

**DESCRIPCIÓN PRELIMINAR DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL LÍQUIDO
ESPERMÁTICO EN CAPAZ (*Pimelodus grosskopfii*) CON OBSERVACIONES
SOBRE EL MANEJO DE MACHOS EN CAUTIVERIO**

MARÍA ANGÉLICA FLÓREZ PERDOMO

DEISY CAROLINA SUÀREZ CERQUERA

**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
PROGRAMA DE TECNOLOGÍA EN ACUICULTURA CONTINENTAL
NEIVA – HUILA
2013**

**DESCRIPCIÓN PRELIMINAR DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL LÍQUIDO
ESPERMÁTICO EN CAPAZ (*Pimelodus grosskopffii*) CON OBSERVACIONES
SOBRE EL MANEJO DE MACHOS EN CAUTIVERIO**

MARÍA ANGÉLICA FLÓREZ PERDOMO

CÓDIGO: 2006134736

DEISY CAROLINA SUÀREZ CERQUERA

CÓDIGO: 2006135649

**Proyecto de grado presentado como parte de los requisitos para la
obtención del título de Tecnólogo en Acuicultura Continental**

DIRECTOR

RAFAEL ROSADO PUCCINI, MSc

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

PROGRAMA DE TECNOLOGÍA EN ACUICULTURA CONTINENTAL

NEIVA – HUILA

2013

CONTENIDO

	Página
DEDICATORIA	5
AGRADECIMIENTOS	6
LISTA DE TABLAS	7
LISTA DE FIGURAS	8
1. INTRODUCCIÓN	9
2. OBJETIVOS	11
2.1 General	11
2.2 Específicos	11
3. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA	12
4. ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO	14
4.1 Generalidades del orden de los Silúridos	15
4.2 Descripción de la especie	16
4.2.1 Descripción de la célula espermática	18
4.2.2 Tipos de espermatozoides	19
4.3 Aspectos reproductivos en peces	21
5. MATERIALES Y MÉTODOS	23
5.1 Peces experimentales	23
5.2 Valoración espermática	24
5.2.1 Características biométricas	24
5.2.2 Obtención de muestras y caracterización	26
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
7. CONCLUSIONES	37
8. RECOMENDACIONES	38
9. BIBLIOGRAFIA	39

DEDICATORIA

*Dedico este trabajo a Dios,
pues me dio la fe, la fortaleza, la salud y la esperanza para terminarlo.
A mis padres, Aracelly y Héctor, quienes me enseñaron desde pequeña a luchar
para alcanzar mis metas.
Mi triunfo es el de ustedes, ¡los amo!
A mi esposo, Edward Gil Hernández, quien me brindó su amor, su cariño,
estímulo y apoyo constante.
Su comprensión y paciente espera
para que pudiera terminar el grado son evidencia de su gran amor. ¡Gracias!
A los que nunca dudaron de que lograría este triunfo: mis hermanas y hermano.*

Deisy Carolina

*A Dios, por haberme permitido llegar hasta este punto y con la salud para lograr
mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.
A mis padres, Patricia Perdomo y Guillermo Flórez, por haberme apoyado en todo
momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha
permitido ser una persona de bien pero, más que nada, por su amor.
Por los ejemplos de perseverancia y constancia que los caracterizan y que me han
infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante.
A mis familiares. A mi tía Sandra Milena y a mi abuelita Bertilda por su apoyo
permanente y confianza ¡Gracias a ustedes!*

María Angélica

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a todas las personas y entidades que hicieron posible la realización exitosa de esta investigación. También lo expresamos a los docentes de la Universidad Surcolombiana, por los conocimientos impartidos y compartidos para lograr completar nuestro desarrollo personal y profesional. En especial a nuestro director de tesis, Rafael Rosado Puccini, quien nos dedicó tiempo, paciencia y nos brindó su conocimiento, guiándonos para la culminación de nuestro trabajo. Mas que un profesor, un amigo.

También al programa de Acuicultura Continental y al personal de las Estaciones Piscícolas de Piedra Pintada (CENTRACAFÉ) y del Alto Magdalena (AUNAP), por haber facilitado sus instalaciones y brindar suficiente apoyo logístico para llevar a cabo el trabajo de campo.

LISTA DE TABLAS

Página

Tabla 1. Registros morfométricos y características espermáticas en machos de capaz *P. grosskopfii* (CI: con inducción; SI: sin inducción) 33

Tabla 2. Resumen de registros morfométricos y de caracterización espermática en machos de capaz con (CI; n = 14) y sin inducción (SI; n = 8) 35

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. Plano general de la Estación Piscícola de Piedra Pintada.....	12
Figura 2. Vista general de la Estación Piscícola del Alto Magdalena.....	13
Figura 3. Macho adulto de capaz (<i>P. grosskopfii</i>).....	17
Figura 4. Masaje abdominal para verificación de la presencia de semen.....	24
Figura 5. Ejemplares de capaz tranquilizados con MS222.....	25
Figura 6. Determinación de peso en los reproductores.....	25
Figura 7. Colecta de esperma con ayuda de micropipetas.....	26
Figura 8. Activación del semen y verificación de movilidad.....	28
Figura 9. Vista de enfoque en la cámara de Neubauer al 4x.....	29
Figura 10. Enfoque en la cámara de Neubauer al 10x cuadrícula central.....	30
Figura 11. Vista de la cámara Neubauer en un enfoque de 40x.....	30
Figura 12. Forma de conteo en la cámara de Neubauer.....	31

1 INTRODUCCIÓN

La generación de información y conocimiento en procesos piscícolas se puede dirigir tanto a la preservación – desde una perspectiva ambiental - de determinadas especies, como a la posible incorporación de otras a sistemas de producción controlados. Este último aspecto se traduce en un apoyo paralelo para apoyar los programas dirigidos a disminuir las presiones que se dan por las actividades de pesca excesiva o no reguladas en hábitats naturales. Esta última cuestión ha colocado a algunas de ellas, especialmente las nativas, en un nivel en el que, en no pocos casos, se les califica como amenazadas y en peligro; esta situación se traduce en la necesidad de generar información relevante que conlleve a la formulación de paquetes tecnológicos completos, cuya aplicación permita o colabore en asegurar el mantenimiento de las poblaciones en el tiempo y, eventualmente, su producción a nivel comercial.

En la actualidad, las actividades piscícolas se basan en la capacidad de sostener técnicamente unos volúmenes dados tanto de semilla como de peces dirigidos al consumo. En este proceso, la primera etapa, es decir la que se refiere a la obtención de huevos, larvas y alevinos, con ciertos condicionantes de calidad, constituye la base para el establecimiento de cualquier esquema de producción. Esa línea lleva implícita la necesidad de actuar técnicamente sobre el manejo adecuado de los reproductores y habilitar la obtención de los gametos bajo condiciones controladas, de forma que los niveles de producción de semilla y su calidad sean consecuentes con las exigencias que impone el mercado. En este momento, los avances investigativos sobre el capaz (*Pimelodus grosskopfii*) justifican el diseño y ejecución de proyectos de investigación que pretendan

objetivos en este sentido; además de los protocolos que existen para la inducción a la reproducción en la especie, es claro que ciertos aspectos relacionados con el manejo de los gametos aún se encuentran por definir de forma experimental.

