

# MANUAL PRÁCTICO PARA EL CONTROL DE LA REPRODUCCIÓN DE PECES

Edición 20/04/2021



EMBAJADA  
DE ESPAÑA  
EN GUATEMALA



aecid



Cooperación  
Española  
CONOCIMIENTO/ LA ANTIGUA

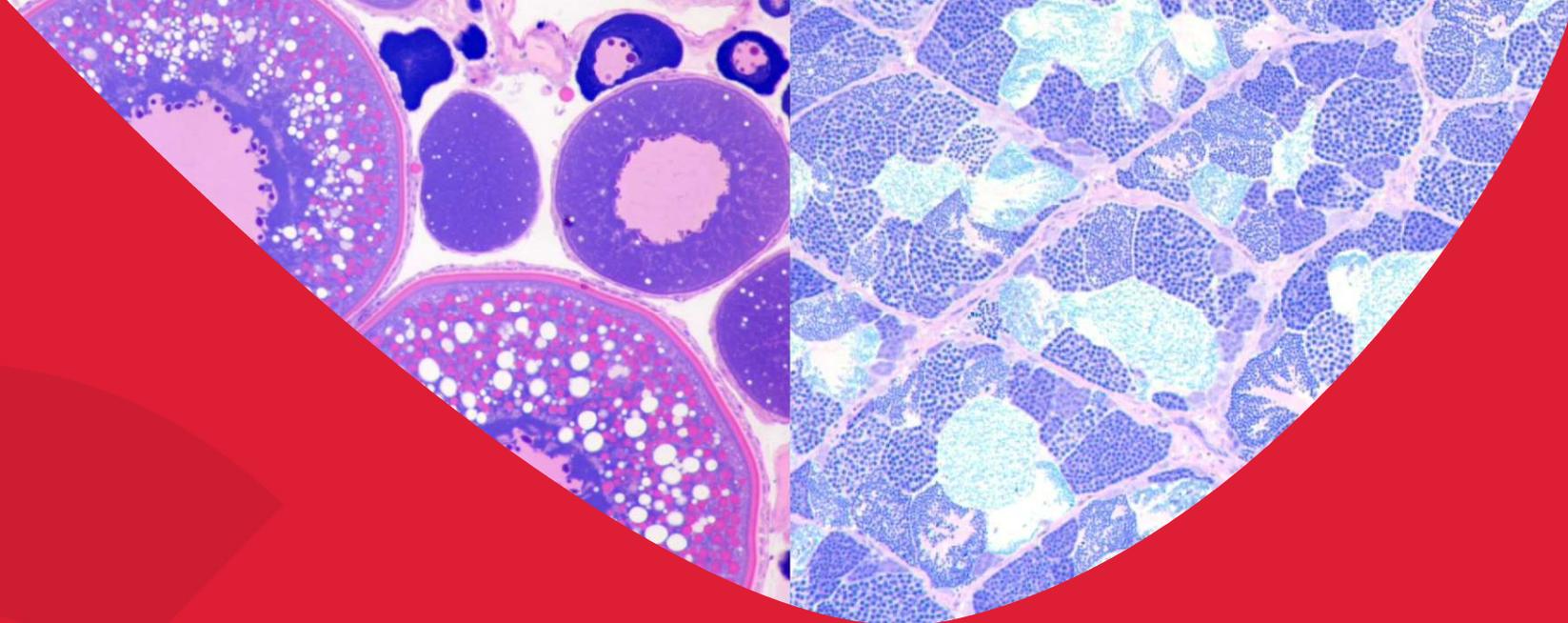


**CSIC**

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

# Contenidos del manual

- **Módulo A – Atlas de histología de la gametogénesis en peces – pag. 3**
  - » Ana Gómez Peris – a.gomez@csic.es
  - » Grupo de Fisiología de la Reproducción de Peces
  - » Instituto de Acuicultura Torre de la Sal (IATS-CSIC), Castellón, España
- **Módulo B – Control del sexo – pag. 16**
  - » Francesc Piferrer – piferrer@icm.csic.es
  - » Grupo de Biología de la Reproducción
  - » Instituto de Ciencias del Mar (ICM-CSIC), Barcelona, España
- **Módulo C – Procedimientos para el control de la maduración sexual y la pubertad de peces – pag. 34**
  - » Alicia Felip Edo – afelip@iats.csic.es
  - » Grupo de Fisiología de la Reproducción de Peces
  - » Instituto de Acuicultura Torre de la Sal (IATS-CSIC), Castellón, España
- **Módulo D – Estrategias para la conservación de recursos genéticos de peces – pag. 48**
  - » María Paz Herráez Ortega – paz.herraez@unileon.es
  - » Grupo de Investigación en Modelos Celulares (ModCell-ULE)
  - » Universidad de León, León, España



# ATLAS DE HISTOLOGÍA DE LA GAMETOGÉNESIS EN PECES

Ana Gómez Peris. Fotografía: Silvia Zanuy Doste.

Edición 20/04/2021



EMBAJADA  
DE ESPAÑA  
EN GUATEMALA



aecid



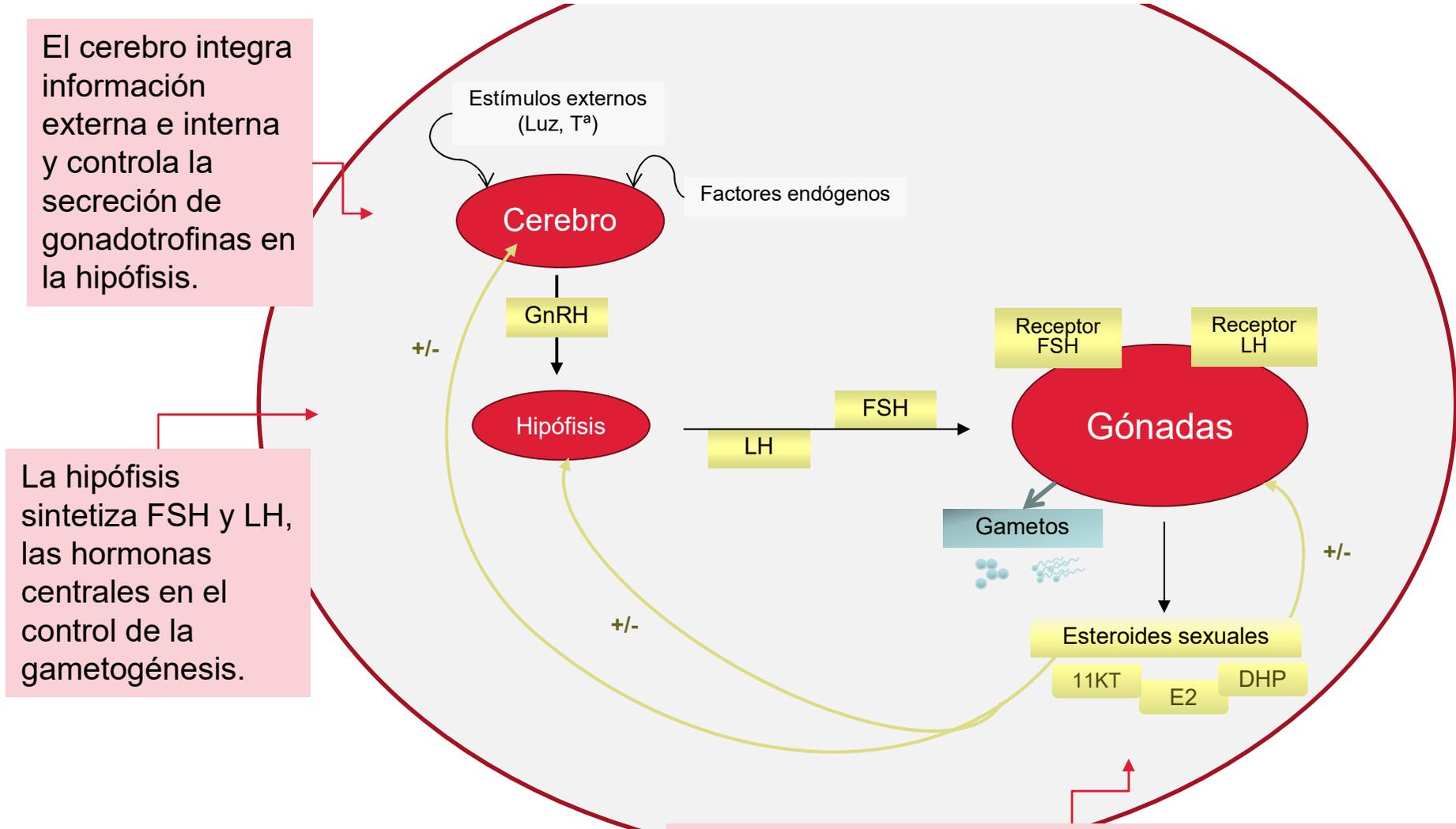
Cooperación  
Española  
CONOCIMIENTO/ LA ANTIGUA



