

Retrocruce de hembras híbridas (F1) (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) con machos de las especies parentales

Giuseppe Martino Ciasullo

Fundación La Salle de Ciencias Naturales, Estación Hídrobiológica de Guayana, San Félix, Edo. Bolívar (Venezuela)

Resumen

Se comenzó en varias estaciones y centros de reproducción artificial la actividad de hibridación de las especies *C. macropomum* y *P. brachypomus*. También se logró la hibridación artificial de dos especies de bagres comerciales *Leiarius marmoratus* x *Pseudoplatystoma fasciatum*. Sobre los estudios de hibridación entre *Colossoma* y *Piaractus* se reportan evidencias de madurez tanto en hembras como en machos observándose la presencia de gónadas representadas por dos ovarios de moderado estadio de desarrollo y con óvulos con un diámetro superior al de ambas especies, así como emisión de semen durante la captura de uno de los machos "supuestamente híbrido". El objetivo central de este trabajo fue establecer si hembras de híbrido F1 podían producir óvulos viables y a partir de ellas obtener una segunda generación..

Summary

Cross back of hybrid females F1 (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) with males of the parenteral species

You began in several stations and centers of artificial reproduction the activity of hybridization of the species *C. macropomum* and *P. brachypomus*. Also the artificial hybridization of two species of commercial bagres *Leiarius marmoratus* x *Pseudoplatystoma fasciatum* was achieved. On the hybridization studies between *Colossoma* and *Piaractus* evidences of maturity are reported as much in females as in males the gonads presence represented by two ovaries of moderate development stadium being observed and with ova with a superior diameter to that of both species, as well as emission of semen during the capture of one of the males" supposedly hybrid". The central objective of this work was to settle down if females of hybrid F1 could produce viable ova and starting from them to obtain a second generation.

Introducción

En la actividad de la acuicultura las mejoras genéticas en la población para aumentar la productividad, mejorar la resistencia a las enfermedades y fijar determinados caracteres son sin duda uno de los objetivos fundamentales. Una de las vías utilizadas para hacer efectivas esas mejoras es mediante la hibridación. Kirpichnikvo (1) y Bakos (2) y Moav (3) han obtenido mejoras en la productividad de la Carpa común *Cyprinus carpio* así como en la resistencia a ciertas enfermedades.

Los primeros ensayos en Venezuela sobre hibridación intraespecífica entre especies comerciales susceptibles de ser cultivadas comenzaron con el cruce de la Cachama negra, *Colossoma macropomum* y la Palometa *Mylossoma duriventris* (4). Bermudez (5) reportó evidencias sobre hibridación natural de "cachamas" de los géneros *Colossoma* y *Piaractus*.

Se comenzó en varias estaciones y centros de reproducción artificial la actividad de hibridación de las especies *C. macropomum* y *P. brachypomus*. También se logró la hibridación artificial de dos especies de bagres comerciales *Leiarius marmoratus* x *Pseudoplatystoma fasciatum* (6).

Sobre los estudios de hibridación entre *Colossoma* y *Piaractus* se reportan evidencias de madurez tanto en hembras como en machos observándose la presencia de gónadas representadas por dos ovarios de moderado estadio de desarrollo y con óvulos con un diámetro superior al de ambas especies, así como emisión de semen durante la captura de uno de los machos "supuestamente híbrido" (5).

El objetivo central de este trabajo fue establecer si hembras de híbrido F1 podían producir óvulos viables y a partir de ellas obtener una segunda generación.

Material y métodos

Hibridación

Los reproductores utilizados fueron de un lote adquirido en el año de 1984 al Ing. Francisco Bortone y tenían un peso promedio de 1.5 Kg, estos animales fueron producto del cruce de hembras de *C. macropomum* x macho de *P. brachypomus* (Bortone comunicación personal). Fueron mantenidos en estanques de concreto de 30 m² con recirculación de agua en circuito cerrado y aireación constante.

A partir del año 1988 se comenzaron a registrar algunos parámetros biométricos de interés. En 1989 se empezaron a obtener, por biopsia ovárica, los primeros ovocitos en maduración de 4 híbridos hembras y semen de un macho.

La alimentación fue a base de alimento concentrado para animales (Desarrollina, Perrarina, Pollarina) alternando el alimento de acuerdo a la disponibilidad de estos productos en el mercado. La cantidad se mantuvo entre el 1.5 y 2% de su peso corporal y la frecuencia fue de una toma diaria, 6 días a la semana.