Por tanto, esta investigación tuvo como objetivo la caracterización preliminar del esperma del capaz en ejemplares inducidos con EHC (Extracto de Hipófisis de Carpa) en cautiverio, de forma que se buscó precisar sobre algunos aspectos del material espermático que sirvieran como una línea base para adelantar ajustes en los procedimientos actuales. Con base en las observaciones obtenidas, adicionalmente se proponen criterios de manejo de ejemplares dirigidos a mejorar la producción de semilla del capaz.

2 OBJETIVOS

2.1 General

Evaluar la calidad del esperma en ejemplares inducidos y no inducidos del capaz (*Pimelodus grosskopfii*), a través del análisis de sus características micro y macroscópicas.

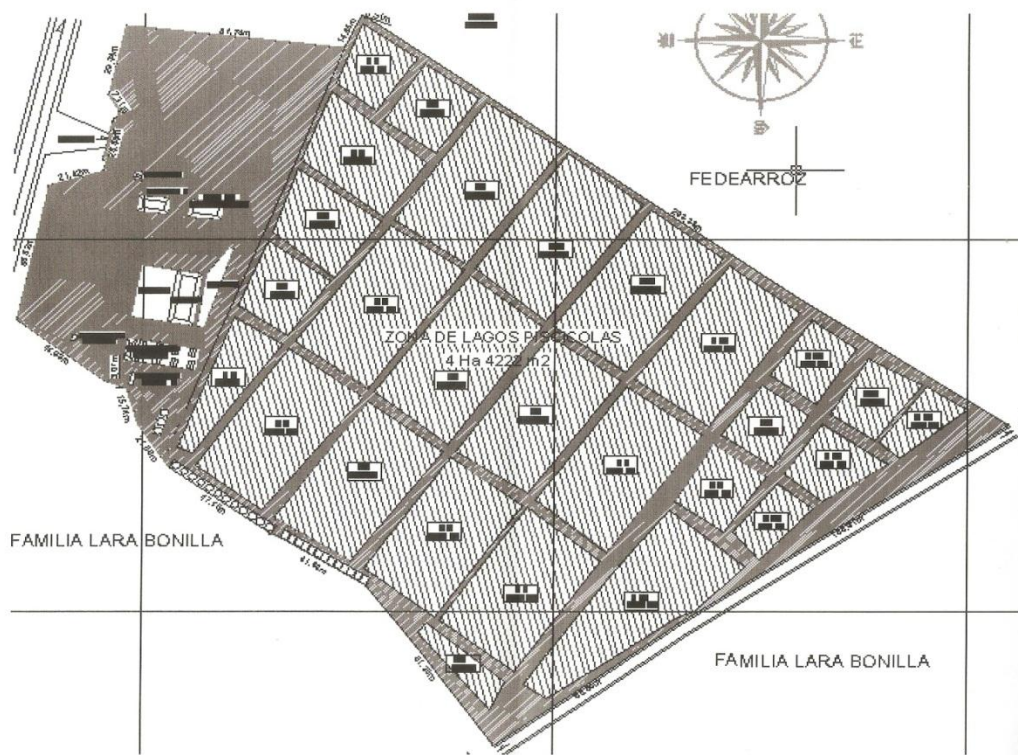
2.2 Específicos

- Determinar algunos factores microscópicos (motilidad y concentración) y macroscópicos (volumen, aspecto, color) de utilidad para evaluar la calidad del esperma en la especie
- Establecer algunos criterios de manejo sobre planteles de reproductores basados en las características del esperma, dirigidos a mejorar aspectos de la producción de semilla en el capaz.

3 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA

La investigación se llevó a cabo en la Estación Piscícola de Piedra Pintada, cuyo manejo operativo y administrativo está a cargo de la Central de Cooperativas de Caficultores del Huila (CENTRACAFE); está localizada en el municipio de Aipe, al norte del departamento del Huila, a 36 km de la ciudad de Neiva (Figura 1). Se encuentra a 390 metros sobre el nivel del mar (msnm) y mantiene una temperatura promedio de 29.5 °C. En la estación se cuenta con un plantel de reproductores de la especie que en el momento de la investigación estuvo compuesto por unos 400 ejemplares, entre machos y hembras, provenientes del embalse de Betania (Huila).

Figura 1. Plano general de la Estación Piscícola de Piedra Pintada



También se dispuso de un lote adicional de reproductores que fue mantenido en la Estación Piscícola del Alto Magdalena (Gigante, Huila). Este centro dispone de un área total 29 ha, de las cuales 5.5 corresponden a espejo de agua. Se encuentra ubicada en el municipio de Gigante, departamento del Huila, a 960 msnm. Geográficamente está localizada en los 0° 55' 16" de Latitud Norte y los 74' 25" de Longitud Este. La temperatura promedio en el área es de 24°C y la pluviosidad media alcanza los 1250 mm al año (Figura 2).

Figura 2. Vista general de la Estación Piscícola del Alto Magdalena



4 ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

Entre los primeros trabajos registrados para *P. grosskopffii*, se tiene el de Villaneda (1977), quien aporta elementos de tipo biológico. Cala *et al.* (1996), presentan información relacionada con la biología reproductiva del capaz y se describen cambios histomorfológicos anuales en el ovario de peces adultos en el sistema del embalse de Betania; precisan los periodos de reproducción y establecen la talla mínima en la que las hembras alcanza la madurez sexual. En la misma línea, Rodríguez y Pérez (1992) realizan estudios a nivel biológico, donde incluyen aspectos importantes de la biología reproductiva del capaz en la zona del alto Magdalena; para las poblaciones presentes en el alto Cauca, se cuenta con varios estudios que abarcan principalmente aspectos de tipo biológico (Torres, 1997; Villa, 1999; Chilito, 2002). Torres *et al.* (1999) determinan las características fenotípicas relevantes que diferencian poblaciones del capaz entre las cuencas de los ríos Magdalena y del alto Cauca (Valle del Cauca), concluyendo que es factible separarlas, en cuanto ciertos parámetros del capaz del alto Cauca no se corresponden con los patrones establecidos para el taxón.

Rodríguez y Mójica (2005), trabajando sobre silúridos en cautiverio, presentan algunos aportes para especies de la familia Pimelodidae; particularmente en lo que se refiere al capaz, mencionan que se trata de una especie promisoría, por su aceptación, la respuesta que se presenta en los procedimientos de reproducción inducida y sus posibilidades de manejo en condiciones de cautiverio.