CSIC

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

# Control endocrino de la gametogénesis

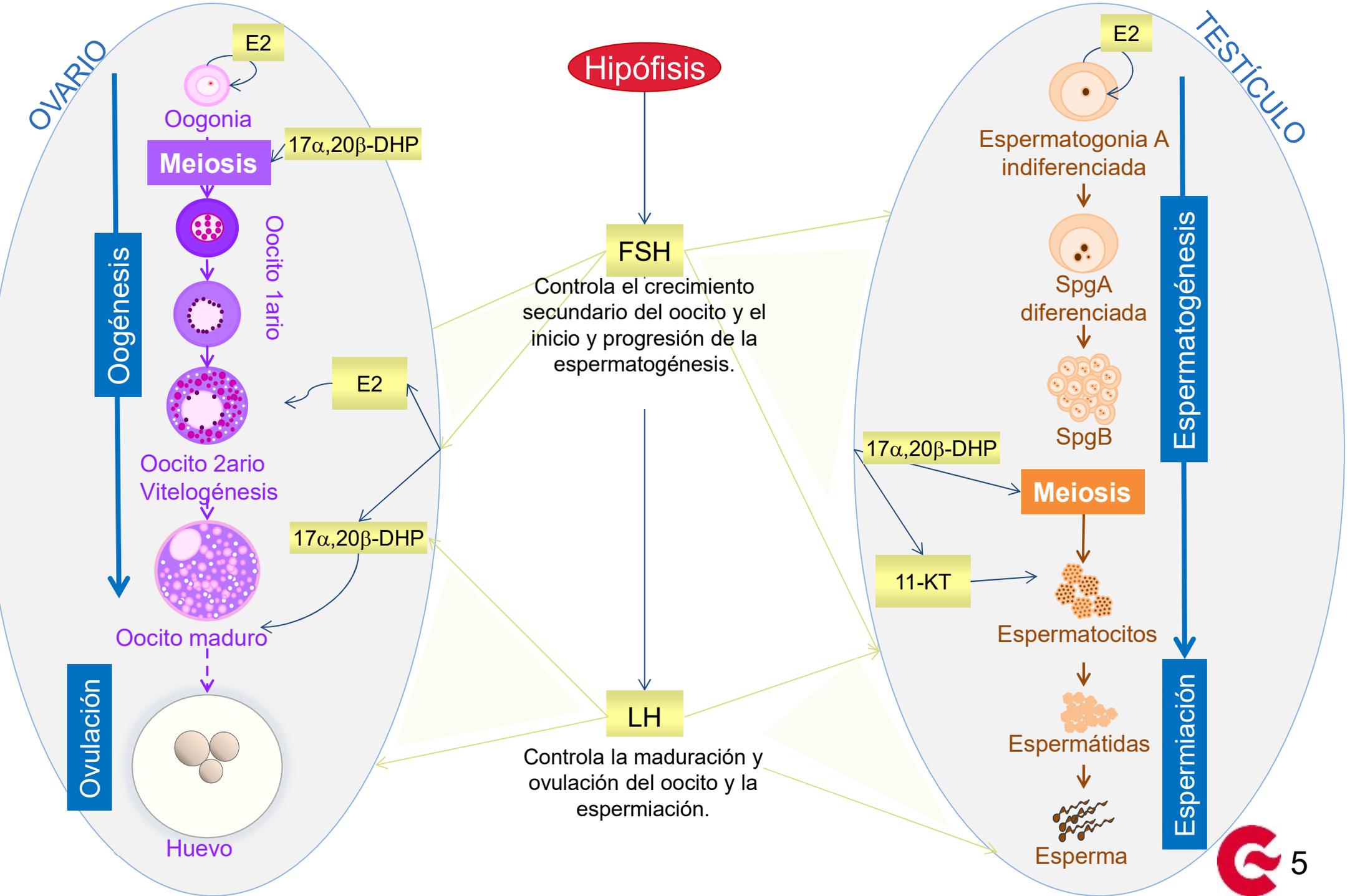


GnRH = hormona liberadora de gonadotrofinas

Gonadotrofinas | FSH = hormona estimulante de los folículos  
LH = hormona luteinizante

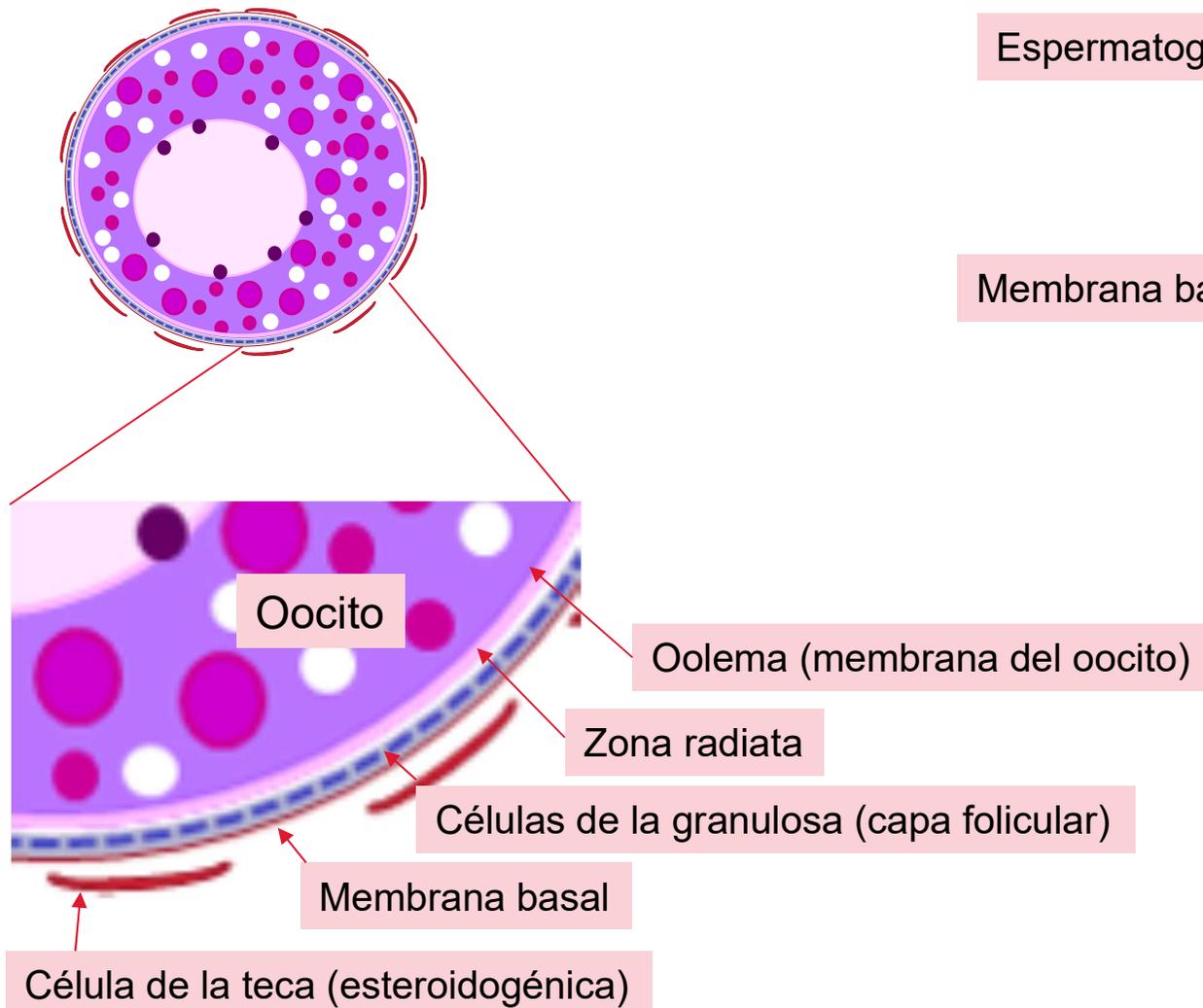
Esteroides sexuales | E2 = estradiol  
11KT = 11-cetotestosterona  
DHP = 17 $\alpha$ ,20 $\beta$ -Dihydroxy-4-pregnen-3-one

**Gametogénesis:** proceso gonadal de formación de gametos haploides (n) a partir de células germinales diploides (2n).

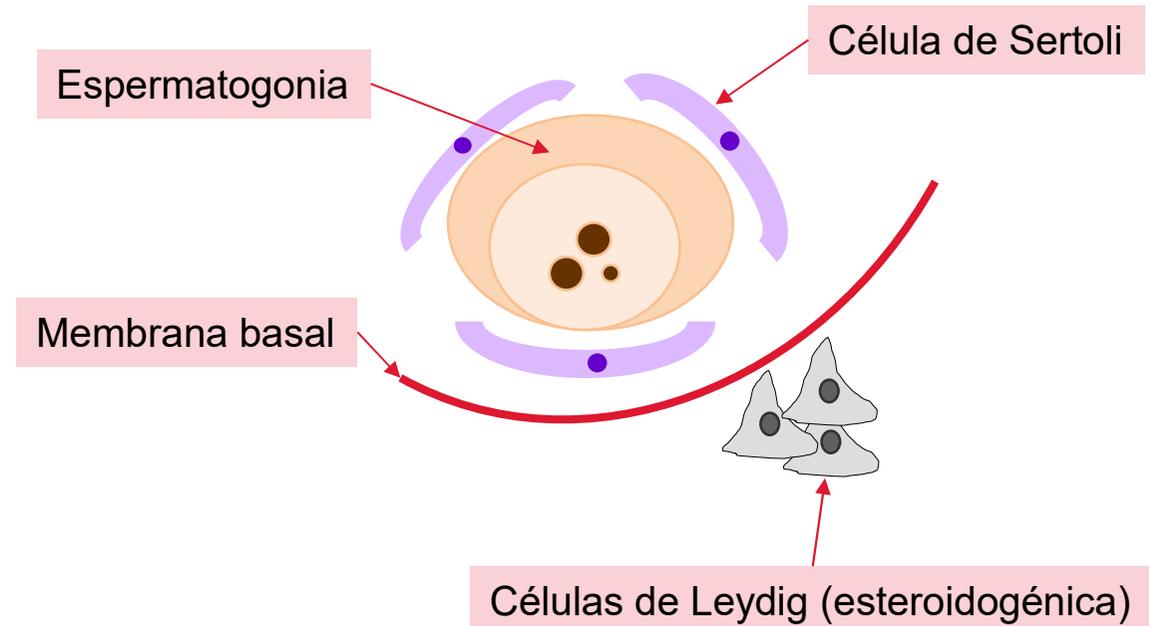


**Estructuras básicas:** células germinales rodeadas de las células de soporte, y separadas del espacio intersticial por la membrana basal. En el espacio intersticial se sitúan las células esteroidogénicas.