La selección de los ejemplares hembras se hizo en base al método de biopsia ovárica (adaptación del método descrito por Biernaiz *et al.* (7) para *Cyprinus carpio*). Los ejemplares machos de ambas especies, *C. macropomum* y *P. brachypomus*, sólo fueron evaluados subjetivamente por leve presión abdominal y verificación de fluidez del semen momentos antes de comenzar la inducción en las hembras.

La inducción del desove y obtención de los óvulos maduros se hizo de acuerdo a la metodología descrita por Woynarovich (8).

Las incubadoras utilizadas fueron las del tipo Agrober-Woynarovich de 60 l de capacidad.

Crecimiento en estanques de los híbridos (75% cachama 25% morocoto) y (75% morocoto 25% cachama)

Las larvas obtenidas del cruce de los machos de las especies parentales fueron manejadas por separado y mantenidas en las incubadoras durante el proceso de reabsorción del saco vitelino. Luego transferidos a tanques de fibrocemento sin recirculación de agua y alimentadas con *Artemia* y cladóceros (*Moina* sp.).

Resultados

Primeros ensayos

Los primeros óvulos fueron obtenidos de un híbrido F1 de 6.3 Kg en 1989. Los ovocitos de color blanco verdoso tenían un diámetro mayor a 1 mm. La condición predominante de los óvulos al ser sometidos al líquido clarificador fue "Opaco" (núcleos no visibles por opacidad del vitelo). El inicio del tratamiento de inducción del desove fue el 29 de octubre de 1989, dos meses después de haber obtenido los primeros óvulos. La respuesta ovulatoria fue negativa. Para el momento de la inducción, la condición predominante de los óvulos era la misma. Durante el año 1990 se efectuaron varias inducciones al desove a diferentes híbridos hembras, siendo en todos los casos negativos los resultados.

Retrocruce de híbrido Hembra con machos de las especies parentales

Al comienzo del tratamiento de inducción de una hembra marcada con el # 53 de 6.3 Kg, el diámetro de los oocitos fue de 1 mm a las 3:00 pm del 21 de diciembre de 1990. La condición predominante de los óvulos era "Opaco". El desove ocurrió a las 6:00 pm del 22 de diciembre de 1991, 9 horas luego de la segunda dosis. Por extrusión, se obtuvieron tan sólo 4 g de óvulos que fueron separados en dos partes. Ambas porciones fueron inseminadas por machos de ambas especies parentales, *C. macropomum* de 5.0 Kg y *P. brachypomus* de 4.4 Kg.

Un segundo ensayo fue efectuado el 17 de junio de 1991 con una hembra híbrido de 7.3 Kg marcada con el #08. También la condición predominante de los óvulos era "Opaco". La respuesta ovulatoria fue a las 9 horas luego de la segunda inyección. El desove fue parcial, obteniendo por extrusión, con intervalos de 30 min cada uno, cuatro porciones de óvulos (20, 20, 21 y 17 gramos respectivamente) .Los machos utilizados fueron *C. macropomum* de 5.3 Kg y *P. brachypomus* de 5.0 Kg.

Un tercer ensayo con las dos hembras de los ensayos anteriores se realizó el 23 de marzo de 1992 obteniendo en ambos casos desoves parciales (28 y 27 gr de huevos respectivamente). A diferencia de los ensayos anteriores, se obtuvo, para el caso de la hembra #08 una fecundación del 44% siendo la condición predominante de los óvulos antes de ser inducido de "Membrana Disuelta" y en el caso de la hembra #53 fue de "Núcleo Central" obteniéndose solamente un 2% de fecundación. Los resultados de los ensayos se muestran en la tabla I.

