



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, Decana de América)

ESCUELA DE POSGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIDAD DE POSGRADO

ANÁLISIS DE LA HETEROGENEIDAD EN LOS RASGOS DE VIDA
RELACIONADOS CON LA REPRODUCCIÓN Y EL CRECIMIENTO EN
FUNCIÓN DEL ORIGEN GENÉTICO DE DIFERENTES FAMILIAS DE
Pseudoplatystoma fasciatum (Linnaeus, 1766)

TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADÉMICO DE
MAGÍSTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
MENCIÓN: ECOLOGÍA Y CONSERVACIÓN

Bach. Diana Castro Ruiz

LIMA-PERU

2010

JURADO EXAMINADOR Y CALIFICADOR

.....

Presidente

.....

Miembro

.....

Miembro

ASESORES



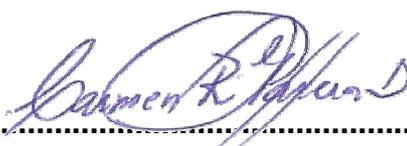
.....

Dr. Jesús Núñez Rodríguez



.....

Dr. JEAN-FRANÇOIS RENNO



.....

Dra. Carmen Rosa García Dávila

*El origen de la vida parece... ser casi un milagro, siendo que muchas condiciones tuvieron que ser satisfechas para mantenerla.
(Francis Crick, 1981)*

AGRADECIMIENTOS

A Dios, divina providencia, por darme la vida y una familia maravillosa. Por la fuerza necesaria para seguir adelante en el cumplimiento de mis metas.

Al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – IIAP y al proyecto Innovación y Competitividad para el Agro Peruano – INCAGRO, por la subvención y la oportunidad ofrecida para la realización de esta investigación.

Al Institut de Recherche pour le Développement (IRD), por el apoyo brindado en la realización de mis estudios de post grado.

Al Dr. Jesús Núñez Rodríguez, asesor de esta investigación, por su constante orientación y tiempo concedido, apoyo que fue un factor muy importante en la elaboración del presente trabajo.

Al los Dres. Jean François Renno, Etienne Baras y Sophie Querouil por brindarme sus conocimientos, sugerencias y recomendaciones.

A la Dra. Carmen Rosa García Dávila; Jefe del Laboratorio de Biología y Genética Molecular del IIAP, por su valiosa amistad, consejos, orientación, experiencia y dedicación brindada, en la formación de mi vida profesional. Por la permanente motivación para seguir adelante en el fascinante mundo de la ciencia.

A mis amigos y compañeros del IIAP y del Laboratorio de Biología y Genética Molecular: Adela, Adriana, Grace, Fernando, Christian, Javier, Gladys, José, Evelyn, Jorge, Antonio y en especial a Mike, y Ángel Martín por los gratos momentos vividos y colaboración permanente.

A Werner, con el aprecio y estimación de siempre, con quien comparto los mejores momentos de mi vida. Por su paciencia, comprensión, consecuencia y espíritu motivador para seguir siempre adelante.

A mi querida tía Emmita, por su cariño y apoyo incondicional.

Y a todas las personas que directa e indirectamente contribuyeron en la realización de esta investigación.

DEDICATORIA

Al ángel mi guarda

Mi inolvidable abuelita

Juanita de Jesús Novoa Acuña

Que desde el cielo

Guía siempre mis pasos.

A mis queridos padres: Luis Baltazar y Graciela,

Motivos de mi existencia,

Razón de mi vivir.

INDICE	Pág.
Agradecimientos.....	iv
Dedicatoria.....	v
Índice.....	vi
Lista de Figuras.....	ix
Lista de Tablas.....	xii
II Resumen.....	xvi
III. Abstract.....	xvii
IV. Introducción.....	1
V. Antecedentes.....	3
5.1 Sistemática y biología de <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	3
5.1.1 Sistemática.....	3
5.1.2 Descripción de la especie.....	4
5.1.3 Distribución geográfica y hábitat.....	5
5.1.4 Alimentación.....	5
5.1.5 Reproducción y cultivo en cautiverio.....	6
5.1.6 Canibalismo.....	6
5.1.7 Heterogeneidad de tamaño.....	7
5.1.8 Parentesco.....	8
5.2 Marcadores moleculares.....	9
5.2.1 Microsatélites.....	9
5.3 Importancia económica.....	9
VI. Hipótesis y Objetivos.....	11
VII. Materiales y Métodos.....	12
7.1 Lugar de ejecución.....	12
7.2 Comparación de familias en situación comunal.....	12
7.2.1 Obtención de los reproductores.....	12
7.2.2 Obtención de genotipo de los reproductores.....	12
7.2.3 Reproducción por inducción hormonal.....	13
7.2.4 Cultivo de la progenie en sistema de circuito cerrado.....	14
7.2.5 Muestreo de la progenie.....	14
7.2.6 Obtención del genotipo de la progenie.....	15

7.2.7 Asignación de Parentesco.....	15
7.2.8 Caracteres morfológicos de la progenie.....	16
7.2.9 Viabilidad diferencial de las familias.....	18
7.2.10 Heterocigosidad de los reproductores y de las familias.....	18
7.2.11 Índice de diferencia máxima de tamaño.....	18
7.3 Comparación de familias separadas.....	19
7.3.1 Obtención de reproductores.....	19
7.3.2 Reproducción por inducción hormonal.....	19
7.3.3 Cultivo de larvas en sistema de circuito cerrado.....	20
7.3.5 Caracteres morfológicos de la progenie.....	20
7.3.6 Viabilidad diferencial entre familias.....	20
7.3.7 Heterocigosidad de los reproductores y de las familias.....	20
7.3.8 Índice de diferencia máxima de tamaño.....	21
7.4 Análisis estadístico.....	21
VIII: Resultados.....	22
8.1 Comparación de familias en situación comunal.....	22
8.1.1 Identificación genética de los reproductores.....	22
8.1.2 Asignación de parentesco de la progenie.....	23
8.1.3 Características de los reproductores y los óvulos.....	29
8.1.4 Heterogeneidad de volumen del saco vitelino.....	30
8.1.5 Heterogeneidad de crecimiento.....	30
8.1.6 Viabilidad diferencial entre familias.....	32
8.1.7 Heterocigosidad de los reproductores.....	34
8.1.8 Heterocigosidad de las familias.....	34
8.1.9 Indicador de diferencia máxima de tamaño.....	35
8.1.10 Correlación entre crecimiento, viabilidad y heterocigosidad	36
8.2 Comparación de familias separadas.....	37
8.2.1 Características de los reproductores y los óvulos.....	37
8.2.2 Porcentaje de larvas eclosionadas y larvas anormales.....	37
8.2.3 Heterogeneidad en crecimiento.....	39
8.2.4 Efecto Hembra-Macho sobre el crecimiento en longitud total.....	42
8.2.5 Viabilidad diferencial de las familias.....	50

8.2.6 Heterocigosidad de los reproductores.....	52
8.2.7 Heterocigosidad de las familias.....	53
8.2.8 Indicador de diferencia máxima.....	54
8.2.9 Relación entre la heterocigosidad, crecimiento y viabilidad..	56
IX. Discusión.....	58
9.1 Influencia de los efectos parentales en el crecimiento y supervivencia de la progenie.....	58
9.1.1 Familias comunales.....	59
9.1.2 Familias separadas.....	60
9.2 Implicancias en la Piscicultura.....	63
X. Conclusiones.....	65
XI. Recomendaciones.....	66
XII. Referencias bibliográficas.....	67
Anexos.....	74
Anexo 1: Protocolo modificado de extracción de ADN para adultos de doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	74
Anexo 2: Protocolo modificado de extracción de ADN para larvas de doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	75
Anexo 3: Densidad y protocolo de alimentación para larvas de doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> de 3 a 26 dpf.....	76

Lista de Figuras	Pág.
Figura 1: Vista lateral de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	4
Figura 2: Medidas analizadas en larvas de doncella, <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en el control 1 (1 dpf). A: vista lateral; B: vista lateral del saco vitelino.....	16
Figura 3: Medidas analizadas en alevines de doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en el control 2 (5 dpf). A: vista dorso lateral; B: vista frontal.....	17
Figura 4: Medidas analizadas en alevines de doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en el control 3 (26 dpf). A: Vista dorso lateral; B: Vista frontal.. ..	17
Figura 5: Variaciones de volumen del saco vitelino de las cuatro familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> analizado en el control 1. La línea sobre la barra representa la desviación estándar.....	30
Figura 6: Variaciones en la longitud total de las cuatro familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en los tres controles A (control 1: larvas a 1 dpf), B (control 2: alevines a 5 dpf) y C (control 3: alevines a 26 dpf). La línea sobre la barra representa la desviación estándar.....	31
Figura 7: Variaciones de longitud de cabeza (A y B) y ancho de cabeza (C y D) de las cuatro familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en el control 2 y 3 respectivamente. La línea sobre la barra representa la desviación estándar.....	31
Figura 8: Longitud total de las cuatro familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en los tres controles (1dpf, 5 dpf y 26 dpf).....	32
Figura 9: Evolución de las frecuencias relativas de las cuatro familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en sistema de cría comunal.....	33

Figura 10:	Relación entre la heterocigosidad y la viabilidad en las familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> analizadas.....	36
Figura 11:	Porcentaje total de larvas eclosionadas y porcentaje de larvas anormales de nueve familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> a las 20 horas después de la fecundación. La línea sobre la barra representa la desviación estándar.....	38
Figura 12:	Variaciones de tamaño de nueve familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> : A (C 1), B (C2) C (C3), D (C4) y E (C5). La línea sobre la barra indica la desviación estándar	40
Figura 13:	Promedio de longitud total de las 9 familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> durante los 5 controles (3 dpf a 26 dpf).....	42
Figura 14:	Promedio de longitudes de las progenies por hembra (A) y macho (B) de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en el control 1.....	43
Figura 15:	Gráfico de Interacción del efecto Hembra-Macho, por hembra (A) y por macho (B) en base a la longitud total en el control 1 de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> ...	44
Figura 16:	Promedio de longitudes de tamaño de las progenies por hembra (A) y por macho (B) de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en el control 2.....	45
Figura 17:	Gráfico de Interacción del efecto Hembra-Macho por hembra (A) y por macho (B) en base a la longitud total en el control 2 de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	45
Figura 18:	Promedio de longitudes de tamaño de las progenies por hembras (A) y macho (B) de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en el control 3.....	46
Figura 19:	Gráfico de Interacción del efecto Hembra-Macho por hembra (A) y por macho (B) en base a la longitud total en el control 3 de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	47

Figura 20:	Promedio de longitudes de tamaño de las progenies de hembras y machos de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en el control 4.....	48
Figura 21:	Gráfico de Interacción del efecto Hembra-Macho por hembra (A) y por macho (B) en base a la longitud total en el control 4 de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> ...	48
Figura 22:	Promedio de longitudes de tamaño de las progenies de hembras y machos (A y B) de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en el control 5.....	49
Figura 23:	Gráfico de Interacción del efecto Hembra-Macho por hembra (A) y por macho (B) en base a longitud total en el control 5 de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	49
Figura 24:	Porcentaje de supervivencia de las nueve familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> durante los tres periodos de cría (3-5 dpf, 6-17 dpf, 18-26 dpf). La línea sobre la barra representa la desviación estándar.....	50
Figura 25:	Regresión lineal de la heterocigosidad vs longitud total en los 5 controles (3 dpf, 5 dpf, 9 dpf, 17 dpf, 26 dpf) de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	56
Figura 26:	Regresión lineal de la heterocigosidad vs supervivencia entre periodos de muestreo (3-5 dpf, 6-17 dpf, 18-26 dpf) de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	57

Lista de tablas	Pág.
Tabla 1: Set de primers y temperatura de hibridación utilizados para amplificar los seis <i>loci</i> microsatélites analizados en este estudio.....	13
Tabla 2: Genotipos de los cinco reproductores de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> por cada locus analizado. Alelos exclusivos para cada macho en color azul.....	22
Tabla 3: Codificación de las familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	23
Tabla 4: Alelos exclusivos y combinaciones exclusivas utilizadas en la identificación de parentesco en larvas de 1 dpf (control 1) de doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> . El número 000 indica presencia de alelos nulos.....	24
Tabla 5: Alelos exclusivos utilizados en la identificación de parentesco en alevines de 5 dpf (control 2) de doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> . El número 000 indica presencia de alelos nulos.....	25
Tabla 6: Alelos exclusivos utilizados en la identificación de parentesco en alevines de 26 dpf (control 3) de doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> . El número 000 indica presencia de alelos nulos.....	27
Tabla 7: Individuos de doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> asignados en las cuatro familias analizadas. Los porcentajes de representación de cada familia en cada control están indicados entre paréntesis.....	29
Tabla 8: Peso, longitud total y promedio de diámetro de los óvulos de los reproductores de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	29
Tabla 9: Comparación de la supervivencia en pares de familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en los tres controles a un nivel de significancia $p < 0,05$	33

Tabla 10:	Heterocigosidad encontrada en los reproductores de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> analizados.....	34
Tabla 11:	Heterocigosidad de las cuatro familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	34
Tabla 12:	Comparación de los grados de heterocigosidad observados (valores en negro en región superior) y simulados (valores en azul en región inferior) en las familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	35
Tabla 13	Resultados del indicador de diferencia máxima de tamaño en las familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> encontrados para el control 3.....	35
Tabla 14:	Peso, longitud total y promedio de diámetro de los óvulos de los reproductores de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	37
Tabla 15:	Comparación estadística con el test de Bonferroni en el porcentaje de larvas eclosionadas y larvas anormales de las nueve familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> a 20 horas despues de la fecundación con un nivel de significancia (* $p < 0,05$ o** $p < 0,01$).....	38
Tabla 16:	Análisis multivariado del efecto hembra, macho e interacciones de ambos en la eclosión de la progenie de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> a 20 horas de la fecundación. Suma de cuadrados tipo III. Los F-ratios están basados en el error cuadrático medio residual.....	39
Tabla 17:	Comparación estadística con el test de Bonferroni de la longitud total entre las nueve familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> para los cinco controles, a un nivel de significancia * $p < 0,05$ o** $p < 0,01$	41
Tabla 18:	Análisis multivariado del efecto hembra, macho e interacciones de ambos en el crecimiento de las progenies de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en el control 1. Suma de cuadrados tipo III. Los F-ratios están basados en el error cuadrático medio residual.....	43

Tabla 19:	Análisis multivariado del efecto de la hembra, macho e interacciones de ambos en el crecimiento de la progenie de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en el control 2. Suma de cuadrados tipo III. Los F-ratios están basados en el error cuadrático medio residual.....	45
Tabla 20:	Análisis multivariado del efecto de la hembra, macho e interacciones de ambos en el crecimiento de la progenie de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en el control 3. Suma de cuadrados tipo III. Los F-ratios están basados en el error cuadrático medio residual.....	46
Tabla 21:	Análisis multivariado del efecto hembra, macho e interacciones de ambos en el crecimiento de las progenies de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> en el control 4. Suma de cuadrados tipo III. Los F-ratios están basados en el error cuadrático medio residual.....	47
Tabla 22:	Análisis multivariado del efecto en el crecimiento de la hembra, macho e interacciones de ambos en el control 5 de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> . Suma de cuadrados tipo III. Los F-ratios están basados en el error cuadrático medio residual.....	49
Tabla 23:	Comparación estadística con el test de Bonferroni del porcentaje de supervivencia en los tres periodos (3-5 dpf, 6-17 dpf y 18-26 dpf) entre las nueve familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> , nivel de significancia * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ o *** $p < 0,001$	51
Tabla 24:	Análisis multivariado del efecto hembra, macho e interacciones de ambos en la supervivencia en los tres periodos (3-5 dpf, 6-17 dpf y 18-26 dpf) de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> . Suma de cuadrados tipo III. Los F-ratios están basados en el error cuadrático medio residual.....	52
Tabla 25:	Genotipo de los reproductores de la doncella y grado de heterocigosidad.....	52

Tabla 26: Heterocigosidad de las nueve familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>	53
Tabla 27: Comparación de los grados de heterocigosidad observados de las nueve familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> a un nivel de significancia *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ o * $P < 0,05$. Las estrellas significan que hay diferencia significativa con la prueba Chi cuadrado.....	54
Tabla 28: Índice de diferencia máxima de tamaño de las nueve familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> a 17 dpf (control 4).....	55
Tabla 29: Índice de diferencia máxima de tamaño de las nueve familias de la doncella <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> a 26 dpf (control 5).....	55

RESUMEN

La doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*, es uno de los bagres amazónicos que debido a la calidad de su filete genera una elevada demanda en el mercado regional e internacional, la cual es cubierta por la pesca comercial en ambientes naturales. A pesar que esta especie cuenta con una metodología bien establecida para la reproducción inducida en ambiente controlado, hasta el momento no se ha logrado un desarrollo significativo de su cultivo. La principal limitante es la elevada mortalidad ocasionada por el alto nivel canibalismo que presentan sus larvas. El objetivo de este estudio fue evaluar la supervivencia y heterogeneidad de crecimiento en función del origen genético de diferentes familias de *Pseudoplatystoma fasciatum* obtenidas por fertilización cruzada. Se obtuvieron 13 familias de medio-hermanos, cuatro de las familias criadas en situación comunal, fueron obtenidas por combinación de los óvulos de una hembra con un pool de esperma de cuatro machos; en tanto que las restantes obtenidas por un diseño factorial de 3 machos x 3 hembras, fueron criadas separadamente. Todas las familias fueron cultivadas en un sistema de recirculación de agua, bajo diferentes regímenes alimenticios. Se evaluaron los caracteres morfométricos de 1 a 26 días post fertilización (dpf), los promedios de longitud total para cada familia, fueron analizados mediante pruebas de ANOVA. Los resultados muestran que a pesar de no encontrar influencia parental significativa en la variación del volumen del saco vitelino, crecimiento y dimensiones de la cabeza en familias criadas en situación comunal, se observa evidencia de la importancia de ambos reproductores en la viabilidad vs heterocigosidad de la progenie. En familias separadas observamos influencia parental sobre el éxito de la eclosión y crecimiento de las familias encontrando al final del periodo de seguimiento, dos grupos homogéneos, el primero conformado por las familias de las hembras 2 y 3 y el segundo por las familias de la hembra 1. Los datos de heterocigosidad no muestran relación con el crecimiento y viabilidad, demostrando que las variaciones en la viabilidad y supervivencia en la doncella no solo podrían atribuirse a factores genéticos, sino también a factores nutricionales y comportamentales.

Palabras clave: Caracteres morfométricos, fertilización cruzada, heterogeneidad de crecimiento, origen genético, *Pseudoplatystoma fasciatum*.

ABSTRACT

Pseudoplatystoma fasciatum is an Amazonian catfish prized for the quality of its meat, both in Peru and internationally. Although captive-breeding methodology is well established for this species under controlled conditions, it remains unamenable to large-scale aquaculture. The main constraint is high mortality, caused by larval cannibalism. The aim of this study was to evaluate the genetics of survival and growth-rate heterogeneity in different lines of *Pseudoplatystoma fasciatum*, obtained by cross-fertilization. Thirteen half-sibling groups were tested in two reproductive trials. Four progenies, obtained by combining the eggs of a single female and a pool of sperm from four males, were raised in communal tanks. The remaining nine families were derived from factorial matings of 3 males x 3 females, and raised separately. All families were grown in a recirculating water system under different feeding regimes. Morphometric characters were evaluated on 3-5 occasions between 1- and 26 days post-fertilization (dpf); mean total length was calculated for each family, and analyzed by multivariate ANOVA. The results show that, while there is no significant parental influence on variation in yolk sac volume, growth rate or head size in communally-raised families, there is evidence for a parental effect on progeny viability. There is no such effect on progeny heterozygosity. In isolated families we observe a parental effect on hatching success and growth rate of families found at the end of a follow-up period in two groups—the first one consisting of the families of females 2 and 3, and the second one of the families of female 1. Heterozygosity values show no relation to growth and viability, suggesting that differences in progeny viability and survival could be attributed to nutritional and behavioral factors.

Keywords: Morphometric characters, cross-fertilization, growth heterogeneity, genetic origin, *Pseudoplatystoma fasciatum*.

INTRODUCCIÓN

La doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*, es uno de los bagres amazónicos que sustenta una gran parte de la pesquería comercial en esta región. Esta especie presenta un elevado potencial para la producción comercial en toda América del Sur (Kossowski *et al.*, 1996; Goulding 1980; Reid, 1983). Debido a la calidad de su filete (consistencia, ausencia de espinas intramusculares y su agradable sabor), además por ser considerado como pez ornamental en su etapa juvenil (Padilla *et al.*, 2001), presenta una gran demanda en el mercado regional e internacional, que por ahora, es cubierta a través de la pesca comercial en ambientes naturales (Tello & García, 2009). Esta demanda ocasiona un aumento de la presión de pesca, y la captura de individuos con tallas por debajo de la primera madurez sexual, lo cual genera una disminución de sus poblaciones naturales y futuras pérdidas económicas para el sector pesquero (Tello & García, 2009).

La piscicultura de la doncella, además de ser una alternativa económica que genera ingresos para la región Loreto, también es una buena opción para reducir la sobrepesca de sus poblaciones naturales, contribuyendo de esta manera a la bioconservación del recurso (García *et al.*, 2009). A pesar que esta especie cuenta con una metodología bien establecida para la reproducción inducida, una buena tasa de crecimiento (1,2 kg y 45 cm en 18 meses), fecundidad elevada (150 000 óvulos/kg), resistencia a la manipulación y adaptación a dietas balanceadas en ambiente controlado, no se logra desarrollar su piscicultura (Núñez *et al.*, 2009). La principal limitante es la elevada tasa de mortalidad ocasionada por el alto nivel de agresividad y canibalismo que presentan sus larvas (Montalván, 2008; Núñez *et al.*, 2009).

En ambiente controlado el comportamiento caníbal de esta especie se inicia a las 24 horas después de haberse reabsorbido el saco vitelino (Montalván, 2008). Durante los primeros estadios de desarrollo, las larvas de esta especie, así como las de la dorada *Brycon moorei* (Characidae) presentan una abertura de boca mayor que la altura máxima del cuerpo. (Baras, 2005;

Montalván, 2008). Asimismo, en doncella aparecen de manera precoz individuos de mayor tamaño denominados “jumpers” capaces de ejercer predación sobre las larvas más pequeñas, ocasionando altas tasas de mortalidad. Sin embargo la mortalidad no solo es causada por el canibalismo sino también por las heridas ocasionadas por el comportamiento agresivo de las larvas (Dugué *et al.*, 2005).