En lo que se refiere a explotación pesquera, la evaluación decenal de 1995 al 2006 (CCI-INCODER, 2006) indicó una significativa disminución en la población de las especies nativas que son de interés económico para las distintas zonas del

país, entre ellas el capaz. Se evidencian también importantes cambios en sus características reproductivas, principalmente con la disminución en la talla de captura y desarrollo gonadal prematuro. Para el 2007, se registra una disminución del 59% en las capturas, además de una menor talla de reproducción, lo cual se asocia a la alta presión que se ejerce; la época con mayor frecuencia de captura de animales maduros corresponde a los meses de junio, septiembre y enero.

En uno de los trabajos más recientes sobre la reproducción en cautiverio del capaz, Valbuena *et al.* (2007) describen un protocolo válido para la inducción y los primeros ensayos sobre alimentación temprana y manejo a la adaptación y domesticación. En el mismo trabajo describen el desarrollo embrionario, reportando datos sobre el tiempo de eclosión y el tamaño de los ovas en los diferentes estadios de madurez.

4.1 GENERALIDADES DEL ORDEN DE LOS SILÚRIDOS

Según Kubitzka, (1998), en el orden siluriformes se incluyen más de 2200 especies que, en general, son denominados como bagres o peces de cuero, con una distribución en todos los continentes. Son peces de piel desnuda y cuerpo deprimido, indicando una adaptación a los fondos de los ambientes acuáticos. Poseen barbillas en mentón y maxilares con función sensorial; en las aletas dorsales y/o en las pectorales se encuentran espinas de carácter defensivo. En las aguas del país, ríos, embalses y lagunas, existen varias especies de este orden, algunas de las cuales se les atribuye cierto potencial de cultivo, pero que aún no ha sido definido en muchos casos. La familia Pimelodidae se encuentra ampliamente distribuida en Latinoamérica y es bastante numerosa en Colombia (Castro, 1986); los Pimelodidae se ubican en niveles tróficos altos, siendo en su

mayoría predadores, ictiófagos y omnívoros (Galvis *et al.* 1989). Viven en aguas dulces y en general su cabeza es aplanada dorso ventralmente, con línea lateral completa, narinas anteriores y posteriores bien separadas y grandes aperturas branquiales.

4.2 DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE

De acuerdo a Dahl (1971), la especie se clasifica en:

<i>Reino:</i>	Animal
<i>Subreino:</i>	Metazoa
<i>Phylum:</i>	Chordata
<i>Subphylum:</i>	Vertebrata
<i>Superclase:</i>	Gnatostomata
<i>Clase:</i>	Osteichthyes
<i>Sub – clase:</i>	Actinopterygii
<i>Super – orden:</i>	Teleostica
<i>Orden:</i>	Siluriformes
<i>Familia:</i>	Pimelodidae
<i>Sub – familia:</i>	Pimelodinae
<i>Género:</i>	<i>Pimelodus</i>
<i>Especie:</i>	<i>Pimelodus grosskopfii</i> Steindachner, 1879
<i>Nombre común:</i>	Capaz, barbudo, barbul

El capaz es considerado como una especie nativa promisoría, presente en las cuencas de los ríos Magdalena, Cauca, San Jorge, Sinú, Cesar, Atrato, Baudó y Catatumbo (Miles, 1947; Dahl, 1971; Mójica, 1999; Mójica *et al.* 2002) y en el embalse de Prado (Villa–Navarro y Losada, 1999). Se encuentra también en el embalse de la represa de Betania (Villa, 1999).

Es de tamaño mediano, con longitudes que, en media, llegan a los 29 cm; se caracteriza por presentar ojos en posición semidorsal, tegumentos sin placas óseas, con puntos negros localizados en la región dorsal y amarillo blanquizco en la región ventral. Son peces de piel desnuda, sin escamas o placas óseas y cuerpo aplanado; poseen barbillas en el mentón y en los maxilares con función sensorial. Villaneda (1977) describe que presenta una boca subterminal con cuatro hileras de pequeños dientes cónicos, viliformes; tienen tres pares de barbillas en el borde de la boca, un par maxilar y dos mentonianos. El par maxilar es más largo alcanzando la longitud corporal (Figura 3).

Figura 3. Macho adulto de capaz (*P. grosskopfii*)



Se considera un pez omnívoro y dentro de los principales componentes alimenticios que acepta se encuentran elementos animales y vegetales (Cala *et al.* 1996). Tiene preferencias hacia los insectos, macro invertebrados y peces (Villa-Navarro y Losada, 1999). Se reproduce en la época de lluvias, en los meses de febrero a abril y de septiembre a octubre. Estos periodos se convierten en la referencia para la programación de desoves en cautiverio y para la obtención de larvas y alevinos de la especie.

4.2.1 Descripción de la célula espermática

Según Tabares *et al.* (2005), en la espermatogénesis de tipo semicístico, dentro de los testículos se pueden identificar espermatogónias, espermatocitos, espermátides y espermatozoides. Durante la espermatogénesis la espermatogonia se divide consecutivamente, reduciendo el diámetro del núcleo y culmina la formación de células haploides llamadas espermátides, las cuales son liberadas a la luz de los túbulos seminíferos donde se lleva a cabo la espermatogénesis originando los espermatozoides.

En los peces, el espermatocito es la unidad espermatogénica y consiste de un grupo de células germinales en el mismo estadio de desarrollo, circundadas por prolongaciones citoplasmáticas de una o más células de Sertoli que forman la pared. Además sus funciones de compartimentalización y secreción, las células de Sertoli actúan como barrera impidiendo el contacto entre las células germinales y el sistema vascular, fagocitando residuos de espermatozoides. Las células intersticiales o de Leydig, producen esteroides necesarios para la espermatogénesis y expresión de características sexuales secundarias; estas células se encuentran en número variable durante el ciclo reproductivo, al inicio de

la maduración son más abundantes y disminuyen gradualmente su número durante la maduración avanzada y la espermiación.

El citoplasma de las espermátides está simétricamente distribuido alrededor del núcleo, el cual tiene un diámetro de 2 a 8 μm y cromatina difusa. Cerca del núcleo se encuentra ubicado el complejo centriolar y se ancla a la membrana plasmática formando el flagelo. El sistema de endomembranas se encuentra bien desarrollado incluyendo el aparato de Golgi, retículo endoplásmico y algunas vesículas. El flagelo está rodeado por la membrana flagelar y tiene un aro membranoso. Al final de la espermatogénesis, el citoplasma residual es eliminado; los procesos citoplasmáticos de las células de Sertoli se alejan, liberando los espermatozoides dentro del lumen de los túbulos seminíferos (Prieto, 2004).

