un efecto inductor de los tratamientos con GnRHa y GnRHa+DOM sobre el desove. Los desoves ocurrieron entre las 24 y 48 horas post-inyección (pi) y los porcentajes totales fueron 57,3% y 20,9 % con GnRHa y GnRHa+DOM respectivamente, los cuales fueron significativamente diferentes ($P < 0,05$). El efecto de la hormona sobre la expulsión de semen fue inmediato en el tratamiento con GnRHa(44,4%), siendo el porcentaje de machos expulsantes a 0 horas (pi) significativamente diferente al control (0 %) ($P < 0,05$). El máximo porcentaje de machos expulsantes se observó a las 12 horas (pi), siendo 85,7 % con GnRHa y 75,0% con GnRHa+DOM, entre los cuales no se encontró diferencias significativas ($P > 0,05$). De acuerdo a los resultados obtenidos no existiría un control dopaminérgico en esta especie, ya que hubo expulsión de gametos con o sin la aplicación de domperidona. Por el contrario, se observó significativa reducción de los porcentajes de peces expulsantes al inyectar DOM.

Gómez y Sanjinez (2010), evaluaron la dosificación de acetato de buserelina que podría inducir en mayor porcentaje a la emisión de gametos de hembras y machos de *Dormitorlatifrons*, utilizando tres dosis de acetato de buserelina. A las hembras se le aplicaron tres tratamientos experimentales: inyección de 1,6 ml, 2,6 ml y 3,6 ml de acetato de buserelina/kg peso del pez y a los machos se le aplicó tres tratamientos experimentales: inyección de dosis 0,5 ml, 1,0 ml y 1,5 ml de acetato de buserelina/kg peso del pez. Se observaron los ejemplares, por un lapso de 36 horas posteriores a la aplicación de la dosis desencadenante y no se observó emisión de gametos en ninguno de los reproductores inyectados.

Gracia, Rodríguez y Pérez (2004), evaluaron si mediante el uso de la hormona gonadotropina coriónica humana (GCH) era posible el desove de hembras silvestres de cabrilla sardinera *Mycteroperca rosaceainoculada* en dos dosis: la primera de 1000 µl/kg y la segunda de 500 µl/kg, con un intervalo de 24 horas. Se capturaron ocho cabrillas adultas con anzuelo en la isla San José, Baja California Sur (México), entre junio y julio del 2001. Las cuatro hembras maduras fueron inducidas a desovar con dos inyecciones de gonadotropina coriónica humana (GCH); a la primera inyección de 1000 µl/kg le siguió 24 horas más tarde una segunda inyección de 500 µl/kg. Los cuatro machos maduros (con presencia de esperma fluyente) y las cuatro hembras inyectadas, fueron

mantenidos en un tanque de 16 m³ bajo flujo continuo de agua con temperatura media de 28,5 °C y 36 ‰ de salinidad. De las cuatro hembras tratadas, dos desovaron, liberando aproximadamente 40000 huevos/pez, que fueron fecundados con el espermatozoides de los machos que se encontraban maduros. La tasa de fecundación obtenida de las dos hembras fue de 10 % y 0 %.

Palmira (2001), evaluó si era posible la inducción hormonal en doncella *Pseudoplatystomafasciatum* usando pituitaria de carpa y ovudal (D-alanina 6) (un análogo de la hormona liberadora de hormonas gonadotrópicas o GnRH). Diez peces fueron sometidos al tratamiento hormonal, cuatro de ellos con extracto de hipófisis de carpa, *Cyprinus carpio*, y seis con ovudal. La proporción de sexos fue de 1:1. La hormona se aplicó en una sola dosis, calculada de acuerdo con el peso de cada ejemplar (Woynarovich, & Horvath, 1998). Para disolver el ovudal, se usó 2 ml de suero fisiológico. La dosis fue de 10 mg/kg para las hembras y de 1 mg/kg para los machos. Cuando se usó pituitaria de carpa, la dosis fue de 5 mg/kg para las hembras y de 1 mg/kg para los machos. Para inocular las hormonas, se usó jeringas hipodérmicas de 3 ml con una aguja para insulina. El área de inoculación fue el espacio que está entre la aleta abdominal y la papila urogenital. Los especímenes tratados respondieron favorablemente al tratamiento de inducción hormonal. Se produjo el desove a las 20±4 horas a una temperatura de 25,5±0,4 °C. Se encontró que las doncellas hembras de 3570±1580 Kg tienen 444 000±40 830 óvulos, con una media de 1204±8 óvulos por gramo de óvulos.