Entre los factores que más influyen en el canibalismo y la supervivencia de larvas de peces está el origen genético (Qin & Fast, 1996). Estudios larvales y de comportamiento han sido realizados en diferentes especies de peces como: *Clarias gariepinus* (Clariidae), *Acanthochromis polyacanthus* (Pomacentridae), *Brycon moorei* (Characidae), entre otros; donde se observó que la heterogeneidad de tamaño, juega un papel importante en el comportamiento caníbal (Baras *et al.*, 2001; Baras, 2005). Asimismo, verificaron que la heterogeneidad de tamaño tiende a ser mayor desde el momento en que las larvas comienzan a recibir alimentación exógena (Baras., 1999; Baras, 2005). Otros estudios realizados en *Perca fluviatilis* (Percidae), *Sciaenops ocellatus* (Sciaenidae), muestran que la transición de alimento vivo a alimento inerte también ha dificultado la supervivencia de las larvas, limitando su producción (Kossowski, 1996; Baras & Jobling, 2002). Estudios de parentesco en la progenie de *Salvelinus alpinus* (Salmonidae) y *Clupea harengus* (Clupeidae), han demostrado que el canibalismo también es influenciado por factores parentales y por factores inherentes a la progenie (Bang *et al.*, 2006; Donelson *et al.*, 2009; Janhunen, 2010). Las herramientas moleculares, pueden desempeñar un papel importante en el seguimiento del canibalismo y supervivencia de las larvas, permitiendo identificar a las familias a través de análisis de parentesco (Castro *et al.*, 2006).

En este sentido nos preguntamos si existe una diferencia en la viabilidad y en el crecimiento de las progenes en relación con sus progenitores y si el canibalismo podría explicar una parte de las variaciones de supervivencia en ambiente controlado. Para lo cual hemos diseñado dos experimentos con situaciones diferentes: familias en situación comunal y familias separadas. Siendo el objetivo de este estudio relacionar las variaciones de los rasgos de vida (supervivencia y heterogeneidad de crecimiento) en función del origen genético de diferentes familias de la doncella *P. fasciatum* obtenidas por fertilización cruzada.

V. ANTECEDENTES

5.1 Sistemática y biología de *Pseudoplatystoma fasciatum*

5.1.1 Sistemática

El género *Pseudoplatystoma* agrupa a bagres neotropicales de la familia Pimelodidae. Hasta el 2006 el género presentaba solo tres especies reconocidas para Sudamérica: *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1776), *Pseudoplatystoma tigrinum* (Valenciennes, 1840) y *Pseudoplatystoma corruscans* (Spix & Agassiz, 1829). A partir de la revisión sistemática basada principalmente en el número de vértebras, la forma del cuerpo y los patrones de coloración publicada por Buitrago-Suárez & Burr en el 2007, se reconocen ocho especies dentro del género *Pseudoplatystoma*: las tres ya existentes *P. fasciatum* cuya distribución está restringida solamente a las Guayanas; *P. corruscans*, suscrito a la cuenca del Paraná y *P. tigrinum*, de amplia distribución en la amazonía continental; dos especies validadas: *P. punctifer* (Castelnau, 1855), también de amplia distribución en la cuenca amazónica y *P. reticulatum* (Eigenmann & Eigenmann, 1889), de la cuenca del Paraná; y tres nuevas especies descritas por Buitrago-Suárez & Burr, 2007: *P. orinocoense*, *P. metaense*, ambos de la cuenca del Orinoco; y finalmente *P. magdaleniatum* de la cuenca del Magdalena.

Una reciente revisión filogenética de este género realizada por Torrico *et al.*, 2009, mostró que las especies *P. fasciatum* y *P. punctifer* descritas por Buitrago-Suárez & Burr (2007) tienen la misma base genética, es decir serían especies sinónimas. Por tal motivo, en la presente investigación trataremos a nuestra especie como *Pseudoplatystoma fasciatum*.

Según la clasificación taxonómica de Lauzanne y Loubens (1985) *P. fasciatum* se clasifica:

Superclase: GNATHOSTOMATA
Clase: TELEOSTOMI
Subclase: ACTINOPTERYGII
Grupo: TELEOSTEI
Superorden: OSTARIOPHYSI

Orden: SILURIFORMES
Familia: PIMELODIDAE
GÉNERO: *Pseudoplatystoma* Bleeker, 1862
ESPECIE: *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766)

5.1.2. Descripción de la especie

P. fasciatum (Figura 1) presenta cabeza con bordes laterales casi rectos, fontanela (ranura que pasa entre los ojos) relativamente corta y superficial, no alcanzando la mitad de la distancia entre el ojo y el borde posterior del opérculo. La región anterior de la cabeza es puntiaguda, más ancha en la parte dorsal. La región lateral del cuerpo presenta bandas rectas. La parte posterior de la aleta dorsal decrece gradualmente en relación con la aleta adiposa y caudal. Presenta pigmentación oscura en la región dorso-lateral extendiéndose a la línea lateral. La línea ventral a lateral es pálida variando de blanco a amarillo. Asimismo, también presenta un patrón de líneas verticales negras adjuntas a líneas verticales blancas y cortas que no se conectan a través de la región dorsal con las líneas del lado opuesto del cuerpo (Buitrago-Suárez & Burr, 2007).



Figura 1.- Vista lateral de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*.

5.1.3. Distribución geográfica y hábitat

Presenta una amplia distribución, abarcando la Amazonía continental (Guyanas, Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela). Se encuentran muy extendidos desde el bajo Amazonas hasta las cabeceras de todos los tipos de ríos, pasando por los canales, los planos de inundación y también los arroyos de la selva lluviosa. También se encuentran tanto en aguas corrientes como tranquilas pero son raros o ausentes en los estuarios, (Burgess, 1989; Reid, 1983; Barthem & Goulding, 1997).

5.1.4. Alimentación

Tradicionalmente se considera que los miembros del género *Pseudoplatystoma* se alimentan durante la noche. Sin embargo, se ha demostrado que *P. fasciatum* está activo y caza durante el día, especialmente en la mañana (Reid, 1983). Su alimentación corresponde a niveles tróficos altos, siendo en su mayoría predadores, ictiófagos y omnívoros. Su dieta está compuesta principalmente por cardúmenes de Characiformes, como: Boquichico *Prochilodus nigricans* (Prochilodidae), llambina *Potamorhina altamazonica*, ractacara *Psectrogaster amazonica*, chíó chíó *Psectrogaster rutiloides* y san pedro *Chalceus erythrus* (Curimatidae), palometa *Mylossoma duriventrii*, paña roja *Serrasalmus nattereri* y paña blanca *Serrasalmus rhombeus* (Serrasalmidae), sardina *Triportheus angulatus* y mojarra *Diplodus vulgaris* (Characidae) y Chambira *Rhaphiodon vulpinus* (Cynodontyidae). Así como también se alimenta de cardúmenes del orden siluriformes como rego rego *Hemidoras stenopeltis* (Doradidae), Shitari *Loricariichthys maculatus* (Loricariidae), shiruy *Hoplosternum littorale* (Callichthyidae) y del orden Perciformes como la corvina *Plagioscion squamosissimus* que pertenece a la familia Sciaenidae (Deza *et al.*, 2005). Sin embargo se conoce también que incorporan en su dieta a miembros de su propia clase, así como a crustáceos, y algunas frutas o semillas (Reid, 1983).

5.1.5. Reproducción y cultivo en cautiverio

En medio natural, su reproducción ocurre dentro del periodo comprendido entre noviembre y abril, con un pico máximo en febrero. Su época de desove tiene una estrecha relación con el ciclo hidrológico del río Amazonas, el periodo de maduración y desove tiene lugar durante el periodo de aguas altas (Muñoz, *et al.*, 1998; Brito & Bazzoli, 2003). El 50% de la población de hembras alcanza la madurez sexual a 89.8 cm de longitud a la horquilla mientras que los machos lo hacen a los 82.5 cm (García *et al.*, 2001).

En ambiente controlado se llevaron a cabo varios estudios de reproducción inducida con *P. fasciatum* (Kossowski y Madrid, 1985; Padilla *et al.*, 2001; Gervasio *et al.*, 2004, Núñez *et al.*, 2008). Estos estudios reportaron una alta tasa de mortalidad de sus larvas y además un elevado nivel de agresividad y canibalismo. Para mejorar este comportamiento larval se han experimentado diferentes condiciones de crianza de larvas, con diferentes dietas y frecuencia de comida (Núñez *et al.*, 2008). Los estudios también reportaron que el éxito de la reproducción por inducción hormonal depende de varios factores: criterios de selección de las hembras, alta fertilización y rangos de eclosión lo cuál va relacionado con la alta proporción de oocitos translúcidos, con migración de la vesícula germinal iniciada y bajos coeficientes de variación del diámetro.

5.1.6 Canibalismo

El agresivo comportamiento de la mayoría de las larvas de los bagres es uno de los principales factores que afecta la supervivencia larval (Qin & Fast, 1996). El canibalismo es frecuente entre larvas de peces, especialmente en peces piscívoros los cuales desarrollan una amplia abertura bucal y dientes a edad precoz (Baras & Jobling, 2002; Montalván, 2008).

Entre los tipos de canibalismo tenemos: canibalismo tipo I o incompleto, es cuando el predador atrapa su presa dejando solo la cabeza o parte de su cuerpo y canibalismo tipo II o completo, es cuando digiere toda la presa (Hench & Appelbaum, 1998). En ambos casos el canibalismo está usualmente asociado con la variación de heterogeneidad de tamaño, inducido por la disponibilidad limitada

de alimento, altas densidades y ambientes con mucha luz (Hecht & Pienaar, 1993; Qin & Fast, 1996; Kennedy *et al.*, 2000; Baras & Jobling, 2002; Segura *et al.*, 2004; Atencio-García & Zaniboni-Filho, 2006; Gervásio *et al.*, 2008). Entre estas variables la heterogeneidad de tamaño y la disponibilidad de comida son consideradas las principales causas del canibalismo (Hecht & Appelbaum, 1988). Un suministro inadecuado de comida podría iniciar el canibalismo y las larvas pueden privilegiar el canibalismo y no aceptar el alimento artificial (Paller & Lewis, 1987). De particular importancia en esta dinámica en ambientes cultivados es el periodo de destete, la transición de alimento vivo a alimento seco es generalmente dependiente del tamaño, por lo que un pez que es un poco más grande que otros puede ganar ventaja mientras tiene acceso a mayor cantidad de alimento energético (Kestemont *et al.*, 2003).

5.1.7 Heterogeneidad de tamaño

La heterogeneidad de tamaño es un problema central en larvicultura y especialmente en el estímulo de la conducta caníbal. Esta puede ser influenciada por un amplio rango de factores intrínsecos y medio-ambientales. La variación de tamaño es mayor en la etapa larval que en los juveniles y adultos (Baras & Jobling, 2002), especialmente porque el tamaño de boca de la larva es relativamente mayor que el tamaño del cuerpo por lo tanto ellas pueden ejercer canibalismo sobre presas más pequeñas (Baras, 1999; Montalván, 2008).

La relación entre la heterogeneidad del tamaño inicial y el canibalismo en las larvas de los bagres demuestran que la heterogeneidad del tamaño inicial también es un factor limitante en la supervivencia de la progenie. Intuimos que mezclando progenies de diferentes reproductores se podría poner en riesgo la supervivencia y la producción de las mismas, a condición que éstas fueran de diferentes tamaños. Estudios realizados en *Clarias gariepinus*, mostraron que la heterogeneidad de tamaño juega un papel importante en la supervivencia de las larvas. Por lo tanto, debe haber un esfuerzo cada vez mayor hacia la selección de los reproductores en la producción de progenies con una baja heterogeneidad de tamaño y una marcada sincronía en el inicio de la incubación (Baras & Fortuné d'Almeida, 2001).

5.1.8 Parentesco

Los efectos parentales proporcionan una importante fuente de variación entre la progenie (Janhunen *et al.*, 2010). Los padres pueden ejercer una serie de efectos no genéticos sobre el crecimiento y supervivencia de su progenie. En particular los padres (y principalmente las hembras, con la calidad y la cantidad de vitelo) pueden modificar el tamaño o la condición de su progenie, dependiendo de la cantidad de energía que ellos tienen disponible antes de la reproducción (Donelson *et al.*, 2008).

Existen fuertes indicios de que tanto las hembras como los machos influyen en las características cuantitativas del desarrollo temprano de sus progenies (Bang *et al.*, 2006; Probst *et al.*, 2006; Ottesen & Babiak, 2007). Estudios realizados en *Clupea harengus* cruzando uno ó dos machos con una ó dos hembras mostraron que el tamaño de la larva no difiere entre los cruces, en cambio la variación del tamaño se incrementa rápidamente con la edad cuando se usaron dos hembras; sugiriendo que la variación en el tamaño de la progenie no solo es influenciada por los padres, sino también podría ser direccionada por la manipulación de factores ambientales (Panagiotaki & Geffen, 1992). Así mismo, la variación en el tamaño del huevo de los peces ha sido relacionada a la influencia de la hembra. A su vez, el tamaño de los huevos es usualmente relacionado al tamaño de la larva en la eclosión (Kamler *et al.*, 2005).

Estudios realizados en *Acanthochromis polyacanthus* revelaron que manipulando la condición corporal de la parejas reproductoras, se obtiene resultados diferentes. En buenas condiciones se obtiene un mayor desempeño en la reproducción y una mayor supervivencia en los huevos durante la embriogénesis, comparado con reproductores en malas condiciones (Donelson *et al.*, 2008). Por contraste la condición parental en esta especie no afecta la supervivencia en un ambiente con suficiente comida (Donelson *et al.*, 2009). Asimismo, estudios realizados en *Salvelinus alpinus* muestran que manipulando las condiciones ambientales durante la incubación se producen diferencias en el desarrollo de la historia de vida temprana de esta especie- (Janhunen *et al.*, 2010).

5.2 Marcadores Moleculares

5.2.1 Microsatélites

Los microsatélites son secuencias de ADN nuclear constituidas por repeticiones en tándem de entre uno a seis nucleótidos (Tautz, 1989). Estos presentan características que les hacen especialmente interesantes como marcadores genéticos: a) son muy abundantes en el genoma, b) muestran niveles muy altos de variabilidad c) son marcadores co-dominantes que se heredan de forma mendeliana y d) para su análisis sólo se necesitan cantidades mínimas de tejido (como un fragmento de aleta o unas escamas), por lo tanto, obtenibles con técnicas no lesivas para el individuo y que no afectan a su supervivencia. (Chakraborty *et al.*, 1988).

Estudios realizados en peces marinos y de agua dulce, mostraron que los microsatélites son muy variables en estos organismos (De Woody & Avise, 2000, Revaldaves *et al.*, 2005; Pereira *et al.*, 2009). Convirtiéndose en herramientas moleculares muy útiles en estudios de parentesco (Borrell *et al.*, 2002; Castro *et al.*, 2006; Herlin *et al.*, 2008; Kellogg *et al.*, 2010; Garber *et al.*, 2010). Estos marcadores pueden resolver la mayoría de los problemas relacionados con las familias de peces criados en situación comunal. Ellos hacen posible la asignación de individuos a grupos de familias criadas en un mismo tanque, minimizando así la variación ambiental y permitiendo la relación intra e inter-familiar. La condición previa para aplicar microsatélites en análisis de parentesco es comprobar su conformidad con los supuestos teóricos de los paquetes estadísticos utilizados para este fin (Castro *et al.*, 2004). Asimismo, determinados parámetros como el polimorfismo, alelos nulos y mutación son esenciales para estimar el potencial y la exactitud de los mismos para la asignación de la paternidad (Castro *et al.*, 2004).

5.3 Importancia económica

Los bagres son especies de alto valor comercial y de gran importancia en la pesca a nivel de Sudamérica. Entre los géneros más explotados en la Amazonía peruana, tenemos: *Brachyplatystoma* y *Pseudoplatystoma* (Núñez, 2009). En la región Loreto, los desembarques pesqueros de grandes bagres se han incrementado significativamente en los últimos años, desde 917 toneladas en

el 2002 hasta 3,283 en el 2008. Generando ingresos económicos cercanos a los 3.5 millones de dólares anuales (Tello & García, 2009). Según datos de la oficina de planeamiento y presupuesto de DIREPRO-Loreto, los desembarques pesqueros de la doncella se han incrementado significativamente de 162,17 toneladas en el 2008 a 371,71 toneladas en el 2009.

La carne de *Pseudoplatystoma fasciatum* posee un alto valor comercial, (sabor suave, magra, sin espinas, fuente importante de proteínas) y amplia aceptación en los mercados de Sudamérica (Díaz-Olarte *et al.*, 2009; García *et al.*, 2001). Además, también es comercializado como un pez ornamental (Padilla *et al.*, 2001). Alcanza una longitud máxima de 120 cm y un peso de 15 kg (Núñez, 2009). El elevado precio alcanzado por la doncella en los últimos años, ha despertado un creciente interés en su piscicultura (Lopes *et al.*, 1996), por tal motivo es muy importante diseñar paquetes tecnológicos para garantizar la oferta constante de semilla para la acuicultura (Contreras *et al.*, 1989).

VI Hipótesis y Objetivos

Hipótesis

Existe una diferencia en la viabilidad y el crecimiento de las progenies en relación con sus progenitores que podría originar una mortalidad por canibalismo en la cría de *Pseudoplatystoma fasciatum* en ambiente controlado.

Objetivo General

Relacionar la heterogeneidad de los rasgos de vida (supervivencia y heterogeneidad de crecimiento) en función del origen genético de diferentes familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* obtenidas por fertilización cruzada.

Objetivos Específicos

- Evaluar la variación de la viabilidad y de la velocidad de crecimiento de diferentes familias, a varias etapas del desarrollo en ambiente controlado.
- Determinar si la frecuencia de aparición de individuos gigantes (“jumpers”) puede estar relacionada con el origen parental de la progenie.
- Relacionar la variación de viabilidad y de crecimiento con la heterocigosidad de las familias.

VII. MATERIALES Y METODOS

7.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

Las investigaciones fueron realizadas en los laboratorios de reproducción inducida de Peces y de Biología y Genética Molecular (LBGM), del centro experimental Quistococha - Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), Ubicado en el 4,5 km de la Carretera Iquitos-Nauta, Distrito de San Juan Bautista, Provincia de Maynas, departamento de Loreto.

7.2 COMPARACIÓN DE FAMILIAS EN SITUACIÓN COMUNAL

7.2.1 Obtención de los reproductores

Fueron seleccionados una hembra y cuatro machos sexualmente maduros (presencia de óvulos maduros en la hembra y concentración similar de espermatozoides en los machos) de un total de 56 individuos adultos (alimentados dos veces al día con peces forraje) del stock de reproductores (individuos identificados con microchips). De cada reproductor se colectó y conservó (alcohol al 96%) un fragmento de aleta anal para el establecimiento del genotipo.

7.2.2 Obtención del genotipo de los reproductores

El ADN de los progenitores de doncella utilizados fue extraído mediante el método CTAB (Doyle & Doyle, 1987), ver Anexo 1, a partir de la membrana Interradial de la aleta anal. Los genotipos fueron establecidos utilizando seis marcadores microsátélites diseñados para *Pseudoplatystoma corruscans* (Revaldaves *et al.*, 2005). Cada "primer" fue marcado (forward) con un colorante fluorescente FAM-6, HEX o NED (Tabla 1). Las amplificaciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen final de 10 µl, conteniendo 100 ng de ADN en buffer PCR 1X, 0,4 µM de cada primer, 0,2 mM de dNTPs, 1,5 mM de MgCl₂, 0,4 unidades de Taq polimerasa y agua ultrapura. Las condiciones de amplificación fueron: 2 min a 92 °C; seguido de 30 ciclos comprendidos por: 1 min a 95°C, 1 min a temperatura de anelamiento (Tabla 1) y 1 min a 72 °C; terminando con una extensión final de 10 min a 72 °C. Los alelos fueron visualizados en un analizador

genético Applied Biosystems 3130. Los pesos de los alelos fueron determinados por comparación con los tamaños de los fragmentos conocidos del marcador estándar Rox 500 GeneScan y analizados mediante el software Peak scanner versión 1.0 (<https://products.appliedbiosystems.com/ab/en/US/adirect/ab?cmd=catNavigate2&catID=603624>). La determinación de los alelos diagnósticos, o de las combinaciones diagnósticas de los alelos, (los cuáles nos permitían identificar a cada familia, es decir al padre de cada individuo una vez que la madre era la misma para todos) fue realizado comparando manualmente los genotipos de los progenitores.

Tabla 1: Set de primers y temperatura de hibridación utilizados para amplificar los seis *loci* microsatélites analizados en este estudio.

Loci/ Nº de accesiones	Motivos de repetición	Primer (5' → 3')	Colorante	Rango de tamaño (pb)	T (°C)
Pcor1 AY737063	(TC) ₉ GC(TC) ₉	F: AAACCCGAGGATAACCAGTC R: CAGCGTGCTACTAACACAAAC	FAM (azul)	104-120	61,7
Pcor2 AY737064	(AG) ₁₉	F: GATATGCAAATAAGAAGGTC R: TCTTCTGGCTTTTCCTCCTCT	HEX (verde)	217-229	58,3
Pcor5 AY737067	(TC) ₈ CC(TC) ₁₅	F: GACTAAGATTACACAGAGATTC R: CTTGGTGGGGAAACAGGC	HEX (verde)	131-155	59,1
Pcor7 AY737069	(AG) ₈ GG(AG) ₂ CG(AG) ₄	F: ATGCTGGGATACGCTCAGAC R: GTGGCGAGTGAACAAGTCC	NED (amarillo)	229-245	65,5
Pcor8 AY737070	(AC) ₁₂	F: ACACCATACGCACACACTCG R: TGAGGTCGGGTGATAAGGTC	HEX (verde)	167-183	58,8
Pcor10 AY737072	(GTCTG) ₁₅ (GT) ₉ CC	F: TTTAAGACAGCACAGCCTGTGGGG R: AAGACAGCGCCATAGAGTTCTGCC	FAM (azul)	146-156	53,1

7.2.3 Reproducción por inducción hormonal

La reproducción inducida fue realizada según el protocolo de Núñez *et al.* (2008). La hormona utilizada fue OVAPRIM®, Syndel, Canadá (sGnRHa [D-Arg6, Pro9-Net & Domperidone]). Las hembras fueron inducidas al desove utilizando 0,05 ml.kg⁻¹ (10% de la dosis) de hormona en la dosis preparatoria y a las 12 horas una dosis ovulatoria de 0,45 ml.kg⁻¹ (90% de la dosis). En los machos la hormona fue aplicada en una sola dosis de 0,5 ml.kg⁻¹ (100% de la dosis). El semen fue colectado en jeringas de 5 ml con solución salina al 9% y guardado a 4 °C, en cambio los óvulos se colectaron en recipientes de plástico para ser usados inmediatamente.