## Folículo ovárico

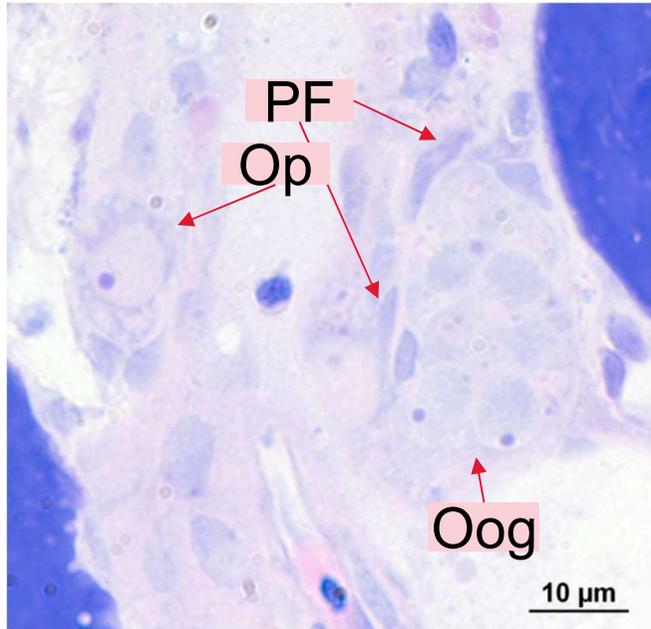


## Espermatociste testicular

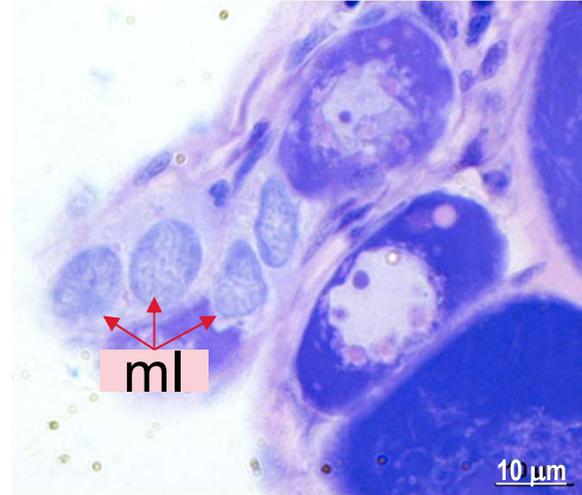


# Oogénesis

## Fase premeiótica

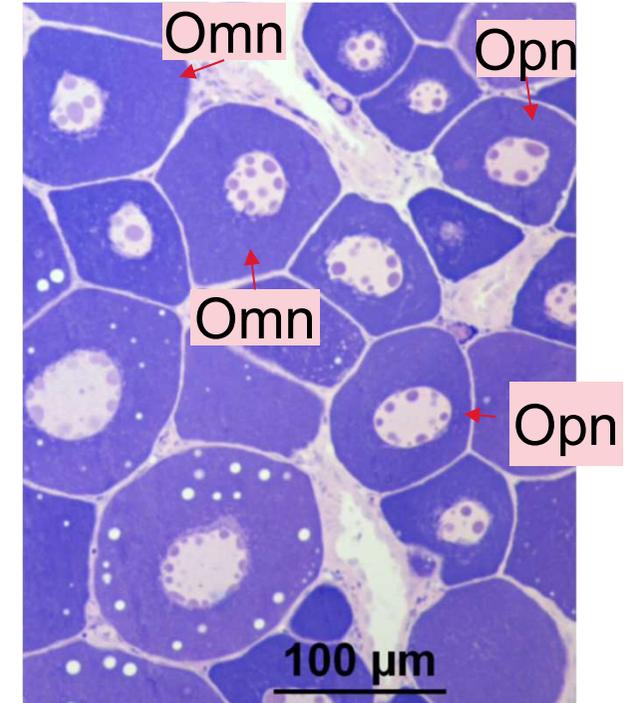


1. Inicialmente las **oogonias (Oog)** proliferan por mitosis, formando nidos rodeados por células prefolliculares (**PF**) y situados en el epitelio germinal.



2. Tras varias duplicaciones por mitosis las oogonias entran en **meiosis I (mi)**.

## Crecimiento primario o previtelogénesis



3. La meiosis I se detiene en la profase para formar el **oocito primario (Op)**, paralelamente tendrá lugar la formación del folículo, rodeándose el oocito de las **células de granulosa**. El folículo está envuelto por la membrana basal, que se rodeará por las células de la teca.

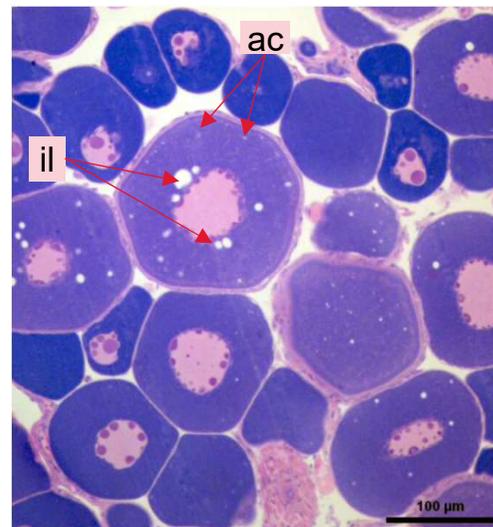
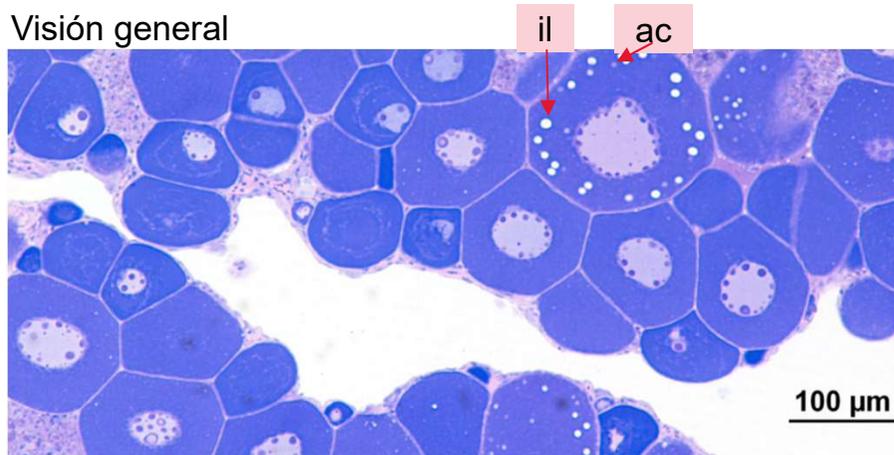
4. Inicialmente los oocitos primarios tienen múltiples nucleólos distribuidos irregularmente en el núcleo (**Omn**). Posteriormente los nucleólos se disponen alrededor de la cara interna de la membrana nuclear por lo que se les conoce también como **oocitos perinucleolares (Opn)**.



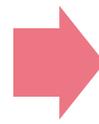
# Oogénesis

## Crecimiento primario o previtelogénesis

Visión general

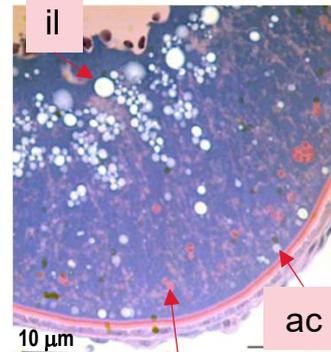


**5.** En esta etapa el oocito incorpora lípidos (**inclusiones lipídicas, il**) y sintetiza **alveolos corticales (ac)**. Ambos pueden observarse en el citoplasma.



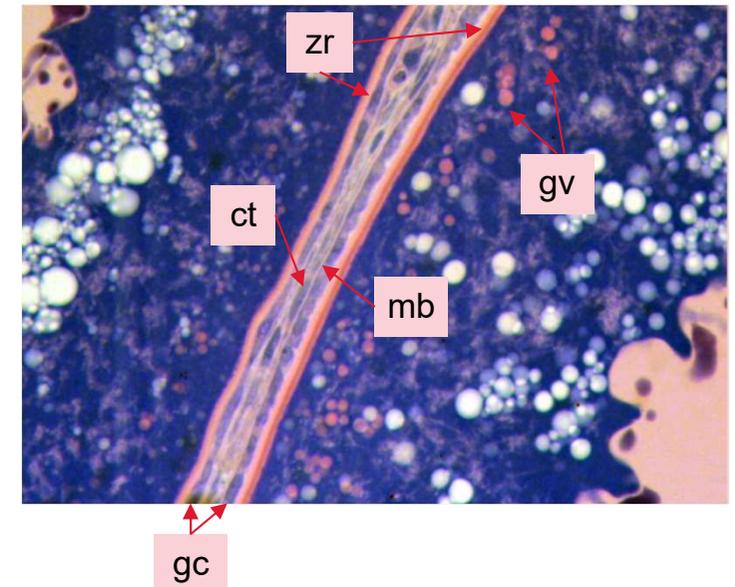
## Inicio vitelogénesis

Detalle folículo

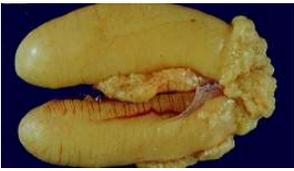


Inicio de incorporación de gránulos de vitelo.

Detalle dos folículos



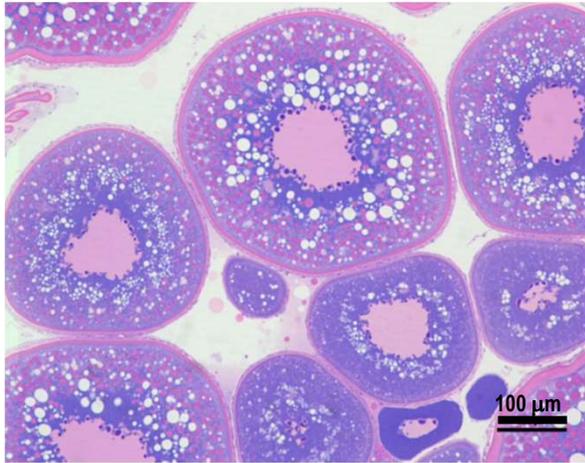
**6.** Vitelogénesis inicial: en la periferia del ooplasma se inicia la acumulación de **gránulos de vitelo (gv)** derivados de la vitelogenina incorporada en el oocito. Se hace evidente el desarrollo de la **zona radiata (zr)** alrededor del oocito, seguido de la capa de **células de granulosa (gr)**, la **membrana basal (mb)**, y en el exterior **células de la teca (ct)**, vasos sanguíneos etc.