Ascón (1992), evaluó dos técnicas diferentes de inducción hormonal en las especies gamitana (*Colossomamacropomum*) y paco (*Piaractusbrachypomus*). La primera de 6 dosis y la segunda de 2 dosis con la finalidad de observar con cuál de las técnicas utilizadas se obtendrían mejores resultados. Los reproductores tenían aproximadamente 6 años de edad y fueron alimentados con frutos y desperdicios de cocina. Asimismo, se utilizó reproductores criados en la estación, los cuales se les proporcionó alimento balanceado como dieta, en forma de pellets 2 o 3 veces por semana, excepto los meses de julio y octubre, que no se les alimentó, estando mantenidos en estanques de tierra de 200 m² a una densidad de 1 pez/20 m². Como inductores se utilizaron los siguientes productos hormonales: gonadotropina coriónica humana (GCH), hipófisis de carpa (HC) y acetato de buserelina (conocido comercialmente como conceptual). En dicho trabajo se

observó notoriamente que los resultados usando dos dosis fueron mejores en comparación con el uso de seis dosis, ofreciendo ciertas ventajas, como menor estrés y manipuleo de los reproductores, menor esfuerzo y tiempo por parte del personal investigador.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Material

3.1.1. Material biológico

- 15 ejemplares machos de *Cynoscion analis*
- 15 ejemplares hembras de *Cynoscion analis*
- 30 kg de pulpa de calamar (*Loligo gahi*)

3.1.2. Material de laboratorio

- 100 porta objetos
- 1 beaker de 10 ml
- 1 escala empírica de madurez sexual en peces
- 2 beakers de 250 ml
- 3 micropipetas de 10 μ l
- 24 puntas de micropipeta de 200 μ l
- 24 microtubos de centrifuga de 1,5 ml
- 2 cámaras neubauer de 0,0025 mm
- 4 acuarios
- 4 tanques circulares de 1000L
- 2 tanques de 400 L
- 1 red de enmalle
- 12 mallas de material sintético
- 1 tamiz de 60 μ m
- 2 escobas
- 2 escobillas
- 10 m de malla negra
- 15 m de manguera plástica de 4 mm de diámetro
- 8 piedras difusoras
- 1 challo
- 2 cánulas plásticas de 2 mm de diámetro exterior y 1 mm de diámetro interior
- 32 jeringas descartables de 1 ml
- 5 toallas

- 10 esponjas de dumlopillo de 0,50 x 0,50 m

3.1.3. Equipos

- 1 electrobomba de 1 pulgada de diámetro de 1 hp
- 1 blower de 2 hp con dos salidas
- 4 aireadores de acuario
- 1 estereoscopio marca Olympus modelo SZ61
- 1 microscopio binocular marca Olympus modelo CX31
- 1 ocular micrométrico
- 1 termómetro blindado marca VeeGee con rango de -20 a 150 °C
- 1 refractómetro marca Atago de 0 a 100 ‰
- 1 multiparametro marca YSI modelo Pro2030
- 1 balanza analítica marca Sartorius de 0,1 g a 2 g
- 1 balanza marca Toledo 210 g graduada 0,1 mg
- 1 ictiómetro de 0,5 m graduada a 0,01 m
- 1 linterna de mano
- 1 reloj
- 1 cámara fotográfica digital, marca Sony

3.1.4. Reactivos

- 1 frasco 10 ml de acetato de busserelina (conceptal),
- 0,5 l de alcohol 70%
- 1 L de alcohol al 98 % de pureza
- 1 L de formol de 40 % de pureza
- 1 L de ácido acético glacial de 80 % de pureza
- 500 g de sal común
- 1 kg de urea
- 5l de hipoclorito de sodio al 5 %
- 20 g de detergente