Tabla I

Resultados obtenidos de 2 ensayos con retrocruce de Híbridos (hembra) con machos de las especies parentales

	1 ^{er} Ensayo		2 ^o . Ensayo	
	C.m.	P.b.	C.m.	P.b.
Dosis aplicada				
1 ^a Dosis	3.5 mg	3.5 mg	3.7 mg	3.7 mg
2 ^a Dosis	40 mg	40 mg	58 mg	58 mg
Promedio Temperatura (°C)	28	28	27.5	27.5
Extrusión (Horas/grado)	266	252	248 275	261 289
Huevos obtenidos (g)	2	2	20 21	20 17
Fertilización (%)	15 (100)	33 (100)	7 15 (100)	2 5 (100)
Eclósión (Horas/grado)	812	826	715 729	722 729
Larvas obtenidas (Nº)	230	110	1400 3000	400 800
Alevines obtenidos (Nº)	5	7	300	150

C.m.: cruce de híbrido (hembra) x *C. macropomum* (macho)

P.b.: cruce de híbrido (hembra) x *P. brachypomun* (macho)

Todas las cifras de (Horas/grado) son a partir de la 2^a dosis

Los números entre paréntesis indican el tamaño de la muestra

Para el momento de la inducción al desove, los machos híbrido (F1) no aportaron líquido seminal, es decir, no coincidió su período de espermiación con la maduración de los ovocitos de las hembras. Los machos de las especies parentales, *P. brachypomus* y *C. macropomum*, en todos los casos siempre fueron los mismos ejemplares.

Tabla II

Comparación de los caracteres morfológicos y merísticos para las especies *Colossoma macropomum*, *Piaractus brachypomus* y sus híbridos

Caracteres	<i>C. macropomum</i> *	<i>P. brachypomus</i> *	Híbridos **
Escamas			
En línea lateral	71.0 ± 3.5	83.4 ± 4.9	92 ± 1
Sobre línea lateral	21.0 ± 1.5	27.5 ± 2.0	23
Bajo línea lateral	21.5 ± 2.0	28.7 ± 2.4	22 ± 1
Aleta adiposa	Más desarrollada con radios osificados.	Normal sin radios reducidas en adulto	Desarrolladas escamas sin radios
Escamas (Tipo)	Típicas cicloideas. En adultos se modifica con proceso espinoso en su borde posterior	Típicas cicloideas. En adultos se modifica un poco sin llegar a formar espinas en el margen posterior	Ctenoides con formación de algunas espinas en el margen posterior
Escamas suplementarias	Cubriendo membranas interradiales, operculares y región infraorbital.	Ausentes	Cubriendo solo la membrana opercular
Opercular	Más alto que largo. Forma semilunar. Altura 1.3 -1.8 en el largo	Más alto que largo, Altura más de 2 veces el largo	Más alto que largo. Altura 2.1 veces el largo
Coloración	En adultos, cuerpo con la región ventral oscura o negra. Dorso cobrizo o plomizo	En adultos, aleta anal anaranjada o amarilla. Cuerpo plomizo uniforme	Región ventral oscura. Dorso Plomizo

* Datos de poblaciones naturales según Machado (11)

** Datos obtenidos de dos progenitores utilizados. Estación Hidrobiológica de Guayana.

Discusión

Los individuos obtenidos mediante estos retrocruces poseen genomas con un 75% de la especie del progenitor macho y un 25% de la otra especie. Esto amplía las posibilidades de obtener nuevas condiciones fenotípicas, introduciendo algunos caracteres de especial interés en poblaciones muy parecidas a una especie en particular. Puede citarse como ejemplo la variedad de tilapia roja tolerante al frío que obtuvieron (9) al retrocruzar Tilapia roja híbrido con *Tilapia aurea* tolerante a bajas temperaturas.

Como hasta ahora no ha sido posible obtener semen de híbridos F1 machos simultáneamente con hembras maduras, persiste la incógnita sobre la fertilidad de los machos y también, por tanto, sobre la viabilidad de obtener una generación F2.

Tal como ocurre para cachama y morocoto (10) los resultados sugieren que los ovocitos opacos difícilmente resultarán fecundables. Sin embargo los ovocitos en condición

"membrana disuelta" son los más viables mientras que cuando domina la condición "núcleo central" los niveles de fecundación no serán buenos.

Conclusiones

Al menos algunos híbridos F1 hembra son fértiles y pueden producir descendencia. Los resultados tanto en los primeros intentos del diagnóstico de maduración sexual, como en los ensayos sobre viabilidad de los huevos de híbrido (hembra) nos permiten despejar la incógnita.

Los individuos obtenidos de ambos ensayos presentan genotipo 75% de cachama y 75% de morocoto respectivamente, esto amplía las perspectivas de manejo genético de estas especies para mejorar la productividad.