Una muestra de los óvulos de la hembra fue dividida en tres réplicas y colocada en una placa petri con solución salina al 9% para ser fotografiados. Las fotos fueron analizadas con el software Image J. (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>) para determinar el promedio del diámetro de los óvulos.

La fertilización fue realizada mezclando los óvulos de la hembra (30 g) con el esperma de los cuatro machos (50 μ l de semen de cada macho diluido 2 veces con suero fisiológico) por triplicado. Luego se realizó la incubación (incubadoras cilindro-cónicas tipo Woynarovich de 60 L de capacidad) con un flujo de agua ascendiente de 3 litros por minuto. Una vez ocurrida la eclosión 1000 larvas a 1 dpf (día de la eclosión) fueron colectados al azar y transferidos al sistema de circuito cerrado por tres réplicas, donde fueron mantenidos en completa oscuridad durante el día y la noche. En total se obtuvieron cuatro familias (cuatro progenies) por la combinación de la hembra con los cuatro machos.

7.2.4 Cultivo de la progenie en sistema de circuito cerrado

Las progenies fueron criadas por un periodo de 26 días. Ellas fueron distribuidas en tres tanques de fibra de vidrio de 30 L de capacidad de un sistema de circuito cerrado. Para asegurar la calidad de agua fueron utilizados: una bomba sumergible con un flujo de agua constante de $1,33 \text{ L min}^{-1}$, una red de distribución de agua, un termostato y tres sistemas de filtración (mecánica, biológica y química).

La alimentación fue suministrada a partir del tercer día post-fertilización (dpf) y consistió en nauplios de artemia, con una frecuencia de cinco veces al día (7:30, 10:30, 13:30, 16:30 y 19:30).

7.2.5 Muestreo de la progenie

Se realizaron tres muestreos al azar, con tres repeticiones y en las tres etapas de desarrollo de la progenie o controles. El control 1 consistió en una colecta de larvas y fue realizado a 1 dpf. El control 2 fue realizado a los cinco días (alevines de 5 dpf). Finalmente el control 3 fue realizado a los 26 días (alevines

de 26 dpf). Para cada control se colectaron al azar 50 individuos entre las tres repeticiones, haciendo un total de 150 individuos.

Cada uno de los individuos fueron fotografiados (foto documentados), utilizando un microscopio estereoscopio Leica y conservados en alcohol al 96% hasta el momento de la extracción del ADN.

7.2.6 Obtención del genotipo de la progenie

El ADN de las larvas a 1 dpf fue obtenido por trituración de todo el cuerpo del individuo; en los alevines a 5 dpf también se utilizó todo el cuerpo, a excepción del estómago por contener ADN exógeno (nauplios de artemia); mientras que en los alevines a 26 dpf sólo se utilizó la parte posterior del cuerpo. La extracción se realizó con el método CTAB, modificado por Doyle & Doyle, 1987 (Anexo 2), pero en este caso se realizó una modificación al protocolo convencional disminuyendo las proporciones de los reactivos a la mitad por el tamaño de muestra. Las amplificaciones y los análisis de los alelos fueron realizadas con el mismo protocolo utilizado en la obtención del genotipo de los reproductores.

7.2.7 Asignación de Parentesco

Los perfiles de los microsatélites de los seis *loci* fueron utilizados para identificar a los progenitores de los 150 individuos analizados (50 por cada control). El análisis fue realizado usando el software Probmax, (<http://www.uoguelph.ca/~rdanzman/software/PROBMAX/>) el cual consiste en calcular la probabilidad de cada uno de los padres potenciales (sea el padre del individuo considerado), con base en la compatibilidad entre los genotipos de ambos y teniendo conocimiento del genotipo de la madre. Este programa también brinda la posibilidad de especificar los *loci* que podrían presentar errores de genotipaje, mutaciones espontáneas o alelos nulos, en los genotipos de los padres. Además si no se logra identificar un solo padre potencial, permite aceptar errores o alelos nulos hasta encontrarlo. Los resultados, también fueron verificados manualmente.

7.2.8 Caracteres morfológicos de la progenie

Para evaluar el desarrollo de los individuos excepcionalmente grandes (jumpers), se analizó la morfología dentro y entre las familias. Fueron determinadas las variaciones de: área del saco vitelino, crecimiento, longitud y ancho de cabeza. Los caracteres morfométricos analizados (Figuras 2, 3 y 4) en los tres controles fueron:

ASV: Área del saco vitelino (solo en el control 1), medida establecida por el contorno del saco vitelino con la larva en posición lateral.

VSV: Volumen del saco vitelino (solo en el control 1), medida establecida a partir de la longitud y ancho máximo del saco vitelino.

LT: Longitud total (en los controles 1, 2 y 3), medida establecida desde el límite anterior de la cabeza al extremo posterior de la aleta caudal con la larva o alevín en posición lateral.

Lcab: Longitud de cabeza (en los controles 2 y 3) medida establecida desde la parte anterior de la cabeza hasta una línea pasando posteriormente a los 2 opérculos con el alevín en posición ventral.

Acab: Ancho de cabeza (en los controles 2 y 3) medida establecida entre la base de los opérculos (parte más ancha de la cabeza) detrás de los ojos con el alevín en posición ventral.

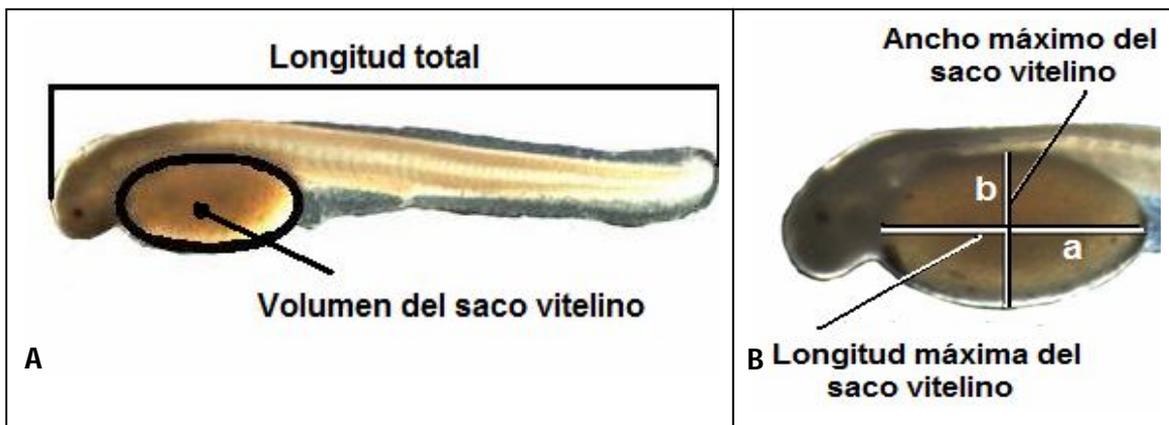


Figura 2. Medidas analizadas en larvas de doncella, *Pseudoplatystoma fasciatum* en el control 1 (1 dpf). A: vista lateral; B: vista lateral del saco vitelino.

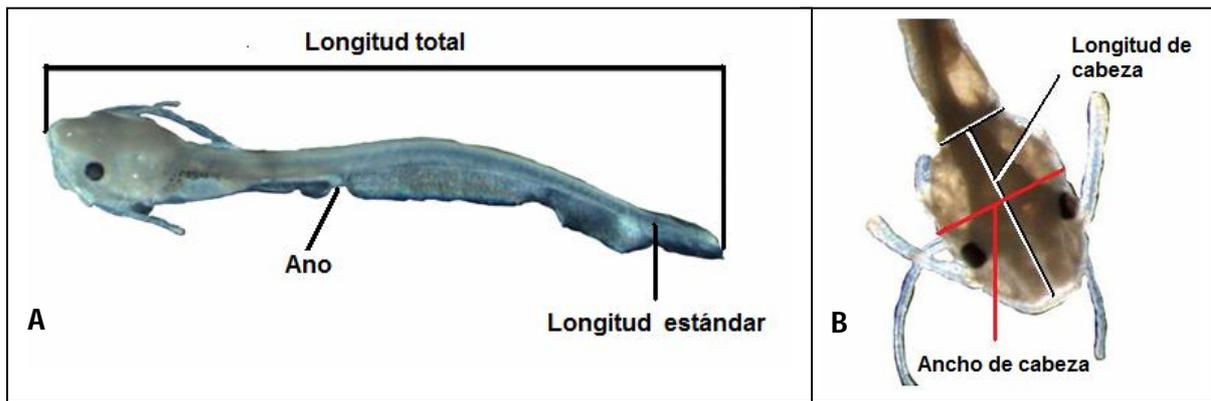


Figura 3. Medidas analizadas en alevines de doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en el control 2 (5 dpf). A: vista dorso lateral; B: vista frontal.

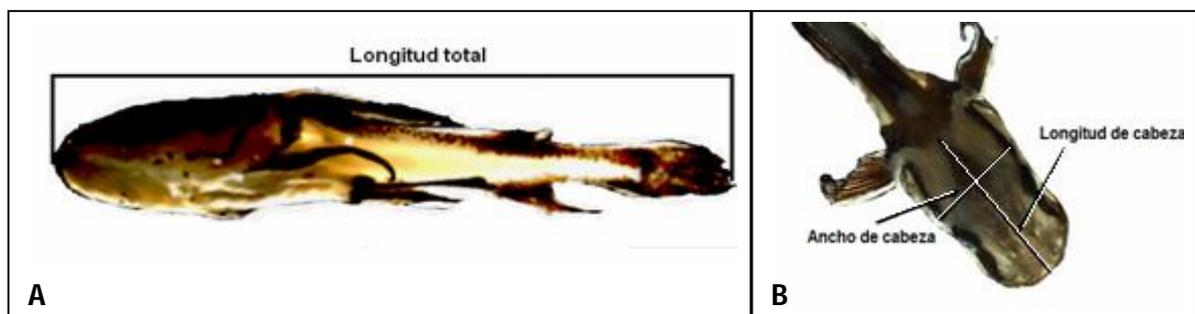


Figura 4. Medidas analizadas en alevines de doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en el control 3 (26 dpf). A: Vista dorso lateral; B: Vista frontal.

Las medidas fueron registradas en milímetros utilizando el software Image J (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>), con una marca de tamaño en cada foto. El volumen del saco vitelino (mm^3) se estimó según la ecuación de un esferoide, $4/3 \pi (ab^2)$, donde a es la mitad de la longitud máxima del vitelo, y b es la mitad del ancho máximo del saco vitelino.

En algunas larvas damnificadas la longitud total era difícil de obtener debido a que algunas tenían la aleta caudal incompleta, se estimó la longitud total a partir de la longitud estándar (LE), mediante la fórmula $LT = -0.623 + 1.379 LE$, la cual fue determinada en base a mediciones de los individuos en las familias correspondientes. Igualmente, en otros casos donde la longitud estándar era difícil

de obtener por la posición de las larvas (larvas dobladas), se estimó la longitud estándar (LE) a partir de la longitud cabeza-ano (LCA), mediante la fórmula, $LS = -0.058 + 2.041 \text{ LCA}$.

7.2.9 Viabilidad diferencial de las familias

A partir de la determinación de la progenie por asignación de parentesco fue posible calcular la viabilidad diferencial de las cuatro familias en las tres etapas de muestreo (larva a 1 dpf, alevín a 5 dpf y alevín a 26 dpf). El análisis de significancia entre las cuatro familias fue calculado mediante la prueba Chi cuadrado.

7.2.10 Heterocigosidad de los reproductores y de las familias

Para los reproductores, la heterocigosidad fue calculada en Excel (dividiendo el número de *loci* heterocigotos entre el total de *loci* utilizados). En tanto que en las familias comunales, por ser un número mayor la heterocigosidad fue calculada con la ayuda del software GENETIX versión 4.0.5.2 donde el valor de la distancia oscila entre 0 (familia compuesta únicamente de homocigotos) y 1 (familia compuesta únicamente de heterocigotos).

También se utilizó el software PAPA (<http://www2.bio.ulaval.ca/louisbernatchez/downloads.htm>) el cual realiza simulaciones de los genotipos de la progenie a partir de los genotipos de los reproductores. Este software permitió calcular la heterocigosidad en la progenie simulada. Además, comparar los grados de heterocigosidad observada en los genotipos reales y la heterocigosidad simulada de la progenie con la prueba Chi cuadrado. Esta comparación se realizó para comprobar el método de simulaciones, el cuál será empleado en familias separadas.

7.2.11 Índice de diferencia máxima de tamaño

En base a las medidas de longitud total obtenidas calculamos el rango de variación de tamaño para cada familia (mínimo y máximo) al final del periodo de seguimiento. Así como el promedio (\bar{x}), la desviación estándar (S) y el coeficiente de variación ($S/\bar{x} * 100$). El indicador de diferencia máxima de tamaño dentro de

cada familia se calculó dividiendo el rango de variación máximo entre el mínimo. Si el valor es 2 o superior, de acuerdo a nuestras observaciones consideramos que esa familia tiene la probabilidad de presentar canibalismo.

7.3 COMPARACIÓN DE FAMILIAS SEPARADAS

7.3.1 Obtención de reproductores

Luego de la evaluación del estado de madurez sexual (presencia de óvulos maduros en las hembras y concentración similar de espermatozoides en los machos), fueron seleccionados seis ejemplares (tres hembras y tres machos) entre los 56 reproductores del stock de *Pseudoplatystoma fasciatum*.

7.3.2 Reproducción por inducción hormonal

Las doncellas elegidas fueron inducidas al desove utilizando el protocolo según Núñez *et al.*, 2008. En este experimento la fertilización se realizó por parejas de reproductores mezclando los óvulos de una hembra con el espermatozoides de un macho (25 g de cada hembra con 250 μ l de semen de cada macho, diluido cinco veces con suero fisiológico), obteniéndose un total de nueve familias (tres hembras x tres machos = nueve familias), con tres repeticiones para cada familia. Los ovocitos fueron colocados en incubadoras con un flujo de agua constante de 3 L min⁻¹.

Las tasas de eclosión fueron determinadas a las 24 horas post fertilización, en una muestra de 100 ml de cada incubadora por triplicado. Se identificó el número total de larvas normales, anormales y huevos blancos no eclosionados. A partir de estos datos se calcularon el porcentaje de eclosión de las larvas normales y anormales.

Una vez ocurrida la eclosión aproximadamente 3000 larvas de cada familia, determinados por un método volumétrico, fueron colectados al azar y transferidos al sistema de circuito cerrado por triplicado para su cultivo.

7.3.3 Cultivo de larvas en sistema de circuito cerrado

Las larvas también fueron cultivadas por un periodo de 26 días en el sistema de circuito cerrado con un flujo de agua constante de 1,5 L min⁻¹. Éstas

fueron alimentadas a partir del tercer día post fertilización (3 dpf) con nauplios de artemia por un periodo de seis días, luego fueron adaptadas progresivamente a un alimento microparticulado para camarón por un periodo de cuatro días, y finalmente adaptadas a un alimento peletizado durante cuatro días. (Anexo 3). La frecuencia de alimentación fue de cinco veces al día (6:00, 10:00, 14:00, 16:00 y 22:00).

7.3.4 Muestreo de larvas

Se hicieron 5 controles: C1(3 dpf), C2(5 dpf), C3(9 dpf), C4(17 dpf) y C5(26 dpf), en cada control se colectó al azar 30 larvas de cada familia, con tres repeticiones de cada una, las cuáles se fotografiaron con una cámara digital Canon SX 10 y luego se conservaron en formol al 5 %, como muestra voucher). Asimismo se determinaron las tasas de supervivencia en cada tanque por conteo directo.

7.3.5 Caracteres morfológicos de la progenie

El único carácter morfológico medido fue la longitud total (registrada en mm.), el cual se obtuvo a través del software Image J (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Luego en base a estas medidas también se calcularon los indicadores de diferencia máxima de tamaño para el control cuatro y cinco.

7.3.6 Viabilidad diferencial entre familias

A partir de los datos de supervivencia de la progenie fue posible calcular la viabilidad diferencial de las nueve familias en los diferentes controles de muestreo.

7.3.7 Heterocigosidad de los reproductores y de las familias

A partir de los genotipos de los reproductores, utilizando el software PAPA, se simuló los genotipos de la progenie en cada familia. La heterocigosidad de los reproductores y de las familias simuladas fue calculada siguiendo la misma metodología de familias en situación comunal.

7.3.8 Índice de diferencia máxima de tamaño

El índice de diferencia máxima se calculó para el control 4 y 5. Se realizó siguiendo la misma metodología que la empleada en familias en situación comunal.

7.4 Análisis estadístico

Las estadísticas calculadas para los datos de supervivencia y para cada una de las medidas morfométricas analizadas fueron efectuadas sobre el promedio de tres réplicas utilizando un análisis de varianza (ANOVA) y posteriormente pruebas de comparación entre pares (método de Bonferroni). Fueron calculados la heterogeneidad de crecimiento y el indicador de diferencia máxima de tamaño para las familias en situación comunal y para las familias separadas. El efecto macho-hembra sobre el crecimiento en longitud, fue calculado para las 9 familias por los 5 controles. Los análisis estadísticos fueron realizados con ayuda el programa estadístico Statgraphics plus (Statgraphics Plus, StatPoint Technologies, Washington, D.C.).

VIII. RESULTADOS

8.1 COMPARACIÓN DE FAMILIAS EN SITUACIÓN COMUNAL

8.1.1 Identificación genética de los reproductores

Los seis *loci* microsatélites utilizados fueron suficientes para identificar los progenitores (con alelos exclusivos o combinación exclusiva de alelos para cada reproductor), permitiendo la diferenciación genética de los padres sin riesgo de equivocarse. El *locus* con mayor número de alelos exclusivos fue Pcor 8 (macho 2: macho 167 Y 169, macho 3: 175 y 185, macho 1: 181 y macho 4: 179). En tanto que el *locus* que presentó menor número de alelos exclusivos fue el Pcor 10 (macho 3: 146). Por otro lado, el macho 4 presentó mayor número de alelos exclusivos (ocho alelos diferenciales: 104, 120, 223, 225, 155, 229, 257, 179), en cuanto que el macho 1 presentó solo dos alelos exclusivos: 151, 181 (Tabla 2).

Tabla 2: Genotipos de los cinco reproductores de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* por cada locus analizado. Alelos exclusivos para cada macho en color azul.

Reproductores	Código	Loci						Total de alelos exclusivos por macho
		Pcor 1	Pcor 2	Pcor 5	Pcor 7	Pcor 8	Pcor 10	
Hembra1	1E0D73	116 118	223 223	147 149	245 245	169 169	146 156	
Macho 1	29309	112 112	217 221	145 151	247 247	181 183	156 156	2
Macho 2	23178	112 112	221 221	145 149	239 239	167 169	156 156	4
Macho 3	394572	110 112	217 229	131 145	247 247	175 185	146 156	5
Macho 4	111E1F	104 120	223 225	131 155	229 257	179 183	156 156	8
Total de alelos exclusivos por <i>loci</i>		3	3	3	3	6	1	19

A partir de estos alelos exclusivos o combinaciones de alelos, se logró diferenciar las larvas y alevines de *P. fasciatum* asignándolas en cuatro familias. La codificación de las familias fue realizada por el cruzamiento de la hembra con cada macho (Tabla 3).

Tabla 3: Codificación de las familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*

Hembra	Macho	Familia
1	1	1
1	2	2
1	3	3
1	4	4

8.1.2 Asignación de parentesco de la progenie

En el control 1 el parentesco de 47 larvas de 1 dpf fue establecido por la presencia de alelos exclusivos presentes en sus genotipos. En tanto, que las tres larvas restantes (057, 069 y 134) que no presentaron alelos exclusivos en sus genotipos, el parentesco fue establecido por la combinación exclusiva de alelos presentes en todos los *loci* (Tabla 4).

El mayor número de larvas a 1 dpf perteneció a la familia 4 (23 larvas), y el menor número fue reportado para las familias 1 y 3 (5 larvas para cada una). Por otro lado, el porcentaje de alelos nulos (revelados por incompatibilidad entre la progenie y los progenitores) encontrados en los *loci* Pcor 7 y Pcor 8 fue de 20% y 18 % respectivamente. En este estudio la presencia de alelos nulos no dificultó la asignación del parentesco porque la información obtenida fue suficiente para asignar cada individuo a una familia.

Tabla 4: Alelos exclusivos y combinaciones exclusivas utilizadas en la identificación de parentesco en larvas de 1 dpf (control 1) de doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*. El número 000 indica presencia de alelos nulos.

Código	Pcor 1	Pcor 2	Pcor 5	Pcor 7	Pcor 8	Pcor 10	Familias
013	118 120	223 225	149 155	000 257	169 183	-	F4
018	-	-	-	-	169 169	-	F2
031	-	-	-	000 239	169 169	-	F2
033	118 120	223 223	-	229 000	000 179	-	F4
034	118 120	223 225	-	229 245		-	F4
037	-	-	149 149	-	169 169	-	F2
040	104 116	223 223	149 155	229 245	-	-	F4
042	116 120	223 223	147 155	245 257	-	-	F4
044	-	-	-	-	169 185	-	F3
050	104 118	223 223	-	229 000	169 183	-	F4
055	-	-	-	-	169 169	-	F2
057	112 118	217 223	145 147	245 247	169 183	156 156	F1
061	-		-	000 239	169 169	-	F2
064	104 116	223 223	-	229 245	169 183	-	F4
065	116 120	223 223	147 155	229 000	000 179	-	F4
067	118 120	223 225	-	000 257	-	-	F4
069	112 118	221 223	145 147	000 245	169 183	146 156	F1
077	104 116	223 225	149 155	229 000		-	F4
081	104 118	223 223		000 257	169 179	-	F4
086	104 116	223 223		229 245		-	F4
092	110 116	223 229	-	-	169 175	-	F3
102	112 118	223 229	-	000 245	169 185	-	F3
103	104 116	223 225	-	245 257	-	-	F4
110	104 118	223 225	147 155	229 245	000 179	-	F4
114	-	-	-	000 239	167 169	-	F2
115	104 118	223 225	147 155	245 257	000 179	-	F4
118	-	-	-	239 245	-	-	F2
121	-	-	-	-	169 169	-	F2
129	118 120	223 223	-	245 257	169 179	-	F4
130	104 116	223 225	147 155	245 257	000 179	-	F4
132	-	-	149 151	-	000 181	-	F1
134	112 116	221 223	145 149	000 247	169 183	156 156	F1
139	-	-	-	239 245	167 169	-	F2

Continuación Tabla 4...