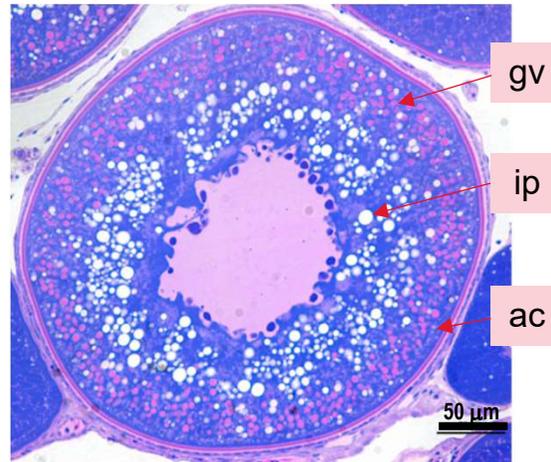
# Oogénesis

## Crecimiento secundario o vitelogénesis

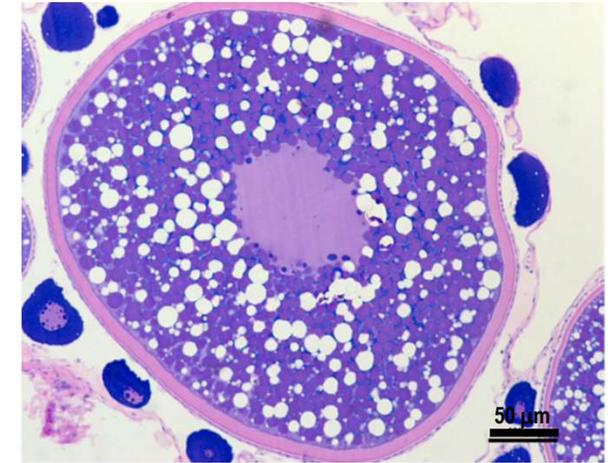
Vista general de un ovario en vitelogénesis



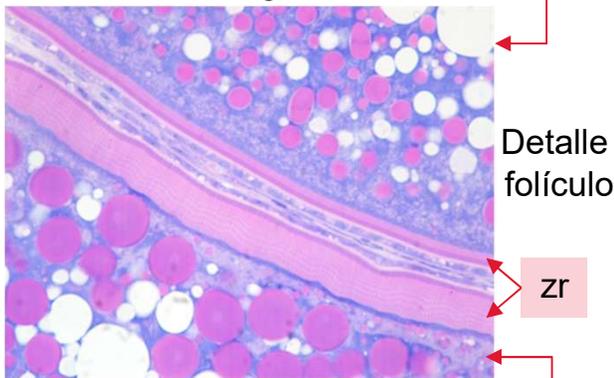
Detalle folículo



Detalle folículo



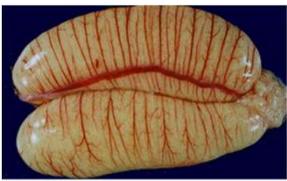
Folículo en vitelogénesis media



Folículo en vitelogénesis avanzada

**7.** Vitelogénesis media: el oocito sigue creciendo con el aumento de gránulos de vitelo e inclusiones lipídicas, que junto con los alveolos corticales se disponen en anillos concéntricos.

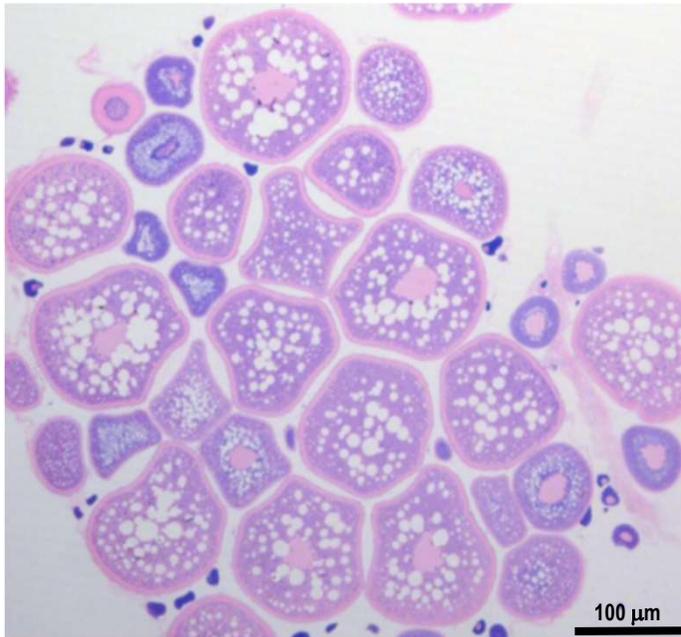
**8.** Vitelogénesis tardía y postvitelogénesis: los oocitos alcanzan el final de su fase de crecimiento y contienen abundantes gránulos de vitelo e inclusiones lipídicas de un mayor tamaño. El núcleo o vesícula germinal aun se encuentra en el centro del oocito.



# Oogénesis

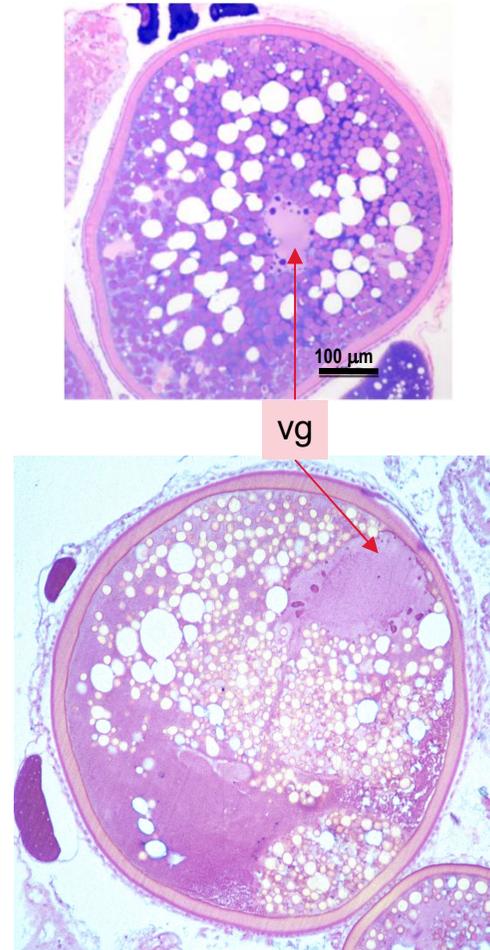
## Maduración

Vista general ovario en inicio maduración

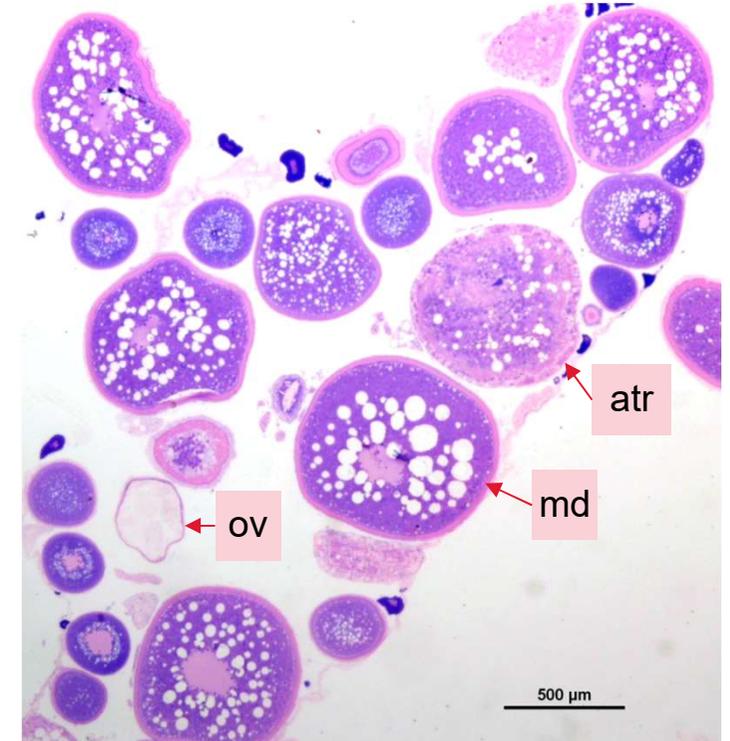


9. En la maduración la **vesícula germinal (vg)** empieza a mirar hacia el polo animal, en la periferia del ooplasma. El oocito aumentará mas de tamaño por su hidratación, los gránulos de vitelo se fusionarán y se volverán transparentes y se producirá la coalescencia de la gotas lipídicas.

Detalle folículos



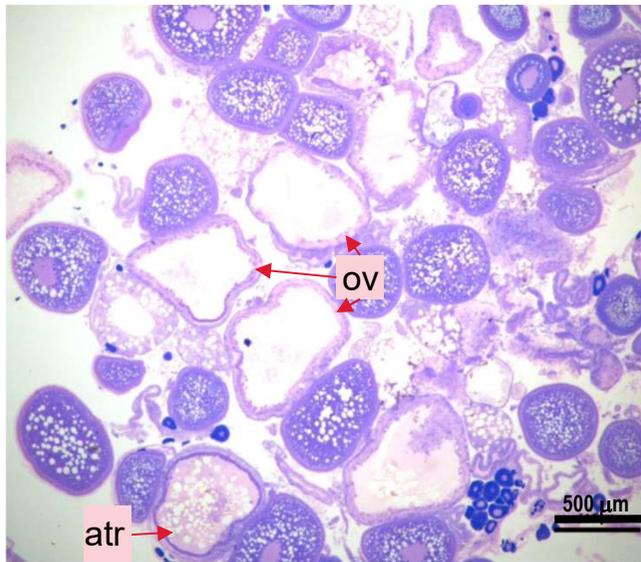
Vista general ovario con folículos en maduración (md), atrésicos (atr) y ovulados (ov)



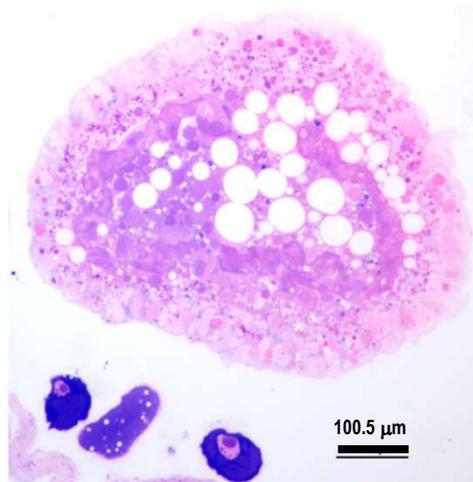
10. Posteriormente se producirá la rotura de la membrana nuclear conocida como “**rotura de la vesícula germinal**” y se reanudará y completará la primera división meiótica.