El espermatozoide de los peces con fertilización externa, tiene una estructura simple de tipo primitivo. La cabeza mide entre 2 y 4 μm y es casi esférica con un collar que forma la pieza media donde se encuentran los centriolos y entre 2 y 9 mitocondrias; por lo general el flagelo está constituido por el axonema en arreglo de nueve paredes de microtúbulos periféricos y un par central, aunque en algunos grupos taxonómicos como los angiliformes y elopiformes presentan solamente los nueve pares periféricos. El flagelo de algunos peces mide entre 20 y 100 μm su membrana plasmática forma una especie de aleta en el plano horizontal confiriéndole una forma acintada, siendo posible que esta estructura se haya formado evolutivamente para favorecer el movimiento del espermatozoide bajo ciertas condiciones acuosas.

4.2.2 Tipos de espermatozoides

De acuerdo con Prieto (2004), en los peces se clasifican los espermatozoides en aquaesperma y en introesperma, teniendo en cuenta el modo de fertilización

externo o interno; los aquaesperma están presentes en especies con fertilización externa, en que los espermatozoides son liberados en ambiente acuático y los “introsperm”, por otra parte, están presentes en las especies con fertilización interna, en la que los espermatozoides son liberados dentro del tracto genital femenino. Dentro de la clasificación de aquaespermatozoides están los grupos Cipriniformes, Characiformes y Siluriformes: esto supone que se han desarrollado adaptaciones evolutivas de las diferentes especies para favorecer la fertilización bajo condiciones diferentes, aunque hacen falta investigaciones enfocadas al respecto.

Durante la diferenciación de las espermátides, o espermiogénesis, ocurre la compactación de contenido nuclear, la formación de parte intermedia y el desarrollo del flagelo. Al final de la espermatogénesis, los puentes citoplasmáticos y el citoplasma residual son eliminados, los procesos citoplasmáticos de las células de Sertoli se apartan y los espermatozoides son liberados (Prieto, 2004). Estudios sobre varias especies de peces han demostrado que el proceso de espermiogénesis, los tipos de espermatozoides, igualmente como las estructuras espermáticas, son usualmente conservados en los miembros de una misma familia o subfamilia y pueden presentar señales filogenéticas (Prieto, 2004).

En los peces, la compactación progresiva de la cromatina en el núcleo de las espermátidas y su forma final en los espermatozoides puede mostrar diferentes aspectos. Estas variaciones no parecen estar asociadas al orden al que pertenecen estos animales; sin embargo, en cada orden, los espermatozoides de las especies pertenecientes a la misma familia pueden compartir los mismos caracteres ultraestructurales. Lo mismo ocurre con la forma del núcleo, número y forma de las mitocondrias en la pieza intermedia, presencia y longitud del canal citoplasmático, número y presencia de las expansiones laterales en la membrana flagelar y número de flagelos (Prieto, 2004).

4.3 ASPECTOS REPRODUCTIVOS EN PECES

El punto más importante del éxito comercial en el cultivo de una especie dada se refiere al control de su reproducción, puesto que ello permite la independencia del medio silvestre, la obtención masiva de juveniles en cautiverio y la planificación de producción comercial. La disponibilidad de semilla, por lo tanto, es el aspecto de tipo técnico que permite el inicio de ciclos de cultivo, en cuanto los juveniles se constituyen en la materia prima para las etapas posteriores.

Los procesos de reproducción no se afectan totalmente en cautiverio, persistiendo en muchas especies el desarrollo progresivo de las gónadas, aunque sin evidenciar ovulación. Mediante las técnicas de reproducción inducida a través del manejo hormonal se ha podido intervenir eficazmente superando la ausencia de los estímulos ambientales necesarios (Harvey y Hoar, 1980). La percepción de estímulos ambientales está regida por el sistema nervioso; la información va de los receptores sensoriales del pez hasta el cerebro y, al llegar al hipotálamo, la información neural determina la actividad de la hipófisis por medio de mensajeros químicos denominados hormonas liberadoras de gonadotropina cuyo órgano objetivo final es la gónada (Harvey y Hoar, 1980).

La hormona más utilizada para inducir con éxito la maduración final y el desove en cautiverio de los bagres es el extracto de hipófisis de carpa (EHC), la que se adquiere con relativa facilidad en el comercio. Las dosis hormonales varían entre 5.5 y 6.6 miligramos de hormona por kilogramo de peso vivo o biomasa, en dos inyecciones que se aplican con intervalos de 12 horas (Contreras y Contreras, 1989).

En los machos, el epitelio germinal que delimita el saco está formado de: espermatogonias, células de Sertoli, células intersticiales de Leydig y tejido conectivo. Las células de Leydig se encuentran adyacentes a los tubulos seminíferos en el testículo y pueden secretar testosterona. Al inicio de la espermatogénesis las espermatogonias se empiezan a desarrollar con el agrupamiento de las células de Sertoli, incrementando el volumen del testículo por divisiones meióticas y mitóticas para formar espermatocistos, los cuales son liberados al volumen central como espermatozoos. Poco antes de la reproducción se acelera el proceso de espermiación en el lumen y este se hidrata por la adición de fluido seminal secretado por las paredes del ducto espermático (Harvey y Hoar, 1980).

En teleósteos, la influencia de factores ambientales sobre el desarrollo reproductivo esta mediada por la interacción entre el cerebro, la glándula pituitaria y las gónadas; cambios estacionales se asocian con la actividad reproductiva por medio de la actividad neurosecretora en el hipotálamo (Lam, 1982). El mantenimiento de los principales parámetros de la calidad del agua dentro de los rangos considerados de confort para la especie es importante para la obtención de la maduración gonadal. Factores externos como el grado de tensión de estrés, pueden ser inhibidores del proceso reproductivo.

Diversos factores como la edad, el tamaño del animal y su fisiología, influyen en los peces a fin de que adquieran la capacidad de madurar los productos gonadales y llevar a cabo la reproducción. Además de estos elementos endógenos, indispensables dentro del proceso, factores abióticos tales como cambios en la duración del fotoperiodo, la temperatura, disponibilidad de alimentos y ciclo hidrológico, entre otros, pueden ser determinantes en la definición del ciclo reproductivo de los peces (Lagler *et al.* 1984).

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 PECES EXPERIMENTALES

Los peces trabajados se mantuvieron en estanques en tierra, de unos 200 m², en el caso de la estación de Piedra Pintada (Aipe), y de 500 m² en la estación del Alto Magdalena (Gigante). En media, durante el tiempo de muestreo en la primera estación, los parámetros de calidad de agua fueron:

Temperatura: 26 ± 1.5 °C

pH: $6,5 \pm 1,7$

O₂ disuelto: $6,8 \pm 1$ mg L⁻¹

La captura de los peces se efectuó mediante arrastres con un chinchorro (17 m x 0.7 m) con un ojo de malla de 2 cm; la selección de los machos se hizo directamente en los estanques, revisando cada ejemplar individualmente y comprobando la presencia de esperma a través de masajes abdominales en dirección antero-caudal (Figura 4). Se trabajaron aquellos en los que hubo evidente emisión de material espermático.