Código	Pcor 1	Pcor 2	Pcor 5	Pcor 7	Pcor 8	Pcor 10	Familias
148	-	-	149 151	-	169 181	-	F1
150	-	-	-	239 245	167 169	-	F2
153	-	-	149 149	-	167 000	-	F2
154	-	-	-	239 245	167 169	-	F2
155	104 116	223 223	-	245 257	000 179	-	F4
159	-	-	-	000 239	167 169	-	F2
160	-	-	149 149	000 239	167 000	-	F2
161	104 116	223 223	-	245 257	-	-	F4
176	-	-	-	239 245	169 169	-	F2
178	-	223 229	-	-	169 185	-	F3
180	-	-	-	-	169 169	-	F2
183	104 116	223 225	-	229 000	-	-	F4
185	104 118	223 225	147 155	000 257	-	-	F4
186	116 120	223 225	-	000 257	-	-	F4
187	116 120	223 225	-	000 257	169 179	-	F4
188	-	-	149 149	-	167 169	-	F2
189	110 116	223 229	-	-	169 175	-	F3

Los 50 alevines del control 2 presentaron alelos exclusivos de cada macho en sus genotipos, permitiendo una fácil identificación de sus parentescos (Tabla 5). El mayor número de alevines identificados perteneció a la familia 2 (21 alevines) y la menor a la familia 1 (3 alevines). El porcentaje de alelos nulos encontrados en los *loci* Pcor 7 y Pcor 8 fue de 22% y 6% respectivamente.

Tabla 5: Alelos exclusivos utilizados en la identificación de parentesco en alevines de 5 dpf (control 2) de doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*. El número 000 indica presencia de alelos nulos.

Código	Pcor 1	Pcor 2	Pcor 5	Pcor 7	Pcor 8	Pcor 10	Familias
2	-	-	-	-	169 175	-	F3
6	-	-	-	000 239	167 169	-	F2
10	116 120	223 223	-	229 245	-	-	F4
13	-	-	-	000 239	169 169	-	F2
16	-	-	-	-	167 000	-	F2
24	116 120	223 223	-	229 245	-	-	F4
25	118 120	223 225	149 155	229 245	169 179	-	F4

Continuación Tabla 5...

Código	Pcor 1	Pcor 2	Pcor 5	Pcor 7	Pcor 8	Pcor 10	Familias
28	-	-	147 151	-	169 183	-	F1
29	-	-	-	-	169 169	-	F2
30	110 118	-	-	-	169 185	146 146	F3
41	-	-	-	-	169 169	-	F2
43	116 120	223 225	-	229 000	169 183	-	F4
46	116 120	223 225	-	229 000	169 179	-	F4
47	-	-	-	-	167 169	-	F2
48	116 120	223 225	-	229 245	169 183	-	F4
49	-	-	-	239 245	169 169	-	F2
52	-	-	-	-	169 185	146 146	F3
53	104 116	223 223	149 155	229 000	169 179	-	F4
61	-	-	-	-	167 169	-	F2
72	-	-	149 149	-	167 169	-	F2
77	-	-	147 151	-	169 183	-	F1
79	-	223 229	-	-	169 175	-	F3
80	118 120	223 225	149 155	000 257	169 179	-	F4
84	-	-	-	239 245	169 169	-	F2
87	-	-	-	239 245	169 169	-	F2
90	116 120	-	-	000 257	169 179	-	F4
91	118 120	223 225	-	229 245	-	-	F4
93	-	-	149 149	-	169 169	-	F2
98	116 120	223 225	149 155	245 257	169 179	-	F4
112	-	-	149 149	-	169 169	-	F2
117	104 118	223 225	149 155	229 245	169 179	-	F4
121	-	-	-	239 245	167 169	-	F2
122	-	-	-	000 239	169 169	-	F2
124	-	-	-	-	169 169	-	F2
130	-	-	149 149	000 239	169 169	-	F2
131	-	223 229	-	-	169 185	-	F3
132	-	223 225	-	000 257	-	-	F4
134	-	-	147 151	-	-	-	F1
136	-	-	149 149	-	167 000	-	F2
138	104 116	223 225	-	245 257	169 179	-	F4
139	-	-	149 149	239 245	169 169	-	F2
140	110 116	-	131 149	-	169 175	146 146	F3
141	-	223 225	147 155	229 245	169 179	-	F4
144	-	223 229	-	-	169 175	-	F3

Continuación Tabla 5...

Código	Pcor 1	Pcor 2	Pcor 5	Pcor 7	Pcor 8	Pcor 10	Familias
151	-	-	-	-	169 169	-	F2
154	-	223 223	-	229 245	169 179	-	F4
161	116 120	223 225	147 155	229 245	169 179	-	F4
171	104 118	223 225	-	229 000	-	-	F4
174	116 120	223 223	149 155	245 257	-	-	F4
179	-	-	-	239 245	167 000	-	F2

En el control 3, (Tabla 6) el parentesco también se estableció con la presencia de alelos exclusivos de cada macho presentes en el genotipo de 50 alevines. El mayor número de alevines perteneció a la familia 4 (23 alevines) y el menor a la familia 3 (5 alevines). No se encontró ningún individuo de la familia 1. El Pcor 7 presentó 38% de alelos nulos y el Pcor 8 20%.

Tabla 6: Alelos exclusivos utilizados en la identificación de parentesco en alevines de 26 dpf (control 3) de doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*. El número 000 indica presencia de alelos nulos.

Código	Pcor 1	Pcor 2	Pcor 5	Pcor 7	Pcor 8	Pcor 10	Familias
012	104 118	223 223	-	229 000	-	-	F4
014	118 120	223 223	149 155	229 000	-	-	F4
016	104 118	223 225	-	000 257	-	-	F4
017	116 120	223 225	-	245 257	-	-	F4
018	110 116	-	-	-	000 175	-	F3
019	-	-	-	-	169 169	-	F2
020	118 120	223 223	147 155	229 245	000 179	-	F4
022	110 116	223 229	-	-	000 185	146 146	F3
023	-	-	-	000 239	169 169	-	F2
027	104 118	223 225	147 155	229 245	169 183	-	F4
030	-	-	-	239 245	169 169	-	F2
032	-	-	-	239 245	167 169	-	F2
034	-	-	-	000 239	167 169	-	F2
045	118 120	223 225	147 155	000 257	000 179	-	F4
049	-	-	-	239 245	169 169	-	F2

Continuación Tabla 6...

Código	Pcor 1	Pcor 2	Pcor 5	Pcor 7	Pcor 8	Pcor 10	Familias
051	-	-	-	239 245	169 169	-	F2
054	-	-	-	000 239	169 169	-	F2
056	-	-	-	239 245	167 000	-	F2
057	118 120	223 225	147 155	245 257	-	-	F4
060	110 118	-	-	-	169 185	-	F3
062	-	-	-	000 239	167 000	-	F1
063	118 120	223 223	147 155	245 257	169 179	-	F4
067	104 116	223 223	149 155	229 245	169 183	-	F4
068	-	-	-	-	167 000	-	F2
070	116 120	223 223	149 155	000 257	169 183	-	F4
072	104 116	223 225	147 155	229 000	169 179	-	F4
074	104 118	223 223	149 155	245 257	000 179	-	F4
076	118 120	223 223	-	229 000	169 179	-	F4
080	-	-	-	-	167 169	-	F2
081	-	-	-	239 245	169 169	-	F2
085	-	-	-	000 239	167 169	-	F2
088	-	-	-	-	167 000	-	F2
089	-	-	-	000 239	167 169	-	F2
095	-	-	-	-	167 169	-	F2
106	118 120	223 225	147 155	229 245	-	-	F4
110	104 116	223 225	-	000 257	169 179	-	F4
111	104 116	223 225	147 155	000 229	-	-	F4
115	104 118	223 225	-	-	-	-	F4
118	-	-	-	000 239	169 169	-	F2
135	104 118	223 223	147 155	229 245	169 179	-	F4
136	-	-	145 147	-	169 175	-	F3
140	118 120	223 223	149 155	-	169 179	-	F4
145	-	-	-	239 245	167 169	-	F2
149	110 118	-	-	-	000 185	146 146	F3
150	116 120	223 225	-	245 257	169 179	-	F4
153	104 116	223 223	-	000 257	-	-	F4
156	-	-	-	000 239	169 169	-	F2
159	-	-	-	000 239	167 169	-	F2
161	118 120	223 223	147 155	245 257	-	-	F4
170	-	-	-	239 245	167 169	-	F2

Analizando globalmente los 150 individuos en los tres controles observamos que la familia 4 fue la que presentó el mayor número de individuos (65), en tanto que la familia 1 presentó solo ocho individuos. Si analizamos por cada control, observamos que las familias 2 y 4, fueron siempre las más numerosas (Tabla 7).

Tabla 7: Individuos de doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* asignados en las cuatro familias analizadas. Los porcentajes de representación de cada familia en cada control están indicados entre paréntesis.

Familias	1 Larvas a 1 dpf	2 Alevines a 5 dpf	3 Alevines a 26 dpf	total de individuos
Familia 1	5 (10)	3 (6)	-	8
Familia 2	17 (34)	21 (42)	22 (44)	60
Familia 3	5 (10)	7 (14)	5 (10)	17
Familia 4	23 (46)	19 (38)	23 (46)	65
Total	50 (100)	50 (100)	50 (100)	150

8.1.3 Características de los reproductores y los óvulos

El peso de la hembra fue de 5 kg y su longitud total de 77 cm. En tanto que el peso de los machos varió de 1,8 a 6,4 kg y sus longitudes totales de 60 a 89 cm. Asimismo, el promedio de diámetro de los óvulos fue 0,895 mm (Tabla 8).

Tabla 8: Peso, longitud total y promedio de diámetro de los óvulos de los reproductores de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*.

Reproductores	Peso (kg)	Longitud total (cm)	\bar{x} diámetro de los óvulos (mm)	Desviación estándar
Hembra 1	5,0	77	0,895	0,094
Macho 1	2,6	60	-	
Macho 2	2,4	62	-	
Macho 3	1,8	66	-	
Macho 4	6,4	89	-	

8.1.4 Heterogeneidad de volumen del saco vitelino

Las larvas a 1 dpf no presentaron diferencia significativa en el volumen del saco vitelino entre las cuatro familias ($p = 0,5871$). También se observó poca variación de este volumen entre los individuos dentro de cada familia. El mayor volumen encontrado fue $0,199 \text{ mm}^3$ y el menor volumen $0,099 \text{ mm}^3$ (Figura 5).

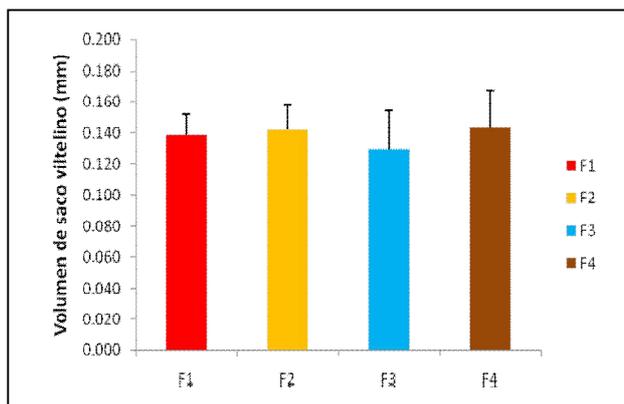


Figura 5: Variaciones de volumen del saco vitelino de las cuatro familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* analizado en el control 1. La línea sobre la barra representa la desviación estándar.

8.1.5 Heterogeneidad de crecimiento

Los promedios de la longitud total de los individuos de cada familia (Figura 6), no presentaron ninguna diferencia significativa ($p=0,6107$, $p=0,3146$, $p=0,4325$) en los tres controles sucesivos. Es decir no existe una diferencia marcada en cuanto a longitud total en ninguno de los tres controles: C1 (1 dpf), C2 (5 dpf) y C3 (26 dpf), entre las 4 familias criadas en situación comunal. En el control 3, no se observaron alevines a 26 dpf en la familia 1, deduciéndose que probablemente hayan muerto antes de este control.

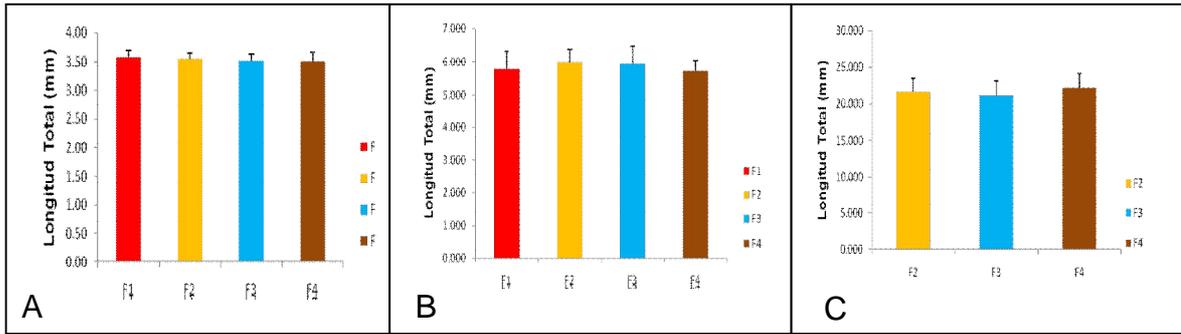


Figura 6: Variaciones en la longitud total de las cuatro familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en los tres controles A (control 1: larvas a 1 dpf), B (control 2: alevines a 5 dpf) y C (control 3: alevines a 26 dpf). La línea sobre la barra representa la desviación estándar.

Las progenies no presentaron diferencia significativa ($p=0,6980$, $p=0,2850$, $p=0,5295$, $p=0,4314$) en cuanto al promedio de la longitud y ancho de cabeza (Figura 7), en ninguno de los dos controles analizados (C2: alevines a 5 dpf y C3: alevines a 26 dpf).

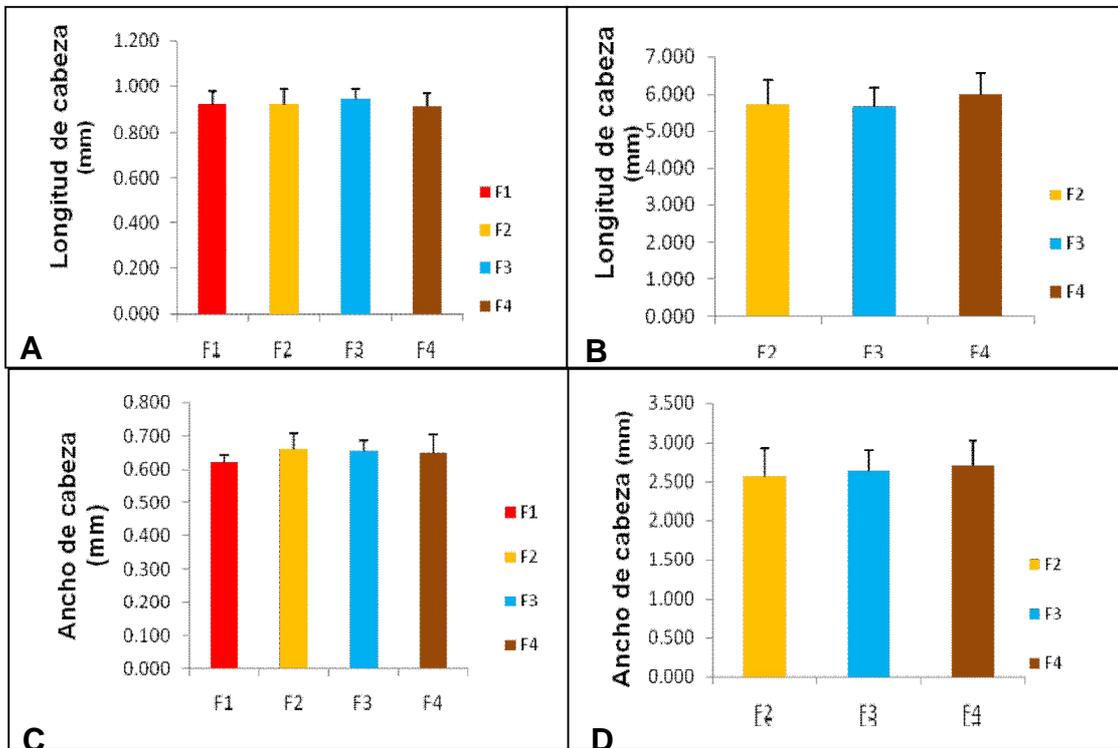


Figura 7: Variaciones de longitud de cabeza (A y B) y ancho de cabeza (C y D) de las cuatro familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en el control 2 y 3 respectivamente. La línea sobre la barra representa la desviación estándar.

Al término de los 26 días de evaluación, las cuatro familias presentaron una curva de crecimiento similar, con individuos en un rango de longitud total entre 16 a 17 mm de tamaño final (Figura 8). Asimismo, se observó la presencia de individuos de la F1 hasta solo los 5 dpf.

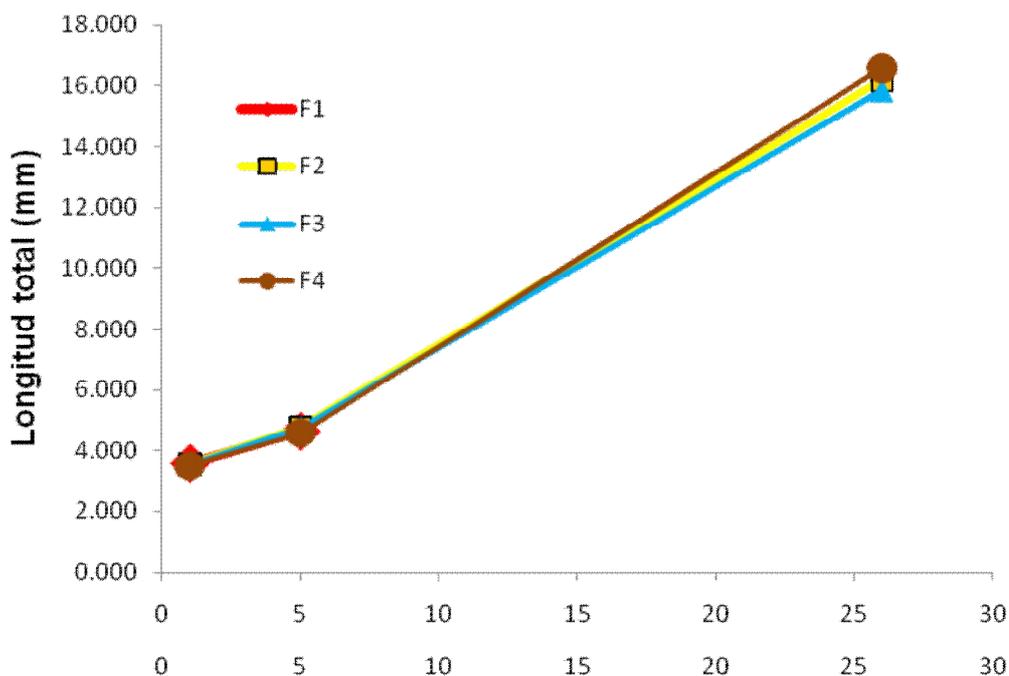


Figura 8: Longitud total de las cuatro familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en los tres controles (1dpf, 5dpf y 26 dpf).

8.1.6 Viabilidad diferencial entre familias

La frecuencia de las familias en las diferentes etapas de muestreo forman dos grupos claramente definidos (Figura 9). El primer grupo conformado por las familias 4 y 2 presentan el mayor número de individuos (F4 = 46% y F2 = 44%) hasta el final del periodo de seguimiento (26 dpf o control 3). Caso contrario se observa en el segundo grupo conformado por las familias 3 y 1 que presentan el menor número de individuos (F3 = 10% y F1 = 0%). Asimismo, cuando se compara los pares de familias entre cada grupo y a cada etapa de muestreo (Tabla 9), la diferencia es significativa ($p < 0,05$), con excepción de la comparación F3/F4 (control 2), que está cerca de la significancia con un $p=0,058$. Por el contrario dentro de los grupos ninguna de las comparaciones fueron significativas ($p > 0,05$).

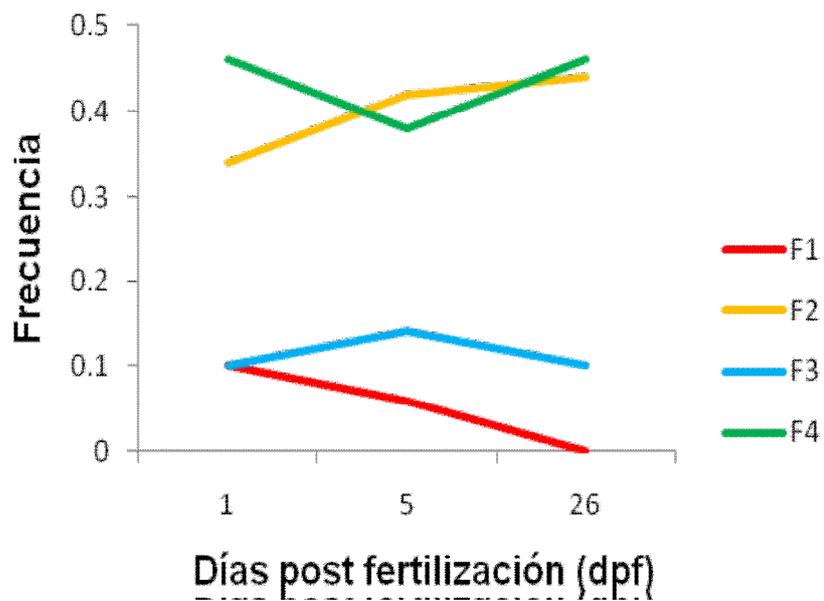


Figura 9: Evolución de las frecuencias relativas de las cuatro familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en sistema de cría comunal.

Tabla 9: Comparación de la supervivencia en pares de familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en los tres controles a un nivel de significancia $p < 0,05$.

	Combinaciones entre familias					
	F1F2	F1F3	F1F4	F2F3	F2F4	F3F4
Control 1 (1 dpf)	*0,024	1,000	*0,001	*0,024	0,682	*0,001
Control 2 (5 dpf)	*0,000	0,620	*0,002	*0,021	0,881	0,058
Control 3 (26 dpf)	*0,000	0,154	*0,000	*0,002	0,998	*0,001

* = significativo con la prueba de Chi cuadrado

8.1.7 Heterocigosidad de los reproductores.

El grado de heterocigosidad en la hembra fue de 0,500. En tanto que para los machos varió de 0,330 a 0,830 (Tabla 10).

Tabla 10: Heterocigosidad encontrada en los reproductores de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* analizados.

Código	H. Observada
H1	0,500
M1	0,500
M2	0,330
M3	0,830
M4	0,830

8.1.8 Heterocigosidad de las familias

La heterocigosidad observada y simulada fue muy cercana en las cuatro familias evaluadas (Tabla 11). Variando de 0,803 a 0,917 en la heterocigosidad observada y de 0,800 a 0,900 en la heterocigosidad simulada.

Tabla 11: Heterocigosidad de las cuatro familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*.