# Oogénesis

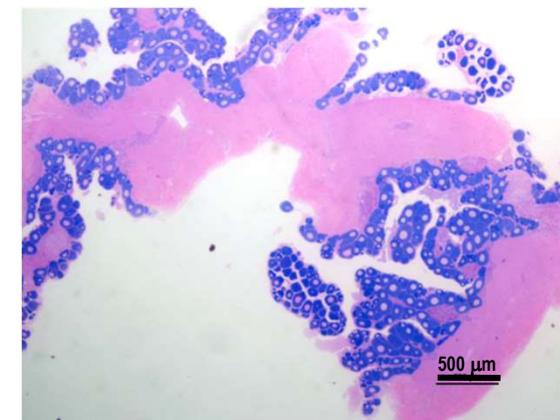
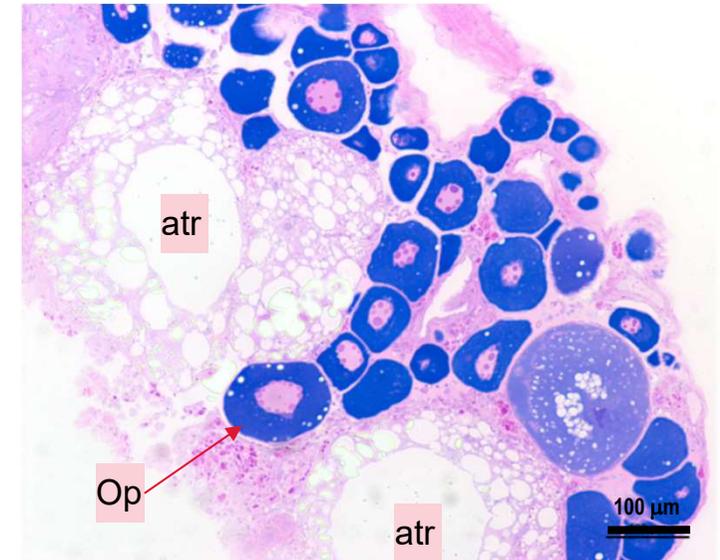
## Ovulación y Atresia



**11.** En la ovulación se produce la rotura del folículo, y el oocito se desplaza al lumen ovárico convirtiéndose en un huevo y dejando atrás el **folículo postovulatorio (ov)**. Éste adquiere forma irregular y puede persistir en el ovario durante un tiempo variable, siendo un indicador de puesta.



**12.** Los folículos no ovulados entran en **atresia (atr)** para su descarte, pierden su forma y características. El oocito se reabsorbe y es fagocitado por las células foliculares que se hipertrofian.



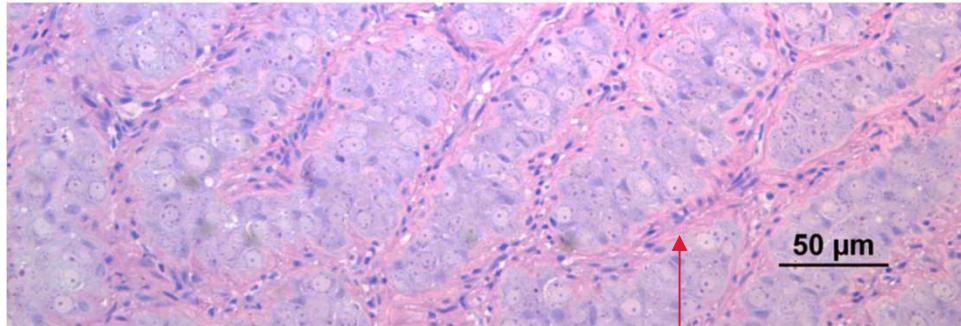
**13.** Tras la etapa de atresia se inicia de nuevo la previtelogénesis.



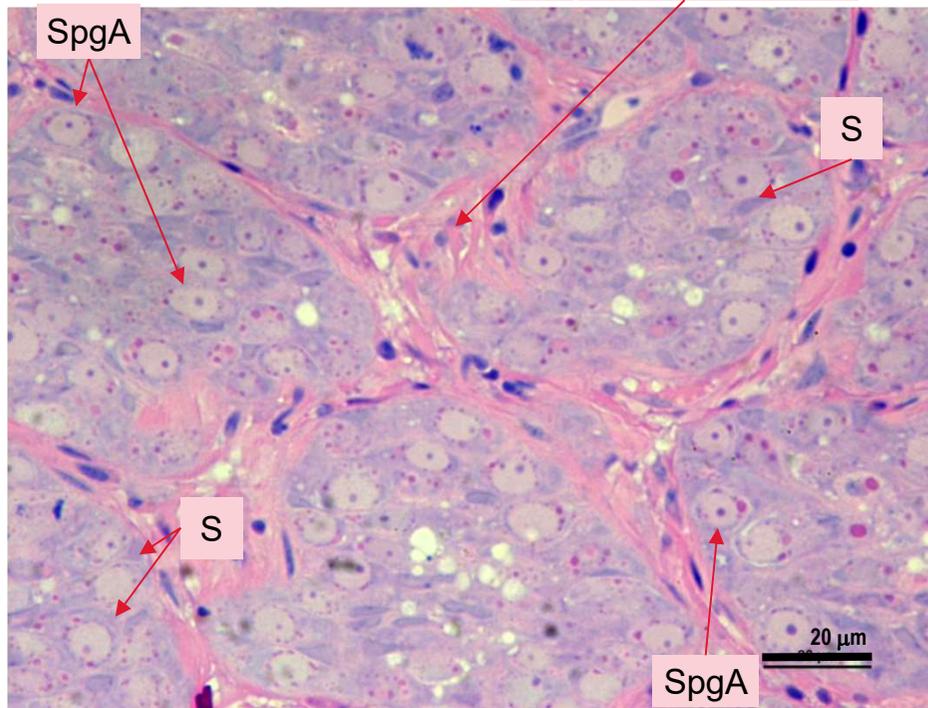
# Espermatogénesis

## Fase premeiótica

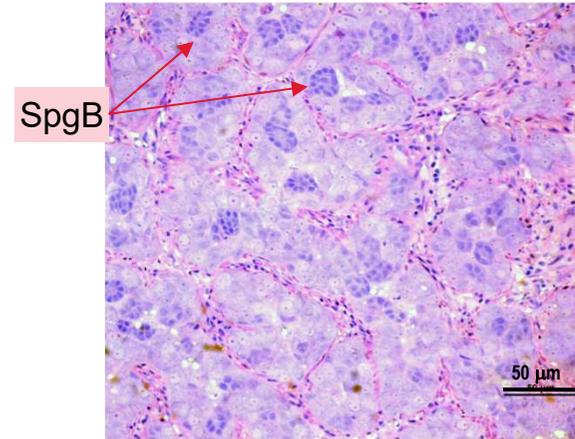
Vista general



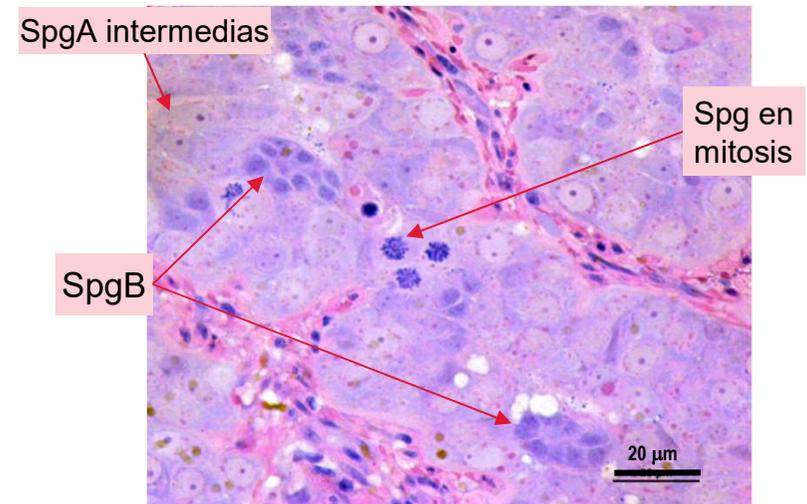
Detalle



Vista general

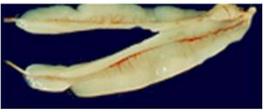


Detalle



2. Una Spg A da lugar a varias generaciones de espermatogonias mediante mitosis, dentro de un mismo espermatociste rodeado por células de Sertoli. La última generación, denominadas **espermatogonias B (SpgB)**, son de menor tamaño y de coloración más oscura. El número de divisiones mitóticas de las espermatogonias antes de entrar en meiosis varía según la especie.

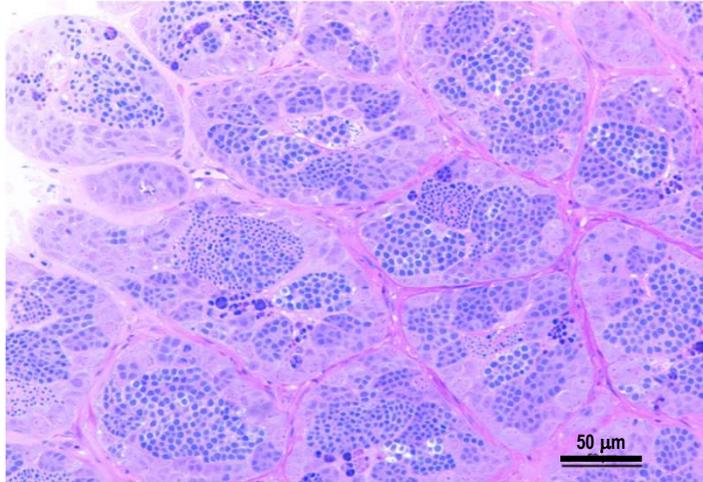
1. **Testículo inmaduro:** solo se observan **espermatogonias A (SpgA)** en los lóbulos, con 1 o 2 nucléolos y cada una rodeada de **células de Sertoli (S)**.