Figura 4. Masaje abdominal para verificación de la presencia de semen



Las pruebas previas a la caracterización del líquido espermático, se realizaron sobre 50 machos. La obtención del líquido espermático se realizó en la época de lluvias, en los meses de septiembre a octubre. Para el desarrollo de las pruebas se emplearon, además de balanza e ictiómetro, equipos de laboratorio como microscopio, con aumento de 10x y 40x, tubos previamente calibrados para la determinación del volumen espermático, cámara de Neubauer, para el conteo de las células espermáticas, y micropipetas graduadas (1 a 10 μ L), con las que se recolectó y midió la cantidad de semen recolectado.

5.2 VALORACIÓN ESPERMÁTICA

5.2.1 Características biométricas

Para facilitar el manejo, los ejemplares seleccionados fueron anestesiados con MS222 (Metano Sulfonato de Tricaína), en una concentración de 50 a 75 ppm

(Figura 5). Individualmente se tomaron datos de longitud total (cm) y estándar (cm), con un ictiómetro con aproximación a 1 mm y el peso (g), con una balanza de reloj (Figura 6).

Figura 5. Ejemplares de capaz tranquilizados con MS222.



Figura 6. Determinación de peso en los reproductores



5.2.2 Obtención de muestras y caracterización

El esperma fue obtenido con masajes abdominales previo secado ventral con papel absorbente y, por la escasa cantidad que la especie produce, fue necesario utilizar micropipetas (Figura 7). Cuando se presentó orina, el producido fue desechado, hasta que se comprobó la emisión de líquido espermático en condiciones de valoración. La caracterización del esperma se realizó en el momento que se finalizó la recolección del total de las muestras en cada jornada de trabajo.

Figura 7. Colecta de esperma con ayuda de micropipetas.



Todas las muestras trabajadas presentaron un color blanquecino; la principal característica de tipo macroscópica medida fue el volumen, registrada directamente de la micropipeta de recolección. Las características microscópicas fueron analizadas utilizando un microscopio con aumentos de 10x, 40x y 100x.

La motilidad fue estimada tanto en tiempo (s) como en porcentaje (%). Esta se define como el porcentaje de células vivas que se deslizan en cualquier dirección, sin importar la velocidad con la que lo hagan (Montejo, 1995). Esta medida implica un análisis subjetivo de intensidad, grado de movimiento y porcentaje de células móviles, lo cual se estableció mediante una escala de 1 a 5, creciente de acuerdo a la intensidad, equivalente en rangos de 0 a 20 % (calificación 1), de 20 a 40% (calificación 2) y así sucesivamente hasta la escala de 5 que indica un porcentaje de células motiles entre el 80 y 100%. Para este caso se trabajó únicamente sobre muestras con calificación de 5.

En lo que se refiere a la motilidad en tiempo, esta fue determinada en términos de duración (s), desde el momento en que el semen fue activado con agua hasta que los movimientos fueron lentos o casi imperceptibles, siguiendo la metodología de Montejo (1995). Las pruebas únicamente se adelantaron sobre muestras en las que se verificó al microscopio la inactividad del esperma en el momento de la extracción, lo que indirectamente indica una adecuada recolección del eyaculado, sin agentes extraños (sangre, orina, etc) que pudiesen haber promovido la activación.

En todos los casos las verificaciones se efectuaron colocando una gota de semen fresco sobre una lámina portaobjeto que fue observada al microscopio (40x, 100x), tal como lo describen Cruz y Velasco (2005). A una gota de semen puro se le adicionó dos gotas de agua, se homogenizó e inmediatamente fue colocado bajo observación en el microscopio, sin cubrirlo con lamina cubre-objetos, tomando el tiempo desde la activación hasta la finalización de movimientos intensos de las células espermáticas (Figura 8). Enseguida se procedió a tomar el tiempo en segundos.

Figura 8. Activación del semen y verificación de movilidad.



Por otra parte, la concentración espermática permite determinar la cantidad de células espermáticas por unidad de volumen (ml o μ l, según el caso). Constituye una de las valoraciones de mayor importancia, pues se traduce en un parámetro que permitirá a futuro precisar esquemas de manejo del semen, especialmente aquellos destinados a optimizar su utilización. Dada la limitación de datos previos, en las pruebas piloto fue necesario ensayar dos niveles de dilución que facilitaron los conteos correspondientes en cámara de Neubauer; se consideró la dilución óptima aquella que permitió un conteo máximo de 100 células espermáticas por campo (1:200). Para el efecto, la muestra se homogenizó con suero fisiológico, colocando una gota en el hemocitómetro. Se dejó en reposo por 10 minutos con el fin de que los espermatozoides pudieran ser vistos en el mismo plano.

El número total de espermatozoides se obtuvo a partir del conteo de cinco cuadros tomados en diagonal del cuadro mayor, divididos a su vez en 16 cuadros pequeños. En total, el número de cuadros contados fue de 80 por cada

muestra (Montejo 1995); la fórmula utilizada para el cálculo fue (Cruz y Velasco, 2005):

$N = Z \times (d \times A \times P)$, donde:

N = número de espermatozoides mL^{-1}

Z = espermatozoides contados en los 5 subcuadros de las dos cuadrículas

d = dilución

A = área de la cámara contada ($0,2 \text{ mm}^2$)

P = profundidad de la cámara ($0,1 \text{ mm}$)

Los pasos seguidos para adelantar los conteos fueron:

Con la cámara ubicada en el microscopio se enfoca el cuadro de conteo con un aumento de 4x, observando la cuadrícula mayor como se muestra a continuación en la (figura 9).

Figura 9. Vista de enfoque en la cámara de Neubauer al 4x.