3.1.5. Material de oficina

- 1 millar de papel bond tamaño A4 de 75g
- 1 memoria USB de 4 Gb
- 1 libreta de campo

3.2. Métodos

3.2.1. Acondicionamiento del lugar de la investigación

La investigación se realizó en el laboratorio de producción de larvas Larvidob, ubicado en la comuna de Monteverde en la Provincia de Santa Elena, la misma que cumplía con las condiciones tanto estructurales y sanitarias para llevar a cabo la ejecución del proyecto de investigación. La limpieza y desinfección fue extensiva a los 4 tanques circulares con agua e hipoclorito de sodio al 5 % y también se efectuó de la misma manera para todos los materiales a utilizar.

El agua de mar utilizada fue bombeada, filtrada con un tamiz de 60 μm y almacenada en dos tanques circulares de 1000 L. Durante este proceso se registró los principales parámetros físicos-químicos del agua de mar como: temperatura, salinidad y oxígeno disuelto.

3.2.2. Captura de los reproductores de *Cynoscion analis*

Para el proceso de inducción al desove, se capturaron 15 reproductores machos y 15 reproductores hembras de los cuales fueron seleccionados en base a su estado de madurez sexual 8 machos y 8 hembras. Los reproductores de *Cynoscion analis*, fueron capturados con red de enmalle en las zonas de pesca de Puerto Engabao, ubicado al norte de Playas, a 110 km de la ciudad de Guayaquil, en la provincia del Guayas con Latitud $2^{\circ} 34' 20,96''$ S y Longitud $80^{\circ} 29' 14,88''$ O, a una hora y media del laboratorio Larvidob ubicado en la comuna Monteverde provincia de Santa Elena.

Los ejemplares capturados, se ubicaron en dos tanques de 400 L con oxígeno y trasladados vivos hasta el puerto, una vez allí los reproductores fueron transferidos a un tanque de 1000 L con oxígeno constante y trasladados vía terrestre hasta el laboratorio. La temperatura y salinidad durante el traslado fueron de 25°C y 34 ‰ respectivamente.

3.2.3. Mantenimiento de reproductores en cautiverio

Luego de trasladar los reproductores al laboratorio Larvidob, estos fueron colocados en 2 tanques circulares de 1000 L con agua de mar filtrada, la aclimatación y adaptación al cautiverio duro alrededor de 21 días.

Al siguiente día se procedió a identificar y separar hembras y machos, esto se logró mediante un sensible masaje abdominal, teniendo en cuenta que las hembras cuando están en un estado avanzado de madurez, como es este caso, presentan un abdomen abultado, lo cual no ocurre con el macho.

Con el masaje se pretendió que las hembras y machos, expulsaran pequeñas muestras de sus gametos sexuales; luego fueron colocados en sus tanques respectivos, los cuales contaban con aireación contante. Los recambios de agua se realizaron por la mañana y por la tarde, se cubrió los tanques con un toldo de color negro.

3.2.4. Parámetros físicos y químicos del agua

Los parámetros físico-químicos del agua como la temperatura fue medida con un termómetro blindado marca VeeGee con rango de -20 a 150 °C, la salinidad con un refractómetro marca Atago con un rango de 0-100‰ y el oxígeno fue medido con un equipo multiparámetro marca YSI modelo Pro2030. Las mediciones se hicieron todos los días en horarios de 00:00 am, 02:00 am, 12:00 am, 4:00 pm y 8:00 pm. Tablas (3,4,5).

3.2.5. Alimentación de los reproductores

Los reproductores fueron alimentados con pulpa de calamar (*Loligogahi*) a razón del 3 % de la biomasa total existente, con una frecuencia de alimentación de dos veces al día (08:00 am y 4:00 pm). La limpieza de los tanques se realizó luego de cada alimentación por medio desifoneo en el fondo del tanque.