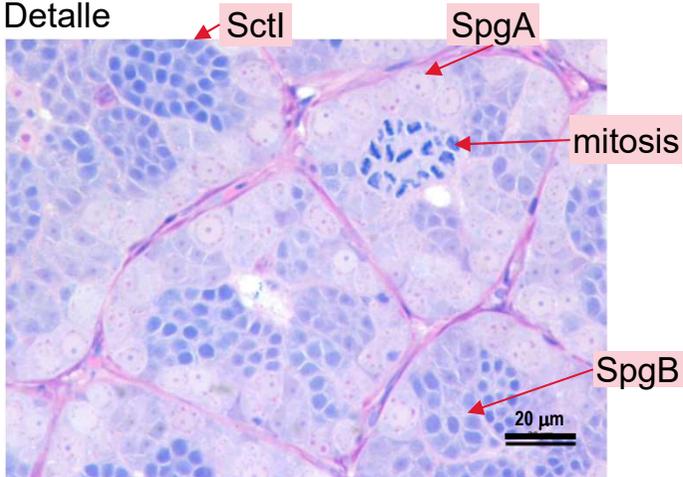
# Espermatogénesis

## Etapas meióticas

Vista general

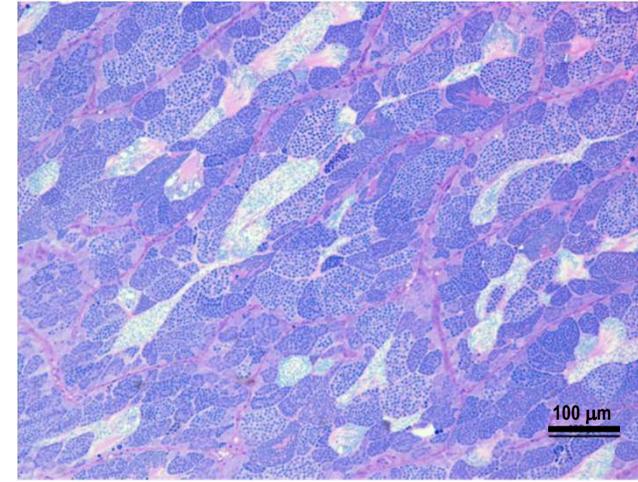


Detalle

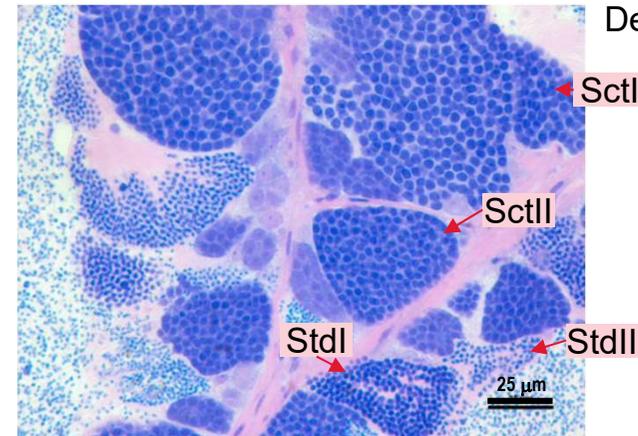


3. Tras la entrada en **meiosis** aparecen los **espermatoцитos primarios (SctI)**, similares en tamaño a las **SpgB** pero mas densos, y con un menor ratio citoplasma: núcleo, que ira disminuyendo aun más en los siguientes tipo celulares.

Vista general



Detalle

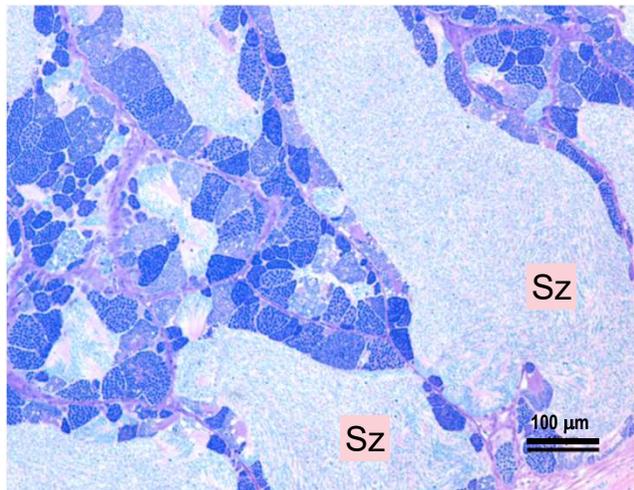
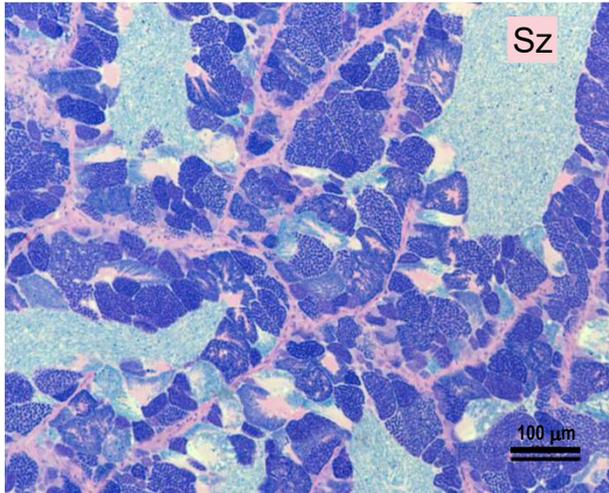


4. Al final de la meiosis I aparecen los **espermatoцитos secundarios (SctII)**, de menor tamaño, de vida media muy corta y difíciles de observar. Como resultado de la meiosis II aparecen las **espermátidas (Std)**, células que siguen la dinámica de disminución de tamaño. Existen hasta 3 tipos de espermátidas, a veces difíciles de distinguir.

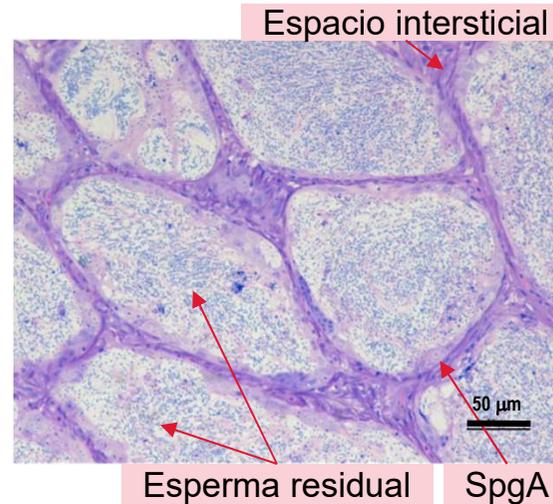
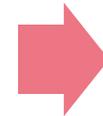


# Espermatogénesis

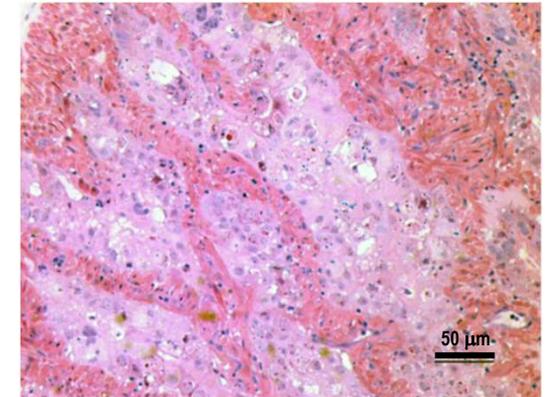
## Espermiogénesis y regresión



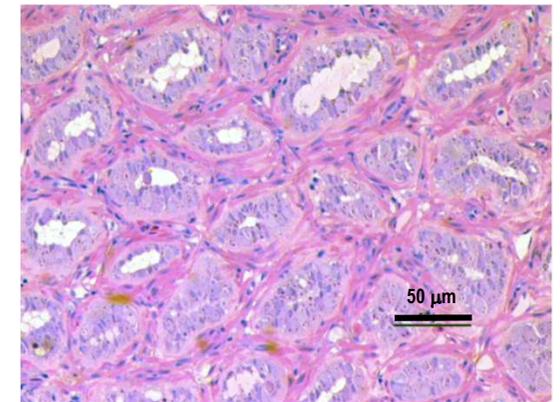
5. En la **espermiogénesis** las espermátidas sufren cambios morfológicos y se diferencian a **espermatozoides (Sz)** con la aparición del flagelo y la cabeza del espermatozoide. Los cistes se abren para liberar a los espermatozoides en el lumen.



6. Al finalizar la espermiación el testículo entra en **regresión**. Las células de Sertoli fagocitan espermatozoides residuales y finalmente el testículo se reestructura para iniciar otro ciclo con la renovación de las SpgA indiferenciadas.



7. Testículo en regresión.



8. Lóbulos preparados para iniciar renovación.



Ana Gómez Peris – [a.gomez@csic.es](mailto:a.gomez@csic.es)  
Grupo de Fisiología de la Reproducción de Peces  
Instituto de Acuicultura Torre de la Sal (IATS-CSIC), Castellón, España





---

# CONTROL DEL SEXO

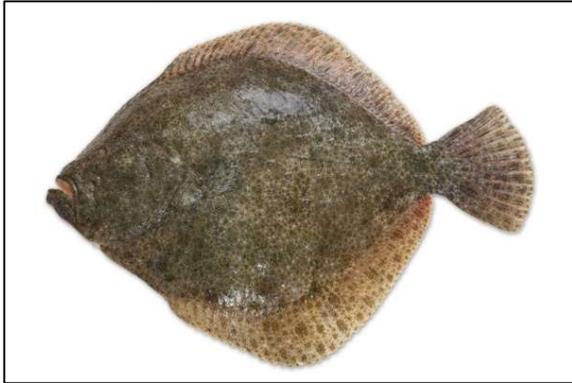
Francesc Piferrer

Edición 20/04/2021



# Objetivos del control del sexo en acuicultura

Favorecer el sexo con mayor crecimiento



Valor de los gametos



Reducción de la agresividad



Valor ornamental



Control de reproductores



Contención genética



# Hibridación interespecífica

Los híbridos interespecíficos suelen formarse mediante el apareamiento de dos especies diferentes del mismo género.

**Objetivo común:** producir una descendencia que rinda más que las dos especies parentales (vigor híbrido o heterosis positiva).

- **Mejorar el rendimiento de la producción**  
Crecimiento, resistencia a las enfermedades, proporción de sexos, etc.
- **Reducir o eliminar la reproducción no deseada**  
Calidad del producto, contención genética.
- **Combinar o crear rasgos deseables**  
Forma del cuerpo y tasa de crecimiento.

## Ejemplos

- Híbridos de tilapia en Israel
- Lubina rayada híbrida en EE.UU.
- Pez gato híbrido en Tailandia



# Hibridación entre especies de tilapias

Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*); XX/XY



X

Tilapia azul (*O. aureus*); ZW/ZZ



100% ZX  
Todos machos  
= Mejor crecimiento  
y mayor tolerancia  
al frío y salinidad.

Tilapia de Mozambique (*O. mossambicus*); XX/XY



X

Tilapia Wami (*O. honorum*); ZW/ZZ



100% ZX  
Todos machos  
= algunas cepas  
producen peces de  
piel roja con  
tolerancia a la sal.