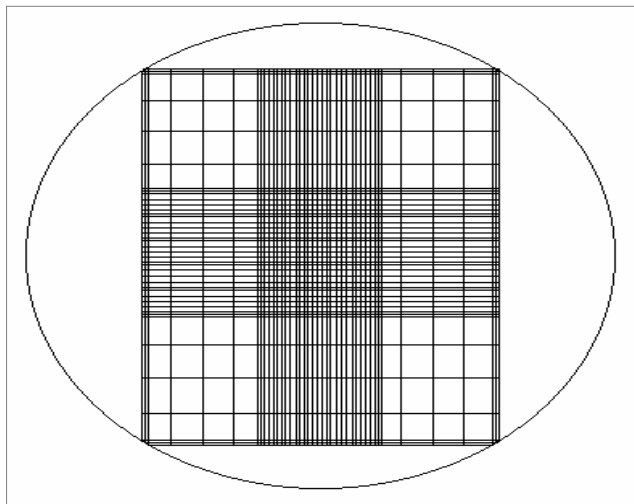
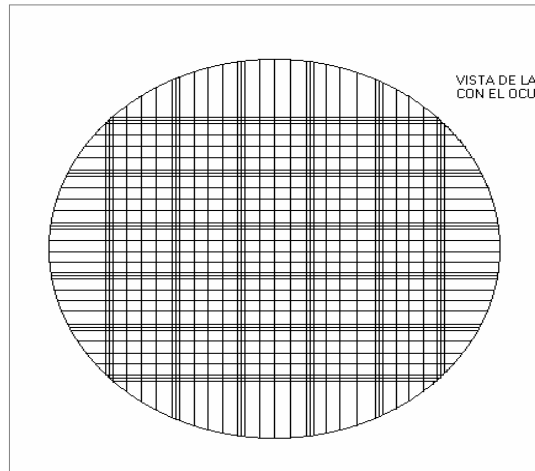
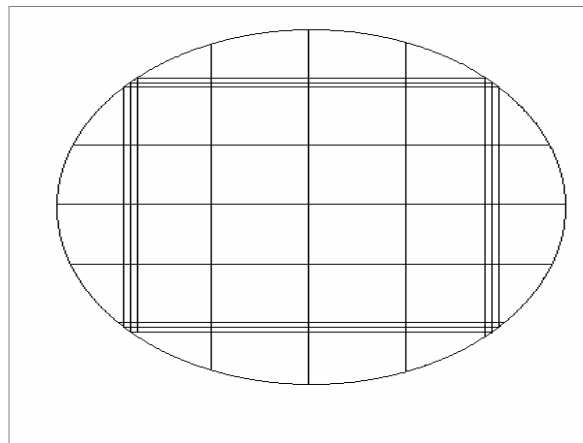


Figura 10. Enfoque en la cámara de Neubauer al 10x cuadrícula central.



En esta cuadrícula se visualizan 25 cuadros, y se cuentan las células presentes en 5 campos, los 4 localizados en las esquinas y el central. Para realizar el conteo se utiliza un aumento de 40x, donde se visualiza individualmente cada uno de los campos, tal como se presenta a continuación.

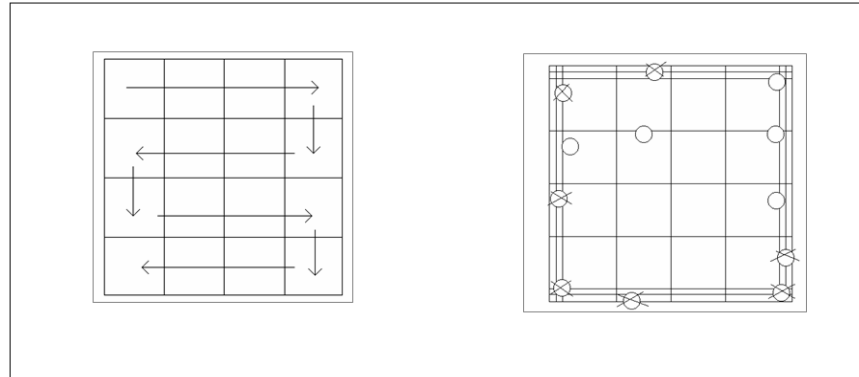
Figura 11. Vista de la cámara Neubauer en un enfoque de 40x.



Los espermatozoides son contados cuadro por cuadro y el total de espermatozoides corresponde a la sumatoria de los 5 cuadros. Alrededor de cada cuadrícula se observan tres líneas que lo delimitan y definen cuales células son

objeto o no del conteo. Los espermatozoides ubicados desde la segunda línea hacia la cuadrícula interna fueron considerados; si la tocan o están por encima de ella no se incluyen. La dirección del conteo y las células no contadas (marcadas con X) se muestran en los diagramas siguientes:

Figura 12. Forma de conteo en la cámara de Neubauer.



Entonces, el valor de Z en la fórmula corresponde a la sumatoria del conteo en los 5 subcuadros. De cada ejemplar se hicieron 3 réplicas y el promedio constituye el total de espermatozoides μL^{-1} para el ejemplar. Finalmente, el resumen de los pasos metodológicos seguidos para la caracterización fue:

- Pesca y selección: mediante arrastres con chinchorro y selección primaria de ejemplares con emisión de esperma.
- Traslado y marcaje: los machos capturados se trasladaron a piletas cercanas al laboratorio utilizando camillas. Para identificación individual, se marcaron con chaquiras de colores, colocadas con nylon entre los dos primeros radios de la aleta dorsal.
- Medición: previa tranquilización con MS 222 (75 ppm), los peces fueron medidos en longitud (total y estándar) y peso.

- Inducción: parte de los peces fue sometida a inducción hormonal para facilitar la espermiación. Con base en la codificación por color y los datos de peso se calculó la dosis de Extracto de Hipófisis de Carpa (EHC) a aplicar con base en una única dosis de 4 mg/kg colocada intraperitonealmente. Trabajos previos establecen que la respuesta se da entre 8 y 10 horas después de la dosis. La fracción de machos no inducidos se trabajó inmediatamente.
- Para efectos de caracterización cada ejemplar anestesiado fue completamente secado para evitar activación por causa de contacto con el agua. Como se anotó, conforme se aplicó el masaje se recolectó el esperma con ayuda de micropipetas sumando el volumen extraído en varias extracciones hasta que se consideró finalizada la opción de obtener más líquido seminal, con lo que se obtuvo el total producido por individuo. En el paso siguiente se realizó la determinación del tiempo de motilidad (3 repeticiones) y, simultáneamente, se realizaron los conteos, tal como fue explicado anteriormente.

Finalizado el proceso, los peces fueron dejados en recuperación y bajo observación permanente durante 12 – 24 horas. Posteriormente retornaron al estanque de reproductores. No hubo necesidad de aplicar medicación alguna.

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En total, se evaluó el esperma de 22 machos, de los cuales 14 fueron sometidos a inducción y los 8 restantes sin tratamiento hormonal. La tabla 1 presenta los datos generales obtenidos de los machos analizados.

Tabla 1. Registros morfométricos y características espermáticas en machos de capaz *P. grosskopfii* (CI: con inducción; SI: sin inducción)