3.2.6. Selección de reproductores para la biopsia

Se seleccionaron 3 reproductores hembras al azar de las 7 que sobraron durante la selección de los reproductores con los que se iban a trabajar (8 machos y 8 hembras) éstas fueron llevadas al laboratorio de la Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena - Ecuador donde se realizó la respectiva biopsia y análisis microscópico de los oocitos.

Las muestras se colocaron en solución Serra (60 % alcohol, 30 % formol y 10% ácido acético glacial), con la finalidad de aclarar el citoplasma de los oocitos y poder observar con el microscopio la posición de su núcleo y en base a esto determinar el grado de madurez de las gónadas utilizando la escala de madurez gonadal de *Cynoscion analispor* Imarpe (2015).

En la biopsia que se realizó se verificó que las gónadas eran decolor anaranjado, variando sus tonalidades desde anaranjado claro hasta el anaranjado intenso. Se apreció claramente el vaso sanguíneo principal y los secundarios totalmente desarrollados. Ovarios turgentes y claramente se observaron los oocitos a simple vista y a nivel de observación por microscopía se observaron oocitos pre-vitelogenados, vitelogenados y maduros.

Macroscópicamente se observó que las gónadas de las hembras maduras eran de gran tamaño con presencia de gránulos de vitelo y gotas oleosas alrededor del núcleo las que se encontraban en el estadio III de madurez sexual según la escala.

En el caso de los machos donde se utilizaron 3 especímenes se evidenció que se encontraban en el estadio IV de madurez sexual.

3.2.7. Selección de reproductores para la aplicación de la hormona acetato de buserelina

Los reproductores de *Cynoscionanalis* que fueron utilizados para la aplicación de la hormona se los extrajo de los tanques respectivos, se les determinó el peso y la longitud total de cada uno, teniendo en cuenta que debían tener una talla mínima de 27 cm y no presentar lesiones o signos de enfermedad para ser transferidos a los acuarios.

Para la aplicación de las diferentes concentraciones de la hormona acetato de buserelina se eligieron 8 machos y 8 hembras de *Cynoscionanalis*, sabiendo que estos reproductores estaban maduros sexualmente, los reproductores fueron colocados en los acuarios en una proporción sexual de 1:1, posteriormente se le aplicó la hormona en la zona intramuscular.

3.3. Inducción a la emisión de gametos

3.3.1. Inducción hormonal en hembras

Se aplicaron un tratamiento control (T₀) y tres tratamientos experimentales (T₁, T₂ y T₃) cada uno con dos repeticiones en las hembras de *Cynoscionanalis* (Tabla 1).

Tabla 1. Dosificación de la hormona acetato de buserelina en hembras según cada tratamiento.

Repeticiones	Dosis de hormona acetato de buserelina ml/kg de peso del pez			
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
1	0	2,5	3	3,5
2	0	2,5	3	3,5

Cada hembra recibió la hormona en dos aplicaciones, la primera dosis denominada estimulante consistió en el 10% de la dosis total, luego de 12 horas se le aplicó la segunda dosis denominada desencadenante consistente en el 90% restante.

Para la inoculación se extrajo 2 ml de la solución hormonal, se colocó en un beacker esterilizado con capacidad para 10 ml del cual se separó con una micropipeta el volumen a inocular, calculado respecto al peso y dosis de cada tratamiento, este volumen se depositó en un microtubo de 1,5 ml al cual se le adicionó agua destilada hasta alcanzar 0,5 ml lo cual permitió ser administrado más fácilmente utilizando una jeringa de 1ml.El procedimiento antes descrito se utilizó para administrar las dosis correspondientes en cada uno de los tratamientos.

Para realizar la inducción, primero se extrajo un reproductor de unos de los tanques utilizando un challo y se colocó en un cojín de dumlopillo, luego se cubrió la cabeza del reproductor con una toalla y se secó la base de la aleta abdominal izquierda con un algodón provisto de alcohol, y se le aplicó la hormona, con una jeringa descartable de 1 ml.