Familias	H. Observada	H. Simulada
Familia 1	0,917	0,900
Familia 2	0,803	0,800
Familia 3	0,892	0,923
Familia 4	0,828	0,835

En la comparación de los grados de heterocigosidad observados entre las familias, encontramos que las familias F2 vs F3 y F3 vs F4 presentaron diferencias significativas para $p < 0,001$ (Tabla 12). Las familias F1 vs F2, están cerca de la significancia ($p = 0,056$). En cambio comparando los grados de heterocigosidad simulados encontramos diferencias significativas en las familias F1 vs F2, F1 vs F4 y también en F2 vs F3 y F3 vs F4. A partir de estos datos agrupamos las familias en dos grupos. El primer grupo conformado por las familias F1, F3 y el segundo grupo por las familias F2, F4.

Tabla 12: Comparación de los grados de heterocigosidad observados (valores en negro en región superior) y simulados (valores en azul en región inferior) en las familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*.

	Combinaciones entre Familias			
	F1	F2	F3	F4
F1	-	P= 0,056	P= 0,181	P=0,117
F2	P<0,001***	-	P<0,001***	P=0,369
F3	P=0,154	P<0,001***	-	P<0,001***
F4	P<0,001***	P=0,117	P<0,001***	-

*** = altamente significativo con la prueba de Chi cuadrado

8.1.9 Indicador de diferencia máxima de tamaño

En cuanto a la diferencia máxima de tamaño, las tres familias presentaron un indicador por debajo de 2, lo que confirma que dentro de cada familia no hay presencia de individuos cuyo tamaño sea dos veces mayor que otro (jumpers). Además presentan un coeficiente de variación de la longitud total por debajo del 10% (Tabla 13).

Tabla 13: Resultados del indicador de diferencia máxima de tamaño en las familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* encontrados para el control 3.

Familias	Rango de Variación		Promedio	Desv. Estándar	C.V. (%)	Indicador de diferencia máxima de tamaño
	Mínimo	Máximo				
Familia 2	13,239	18,054	16,181	1,324	8,2	1,364
Familia 3	14,077	17,675	15,861	1,426	9,0	1,256
Familia 4	13,768	19,84	16,596	1,405	8,5	1,441

8.1.10 Correlación entre crecimiento, viabilidad y heterocigosidad.

Los resultados muestran que no existe una correlación entre el crecimiento y la heterocigosidad en la progenie de *P. fasciatum*. Sin embargo la progenie presentó una correlación inversamente proporcional entre la heterocigosidad y la viabilidad (Figura 10), esto indica que familias que presentan un alto nivel de heterocigosidad no necesariamente tienen una buena viabilidad. Por otro lado familias con menos heterocigosidad presentan mayor viabilidad.

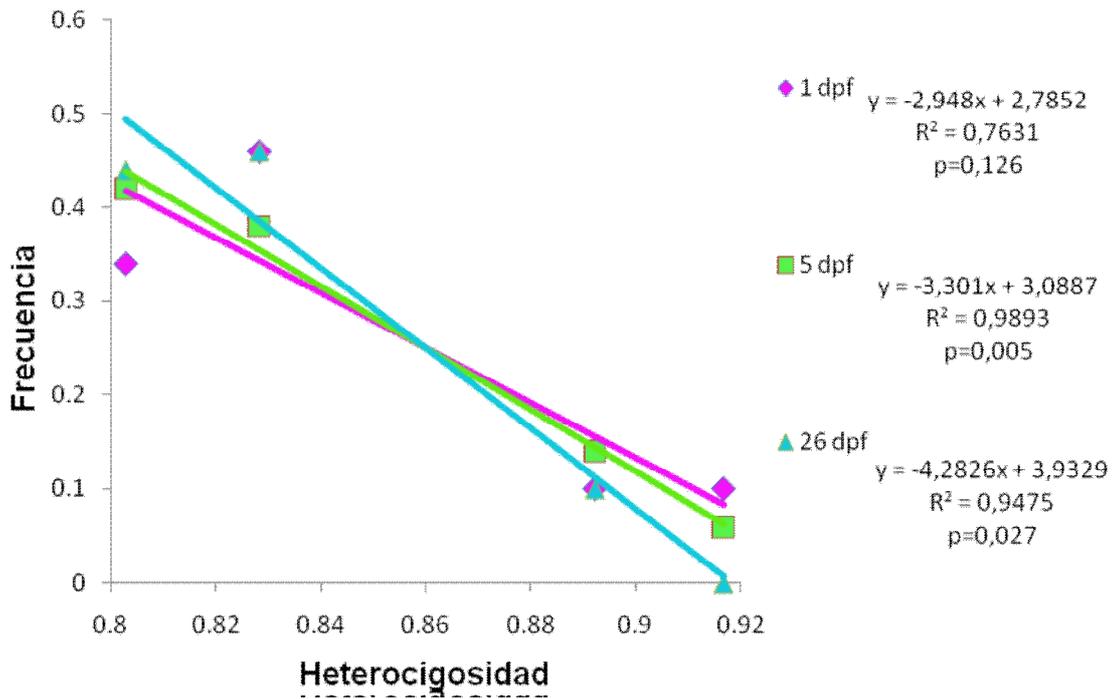


Figura 10: Relación entre la heterocigosidad y la viabilidad en las familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* analizadas.

8.2 COMPARACIÓN DE FAMILIAS SEPARADAS

8.2.1 Características de los reproductores y los óvulos

El peso de las hembras y su longitud total variaron de 4,1 a 5,4 kg y de 76 a 78 cm. Por otro lado, el peso de los machos y su longitud variaron de 1,4 a 2,5 kg y 57 a 66 cm respectivamente. Los promedios del diámetro de los óvulos en las hembras analizadas no presentaron diferencia significativa con un $p < 0,05$. (Tabla 14).

Tabla 14: Peso, longitud total y promedio de diámetro de los óvulos de los reproductores de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*.

Reproductores	Peso (kg)	Longitud total (cm)	Diámetro de los óvulos (mm)	Desv. estándar	N
Hembra 1	5,4	78	0,825	0,020	404
Hembra 2	5,1	77	0,817	0,013	584
Hembra 3	4,1	76	0,822	0,022	627
Macho 1	1,8	66	-	-	-
Macho 2	2,5	60	-	-	-
Macho3	1,4	57	-	-	-

8.2.2 Porcentaje de larvas eclosionadas y larvas anormales

Los rangos de eclosión variaron de 96% (F2) a 26% (F9). Asimismo, la familia que presentó mayor porcentaje de larvas anormales fue la F1 con 17% y la de menor porcentaje fue la F9 con 0,5% (Figura 11).

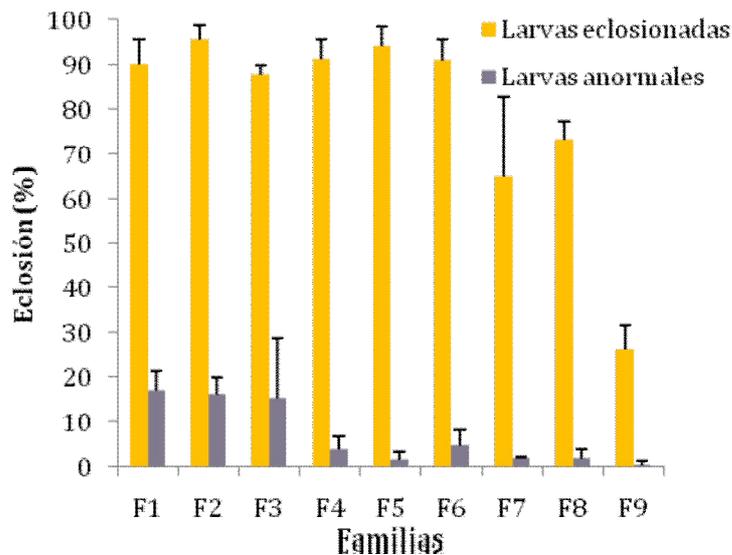


Figura 11: Porcentaje total de larvas eclosionadas y porcentaje de larvas anormales de nueve familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* a las 20 horas después de la fecundación. La línea sobre la barra representa la desviación estándar.

Al comparar el porcentaje de eclosión de las nueve familias entre sí, observamos que las familias F7 y F9 presentaron diferencias significativas con el resto de familias analizadas. En cambio al comparar el porcentaje de larvas anormales solo la familia F1 presenta diferencias significativas con la familia F9 (Tabla 15 A y B).

Tabla 15: Comparación estadística con el test de Bonferroni en el porcentaje de larvas eclosionadas y larvas anormales de las nueve familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* a 20 horas después de la fecundación con un nivel de significancia (* $p < 0,05$ o ** $p < 0,01$).

	A Larvas eclosionadas									B Larvas anormales								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
F1	.	-	-	-	-	-	*	-	**	.	-	-	-	-	-	-	-	*
F2		.	-	-	-	-	**	-	**		.	-	-	-	-	-	-	-
F3			.	-	-	-	*	-	**			.	-	-	-	-	-	-
F4				.	-	-	*	-	**				.	-	-	-	-	-
F5					.	-	**	-	**					.	-	-	-	-
F6						.	*	-	**						.	-	-	-
F7							.	-	**							.	-	-
F8								.	**								.	-
F9									.									.

Al analizar el efecto hembra-macho y la interacción de ambos sobre la eclosión (Tabla 16) observamos que existe un efecto significativo ($p < 0,05$) del parámetro Hembra, Macho y de la interacción Macho x Hembra.

Tabla 16: Análisis multivariado del efecto hembra, macho e interacciones de ambos en la eclosión de la progenie de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* a 20 horas de la fecundación. Suma de cuadrados tipo III. Los F-ratios están basados en el error cuadrático medio residual.

Fuente	Suma cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-ratio	P-valor
A: Hembra	7968,02	2	3984,01	74,44	<0,0001
B: Macho	1710,82	2	855,41	15,98	0,0001
Interacciones: AB	2137,26	4	534,31	9,98	0,0002
Residuos	909,83	17	53,52		
Total	1259,40	25			

8.2.3 Heterogeneidad en crecimiento

En todos los controles existe diferencia significativa ($p < 0,05$) en la longitud total entre las nueve familias de *P. fasciatum*, es decir desde los 3 dpf hasta los 26 dpf las 9 familias presentaron variaciones en el crecimiento. Asimismo, observamos que la progenie de mayor crecimiento pertenece a la hembra 1 en sus tres combinaciones con los tres machos (F1, F2 y F3) y la que presenta menor crecimiento pertenece a la hembra 2 (F4, F5 y F6) principalmente en el último control (Figura 12).

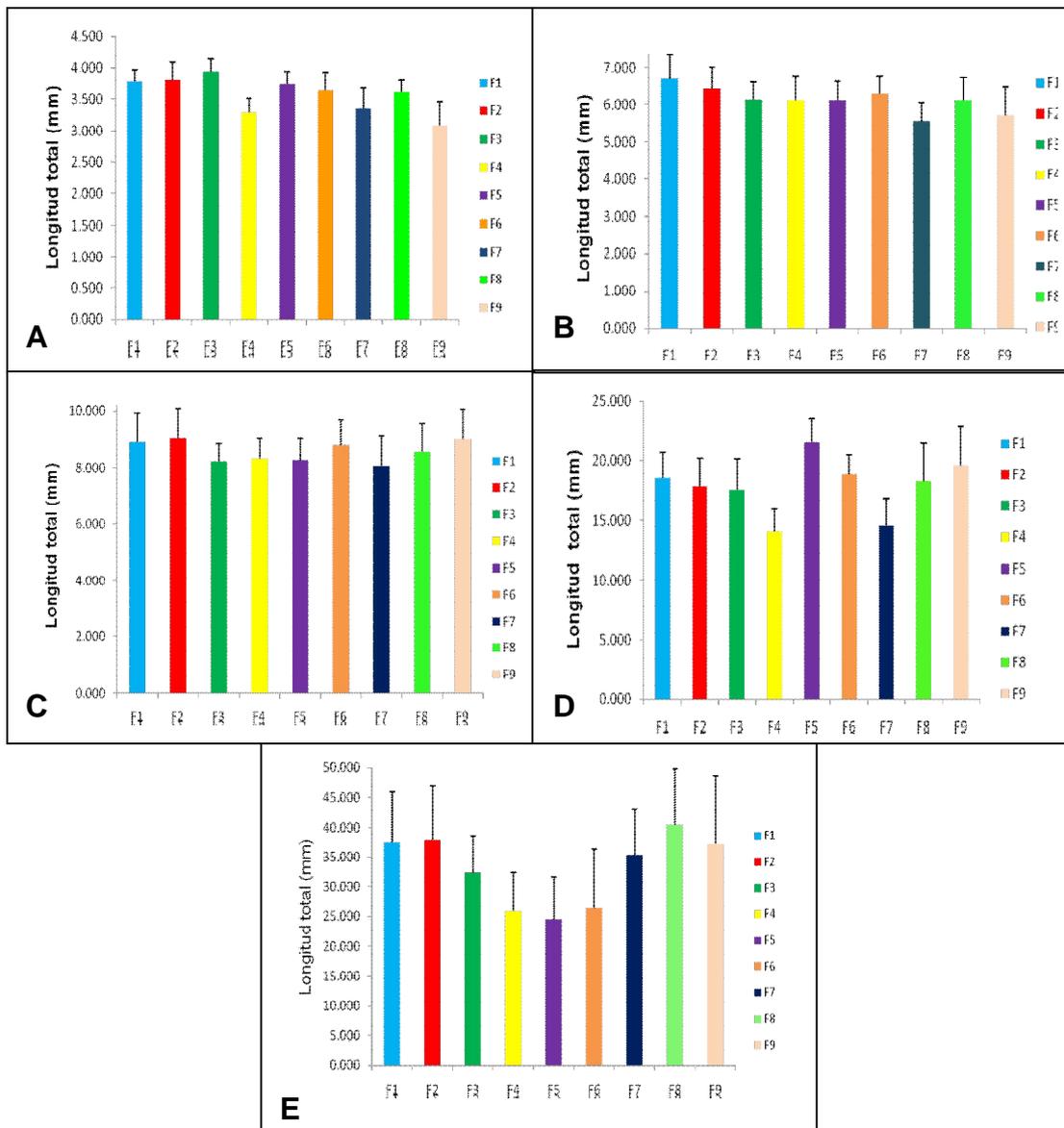


Figura 12: Variaciones de tamaño de nueve familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* : A (C 1), B (C2) C (C3), D (C4) y E (C5). La línea sobre la barra indica la desviación estándar.

La comparación múltiple entre las medias de la longitud total de las nueve familias en los cinco controles, muestra que la familia 9 difiere significativamente de la mayoría de las familias hasta el control 3. En el control 4 las familias F4 y F7 son las que presentan diferencias significativas en la longitud total con el resto de familias. En tanto que la familia 5 es la que tuvo menor crecimiento en el control 5 (Tabla 17).

Tabla 17: Comparación estadística con el test de Bonferroni de la longitud total entre las nueve familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* para los cinco controles, a un nivel de significancia * $p < 0,05$ o ** $p < 0,01$.

C1										C2									
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9		F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
F1	.	-	*	**	-	-	**	-	*	F1	.	-	**	**	**	**	**	**	**
F2		.	-	**	-	*	**	**	**	F2		.	*	**	*	-	**	*	**
F3			.	**	**	**	**	**	**	F3			.	-	-	-	**	-	**
F4				.	**	**	-	**	-	F4				.	-	-	**	-	**
F5					.	-	**	-	**	F5					.	-	**	-	**
F6						.	**	-	**	F6						.	**	-	**
F7							.	**	**	F7							.	**	-
F8								.	**	F8								.	**
F9									.	F9									.

C3										C4									
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9		F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
F1	.	-	**	**	**	-	**	-	-	F1	.	-	-	**	**	-	**	-	-
F2		.	**	**	**	-	**	*	-	F2		.	-	**	**	-	**	-	-
F3			.	-	-	**	-	-	**	F3			.	**	**	-	**	-	-
F4				.	-	**	-	-	**	F4				.	**	**	-	**	**
F5					.	**	-	-	**	F5					.	**	**	**	-
F6						.	**	-	-	F6						.	**	-	-
F7							.	**	**	F7							.	**	**
F8								.	*	F8								.	-
F9									.	F9									.

C5									
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
F1	.	-	-	**	**	**	-	-	-
F2		.	-	**	**	*	-	-	-
F3			.	-	**	-	-	-	-
F4				.	-	**	**	**	-
F5					.	-	**	**	**
F6						.	-	**	*
F7							.	-	-
F8								.	-
F9									.

*Representa $p < 0.05$

** Representa $p < 0.01$

A final del periodo de seguimiento las nueve familias se dividen en dos grupos, de acuerdo a la velocidad de su crecimiento (Figura 13). El grupo 1 conformado por las hembras 3 y 1 (familias: F8, F2, F9, F1, F7 y F3) cuya longitud total estuvo entre 30 a 42 mm y el grupo 2 formado unicamente por la hembra 2 (familias: F6, F4 y F5) cuyos rangos de longitud total variaron de 20 a 28 mm. El crecimiento fue similar de 3 dpf (control 1) a 9 dpf (control 3). A partir de este control observamos que las progenies se diferencian en cuanto a su crecimiento, observándose que la familia 8 alcanza un mayor tamaño (1,6 veces mas grande que la familia F5 que representó la progenie de menor tamaño).

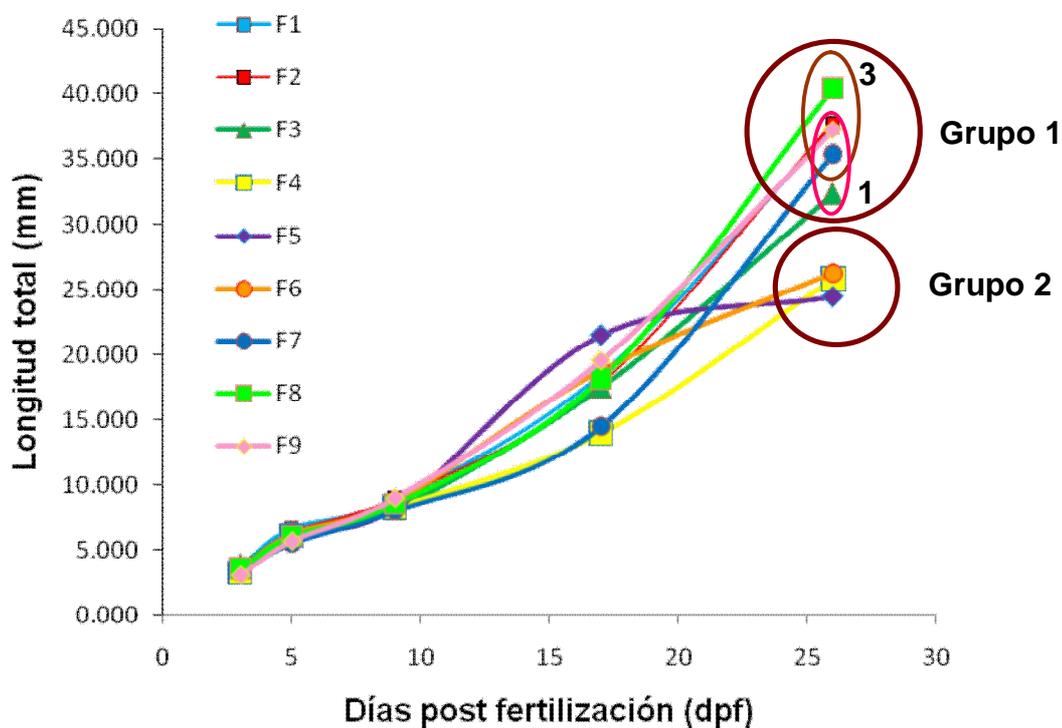


Figura 13: Promedio de longitud total de las 9 familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* durante los 5 controles (3 dpf a 26 dpf).

8.2.4 Efecto Hembra-Macho sobre el crecimiento en longitud total

En el control 1 (3 dpf), se observó una diferencia significativa ($p < 0,05$) del crecimiento según el origen parental (efecto macho, efecto hembra e interacción) en la progenie de doncella (Tabla 18). Al comparar la descendencia de las tres hembras con los tres machos, así como los tres machos con las tres hembras, observamos variaciones significativas en la longitud total de sus progenies. Por lo tanto se verificó que la hembra 1 y el macho 2 son los que presentaron progenies de mayor longitud total, mientras que la hembra 3 y el macho 1 presentaron las descendencias de menor tamaño (Figura 14).

Tabla 18: Análisis multivariado del efecto hembra, macho e interacciones de ambos en el crecimiento de las progenies de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en el control 1. Suma de cuadrados tipo III. Los F-ratios están basados en el error cuadrático medio residual.

Fuente	Suma cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-ratio	P-valor
A: Hembra	1,11	2	0,553	276,91	<0,001
B: Macho	0,29	2	0,146	73,21	<0,001
Interacciones: AB	0,53	4	0,133	66,50	<,.001
Residuos	0,04	18	0,002		
Total	1,97	26			

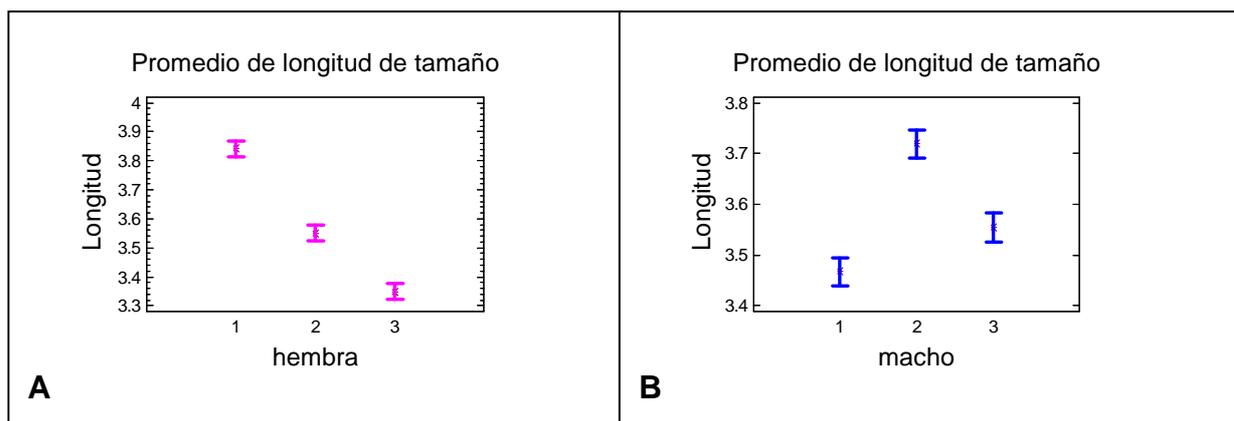


Figura 14: Promedio de longitudes de las progenies por hembra (A) y macho (B) de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en el control 1.