No	Tratamiento	Peso (Kg)	Longitud Total (cm)	Longitud Estándar (cm)	Volumen (μ L)	Motilidad (s)	Sptz μ L ⁻¹ (x10 ⁶)
1	CI	0,23	28,4	21,8	12	61,5±26,1	1.87
2	CI	0,23	28,5	22	45	85±42,4	3.97
3	CI	0,2	28	22	15	138	3.485
4	CI	0,2	28	22	33	114±45,2	2.955
5	CI	0,13	27	21	12	124	0.71
6	CI	0,27	31	24	51	66	1.92
7	CI	0,15	27	20	12	78	11.71
8	CI	0,23	29	23	18	99,5±4,95	7.42
9	CI	0,21	29	23,5	5	73	2.53
10	CI	0,2	27	22	6	91±21,2	3.08
11	CI	0,15	26,4	20,3	21	61,5±26,2	6.093
12	CI	0,15	26	19,5	33	88±18,4	2.063
13	CI	0,18	27	21,5	12	107±7,53	9.413
14	CI	0,17	28,5	21,5	6	67,7±7,02	3.273
15	SI	0,12	24	18	3	83	0.596
16	SI	0,18	28	21,5	6	73,5±4,95	0.386
17	SI	0,19	28	22,5	14		3.655
18	SI	0,12	29	22,5	3		0.25
19	SI	0,2	29	23	1		2.575
20	SI	0,16	27,5	21,5	4,5	61,5±0,71	3.435
21	SI	0,26	31	24	16	78,7±26,4	3.5
22	SI	0,19	30	24	4	61±9,9	2.66
PROMEDIO		0,186	28,06	21,87	15,11	93,67	3.52
DE		0,042	1,595	1,505	13,775	29,790	2.86
MAXIMO		0,274	31	24	51	138	11.71
MINIMO		0,117	24	18	1	66	0.25
CV		22,77	5,68	6,88	91,15	31,80	81,06

Como se observa en las medias de talla, en general se trata de ejemplares de porte menor (rangos para peso entre 117 y 274 g y de longitud total entre 24 y 31 cm); los parámetros de caracterización de volumen del eyaculado y de concentración espermática mostraron una muy elevada variabilidad entre los individuos con coeficientes de variación del 91.1 y del 81 % respectivamente. Incluso (tabla 2) cuando se separan los tratamientos, el comportamiento del coeficiente es igualmente alto para los dos casos: con y sin inducción.

La concentración media también puede considerarse como baja, cuando se compara con otras especies de silúridos; en *Rhamdia quelen*, por ejemplo, Ferreira *et al.* (2001) registran una media de 410 μL ($n = 15$) en volumen y aproximadamente $70 \text{ sptz} \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$, muy superior a los $3,5 \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$, que corresponde al promedio de los datos que aquí se reportan. En grandes bagres, como el rayado *Pseudoplatystoma fasciatum*, se presentan valores que van desde $23,4 \text{ sptz} \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$ (Pinzón *et al.* 2005) hasta los $31,9 \text{ sptz} \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$ con un volumen seminal de 9.9 mL (Guarnizo, 2007). En el *Sorubim cuspicaudus*, Araújo *et al.* (2003) registran valores de $22.0 \text{ sptz} \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$. En el capitán de la sabana, *Eremophilus mutisii* (bagre de aguas frías), Montejo (1995) registra datos de producción seminal en ejemplares, tanto cautivos como obtenidos del medio, que alcanzan los 900 μL en media, sin utilización de inductores.

Se observa entonces una diferencia que alcanza, en los máximos, varios niveles de magnitud, lo que impidió incluso adelantar pruebas adicionales, como el hematocrito, al menos con los peces experimentales utilizados. La motilidad tiende a ser más estable y el tiempo de 93.67 s puede considerarse, por tanto, como una aproximación razonable para la especie.

Tabla 2. Resumen de registros morfométricos y de caracterización espermática en machos de capaz con (CI; n = 14) y sin inducción (SI; n = 8)

	Peso (Kg)	LT (cm)	LS(cm)	Volumen (μL)		Motilidad (s)	Sptz μL^{-1}
				CI	SI		
Promedio	0,19	28,1	21,9	20,1	6,4	84,8	$3,5 \times 10^6$
D.E.	0,04	1,6	1,5	14,7	5,5	22,6	$2,86 \times 10^6$
C.V.	22,77	5,7	6,9	73,5	85,4	26,6	81,1
Máximo	0,27	31	24	51	16	138	$11,7 \times 10^6$
Mínimo	0,12	24	18	5	1	61	$0,25 \times 10^6$

En lo que se refiere a aspectos con utilidad para el manejo en cautiverio, se debe anotar que se trata de una especie en la que no hay un dimorfismo sexual que permita una diferenciación inmediata entre sexos, siendo el tamaño la primera estimación que normalmente se aplica. La comprobación de madurez en los machos es igualmente complicada, pues la liberación del semen no es fluida, aún en individuos completamente maduros. No obstante, en términos de porcentaje de motilidad, todas las muestras de semen que fueron observadas alcanzaron máximos niveles.

Aparentemente, la motilidad (en tiempo) no se afecta por la aplicación de procedimientos de inducción; se corrobora con las observaciones en *R. quelen* que registran Ferreira *et al.* (2001). La elevada variación individual (ver el valor de CV en tabla 2) que se observa en el volumen de semen producido es una manifestación natural que depende en general de varios factores, entre los que se encuentran el tamaño del individuo y la forma y época en la que se efectúa la recolección (Luz *et al.* 2001), certificado por Bombardelli *et al.* (2006) para *R. quelen*. De acuerdo con la comparación de medias que fue efectuada entre los

registros de volumen, se tiene que el valor de la probabilidad indica que la aplicación de la EHC en las dosis trabajadas tiene un efecto significativo, con un producido significativamente mayor en los ejemplares sometidos a inducción (20.1 μL , en comparación con los 6.4 μL para los no inducidos).

En la gran mayoría de los casos el material espermático se encontraba activado en el momento de la extracción; esto se convierte en una limitante operativa para los adelantar procesos en los que sea necesario disponer de espermatozoides en inactivación (p.e. para los procedimientos de ginogénesis); la utilización de diluyentes debe ser considerada dentro de las líneas investigativas para mejorar los esquemas de manejo reproductivo sobre los machos.

7 CONCLUSIONES

- Siendo una especie con evidentes cualidades para explotación controladas, una de las limitantes para efectos de producción de semilla en cautiverio se tiene precisamente en las características del esperma mismo. En efecto, se comprueban los reducidos volúmenes de eyaculado lo que significa que la estructuración de un plantel debe estar basada en la disposición de un número de machos tal que permita disponer de esperma en cantidad suficiente para asegurar la obtención de porcentajes de fertilización aceptables.
- No existen características externas que permitan la diferenciación entre sexos en la especie, aun cuando los machos tienden a presentar un tamaño inferior al de las hembras. Tampoco se evidencian patrones que faciliten la selección de ejemplares maduros, por lo que la comprobación del estado debe basarse en la aplicación de masajes y la observación de la emisión de semen.
- Observando los resultados obtenidos entre los animales inducidos y no inducidos se muestra un incremento de líquido seminal con aquellos que se les suministró hormona; no se logró determinar una relación entre la talla de los ejemplares y los parámetros de caracterización del esperma.

8 RECOMENDACIONES

Las características del esperma que fueron definidas genera la necesidad de establecer nuevos objetivos de investigación, especialmente cuando los esfuerzos y la demanda que existe sobre el capaz se dirigen hacia la consolidación de protocolos reproductivos en cautiverio. Así, se estima que trabajos encaminados a definir dosis seminante son fundamentales en este momento.