3.3.2. Inducción hormonal en machos

Se aplicaron un tratamiento control (T_0) y tres tratamientos experimentales (T_1 , T_2 y T_3) cada uno con dos réplicas en los machos de *Cynoscion analis* (Tabla 2).

Tabla 2. Dosificación de la hormona acetato de buserelina en machos según cada tratamiento.

Repeticiones	Dosis de hormona acetato de buserelina ml/kg de peso del pez			
	T_0	T_1	T_2	T_3
1	0	0,5	1	1,5
2	0	0,5	1	1,5

Cada macho recibió la hormona en dos aplicaciones, la primera dosis denominada estimulante consistió en el 50% de la dosis total, luego de 12 horas se le aplicó la segunda dosis denominada desencadenante, consistente en el 50% restante.

Para la inoculación se extrajo 1 ml de la solución hormonal, se colocó en un beacker esterilizado con capacidad para 10 ml del cual se separó con una

micropipeta el volumen a inocular, calculado respecto al peso y dosis de cada tratamiento, este volumen se depositó en un microtubo de 1,5 ml, al cual se le adicionó agua destilada hasta alcanzar 0,5 ml, lo cual permitió ser administrado más fácilmente utilizando una jeringa de 1 ml.

El procedimiento antes descrito se utilizó para administrar las dosis correspondientes en cada uno de los tratamientos.

Para realizar la inducción, primero se extrajo un reproductor de unos de los acuarios utilizando un challo y se colocó en un cojín de dumlopillo, al cual se le cubrió la cabeza con una toalla y se secó la base de la aleta abdominal izquierda con un algodón provisto de alcohol, luego se aplicó la hormona utilizando una jeringa descartable de 1 ml.

Se observó el comportamiento de los reproductores por 30 horas post inoculación con el fin de observar si los reproductores tanto hembras como machos emitieron sus gametos sexuales.

Debido a que los reproductores no reaccionaron positivamente a la inducción de la hormona y por lo consiguiente no expulsaron sus gametos sexuales tanto hembras como machos, no se pudo realizar la fecundación ni la incubación que se había planteado en esta investigación.

IV.RESULTADOS

4.1. Emisión de gametos en hembras de *Cynoscion analis*

No hubo hembras desovantes después de la inoculación de la hormona acetato de buserelina para cada uno de los tratamientos T₁: 2,5 ml, T₂: 3 ml y T₃: 3,5 ml, incluso luego de haber transcurrido 24 horas; el comportamiento de las hembras inoculadas no era el mismo que cuando inició el ensayo, observándose un aletargamiento, hasta que empezaron a morir en un intervalo de tiempo de 2 hembras cada 8 horas aproximadamente, ocurriendo la muerte del último ejemplar a las 65 horas después de la inoculación.

4.2. Emisión de gametos en machos de *Cynoscion analis*

Igual como en el caso de las hembras, después de inocular la hormona acetato de buserelinapara cada uno de los tratamientos T₁: 0,5 ml, T₂: 1 ml y T₃: 1,5 ml, se pudo observar que ninguna de las concentraciones de la hormona aplicada a los machos de *Cynoscion analis* tuvo efecto en la emisión de gametos. Del mismo modo, como en las hembras, ocurrió una mortalidad total de los machos, post inoculación. La muerte ocurrida en ambos casos, probablemente se debió al hecho que, desde la captura hasta llegar al laboratorio, los ejemplares estuvieron expuestos a una constante manipulación, lo que seguramente les ocasiono estrés y un posterior debilitamiento.

4.3. Parámetros físico químico del agua

Los parámetros físicos y químicos del agua fueron medidos diariamente durante el tiempo que duró la investigación. Se observa en la (tabla 3), que la concentración promedio de oxígeno fue de 5,5 ppm, lo cual aparentemente es bajo, a pesar de haber estado con aireación, lo cual evidencia que es una especie exigente al oxígeno, más aún si estaba ovando. En cuanto a la temperatura promedio, esta fue de 21 °C, relativamente baja, pero sin embargo era la adecuada para la reproducción, puesto que esta ocurre con mayor intensidad en los meses de primavera (tabla 4); en tanto que, el promedio de salinidad fue de 31,5 ‰, que estuvo dentro del rango exigido por la especie (tabla 5).