En este control la interacción de las tres hembras con los tres machos y viceversa, presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$). La hembra 1 (Figura 15) presentó las progenies más homogéneas con los tres machos mientras que las hembras 2 y 3 presentaron progenies heterogéneas. En los machos, el macho 2 presentó progenies de tamaño semejante con las tres hembras. Asimismo el macho 3 presentó la progenie de mayor tamaño con la hembra 1 y la más pequeña con la hembra 3.

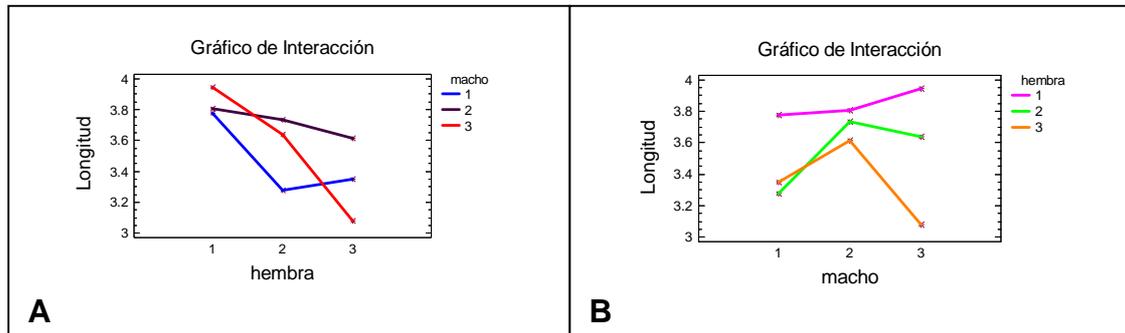


Figura 15: Gráfico de Interacción del efecto Hembra-Macho, por hembra (A) y por macho (B) en base a la longitud total en el control 1 de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*.

En el control 2 (5 dpf), observamos un efecto significativo ($p < 0,05$) de la hembra sobre el crecimiento de la progenie. Sin embargo al analizar el efecto macho y la interacción de ambos no se observó diferencias significativas (Tabla 19). Por lo tanto al comparar la descendencia de las tres hembras con los tres machos y los tres machos con las tres hembras, sólo observamos diferencias significativas dentro de las progenies agrupadas por hembra. La hembra 1 presentó la progenie de mayor tamaño y la hembra 3 fue la que presentó la progenie mas pequeña (Figura 16). Asimismo, no se observó interacción de las hembras con los machos y viceversa. (Figura 17)

Tabla 19: Análisis multivariado del efecto de la hembra, macho e interacciones de ambos en el crecimiento de la progenie de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en el control 2. Suma de cuadrados tipo III. Los F-ratios están basados en el error cuadrático medio residual.

Fuente	Suma cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-ratio	P-valor
A: Hembra	1,68	2	0,84	7,75	0,004
B: Macho	0,11	2	0,05	0,49	0,623
Interacciones: AB	0,80	4	0,20	1,83	0,166
Residuos	1,95	18	0,11		
Total	4,53	26			

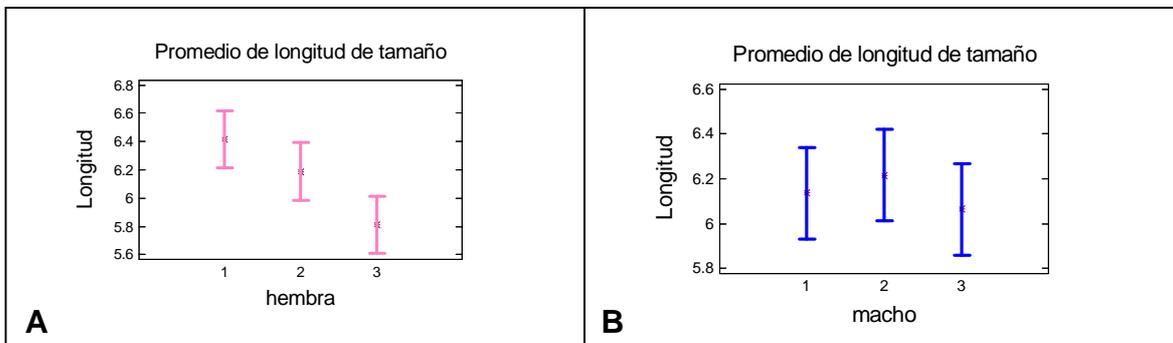


Figura 16: Promedio de longitudes de tamaño de las progenies por hembra (A) y por macho (B) de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en el control 2.

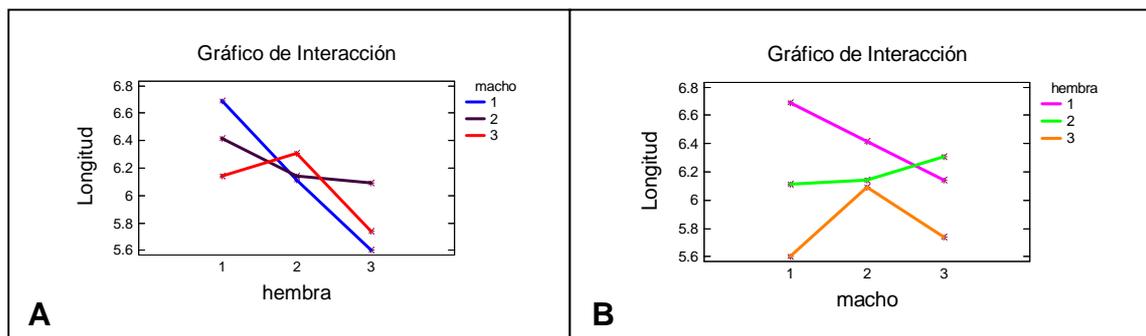


Figura 17: Gráfico de Interacción del efecto Hembra-Macho por hembra (A) y por macho (B) en base a la longitud total en el control 2 de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*.

En el control 3 (9 dpf), no se encontró diferencia significativa ($p < 0,05$) en el crecimiento de la progenie entre hembras, machos e interacción de ambos (Tabla 20). Observándose que la descendencia de cada uno de ellos presentó similar crecimiento, es decir forman un único grupo homogéneo. (Figura 18 y 19).

Tabla 20: Análisis multivariado del efecto de la hembra, macho e interacciones de ambos en el crecimiento de la progenie de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en el control 3. Suma de cuadrados tipo III. Los F-ratios están basados en el error cuadrático medio residual.

Fuente	Suma cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-ratio	P-valor
A: Hembra	0,33	2	0,17	0,54	0,590
B: Macho	0,34	2	0,17	0,56	0,583
Interacciones: AB	2,91	4	0,73	2,37	0,091
Residuos	5,52	18	0,31		
Total	9,10	26			

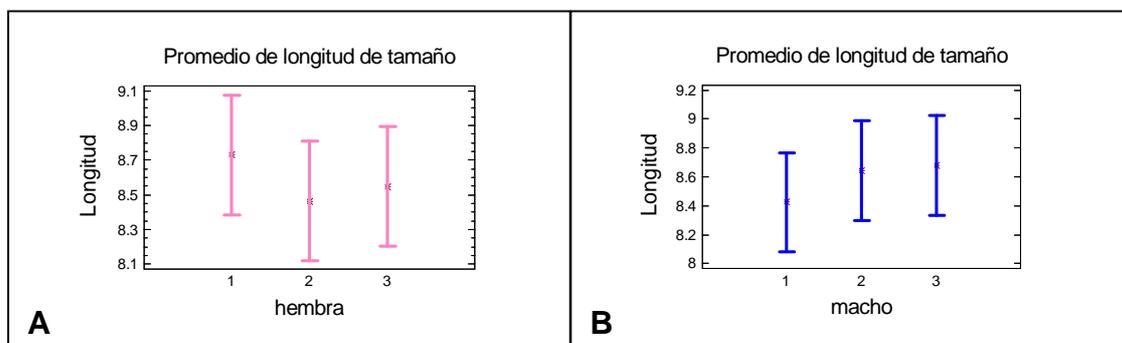


Figura 18: Promedio de longitudes de tamaño de las progenies por hembras (A) y macho (B) de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en el control 3.

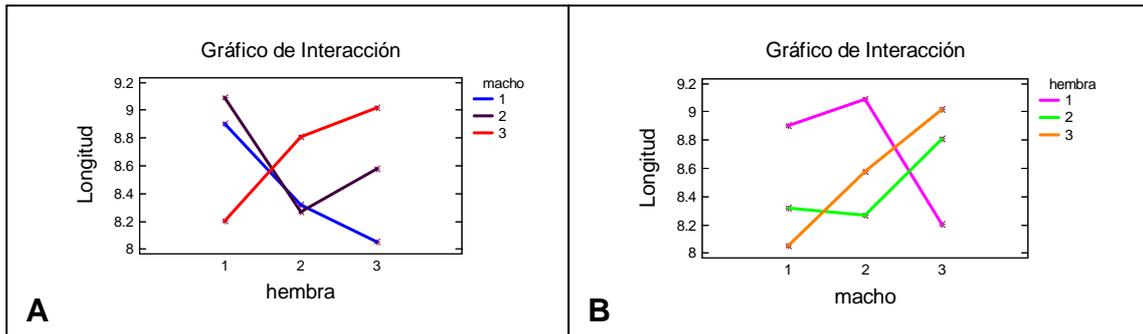


Figura 19: Gráfico de Interacción del efecto Hembra-Macho por hembra (A) y por macho (B) en base a la longitud total en el control 3 de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*.

En el control 4 (17 dpf), solamente se observó un efecto significativo ($p < 0,05$) de los machos y de la interacción macho x hembra en el crecimiento de la descendencia, mas no así en la de las hembras. Por lo tanto las hembras forman un solo grupo homogéneo y los machos forman dos grupos, un primer grupo conformado solo por el macho uno y un segundo conformado por el macho dos y tres (Tabla 21 y Figura 20)

Tabla 21: Análisis multivariado del efecto hembra, macho e interacciones de ambos en el crecimiento de las progenies de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en el control 4. Suma de cuadrados tipo III. Los F-ratios están basados en el error cuadrático medio residual.

Fuente	Suma cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-ratio	P-valor
A: Hembra	3,29	2	1,64	1,62	0,224
B: Macho	61,16	2	30,58	30,23	<0,001
Interacciones: AB	67,17	4	16,79	16,60	<0,001
Residuos	18,21	18	1,01		
Total	149,83	26			

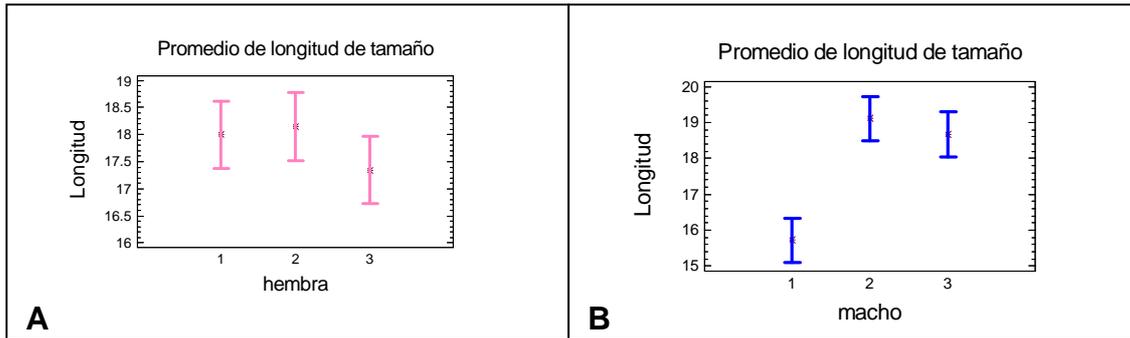


Figura 20: Promedio de longitudes de tamaño de las progenes de hembras y machos de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en el control 4.

En este control, observamos variaciones de crecimiento e interacciones de las tres hembras con los tres machos y viceversa. En los machos, el que presentó la progenie de mayor tamaño fue el macho 2 con la hembra 2 (Figura 21).

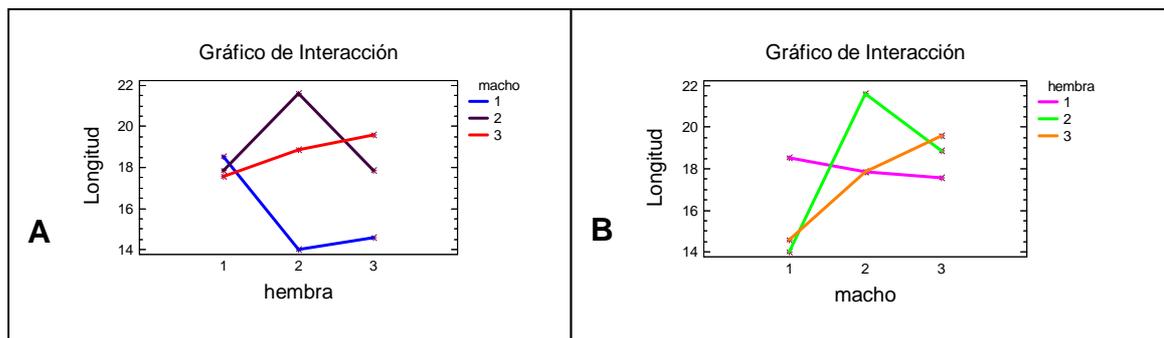


Figura 21: Gráfico de Interacción del efecto Hembra-Macho por hembra (A) y por macho (B) en base a la longitud total en el control 4 de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*.

En contraste al control 4, en el control 5 (26 dpf) observamos que sólo las hembras presentan diferencia significativa ($p < 0,05$) en el crecimiento de sus progenes (Tabla 22). Observándose la formación de dos grupos homogéneos, un grupo formado por las hembras 1 y 3 y otro grupo formado solo por la hembra 2 (Figura 22 A). En tanto que la progenie de los machos forma un solo grupo (Figura 22 B). No se observó diferencia significativa en la interacción de hembras y machos respecto a la longitud total. (Figura 23).

Tabla 22: Análisis multivariado del efecto en el crecimiento de la hembra, macho e interacciones de ambos en el control 5 de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*. Suma de cuadrados tipo III. Los F-ratios están basados en el error cuadrático medio residual.

Fuente	Suma cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-ratio	P-valor
A: Hembra	775,56	2	387,78	44,63	$p < 0,001$
B: Macho	23,68	2	11,84	1,36	0,281
Interacciones: AB	72,49	4	18,12	2,09	0,125
Residuos	156,40	18	8,69		
Total	1028,14	26			

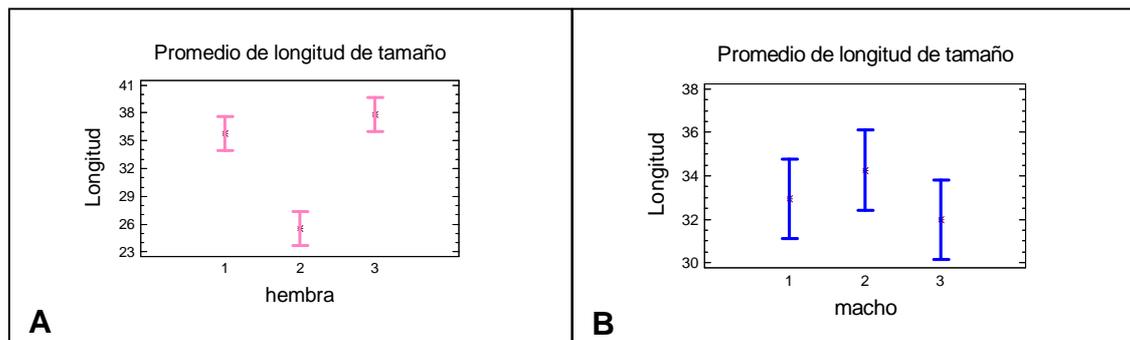


Figura 22: Promedio de longitudes de tamaño de las progenies de hembras y machos (A y B) de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* en el control 5.

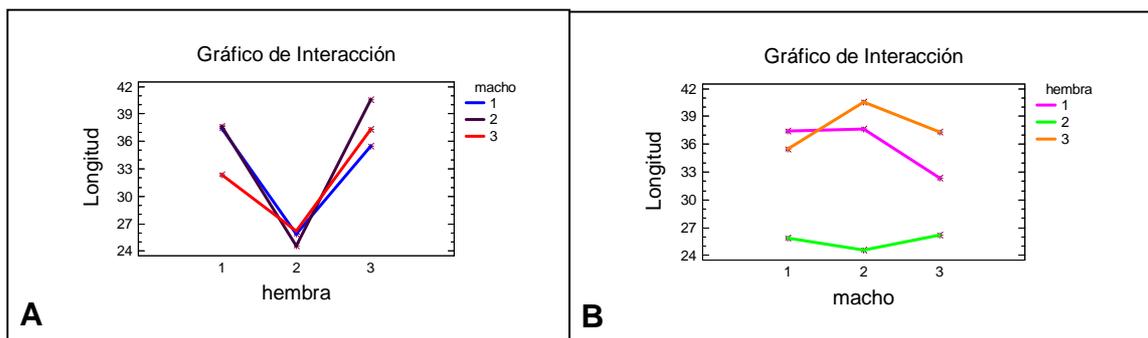


Figura 23: Gráfico de Interacción del efecto Hembra-Macho por hembra (A) y por macho (B) en base a longitud total en el control 5 de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*.

8.2.5 Viabilidad diferencial de las familias

Los resultados de ANOVA muestran que la viabilidad global entre las nueve familias presentan una ligera diferencia al 95% de significancia ($p=0,0242$). Sin embargo al comparar pares de familias mediante el test de Bonferroni encontramos diferencias no significativas entre ellas. Las familias que presentaron mayor porcentaje de supervivencia en los tres periodos de muestreo (Figura 24) son las F1, F3, F4 y F5. Al realizar la comparación de la supervivencia en pares de familias (Tabla 23) observamos que en el último periodo los niveles de significancia son mayores en algunos casos.

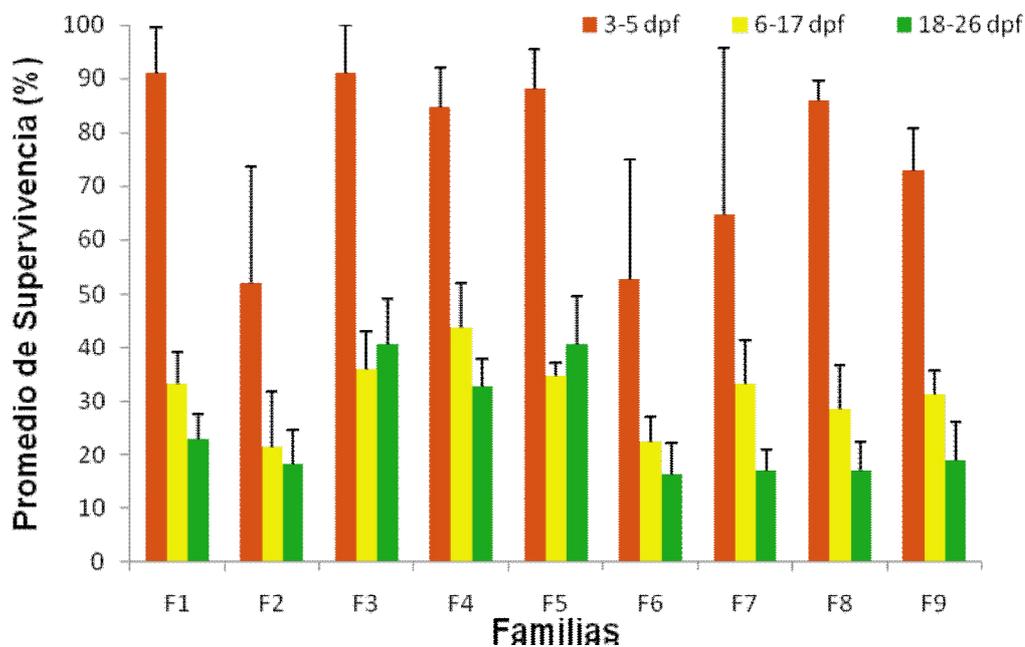


Figura 24: Porcentaje de supervivencia de las nueve familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* durante los tres periodos de cría (3-5 dpf, 6-17 dpf, 18-26 dpf). La línea sobre la barra representa la desviación estándar.

Tabla 23: Comparación estadística con el test de Bonferroni del porcentaje de supervivencia en los tres periodos (3-5 dpf, 6-17 dpf y 18-26 dpf) entre las nueve familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*, nivel de significancia * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ o *** $p < 0,001$.

		Supervivencia: 3-5 dpf									Supervivencia : 6-17 dpf									
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	
F1		.	-	-	-	-	-	-	-	-	F1	.	-	-	-	-	-	-	-	-
F2			.	-	-	-	-	-	-	-	F2		.	-	*	-	-	-	-	-
F3				.	-	-	-	-	-	-	F3			.	-	-	-	-	-	-
F4					.	-	-	-	-	-	F4				.	-	-	-	-	-
F5						.	-	-	-	-	F5					.	-	-	-	-
F6							.	-	-	-	F6						.	-	-	-
F7								.	-	-	F7							.	-	-
F8									.	-	F8								.	-
F9										.	F9									.

		Supervivencia 18-26 dpf								
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
F1		.	-	-	-	-	-	-	-	-
F2			.	*	-	*	-	-	-	-
F3				.	-	-	**	**	**	*
F4					.	-	-	-	-	-
F5						.	**	**	***	*
F6							.	-	-	-
F7								.	-	-
F8									.	-
F9										.

Al evaluar el efecto hembra-macho e interacción de ambos sobre la supervivencia de las progenies, en el periodo de 3-5 dpf, solo observamos un efecto significativo en la interacción, en cambio en el periodo de 6-17 dpf se observa un efecto macho e interacción y en el último periodo se observa un efecto hembra e interacción (Tabla 24).

Tabla 24: Análisis multivariado del efecto hembra, macho e interacciones de ambos en la supervivencia en los tres periodos (3-5 dpf, 6-17 dpf y 18-26 dpf) de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*. Suma de cuadrados tipo III. Los F-ratios están basados en el error cuadrático medio residual.

	Fuente	Suma cuadrado	G. L	Cuadrado medio	F-ratio	P-valor
3-5 dpf	A: Hembra	58,15	2	29,07	0,12	0,891
	B: Macho	280,32	2	140,16	0,56	0,582
	Interacción AB	5751,32	4	1437,83	5,72	0,004
	Residuos	4525,04	18	251,39		
	Total	10614,04	26			
6-17 dpf	A: Hembra	61,00	2	30,50	0,63	0,546
	B: Macho	364,47	2	182,23	3,74	0,044
	Interacción AB	699,38	4	174,85	3,59	0,026
	Residuos	877,71	18	48,76		
	Total	2002,56	26			
18-26 dpf	A: Hembra	748,07	2	374,04	9,03	0,001
	B: Macho	7,41	2	3,70	0,09	0,915
	Interacción AB	1756,15	4	39,04	10,60	0,000
	Residuos	745,33	18	41,41		
	Total	3256,96	26			

8.2.6 Heterocigosidad de los reproductores

Los grados de heterocigosidad (Tabla 25) encontrados para las hembras variaron de 0,330 a 0,670. En tanto que para los machos de 0,500 a 0,830.