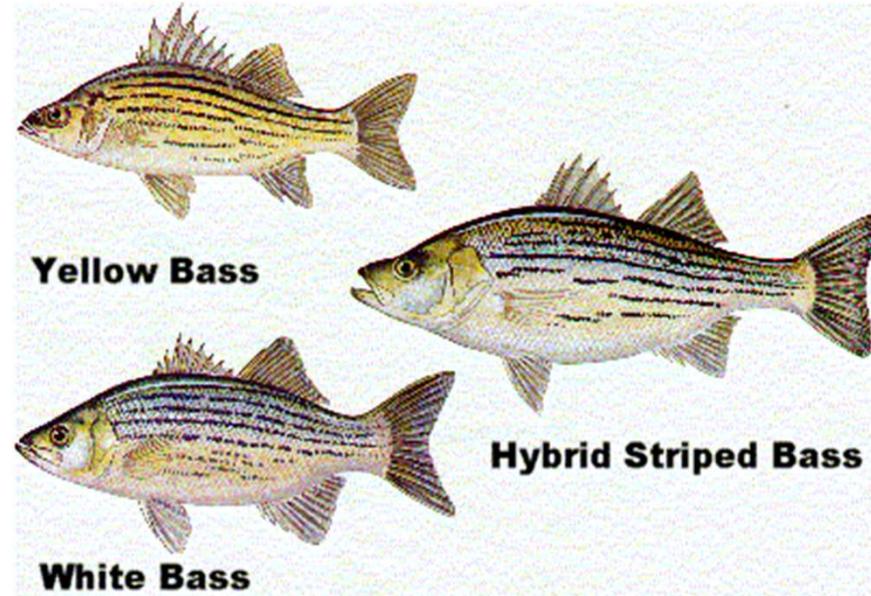
El cromosoma Z es dominante sobre el cromosoma X en las tilapias.

# Hibridación en la familia Moronidae

Striped Bass  
(*Morone saxatilis*)



Yellow Bass  
(*M. mississippiensis*)



- 100% hembras
- Supervivencia muy alta
- Crecimiento muy bueno

# Control hormonal de la proporción de sexos

Los esteroides sexuales endógenos están implicados en el proceso de diferenciación sexual.

La acción de los esteroides sexuales exógenos puede anular la de los esteroides endógenos.

Método directo { Gónada sexualmente indiferenciada + Andrógeno → Masculinización  
Gónada sexualmente indiferenciada + Estrógeno → Feminización

## Masculinización

Se utiliza para la producción:

- de machos por el método directo.
- de hembras por el método indirecto.

## Feminización

Se utiliza para la producción:

- de hembras por el método directo.
- de machos por el método indirecto.



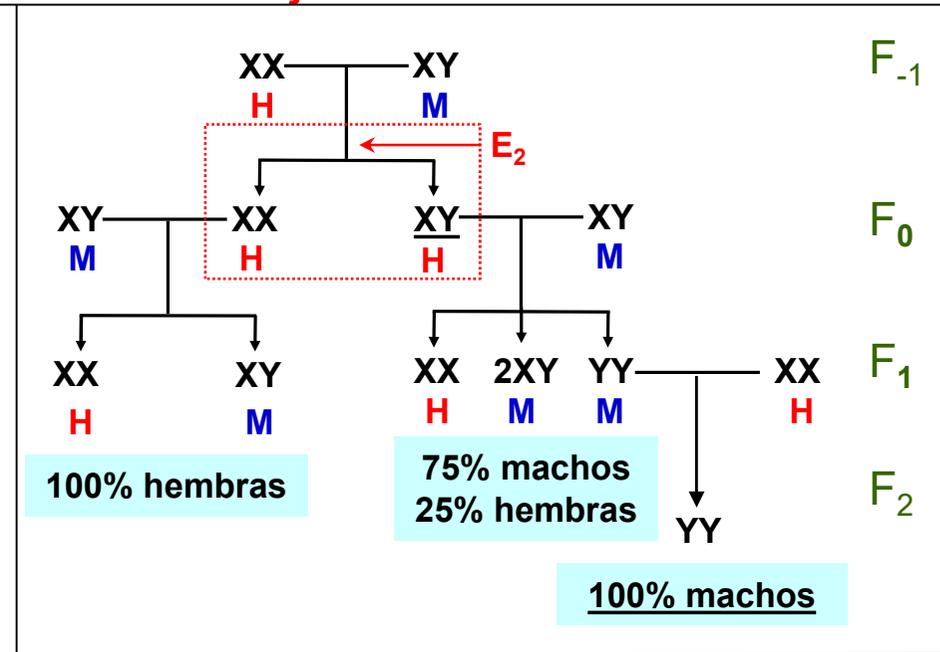
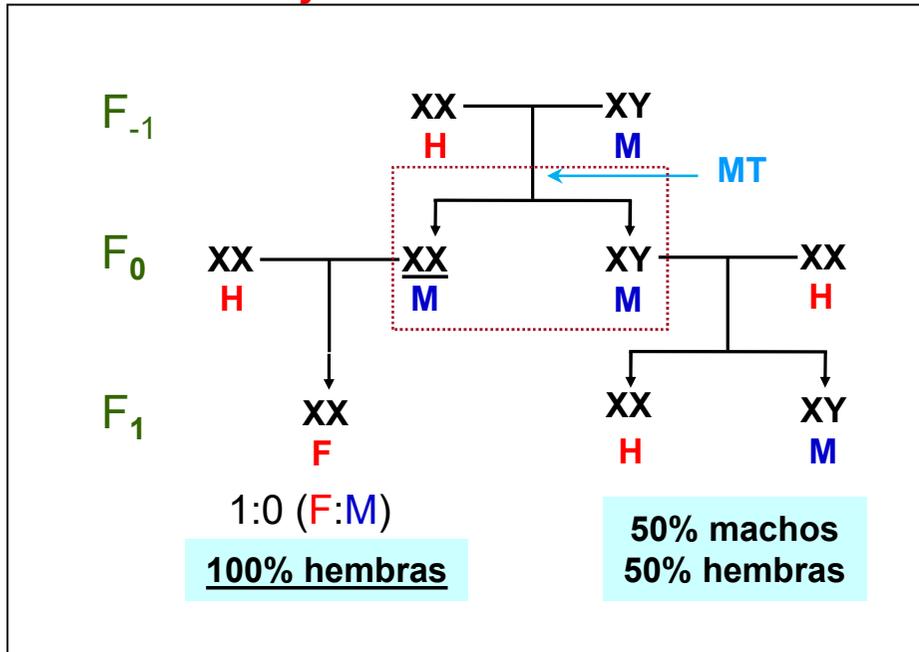
Fotos cortesía Dr. Iván Valdebenito

# Métodos indirectos para el control del sexo

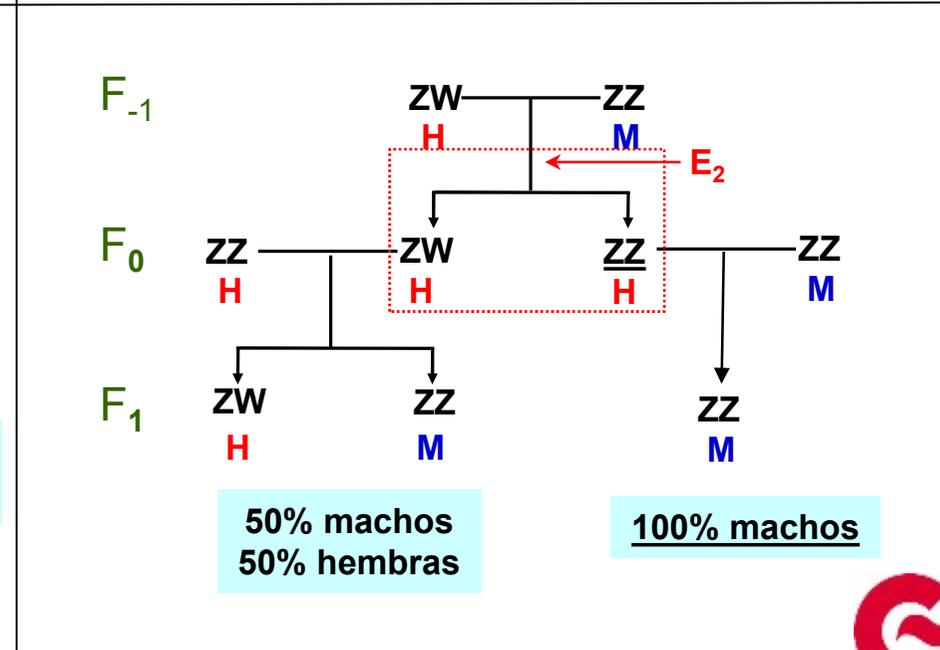
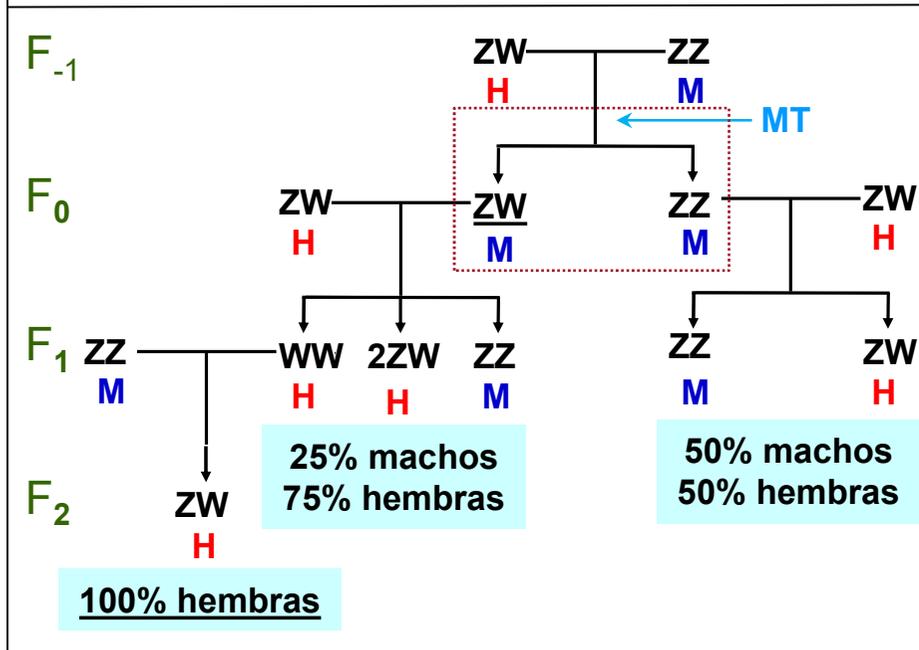
## Objetivo: Feminización

## Objetivo: Masculinización

Mecanismo XX-XY (M:H)  
(Machos heterogaméticos)



Mecanismo ZZ-ZW (M:H)  
(Hembras heterogaméticas)



# Implementación del control hormonal del sexo (método de intervención mínima)

1. Determinación histológica del momento de la diferenciación sexual en relación con la edad, el tamaño y las condiciones de cultivo.
2. Identificación del periodo lábil mediante la administración de esteroides a intervalos anteriores a la diferenciación sexual.
3. Reducir en lo posible la duración del tratamiento y la dosis afinando el momento del tratamiento. Probar los esteroides naturales y sintéticos.