Tabla 3. Registro del oxígeno (mg/l) previo a los días de inoculación.

Día	Hora						Promedio
	0:00	2:00	12:00	16:00	18:00	20:00	
19/11/2017	6	5,8	5,6	5,4	5,3	5,6	5,6
20/11/2017	5,3	5	5,4	5,8	5,6	5,8	5,5
21/11/2017	5,5	5,4	5,3	5,4	5,7	5,3	5,4

Tabla 4. Registro de la temperatura (°C)previo a los días de inoculación

Día	Hora						Promedio
	0:00	2:00	12:00	16:00	18:00	20:00	
19/11/2017	20,6	20,3	21	21,5	21,3	21,1	21
20/11/2017	20,1	19,8	20	22	21,5	21,3	20,7
21/11/2017	20,2	20,3	22	21	21,2	21	21

Tabla 5. Registro de la salinidad (‰) previo a los días de inoculación.

Día	Hora						Promedio
	0:00	2:00	12:00	16:00	18:00	20:00	
19/11/2017	32	31	31	31	32	32	31
20/11/2017	31	31	32	32	32	32	32
21/11/2017	31	32	32	32	31	31	31,5

4.4. Peso y longitud de los reproductores capturados hembra y machos de

Cynoscion analis

Tabla 6. Peso y longitud de especímenes hembras de *Cynoscion analis* capturadas. (* Hembras utilizadas para la inducción)

N°	Peso (g)	Longitud total (cm)	Observaciones
1	278,5	30,5	*
2	253,4	29,5	Biopsia
3	247,4	30	
4	274	31,5	Muerta
5	197,2	28	Biopsia
6	270,8	29,5	*
7	219,7	28,3	
8	280	31	*
9	250,9	30,5	*
10	240,6	29,2	*
11	193,7	27	Muerta
12	280,1	32,1	*
13	201,5	27,6	*
14	250,8	29,5	*
15	261,3	29,9	Muerta

Tabla 7. Peso y longitud de especímenes machos de *Cynoscion analis* capturados. (* Machos utilizados para la inducción)

N°	Peso (g)	Longitud total (cm)	Observaciones
1	254,7	30,3	Muerto
2	193,4	28,7	Biopsia
3	203,2	28	*
4	196,6	27,4	*
5	190,5	26,9	Muerto
6	275,9	30,8	Muerto
7	267,5	31,2	*
8	254,2	29,3	*
9	261,6	29,5	Biopsia
10	278,3	31,8	Biopsia
11	259,5	30,6	*
12	238,5	28,8	*
13	281,3	31,4	Muerto
14	225,7	28,5	*
15	263,4	30,6	*

V. DISCUSIÓN

La aplicación de las tres concentraciones: 2,5 ml, 3 ml y 3,5 ml de acetato de buserelina/kg de peso del pez inoculadas en reproductores hembras de *Cynoscionanalis* capturadas del medio silvestre, no tuvieron efecto estimulante para la emisión de gametos.

Las dosis que se utilizaron estuvieron dentro del rango de 2 a 10 ml/kg de peso de pez receptor de mayor efectividad según lo manifestado por Sower&Schreck (1980). Al no poder argumentar que la dosis fue insuficiente ya que se utilizaron concentraciones considerables y dentro del rango de efectividad para la inducción a la emisión de gametos, tampoco se podría argumentar que los reproductores de *Cynoscionanalis* no reaccionaron a la inducción al desove porque estos no estaban maduros sexualmente como se comprobó durante la biopsia donde los oocitos estaban en la fase de maduración.

Sin embargo, se puede indicar que en el trabajo realizado por Gómez y Sanjinez (2010), donde utilizaron *Dormitorlatifrons*, realizaron pruebas con dosis de 1,6 ml, 2,6 ml, y 3,6 ml de acetato de buserelina/kg de peso del pez, para inducir la puesta de gametos, tampoco encontraron resultados favorables, siendo éstos, semejantes con los obtenidos en este trabajo.