Tabla 25: Genotipo de los reproductores de la doncella y grado de heterocigosidad.

Código	Pcor 1	Pcor 2	Pcor 5	Pcor 7	Pcor 8	Pcor 10	H. Observada
H1	104 104	215 223	141 151	249 253	169 169	146 156	0,670
H2	116 118	223 223	147 149	245 245	169 169	146 156	0,500
H3	104 104	221 227	149 161	229 229	169 169	156 156	0,330
M1	110 112	217 229	131 145	247 247	175 185	146 156	0,830
M2	112 112	217 221	145 151	247 247	181 183	156 156	0,500
M3	112 112	217 219	145 149	229 251	169 175	156 156	0,670

8.2.7 Heterocigosidad de las familias

Los resultados de heterocigosidad simulados (Tabla 26) para las nueve familias evaluadas varían de 0,652 (F9) a 0,928 (F1).

Tabla 26: Heterocigosidad de las nueve familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*.

FAMILIAS	HETEROCIGOSIDAD
F1	0,928
F2	0,862
F3	0,837
F4	0,923
F5	0,900
F6	0,802
F7	0,912
F8	0,787
F9	0,652

Al comparar los grados de heterocigosidad entre las familias encontramos (al igual que en familias comunales) diferencias significativas entre ellas (Tabla 27). Estas diferencias nos permitieron identificar la existencia de cuatro grupos. El primer grupo estaría conformado por las familias F1, F4, F5, F7; con heterocigosidades \geq a 0,900; el segundo grupo estaría conformado por las familias F2, F3, F6 con heterocigosidades $>$ a 0,800 y $<$ a 0,900. En tanto que el tercer y cuarto grupo estarían conformados por las familias 8 (H = 0,787) y 9 (H = 0,652) respectivamente.

Tabla 27: Comparación de los grados de heterocigosidad observados de las nueve familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* a un nivel de significancia *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$ o * $P < 0,05$. Las estrellas significan que hay diferencia significativa con la prueba Chi cuadrado.

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
F1	.	P< 0,001	P< 0,001	P= 0,741	P= 0,798	P< 0,001	P= 0,287	P< 0,001	P< 0,001
F2	***	.	P=0,226	P< 0,001	P= 0,040	P= 0,006	P= 0,006	P= 0,006	P< 0,001
F3	***	-	.	P< 0,001	P= 0,001	P= 0,115	P< 0,001	P= 0,027	P< 0,001
F4	-	***	***	.	P= 0,154	P< 0,001	P= 0,463	P< 0,001	P< 0,001
F5	-	*	***	-	.	P< 0,001	P= 0,489	P< 0,001	P< 0,001
F6	***	**	-	***	***	.	P< 0,001	P< 0,001	P< 0,001
F7	-	**	***	-	-	***	.	P< 0,001	P< 0,001
F8	***	**	*	***	***	***	***	.	P< 0,001
F9	***	***	***	***	***	***	***	***	.

8.2.8 Indicador de diferencia máxima

Como se observó en la Figura 10, los tres primeros controles no presentan crecimiento diferencial entre sus progenies. La diferencia en cuanto a la longitud total solo se observó a partir del control 4. En este control (Tabla 28), solo la familia F8 presenta un indicador de diferencia máxima de 2,07, lo cual indica que dentro de esta familia hay presencia de posibles caníbales (jumpers). Se observa también que la familia 9 presenta una progenie con tamaños muy cercanos a los jumpers (1,97).

Tabla 28: Índice de diferencia máxima de tamaño de las nueve familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* a 17 dpf (control 4).

Control 4 Familias	Rango de		Promedio	Desv. Estándar	C.V. (%)	Indicador de diferencia máxima de tamaño
	Mínimo	Máximo				
Familia 1	13,72	22,34	18,54	2,12	11,4	1,63
Familia 2	14,48	23,38	17,86	2,33	13,1	1,61
Familia 3	13,37	22,56	17,58	2,54	14,5	1,68
Familia 4	10,49	18,89	14,00	1,99	14,2	1,80
Familia 5	18,54	25,71	21,58	1,981	9,2	1,39
Familia 6	16,00	21,90	18,84	1,672	8,9	1,37
Familia 7	10,74	20,38	14,56	2,32	15,9	1,90
Familia 8	13,80	28,52	18,23	3,33	18,3	2,07
Familia 9	13,93	27,48	19,58	3,25	16,6	1,97

A partir del control 5, todas las familias presentan un indicador superior a 2. Así mismo se observa que la familia 1 presenta el mayor indicador de diferencia máxima de tamaño, en cuanto que las familia 7 el menor (Tabla 29).

Tabla 29: Índice de diferencia máxima de tamaño de las nueve familias de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* a 26 dpf (control 5).

Control 5 Familias	Rango de Variación		Promedio	Desv. Estándar	C.V. (%)	Indicador de diferencia máxima de tamaño
	Mínimo	Máximo				
Familia 1	16,97	50,26	37,40	8,61	23,0	2,96
Familia 2	23,16	58,05	37,82	9,21	24,4	2,51
Familia 3	16,23	43,64	32,38	6,02	18,6	2,69
Familia 4	15,75	40,49	25,91	6,51	25,1	2,57
Familia 5	14,33	37,27	24,54	7,10	28,9	2,60
Familia 6	15,74	39,78	26,34	10,02	38,1	2,53
Familia 7	23,43	48,80	35,37	7,74	21,9	2,08
Familia 8	21,90	57,31	40,46	9,29	23,0	2,62
Familia 9	22,04	58,57	37,24	11,46	30,8	2,66

8.2.9 Relación entre la heterocigosidad, crecimiento y viabilidad

La Figura 25, muestra que el crecimiento de la progenie y la heterogeneidad son muy variables a partir de alevines de 17 dpf, no existiendo correlación entre las mismas. Esta misma tendencia es observada al relacionar la supervivencia con la heterocigosidad (Figura 26).

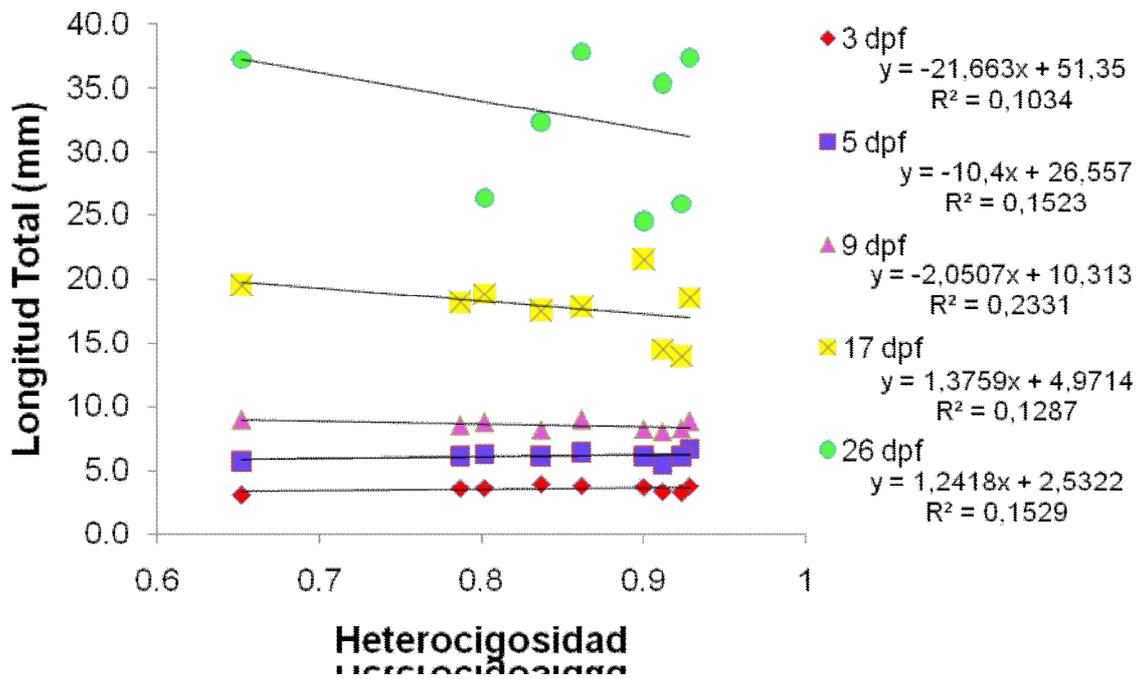


Figura 25: Regresión lineal de la heterocigosidad vs longitud total en los 5 controles (3 dpf, 5 dpf, 9 dpf, 17 dpf, 26 dpf) de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*.

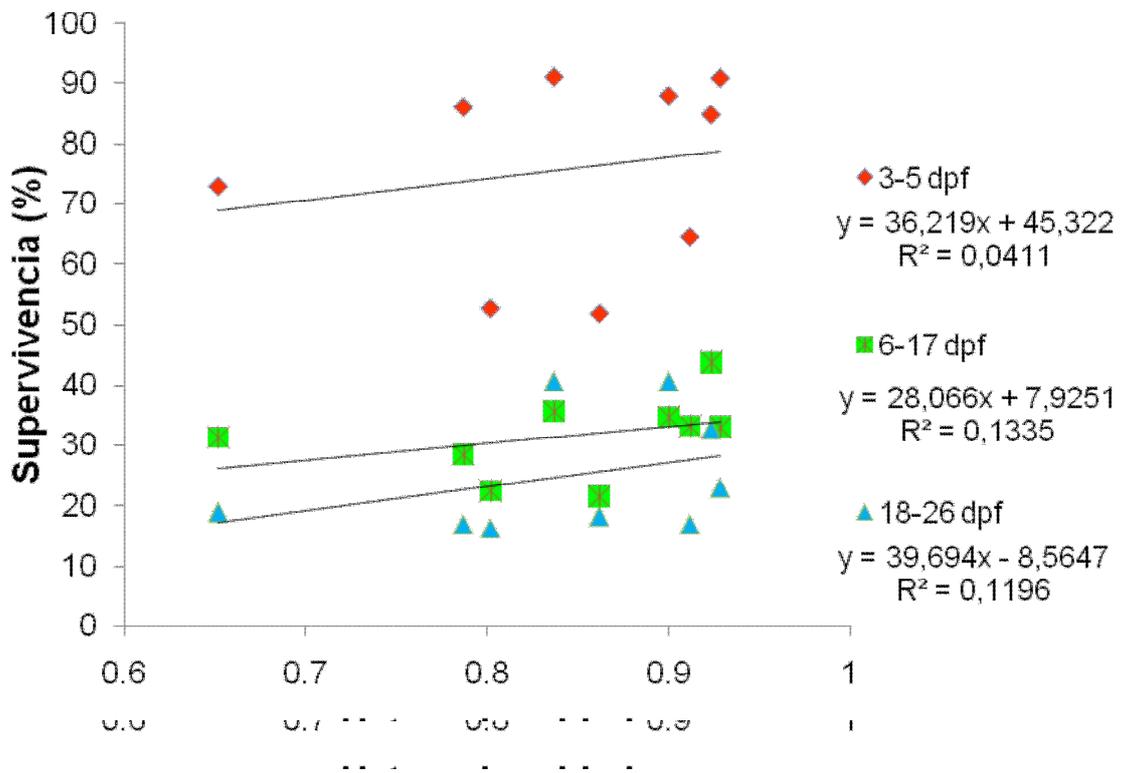


Figura 26: Regresión lineal de la heterocigosidad vs supervivencia entre periodos de muestreo (3-5 dpf, 6-17 dpf, 18-26 dpf) de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*.

IX. DISCUSIÓN

10.1 Influencia de los efectos parentales en el crecimiento y supervivencia de la progenie

Los reproductores pueden influir en el crecimiento y supervivencia de su progenie, mediante efectos genéticos y no genéticos. Los efectos genéticos involucran la transferencia de genes de los padres a la progenie (Miles *et al.*, 2007). Esto está relacionado con los efectos paternos a través de la transmisión del ADN de los espermatozoides (Bang *et al.*, 2006). Los efectos no genéticos están relacionados a factores maternos, propagados a través de las características del huevo (transmisión de éstas características a la progenie) y en donde generalmente los efectos paternos no son considerados (Chambers & Leggett, 1996). A consecuencia de esto, existen reportes que los efectos maternos tienen influencia significativa en el tamaño del huevo en numerosas especies de peces marinos como *Symphodus roissali*, tordo, y *Clupea harengus*, arenque (Blaxter & Hempel, 1963; Raventos & Planes, 2008). Asimismo, se conoce que los efectos maternos tienen mayor influencia en la progenie que los efectos paternos debido a la diferencia en el tamaño de los gametos que ellos presentan (Bernardo, 1996). La variación fenotípica es producto de las influencias parentales y del medio ambiente (Probst *et al.*, 2006; Janhunen *et al.*, 2010). Por consiguiente la variación de las condiciones ambientales experimentadas por los padres podría afectar su condición corporal y el fenotipo de su progenie. Las madres podrían alterar el número, tamaño, energía contenida o la composición bioquímica de sus huevos dependiendo de la energía que ellos tienen disponible para invertir en sus progenes (Donelson, *et al.*, 2008).

Estudios previos han investigado los factores paternos y maternos en otras especies de peces (Panagiotaki & Geffen, 1992; Riveiro *et al.*, 2004; Bang *et al.*, 2006, Prost *et al.*, 2006, Ottesen & Babiak, 2007; Donelson *et al.*, 2008; Janhunen *et al.*, 2010). Sin embargo este es el primer trabajo que investiga la influencia de estos efectos en el desarrollo de vida temprana de *P. fasciatum* bajo dos situaciones: familias comunales y separadas.

10.1.2 Familias Comunes

Se conoce que el desarrollo y supervivencia de los huevos y larvas de peces son influenciados por factores nutricionales, genéticos y medio ambientales (Brooks *et al.*, 1997). Los efectos maternos y paternos influyen en la viabilidad de los huevos en diferente forma. Por ejemplo, la contribución materna es transferida por la cantidad y calidad del vitelo que presenta el huevo, que a su vez depende del estado nutricional de la hembra durante la vitelogénesis (Ottesen & Babiak, 2007). Panagiotaki & Geffen (1992) demostraron que el tamaño del huevo es usualmente relacionado con el tamaño de la larva a la eclosión. En esta experiencia, las cuatro familias provienen de una misma madre, por lo tanto no presentan diferencias a este nivel. La variación del volumen de saco vitelino no fue afectada por los padres. Por lo tanto podríamos inferir que el genotipo paterno no tiene influencia significativa sobre la utilización del saco vitelino durante la fase embrionaria de esta especie. Sin embargo los efectos paternos han sido demostrados en la historia de vida temprana de otras especies de peces como en la trucha (Mack, *et al.*, 2009), donde las familias se distinguen no solo por el volumen de saco vitelino sino también por el crecimiento. En nuestro estudio, la variación del tamaño de la progenie desde el 1 dpf (larvas) hasta los 26 dpf (juvenil), no fue diferenciada por los padres. Sin embargo Panagiotaki & Geffen (1992) demostraron que los efectos parentales influyen en el crecimiento de las larvas de *Solea solea*, y *Clupea harengus*. Asimismo, en este estudio no encontramos influencia paternal en las dimensiones de la cabeza (longitud y ancho), por lo tanto el padre no parece contribuir en las ventajas que podría adquirir su progenie sobre otros individuos cuando presenta una boca más grande. De esta experiencia podemos deducir que si bien el efecto paterno no tiene influencia sobre el metabolismo, el crecimiento y la morfología de la progenie hasta antes de los 26 dpf, podría tener influencia en la viabilidad de la misma. Las cuatro familias se distinguen por su viabilidad más no por el crecimiento. La familia que desaparece en el tercer control no mostró menor crecimiento en los dos controles anteriores.

La formación de dos grupos (en base a su viabilidad), durante el periodo de seguimiento refleja la diferencia en la estructura genética de las cuatro

familias. El grupo que muestra mayor viabilidad en el tiempo presenta heterocigosidades de 0,800 y 0,835. Esto podría indicar una alta compatibilidad entre la pareja de reproductores. Sin embargo, el grupo con menor viabilidad presenta heterocigosidades cercanas a 0,900 y 0,923, el cual a pesar de tener elevada heterocigosidad, podría indicar baja compatibilidad entre ellos. Esta suposición está apoyada por los resultados de la prueba Chi cuadrado donde la significancia de los datos depende de la interacción de la pareja de reproductores. Esto es una evidencia directa de la importancia de ambos reproductores en la historia de vida temprana de la progenie.

Asimismo, de nuestras observaciones podemos deducir que individuos que presentan un tamaño dos veces mayor que otros están más propensos a desarrollar el comportamiento caníbal. En esta experiencia, no se muestra contribución paternal en la formación de jumpers. Hasta los 26 dpf, observamos que las familias presentan individuos relativamente homogéneos, no existiendo grandes variaciones de tamaño que podrían influenciar o generar muertes por canibalismo.

Existe una correlación inversamente proporcional entre la heterocigosidad y la viabilidad de las familias. Esto podría reflejar que en el caso de las familias 1 y 3 se estarían cruzando reproductores con perfiles genéticos lejanos, lo cual atribuye una alta heterocigosidad pero a la vez baja capacidad de supervivencia (incompatibilidad parcial de dos genomas).

10.1.3 Familias separadas

Los efectos paternos sobre la historia de vida temprana en los peces podrían estar enmascarados por los efectos maternos pudiendo así aparecer menos importantes (Rideout *et al.*, 2004). Sin embargo nuestros resultados muestran que mientras el efecto materno tiene una gran influencia, el efecto paterno presenta diferencias significativas en la historia de vida temprana de esta especie. Debido al diámetro semejante que presentaron los huevos de las tres hembras, observamos pocas variaciones entre las nueve familias a la eclosión. En la tasa de eclosión seis familias tuvieron similar éxito (F1, F2, F3, F4, F5 y F6),

tres tuvieron bajo éxito (F7, F8 y F9), resultando ser la peor la familia 9. El bajo éxito en la eclosión podría originarse por una cierta incompatibilidad entre la pareja de reproductores. Estos datos están apoyados en los tests de Bonferroni donde el mayor efecto significativo depende de la interacción de los padres. A pesar de esto, las familias F7, F8 y F9 (hembra 3) resultaron tener la progenie de mayor tamaño a los 26 dpf.

Por otro lado, el porcentaje de larvas anormales fue bajo para las familias F4, F5, F6 (hembra 2); F7, F8, F9 (hembra 3) y elevado para las familias F1, F2 y F3 (hembra 1). Sin embargo esta característica no influye en el crecimiento de las familias de la hembra 1. La hembra 2 tiene bajo porcentaje de larvas anormales y elevado éxito en la eclosión, sin embargo al final del periodo de seguimiento resultó ser la peor hembra. Por lo tanto podríamos deducir que el porcentaje de eclosión y larvas anormales no son buenos indicadores a estos niveles de variación para predecir el crecimiento en familias de *Pseudoplatystoma fasciatum*.

La longitud total hasta el control 3, varía ligeramente, pero estas diferencias son significativas. Estas variaciones según Saillant *et al.* (2001) se atribuyen a que existe un efecto hembra, macho e interacción de ambos, los cuales van a influir sobre el crecimiento de la progenie. Entre los 3 a 5 dpf, la progenie de la hembra 3 es la más pequeña y la progenie de la hembra 1 es la más grande. Sin embargo, al final del periodo de seguimiento estas dos hembras son las que tuvieron mejor desempeño en el crecimiento en longitud total. Por lo tanto podríamos mencionar que el tamaño inicial dentro de las variaciones observadas no presenta correlación con el crecimiento a 26 dpf. En este periodo las familias se alimentaron solo con nauplios de artemia, por este motivo las progenies no presentaron gran variación en crecimiento ya que este alimento vivo es consumido fácilmente por todas las larvas de bagres. A partir del control 4 observamos que las variaciones se van acentuando y más aún en el control 5. En este periodo las familias cambiaron progresivamente de alimento, entre 10 y 14 dpf, la artemia siendo reducida progresivamente mientras que el alimento micro-particulado se fue incrementando en paralelo. Posteriormente entre 15 y 26 dpf, las familias fueron adaptadas al alimento peletizado. Por lo tanto estas variaciones que presentan en estos periodos podría deberse en parte a la

capacidad de adaptación propia de cada familia en aceptar el alimento proporcionado. La familia F5 presentó el mayor éxito en el crecimiento hasta el control 3, pero al final del experimento (control 5) resultó ser la más pequeña. Esto indica probablemente su baja capacidad de adaptación al alimento peletizado.

Al final del periodo de seguimiento, encontramos la formación de dos grupos, los cuáles probablemente se constituyeron según el grado de compatibilidad que existe entre sus progenitores y también según la capacidad de adaptación que presentan al alimento. El primer grupo formado por las familias de las hembras 1, 3 y el segundo grupo formado por las familias de la hembra 2. Por otro lado la interacción parental significativa podría indicar un cierto grado de incompatibilidad entre los padres (Probst *et al.*, 2006). Esta interpretación es apoyada por los resultados de los ANOVAs donde la significancia materna o paterna depende de la combinación de las parejas. Esto es una evidencia indirecta de la importancia de ambos reproductores en la historia de vida temprana de la prole. Si el efecto hembra es significativo con un macho y no con otro, entonces el efecto macho obviamente influye en la historia de vida temprana (Probst *et al.*, 2006). Por lo tanto la velocidad de crecimiento en familias de *Pseudoplatystoma fasciatum*, podría estar influenciada por factores nutricionales, genéticos y no genéticos.

La supervivencia fue baja en relación a la obtenida por Núñez *et al.*, 2008. Esto también podría indicar la baja capacidad de adaptación al alimento micro-particulado y paletizado y en cierto grado al esquema rápido de cambio de alimento. Posiblemente esto originó hambre en las familias en periodos cortos, induciendo una elevada mortalidad al que se sumó el comportamiento caníbal por las variaciones de tamaño dentro de cada familia. Este comportamiento caníbal en *P. fasciatum* fue descrito también por Kossowski en 1996. A partir del control 4, al parecer las larvas no podían digerir el alimento (1 mm aprox.), estas regurgitaban parcialmente el alimento, el cuál al hundirse se hidrataba y de esa forma era consumido posteriormente por algunas larvas. Por tal motivo, en este periodo posiblemente se incrementó la mortalidad y comenzaron a aparecer los jumpers en la familia 8 ya que el rápido crecimiento de jumpers podría ser

influenciado por el canibalismo intra-cohorte (Baras & Jobling, 2002). Por lo tanto la supervivencia no solamente está influenciada por la interacción inicial de los reproductores sino también por factores nutricionales.