Como se observa en los resultados, la obtención de huevos a partir de un híbrido (F1) para generar el retrocruce de estas especies es más complicada que si se fecundaran huevos de las especies parentales con semen de híbrido (F1). Por eso es recomendable intentar este cruce.

Agradecimientos

El autor desea expresar su agradecimiento al Lic. Luis E. Pérez, Director de la Estación Hidrobiológica de Guayana, por la revisión de este manuscrito. Así como al Ing. Francisco Bortone por los ejemplares hembras (Híbridos F1) suministrados.

También agradece al Ing. Christophe Kossowski por las sugerencias oportunas que enriquecieron el trabajo.

Los técnicos Jorge Medina y Raúl Díaz prestaron una valiosa colaboración durante la fase experimental.

Referencias

1. KIRPICHNIKOV VS, FACTOROVICH KA, ILYASOV YI, SHART LA. Selection of Common Carp *Cyprinus carpio* for resistance to Dropsy. *Advances in Aquaculture. FAO Technical Conference on Aquaculture* 1976:628-633
2. BAKOS J. Crossbreeding Hungarian Races of Common Carp to Develop More Productive Hybrids. *Advances in Aquaculture. FAO Technical Conference on Aquaculture*: 1976:633-635
3. MOAV R. ET AL. Genetic improvement in aquaculture industry. *Technical Conference on Aquaculture*, Kyoto, Japan. FIR:AQ/Conf/76.R.9, FAO. 1977
4. KOSSOWSKI C, ET AL. Ensayos sobre hibridación artificial entre Cachama (Hembra), *Colossoma macropomum* (Cuvier) 1818 y palometa carachica (macho), *Mylossoma duriventri* (Cuvier) 1818 U.C.L.A. serie I n°3, Barquisimeto, Venezuela. 1980:30 pp
5. BERMUDEZ D. Evidencias sobre hibridación natural de "cachamas". *Híbridos artificiales y notas sobre su cultivo (géneros Colossoma y Piaractus; Teleostei, Characidae, Serrasalminae)* Trabajo de Ascenso para optar al escalafón de Profesor Agregado. 1984
6. KOSSOWSKI C. Experiencias iniciales sobre la hibridación de *Leiarius marmoratus* (Gill, 1871) por *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus 1766) (Pisces, Siluriformes, Pimelodidae). *Acta Científica Venezolana*. 1991;42:48-50

7. BIENIARZ K, ET AL. Histological changes in the ovaries of mature females carp in summer time. *Invest. Pesq.* 1977;41:95-102
8. WOYNAROVICH E. *Tambaqui e Pirapitinga Propagación e criação de alevinos.* CODEVASF 2 Programa Nacional de Irrigação. 1986
9. BEHRENS LL, SMITHERMAN RO. Development of a cold-tolerant population of Red Tilapia through introgressive hybridization. *Journal of the World Mariculture Society.* 1984;15:172-178
10. MARTINO G. Contribución al Diagnóstico del Desarrollo Gonadal para la Inducción Artificial de Cachama *Colossoma macropomum* VII Convención anual de ASOVAC. Capítulo Guayana. 1991:23
11. MACHADO A. Estudios sobre la subfamilia Serrasalminae (Teleostei, Characidae). Parte 1. Estudio comparado de los juveniles de las "cachamas" de Venezuela (Géneros *Colossoma* y *Piaractus*). *Acta Biol. Venez.* 1982;11(3):1-101
12. RODRIGUEZ M, GARZA G. Técnicas Para La Reproducción Inducida de *Cyprinus carpio specularis*. Universidad Autónoma Metropolitana: 1985;10 pp
13. TAVE D. *Genetic for fish hatchery managers.* The Avi Publishing Company Inc. Westport, Connecticut: 1986;299 pp
14. TOLEDO SA, FORESTI F, RIBEIRO AF. Ictiogenética: Aspectos Básicos e aplicados. *Ciência e Cultura.* 1978;30(3)
15. TOLEDO F, FORESTI F. A contribuição da genética para a piscicultura moderna abrange tanto a aplicação da metodologia clássica de seleção, como o emprego das técnicas mais recentes usadas em biotecnología e engenharia genética. Informe mimeografiado. *Curso del CEPTA. "Técnicas en Reproducción de Peces".* Sao Paulo, Brasil. 1987