Aunque las especies fueron diferentes *Cynoscionanalis* se muestra como una especie difícil de inducir al desove en cautiverio, debido quizás en parte a las condiciones fisiológicas y de cultivo requeridas para dicho proceso.

En lo que respecta a las tres concentraciones aplicadas 0,5 ml, 1 ml y 1,5, ml de acetato de buserelina/ kg de peso del pez inoculadas en reproductores machos de *Cynoscionanalis*, tampoco tuvieron efecto estimulante a la emisión de gametos. Las dosis que se emplearon estuvieron alrededor del rango de mayor efectividad 1 mg/kg peso de pez utilizadas por Palmira et al. (2001) en machos.

No se podría argumentar que la dosis fue insuficiente ya que se utilizaron concentraciones considerables y dentro del rango de efectividad para la inducción a la emisión de gametos, tampoco se podría argumentar que los reproductores machos de *Cynoscionanalis* no reaccionaron a la inducción al desove porque éstos no estaban maduros sexualmente, pues se comprobó con anterioridad que si estaban maduros.

Sin embargo, en el trabajo realizado por Gómez y Sanjinez (2010), donde utilizaron *Dormitorlatifrons* las dosis fueron de 0,5 ml, 1 ml, y 1,5 ml de acetato de busserelina/kg de peso de pez tampoco se produjo la expulsión de gametos en macho, siendo estos resultados coincidentes con nuestro trabajo, aunque las especies fueron diferentes.

De la misma manera se puede indicar que existieron otros factores que influyeron durante el proceso de producción de gametos como mencionaron Palacios, Rosales y Rabinovich (2015), quienes manifestaron que el efecto del fotoperiodo y la temperatura fueron determinantes sobre la maduración y reproducción de ejemplares de la especie *Cynoscionphoxocephalus*.

En cuanto a los factores físicos-químicos del agua se presentaron temperaturas entre 21 °C a 24,4 °C, y salinidades de hasta 32 ‰, los cuales son concordantes con lo exigido por la especie, tal como lo indica Linares (2011), que *Cynoscion*spp desova con mayor intensidad en los meses de primavera donde la temperatura se encuentra en ese rango; y en cuanto a la salinidad, Chavarría (2012) sugiere que esta especie se encuentra en aguas de salinidad por encima de 21 ‰.

VI. CONCLUSIONES

1. La aplicación 0,5; 1,0 y 1,5 ml de acetato de buserelina/kg de peso de pez no produjo emisión de gametos en machos ni hembras de *Cynoscion analis*.
2. Durante la captura y manipulación los especímenes mostraron signos de estrés observando que en su mayoría presentaron dificultades para nadar y sumergirse, presentaron altas mortalidades.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar trabajos con otras especies de *Cynoscion*spp. para lograr la obtención de gametos sexuales y por consiguiente la fecundación y poder obtener alevines de esta especie para su cultivo.
2. Ensayar la inducción de emisiones de gametos en *Cynoscion*analishaciendo uso de otra hormona.
3. Para futuras investigaciones de esta índole, se debe dar las mejores condiciones durante la captura, selección, transporte y mantenimiento en cautiverio de la especie a ensayar. Podría utilizarse alguna sustancia comercial para dopar temporalmente a la especie y evitar que el reproductor sufra estrés.
4. En próximos ensayos aplicar al testigo la solución salina sin dosis de hormonas para verificar si al inyectar a los reproductores esto le causa alguna reacción adversa y su posterior muerte.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ascón, G. (1992). Producción de alevinos de *gamitana* *Colossomamacropomy paco* *Piaractusbrachypomus* mediante el empleo de dos técnicas de reproducción inducida. *Folia Amazónica*, 4(1),1-9. Recuperado de https://www.google.com.ec/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/Folia4_1_articulo11.pdf&ved=0ahUKEwj7II3-ubbRAhUJWSYKHRDCDS0QFggYMAA&usg=AFQjCNEJbdVxE8HzxLXOaptIrerFzqKIBw&sig2=8WIbHRYbVu9z2399RAC-ag
- Chavarria, F. (2012). *Efecto de la manipulacion a bordo de las embarcaciones en la conservacion de la frescura y la composicion quimica de la Corvina Picuda (Cynoscion phoxocephalus), capturada artesanalmente en el Golfo de Nicoya, Costa Rica.* (Tesis para Maestro en Gerencia de Programas Sanitarios en Inocidad de Alimentos). Universidad San José, San José, Costa Rica. Recuperado de <http://www.uci.ac.cr/Biblioteca/Tesis/PFGMIA96.pdf>
- Contreras, M., María, J., McDonald, V., Vera, U., Hernández, V. y Cruz, L. (2014). Avances en la inducción al desove y desarrollo embrionario en cautiverio de *Centropomuspoeyi*. *Rev. Kuxulkab*, 38(20),9-31. Recuperado de <http://www.revistas.ujat.mx/index.php/kuxulkab/article/view/1057/929>
- Espinoza, C., Perea, A., Buitrón, B. y Catcopargo, C. (2010). Inducción del desove y espermiación de anchoveta peruana *Engraulisringens* (Jennyns, 1842) en cautiverio mediante la inyección de un análogo de GnRH. *Rev. AquaticResearch*, 38(2),234-241. Recuperado de <https://www.researchgate.net/publicación/48187006>. Inducion_deldesove_y_espermiacionde_anchoveta_peruana_Engraulisringens_Jenyns_1842_en_cautiverio_mediante_la_inyeccion_de_un_analogo_de_GnRH.