Como complemento al proyecto anterior y para dar solución práctica a los reducidos volúmenes del eyaculado en la especie y la dificultad en su extracción, se requiere experimentar sobre el uso de diluyentes que permitan optimizar el uso del semen disponible. Aunque la respuesta positiva al EHC fue demostrada, el uso de otros inductores debe ser considerado, especialmente en lo que se refiere a las posibilidades de obtener una mayor cantidad seminal en el proceso reproductivo.

9 BIBLIOGRAFÍA

Araujo H, Cordero W, Rúgeles C y V Atencio, 2003. Evaluación de las características seminales de Blanquillo *Sorubim cuspicaudus* inducido con ovaprim®. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 16 (suplemento): 78.

Bombardelli R, Mörschbacher EF, Campagnolo R, Sanches E y M Syperreck, 2006. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá cinza, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimardm, 1824). *R. Bras. Zootec*, 35 (4): 16.

Cala P, Pérez C y JA Rodríguez, 1996. Aspectos biológicos de la población del Capaz, *Pimelodus grosskopffi* (Pisces: Pimelodidae), en el embalse de Betania y parte alta del río Magdalena, Colombia. *Revista Academia Colombiana de Ciencias*, 77: 319 – 330.

Castro D, 1986. Los bagres de la subfamilia Sorubiminae de la Orinoquia y Amazonía Colombiana (Siluriformes - Pimelodidae). *Boletín Ecotropical*. Bogotá. 3: 1-140p.

CCI - INCODER. 2006. Boletines de capturas meses de agosto 2006 a enero 2007. Convenio CCI - INCODER. Bogotá.

Chilito MX, 2002. Aspecto reproductivo del *Pimelodus grosskopfii*, Steindachner, 1879 (Pisces, Pimelodidae) en el río Cauca. Sector comprendido entre el sitio de presa embalse La Salvajina y puente La Balsa, departamento del Cauca. Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación. Departamento de Biología. Popayán.

Contreras PJ y JC Contreras, 1989. Desarrollo embrionario y larval del bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1776) (Pisces: Pimelodidae), INDERENA, Movilización Verde: 23-35 p.

Cruz P y Y Velasco, 2005. Determinación de las características seminales y seminación artificial en peces. En: Daza P, Landines MA y Al Sanabria (eds). Reproducción de peces en el trópico. INCODER – Universidad Nacional de Colombia. 175 – 196 p.

Dahl G, 1971. Los peces del norte de Colombia. Instituto de Desarrollo de los Recursos Naturales Renovables. INDERENA. Bogotá.

Ferreira A, Nuñez A, Luz R, Tataje D, Esquivel J y J Restrepo, 2001. Avaliação qualitativa e quantitativa do semen do jundiá, *Rhamdia quelen*. Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, 27 (1): 57 – 60.

Galvis G, Mójica JI y F Rodríguez, 1989. Peces del Catatumbo. Bogotá: Asociación Cravo Norte, 188 p.

Guarnizo M, 2007. Caracterización seminal y ensayos preliminares de crioconservación de semen de Bagre Rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*).

Harvey, B.J. And Hoar, W.S. 1980 Teoría y práctica de la reproducción inducida en los peces. Ottawa, Cánada. 48 p.

Kubitza F, 1998. Produção Intensiva de Surubins no Projeto Pacu Ltda e Agropeixe Ltd. Anais do Aquicultura Brasil'98. Volume I. p. 393-405. Recife, 2 a 6 de novembro.

Lagler K, Bardach J, Miller R y D May, 1984. Ictiología. AGT Editor. México. 488 p.

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

Miles C, 1947. Los peces del río Magdalena. Editorial el gráfico. Bogotá

Mójica J, Castellanos S, Usma S y R Álvarez, 2002. Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia. Serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá, Colombia.

Mójica JI, 1999. Lista preliminar de las especies de peces dulceacuícolas de Colombia. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Volumen XXIII. Bogotá, Colombia.

Montejo J, 1995. Evaluación del semen del pez *Eremophilus mutisii* HUMBOLDT 1805 (Capitán de la Sabana). Trabajo de grado, Facultad de Zootecnia, Universidad de La Salle. Bogotá. 78 p.

Pinzón SM, Mojica JE y PE Cruz, 2005. Ensayos preliminares de crioconservación de semen de bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum* Linnaeus, 1766). *Revista Orinoquía*, 9(2): 28-37.

Prieto C, 2004 Análise ultraestrutural e avaliação do sêmen de peixes neotropicais, *Brycon orbignyanus*, *Rhamdia quelen* e *Brycon hilarii* (Pisces, Teleostei). Dissertação de mestrado. Universidad Estatal Paulista, Centro de Aquicultura de UNESP. p. 82

Rodríguez JA y HO Mojica, 2005. Reproducción y Manejo de siluridos en cautiverio. En: Daza P, Landines MA y AI Sanabria (eds). Reproducción de peces en el trópico. INCODER – Universidad Nacional de Colombia. 246 p.

Rodríguez RI y MC Pérez, 1992. Contribución al conocimiento de la biología del capaz *Pimelodus grosskopfii* en el embalse de Betania río Magdalena. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.

Tabares CJ, Tarazona AM y M Olivera, 2005. Fisiología de la activación del espermatozoide en peces de agua dulce. *Rev Col Cienc Pec* Vol. 18 (2): 149-161.

Torres AH, 1997. Estudio descriptivo de la biología de dos especies de *Pimelodus* del Alto Cauca, Valle del Cauca. (Pisces, Pimelodidae, Lacepede 1803). Maestría en Recursos Hidrobiológicos Continentales. Instituto de Posgrado, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Universidad del Cauca. Popayán.

Torres H, Zamora H y PN Montoya, 1999. Aspectos fenotípicos relevantes en la diferenciación del capaz *Pimelodus grosskopfii* (Pisces: Pimelodidae). *Revista Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*. 11 (1)

Valbuena RD, David CA y M Avilés, 2009. Manual de reproducción inducida y preliminares sobre larvicultura y alevinaje del capaz (*Pimelodus grosskopfii*). SENA – UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA – FEDEACUA – ACUAPEZ – CENTRACAFE. Neiva (Huila). 25 p.

Villa F, 1999. Estudio biológico pesquero de la represa de Prado, para la determinación de especies promisorias en acuicultura. Universidad del Tolima – CORTOLIMA – INPA – Gobernación del Tolima – Comité Departamental de Cafeteros del Tolima. Ibagué. 105 p.

Villa-Navarro FA y S Losada, 1999. Hábitos alimenticios de *Pimelodus grosskopfii* y *Ageneiosus caucanus* (Siluriformes: Pimelodidae) en la represa de Prado (Tolima) En: XXXIV Congreso Nacional de Ciencias Biológicas, Cali. Memorias del XXXIV Congreso Nacional de Ciencias Biológicas. 224 p.

Villaneda A., 1977. Algunos aspectos biológicos del Capaz, *Pimelodus grosskopfii*. Trabajo de grado, Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. 39 p.