En el control 4, 7 familias presentan un Coeficiente de Variación (C.V.) mayor del 10% y solo la familia 8 presenta el mayor indicador de diferencia máxima de tamaño, estas variaciones también podrían estar relacionadas con la baja capacidad de adaptación al alimento lo cual genera un crecimiento heterogéneo dentro de cada familia. La familia 8, por presentar individuos cuyo tamaño es dos veces mayor que los otros, es la más susceptible a que sus individuos desarrollen el comportamiento caníbal. En el control 5, todas las familias presentan esta posibilidad, por lo cual se puede concluir que en este estudio el canibalismo no depende de manera importante de factores genéticos parentales.

A pesar de observar diferencias significativas en los datos de heterocigosidad entre las familias, no existe correlación al relacionar la heterocigosidad con el crecimiento y la viabilidad. Solo se observa variaciones entre las familias sin relación con la heterocigosidad. Estas variaciones pueden deberse a factores genéticos o epigenéticos que no aún no hemos identificado.

10.2 Implicancias en la piscicultura

Evaluando las características que expresan las larvas de esta especie en dos situaciones diferentes podemos destacar que la mejor forma de criar larvas de *P. fasciatum* es evitar mezclar óvulos y espermatozoides de diferentes reproductores. De esta manera estaríamos minimizando las variaciones de tamaño, lo cual podría llevar a disminuir la supervivencia de las larvas por el comportamiento caníbal que podrían presentar las que alcanzan un tamaño dos veces mayor que otras. En tal caso se estaría sumando a la variabilidad intra-cohorte, la variabilidad inter-cohorte ambas generando un mayor C.V. y permitiendo alcanzar mas tempranamente un índice superior a 2, indicador de una situación favorable al canibalismo. Esta información se debería tomar en cuenta en los programas de mejoramiento en acuicultura.

Otra estrategia para programas de mejoramiento que se debería tener en cuenta es la consistencia del alimento peletizado para la etapa de levante, evitando que este sea de naturaleza muy dura. Por último al momento de elegir la pareja de reproductores evitar cruzar aquellos que tengan un nivel de incompatibilidad que pueda afectar algunos de los parámetros claves, como el % eclosión o de supervivencia. Estas estrategias de manejo permitirán mejorar el cultivo de esta especie en la Amazonía peruana.

CONCLUSIONES

El origen parental, influye significativamente en la viabilidad y crecimiento, lo cual genera heterogeneidad de tamaño en familias de *P. fasciatum*. Esta heterogeneidad trae como consecuencia el desarrollo del comportamiento caníbal en las larvas de mayor tamaño, el cual va depender de la interacción que tenga el pez con los otros peces o de factores nutricionales. Este efecto debería ser considerado sobre todo en familias criadas en situación comunal.

Las variaciones en el crecimiento que presentaron las familias durante el mes de cría nos refleja que algunas de las diferencias observadas se podrían originar en el genoma de la pareja de reproductores. Por lo tanto sería importante elegir reproductores que generan familias con una mayor tasa de crecimiento para realizar la fecundación. Sin embargo habrá que determinar si esta ventaja en el crecimiento en longitud se mantiene durante la fase de engorde.

RECOMENDACIONES

En futuras investigaciones se recomienda:

- Ampliar el diseño factorial para evaluar el comportamiento de un mayor número de familias y verificar si existe una influencia de la heterocigosidad sobre la viabilidad de las larvas.
- Realizar ensayos previos con mayor número de ítems alimentarios y distintos protocolos de adaptación para evaluar la capacidad de adaptación de las larvas a estos alimentos y evitar situaciones de estrés en el momento de la evaluación del crecimiento de las progenies de esta especie en cautiverio.
- Evitar el cultivo de familias diferentes en el mismo ambiente lo que puede inducir una variabilidad de tamaño propicia para el desarrollo del canibalismo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Atencio-García, V.; Zaniboni-Filho, E.; 2006. El canibalismo en la larvicultura de peces. *Revista Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 11:9-19.
- Bang, A.; Grokjaer, P.; Clemmesen, C.; Hoie, H. 2006. Parental effects on early life history traits of Atlantic herring (*Clupea harengus L.*) larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 334:51-63.
- Baras, E. 1999. Sibling cannibalism among juvenile vundu catfish *Heterobranchus longifilis* (Clariidae) under controlled conditions. I. Cannibalistic behaviour, prey selection and prey size-selectivity. *Journal of Fish Biology*, 54: 82-105.
- Baras, E.; d'Almeida, A. F. 2001. Size heterogeneity prevails over kinship in shaping cannibalism among larvae of sharptooth catfish *Clarias gariepinus*. *Aquatic Living Resources* 14: 251-256.
- Baras, E.; Jobling, M. 2002. Dynamics of intracohort cannibalism in cultured fishes. *Aquaculture research*, 33: 461–479.
- Baras, E. 2005. Minimización del canibalismo en especies de peces con larvas piscívoras: estrategias y éxitos con el carácido *Brycon moorei*. *Comunicaciones del Coloquio Internacional Biología de las poblaciones de peces de la Amazonía y Acuicultura*, Iquitos, Perú, pp 227-233.
- Barbarino, A.; Winemiller, K. O. 2003. Dietary segregation among large catfishes of the Apure and Arauca Rivers. *Fish Biol.* 63: 410-427.
- Barthem, R.; M, Goulding, 1997, *The catfish connection, Ecology, Migration, and Conservation of Amazon Predators*. New York, USA, 144 pp,
- Bernardo, J. 1996. The particular maternal effect of propagule size, especially egg size: patterns, models, quality of evidence and interpretation. *American Zoologist* 36:216–236.

- Blaxter, J. H. S.; Hempel, G. 1963. The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus*). J. Cons. Int. Explor. Mer 28:221–240.
- Borrell, Y.; Alvarez, J.; Vásquez, E.; Sanchez, J.A.; Fernandez-Pato, C.; Martínez-Tapia, C.; Blanco, G. 2002. Aplicación de marcadores microsatélites a los programas de cultivo del roballo *Scophthalmus maximus* (L., 1758). Instituto Español de Oceanografía 18 (1-4): 203-209.
- Brito, M. F. G.; Bazzoli, N. 2003. Reproduction of the Surubim Catfish (Pisces, Pimelodidae) in the São Francisco river Pirapora, region Minas Gerais , Brazil. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e zootenica 55 (5): 624-633.
- Brooks, S.; Tyler, C.R.; Sumpter, J.P. 1997. Egg quality in fish; what makes a good egg? Rev. Fish Biol. Fish. 7, 387–416.
- Buitrago-Suárez, U. A. 2006. Anatomía comparada y evolución de las especies de *Pseudoplatystoma*, Bleeker 1862 (Siluriformes, Pimelodidae). Zoología. 30(114): 117-141.
- Buitrago-Suárez, U. A.; Burr, V.; 2007. Taxonomy of the catfish genus *Pseudoplatystoma*, Bleeker (Siluriformes, Pimelodidae), with recognition of eighth species. Zootaxa. 1512: 1-38.
- Burgess, W. E. 1989. An atlas of freshwater and marine catfishes: a preliminary survey of the Siluriformes. Neptune City. N. Jersey.
- Castelnau, F. L. 1855. Poissons. In: Animaux nouveaux or rares recueillis pendant l'expédition dans les parties centrales de l'Amérique du sud de Rio de Janeiro a Lima, et de Lima au para; Exécutée par ordre du gouvernement Français Pendant les Années 1843 a 1847. Part 7, Zoology 2, i-xii + 1-112, 50pls.
- Castro, J.; Bouza, C.; Presa, P.; Pino-Querido, A.; Rianza, A.; Ferreira, I.; Sánchez, L.; Martínez, P. 2004. Potencial sources of error in parentage assessment of turbot (*Scophthalmus maximus*) using microsatellite loci. Aquaculture 242:119-135.
- Castro, J.; Pino, A.; Herminda, M.; Bouza, C.; Rianza, A.; Ferreira, I.; Sánchez, L.; Martínez, P. 2006. A microsatellite marker tool for parentage analysis in Senegal sole (*Solea senegalensis*): Genotyping errors, null alleles and conformance to theoretical assumptions. Aquaculture: 261:1194-1203.

- Chambers, R.C.; Leggett, W.C. 1996. Maternal influences on variation in egg sizes in temperate marine fishes. *Am. Zool.* 36, 180–196.
- Chakraborty, R.; Meagher, T.; Smouse, P. E. 1988. Parentage analysis with genetic markers in natural populations I. The expected proportion of offspring with unambiguous paternity. *Genetics* 118: 527-536.
- Contreras, P. & Contreras, J. 1989. Resultados preliminares de la reproducción inducida del bagre rayado, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766). Proyecto estación piscícola San Silvestre. *Inderena Barrancabermeja*. 13-21p.
- DeWoody, J.A.; Avise, J.C. 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Fish Biology* 56: 461-473.
- Deza S.; Bazán R.; Culquichicón Z. 2005. Biología y pesquería de *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766; Pisces), doncella, en la región Ucayali. *Folia amazónica*. 14 (2) IIAP.
- Díaz-Olarte, J. J.; Cruz-Casallas, N. E.; Marciales-Caro, L. J.; Medina-Robles, V. M.; Cruz-Casallas, P. E. 2009. Efectos de la densidad de siembra y disponibilidad de alimento sobre el desarrollo y sobrevivencia de larvas de *Pseudoplatystoma fasciatum*. *Orinoquia* 13 (1): 21-30.
- Donelson, J. M.; Munday, P. L.; McCormick, M. I. 2009. Parental effects on offspring life histories: when are they important?. *Marine Biology* 5: 262-265.
- Donelson, J.M.; McCormick, M.I.; Munday, P.L. 2008. Parental condition affects early life-history of a coral reef fish. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 360:109-116.
- Doyle, J. J. ; Doyle J. L. 1987. A rapid ADN isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19:11-15.
- Dugué, R.; Corcuy, N.; Duponchelle, F.; Renno, J.F.; Legendre, M.; Nuñez, J. 2005. Influencia del fotoperiodo y del ritmo de alimentación sobre la sobrevivencia larval del surubí (*Pseudoplatystoma fasciatum*). *Comunicaciones del Coloquio Internacional. Biología de las poblaciones de Peces de la Amazonia y Piscicultura*, pp.199-204.

- Eilertsen, E. M.; Bardsen, B. J.; Liljedal, S.; Rudolfsen, G.; Folstad, I. 2009. Wxperimental evidence for paternal effects on offspring growth rate in Artic charr (*Salvelinus alpinus*). Proceedings of the Royal Society 276: 129-136.
- Garber, A. F.; Tosh, J.J.; Fordham, S. E.; Hubert, S.; Simpson, G.; Symonds, J.E.; Robinson, J. A. B.; Bowman, S.; Trippel, E. A. 2010. Survival and growth traits at harvest of communally reared families of Atlantic cod (*Gardus morhua*). www.elsevier.com/locate/equa-online.
- Garcia, A., Montreuil, V.; Rodriguez, R. 2001. Talla de primera maduración y época de desove de la “doncella”, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linneus), y el “tigre zúngaro”, *Pseudoplatystoma tigrinum* (Valenciennes), en la Amazonía Peruana. En: Boletín do Museo Paraense Emilio Goeldi. Serie Zoológica Vol. 17 (1): 3-13.
- Garcia, A.; Tello, Salvador.; Vargas, G.; Duponchelle, F. 2009. Patterns of commercial fish landings in the Loreto region (Peruvian Amazon) between 1984 and 2006. Fish Physiol Biochem 35:53–67.
- Gervásio, A. F.; Hoshiba, M.A.; Senhorini, J. A.; Urbinati, E. C. 2008. Canibalismo em larvas de Matrinxa, *Brycon cephalus*, após imersao dos ovos a diferentes concentracoes de triiodotironina (T₃). B. Inst. Pesca 34 (2): 231-239.
- Gervásio, L.; Romagosa, E.; Borella, M.; Batlouni, S. 2004, Induced spawning of hatchery-raised Brazilian catfish, cachara *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766). Aquaculture 240: 451-461,
- Goulding, M. 1980. The fishes and the forest: Explorations in Amazonian natural history. University of California Press, Berkeley, CA, USA. 280 pp.
- Hecht, T.; Pienaar, A. G. 1993. A review of cannibalism and its implications in fish larviculture. Journal of the World Aquaculture Society. 24: 246–261
- Hench, T.; Appelbaum, S. 1988. Observations on intraspecific aggression and coeval sibling cannibalism by larva and juvenile *Clarias gariepinus* (Clariidae: Pisces) under controlled conditions. Zoology 214: 21-44.
- Herlin, M.; Delghandi, M.; Wesmajervi, M.; Taggart, J.B.; Mc Andrew, B. J.; Penman, D. J. 2008. Analysis of the parental contribution to a group of fry

- from a single day of spawning from a commercial Atlantic cod (*Gadus morhua*) breeding tank. *Aquaculture* 274:218-224.
- Janhunen, M.; Piironen, J.; Peuhkuriz, N. 2010. Parental effects on embryonic viability and growth in Arctic charr *Salvelinus alpinus* at two incubation temperatures. *Journal of Fish Biology* 76: 2558-2570.
- Kamler, E. 2005. Parent-egg-progeny relationships in teleost fishes: an energetic perspective. *Fish Biology and Fisheries* 15: 399-421.
- Kellogg, K. A.; Markert, J. A.; Stauffer, J. R.; Kocher, T. D. 1995. Microsatellite Variation Demonstrates Multiple Paternity in Lekking Cichlid Fishes from Lake Malawi, Africa. *The Royal Society* 260: 79-84.
- Kennedy, R.; Zaniboni, E. 2002. Larvicultura. Do Mandi-amarelo *Pimelodus manuculatus* Lacépède, 1803. (Siluriformes: Pimelodidae) em diferentes densidades de estocagem nos primeiros dias de de Vida. *R. Bras. Zootec.* 31(2): 560-565.
- Kestemont, P.; Jourdan, S.; Houbart, M.; Mélard, Ch.; Paspatis, M.; Fontaine, P.; Cuvier, A.; Kentouri, M.; Baras, E. 2003. Size Heterogeneity, cannibalism and competition in cultured predatory fish larvae: biotic and abiotic influences. *Aquaculture*. 227: 333-356.
- Kossowski, C, 1996, Perspective de L'élevage des poissons-chats (Siluroidei) en Amérique du Sud, *Aquat, Living Resour* 9 :189-195.
- Kossowski, C.; Madrid, F, 1985, Ensayo de la reproducción inducida en el bagre rayado cabezón *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus 1766) (Pisces, Siluriformes), *Acta Científica Venezolana* 36: 284-285.
- Lauzanne, L.; Loubens, G. 1985. Peces del rio Mamoré Collection travaux et documents. Orston –CORDEBENI –UTB N° 192: 65 pp.
- Lopes, M. C.; Freire, R. A. B.; Vicensotto, J. R. M. & Senhorini, J. A. 1996. Alimentação de larvas de *Pseudoplatystoma coruscans* “surubin pintado” (Agassiz, 1829), em laboratório, na primeira semana. *Bol. Tec. CEPTA. Pirassununga* 9: 11-21.

- Miles, C.M.; Hadfield, M.G.; Wayne, M.L. 2007. Heritability for egg size in the serpulid polychaete *Hydroides elegans*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 340, 155–162.
- Montalbán G. 2008. Ontogenia de la doncella, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), y su relación con la dinámica del canibalismo. Tesis para optar el título de ingeniero Pesquero, UNFV-FOPCA, Lima.
- Muñoz H, y Van Damme, 1998, Parámetro de reproducción de 4 especies de peces comerciales (*Pseudoplatystoma fasciatum*, *Ptigrinum*, *Colossoma macropomum* y *Piaractus brachypomum*) en la cuenca del río Ichilo (Bolivia), *Rev, Bol, de Ecología* Vol 4,
- Nuñez, J, 2009 Domesticación de nouvelles espèces d'intérêt piscicole en Amazonie, *Cah Agric*, vol, 18, n° 2-3, mars-juin 2009
- Nuñez, J.; Dugué, R.; Corcuy, N.; Duponchelle, F.; Renno, J.F.; Raynaud, T.; Hubert, N.; Legendre, M. 2008. Induced breeding and larval rearing of Surubí, *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus, 1766), from the Bolivian Amazon. *Aquaculture Research*, in press.
- Ottesen, O.H.; Babihat, I. 2007. Parental effects on fertilization and hatching success and development of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) embryos and larvae. *Theriogenology* 68: 1219-1227.
- Padilla, P., Alcántara, F.; Ismiño, R. 2001. Reproducción inducida de la doncella *Pseudoplatystoma fasciatum* y desarrollo embrionario – larval. *Folia Amazónica*, 12 (1-2): 141- 155. IIAP.
- Paller, M. H.; Lewis, W. M. 1987. Effects of diet on growth depensation and cannibalism among intensively cultured larval striped bass. *Progressive Fish-Culturist* 49: 270-275.
- Panagiotaki, P.; Geffen, A. J. 1992. Parental effects on size variation in fish larvae. *Journal of Fish Biology* 41: 37-42.
- Pereira, L. H. G.; Foresti, F.; Oliveira C. 2009. Genetic structure of the migratory catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae) suggests homing behavior. *Ecology of Freshwater Fish* 18: 215–225.

- Probst, W. N.; Kraus, G.; Rideout, R.M.; Trippel, E.A. 2006. Parental effects on early life history traits of haddock *Melanogrammus aeglefinus*. *Journal of Marine Science* 63: 224-234.
- Qin, J., Fast, A, W, 1996, Size and feed dependent cannibalism with juvenile snakehead *Channa striatus*, *Aquaculture* 144:313-320,
- Raventos, N.; Planes, S. 2008. Maternal size effects on early life traits of the temperate fish *Symphodus roissali*. *Aquatic Biology*. Vol 4: 1-6.
- Reid, S. 1983. La Biología de los Bagres Rayados *Pseudoplatystoma fasciatum* y *P. tigrinum* en la cuenca del río Apure, Venezuela. Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales Ezequiel Zamora. Serie: Prod. Agric. Año 1/No. 1/ Barinas, Diciembre de 1983.
- Revaldaves, E. 2005. Isolation and Characterization of Microsatellite loci in *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes:Pimelodidae) and Cross-species amplification. *Molecular Biology*. 5, 463-465.
- Rideout, R. M.; Trippel, E. A.; Litvak, M.K. 2004. Predicting haddock embryo viability based on early cleavage patterns. *Aquaculture* 230: 215-228.
- Riveiro, I.; Guisande, C.; Maneiro, I.; Vergara, A. R. 2004. Parental effects in the European sardine *Sardina pilchardus*. *Marine Ecology* 274: 225-234.
- Saillant, E.; Chatain, B.; Forstier, A.; Przybyla, C.; Fauvel, C. 2001. Parental influence on early development in the European sea bass. *Journal of Fish Biology*, 58: 1585-1600.
- Segura, L.; Hayashi, C.; De Souza, S.; Soares, C. 2004. Canibalismo entre larvas de Pintado, *Pseudoplatystoma corruscans*, cultivadas sob diferentes densidades de estocagem. *Acta Scientiarum Biological Sciences* 26(3): 299-302.
- Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.* 17: 6463– 6471.
- Tello, S.;García, A. 2009. La pesquería de grandes bagres en la región Loreto. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. 28 pp.
- Torrico, J. P.; Hubert, N.; Desmarais, E.; Duponchelle, F.; Núñez, J.; Montoya, J.; Garcia, C.; Carvajal, F.; Grajales, A.; Bonhomme, F.; Renno, J. F. 2009. Molecular phylogeny of the genus *Pseudoplatystoma* (Bleeker, 1862); Biogeographic and evolutionary implications, *Molecular Phylogenetics and Evolution* 51: 588-594.

**Anexo 1: Protocolo modificado de extracción de ADN para adultos de
doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*.**

1. Colocar aproximadamente 100 mg de aleta anal (cortados en pequeños trozos) en un microtubo conteniendo 1ml de buffer de extracción (CTAB 5%, NaCl 5M, EDTA 0.5M pH 8, Tris Base 1M). Agregar 10 µl de proteinasa K 10mg/ml y colocar el microtubo a 60°C por 24 horas.
2. Separar el material genómico, agregando 1 ml de cloroformo. Mezclar suavemente durante 5 min y centrifugar a 8 000 rpm por 5 min.
3. Pipetear 500 µl del sobrenadante y precipitar el ADN, agregando 750 µl de isopropanol frío. Colocar las muestras en el congelador por 2 horas. Centrifugar a 13 000 rpm por 15 min. Ud. debe visualizar una mancha muy pequeña (pelet) en el fondo del microtubo. Desechar la solución cuidadosamente.
4. Lavar el ADN total agregando 750 µl de etanol al 70%. Centrifugar a 13 000 rpm por 15 min. Desechar la parte líquida con cuidado de no perder el pelet (repetir este paso). Dejar secar el precipitado, por aproximadamente 5 horas, luego resuspender en 30 µl de agua milli-Q.

**Anexo 2: Protocolo modificado de extracción de ADN para larvas de
doncella *Pseudoplatystoma fasciatum*.**

1. Secar la muestra, cortar en pedacitos y colocar en un microtubo 2 ml que contiene 500 μ l. de solución buffer CTAB.
2. Agregar 5 μ l de proteinasa K 10 mg/ml y colocar el microtubo a 60°C toda la noche.
3. Agregar 500 μ l de cloroformo. Mezclar suavemente durante 5 min., centrifugar a 8 000 rpm por 5 min.
4. Tomar 400 μ l del sobrenadante y colocar en un nuevo microtubo de 1.5 ml.
5. Agregar 600 μ l de isopropanol frío. Mezclar suavemente durante 2 min. Colocar las muestras en el congelador por 2 horas.
6. Centrifugar a 13 000 rpm por 15 min. Se debe ver una mancha muy pequeña al fondo del microtubo (pelet).
7. Desechar la solución cuidadosamente.
8. Agregar 600 μ l de etanol al 70%. Centrifugar a 13 000 rpm por 15 min. Desechar la parte líquida con cuidado de no perder el pelet (repetir este paso)
9. Dejar secar el precipitado, colocando el microtubo en papel absorbente sobre el banco de trabajo.
10. Diluir el precipitado en 15 μ l de agua milli-Q.

**Anexo 3: Densidad y protocolo de alimentación para larvas de doncella
Pseudoplatystoma fasciatum de 3 a 26 dpf.**

		Días post fecundación (dpf)										
		3-5	6-9	10-13				14-17				18-26
Densidad inicial de larvas	3000	1500										90
	Tipo de comida (%)											
Artemia	100	80	60	40	20	-						
Alimento microparticulado	-	20	40	60	80	100	80	60	40	20	-	
Alimento peletizado	-						20	40	60	80	100	