- FAO (2016). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura (2016)*. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma, Italia: FAO 224 pp. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-i5555s.pdf>
- Gómez, P. y Sanjinez, R. (2010). *Inducción a la emisión de gametos en *Dormitorlatifrons* utilizando tres concentraciones de acetato de buserelina*. (Tesis para Ingeniero Pesquero). Universidad Nacional de Tumbes, Puerto Pizarro, Perú.
- Gracia, V., Rodríguez, J. y Pérez, J. (2004). Inducción del desove con HCG y desarrollo embrionario y de larvas de la cabrilla sardinera, *Myteroperkarosacea* (Streets, 1987). *Rev. Ciencias Marinas*. 30(2), 279-284. Recuperado de <http://www.redalyc.org/html/480/480/30201/>
- Imarpe (2015). Validación de la escala de madurez gonadal macroscópica de cachema *Cynoscion analis*. *Rev. Imarpe*, 30, 79-86. Recuperado de <http://biblioimarpe.imarpe.gob.pe:8080/handle/123456789/2943>
- Palmira, P., Pérez, F., Bocanegra, A. e Isimiño, R. (2001). Reproducción inducida de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* y desarrollo embrionario – larval. *Rev. Folia amazónica*, 12, 1-2. Recuperado de <http://www.iiap.org.pe/upload/publicacion/publ700.pdf>
- Palacios, E., Rosales, Y. y Rabinovich, G. (2015). Efecto del fotoperiodo y temperatura sobre la maduración y reproducción de *Cynoscion phoxocephalus* (“Corvina-Cherela”) en la zona norte del Perú. *Revista Manglar*. 12(2), 3-10. Recuperado de <http://erp.untumbes.edu.pe/revistas/index.php/manglar/article/view/50/55>
- Pérez, M. (2013). *Análisis biológico pesquero del recurso lorna (*Sciaena deliciosa*) en el puerto de Huacho, periodo 2000-2011*. (Tesis de Ingeniero Pesquero). Universidad Nacional Agraria La Molina, La Molina, Perú. Recuperado de

[http://biblioimarpe.imarpe.gob.pe:8080/handle/123456789/
2202](http://biblioimarpe.imarpe.gob.pe:8080/handle/123456789/2202)

Sower, S. &Schreck, C. (1980). In vitro induction final maturation of oocytes from coho salmon. *Transactions of the American fisheries society*.111, 399-403. Recuperado de http://www.unhsowerlab.com/uploads/7/4/7/9/74791279/1982_sower_and_schreck_tafs.pdf