## Ventajas del “método de intervención mínima”

- Mantenimiento de la eficacia
- Reducción de la duración del tratamiento
- Reducción de la dosis de hormonas y del coste
- Reducción del impacto medioambiental
- Reducción o eliminación de los efectos secundarios

# Gestión de poblaciones naturales en peligro

## Objetivos:

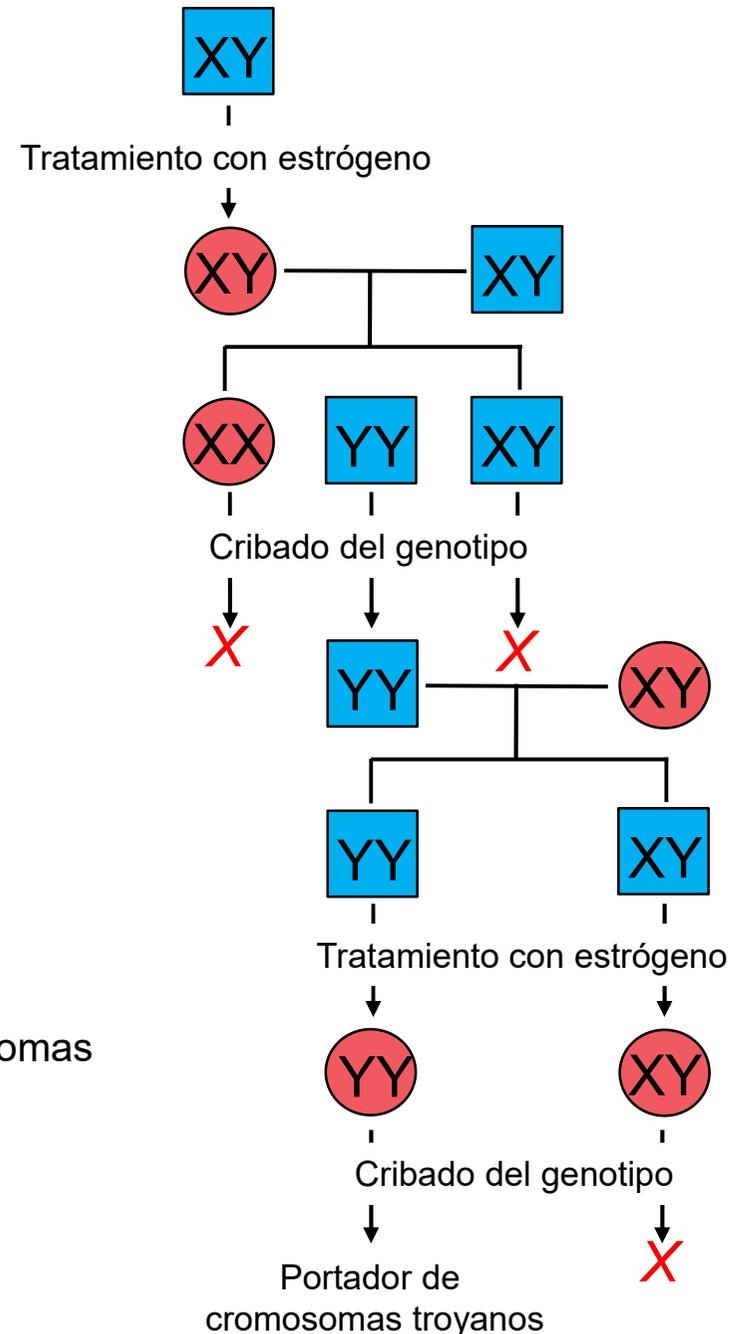
Control de especies invasoras no deseadas  
Rescate de especies en peligro de extinción.

## Método:

Introducción repetida de individuos con genotipos sexuales específicos para favorecer los genotipos deseados.

## Ejemplos:

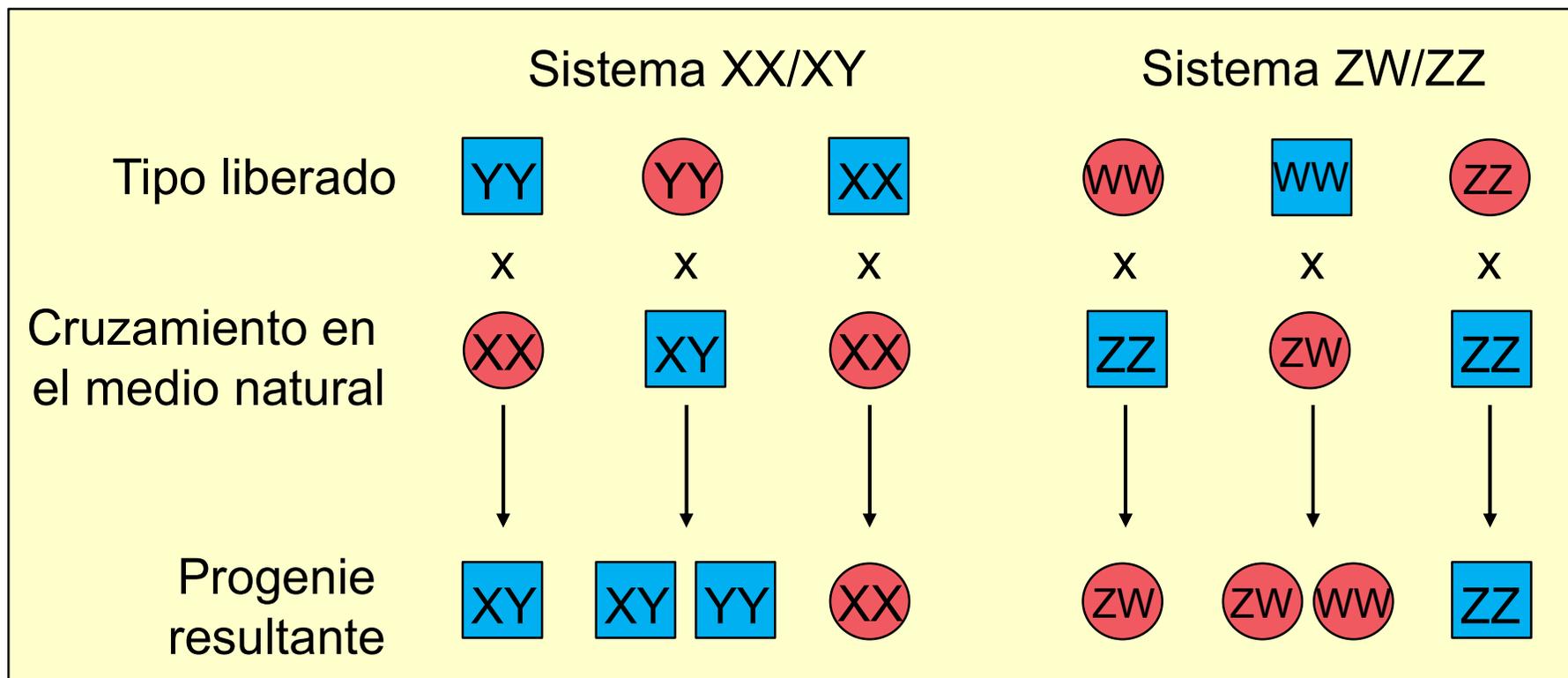
Machos (m) XX  
Hembras (h) YY →  portadoras de “cromosomas sexuales troyanos”.



# Gestión de poblaciones naturales en peligro

Propuesta adecuada sólo para especies con un sistema de determinación del sexo genético del tipo XX/XY o ZW/ZZ.

Requiere comprobación en condiciones naturales.



# La inducción de la triploidía para evitar la maduración sexual

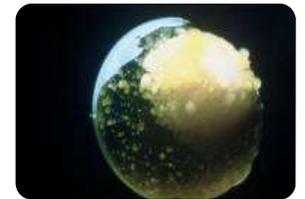
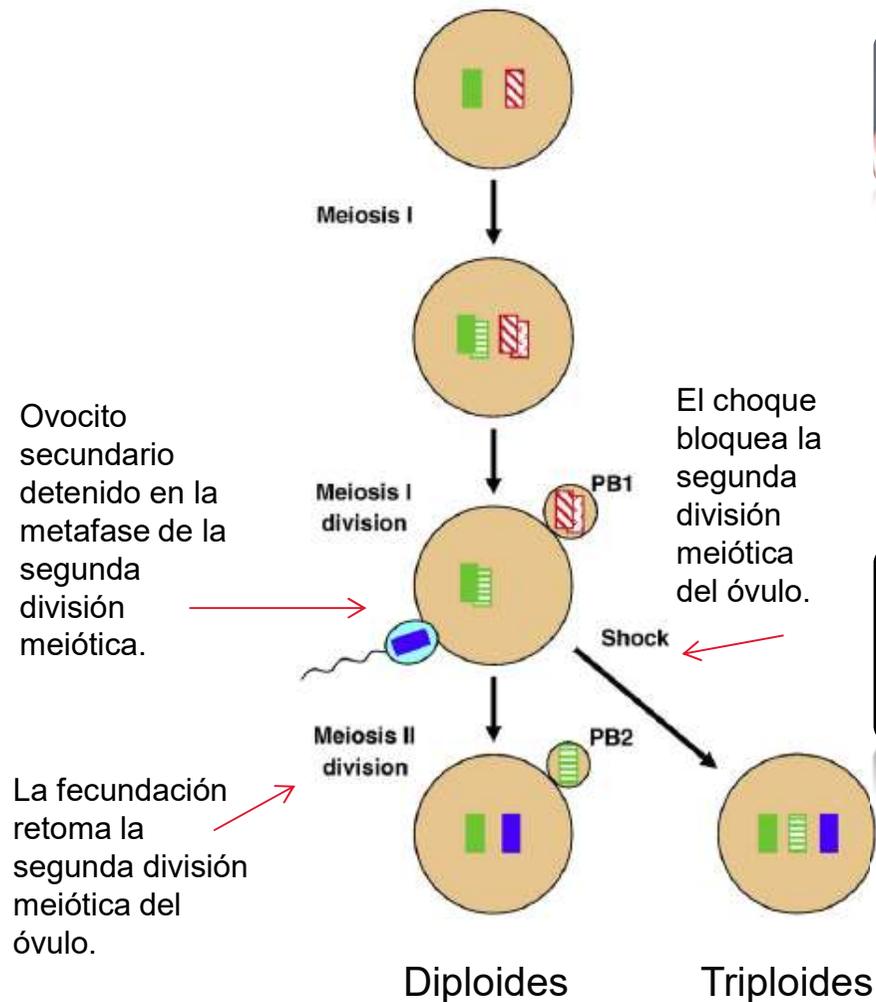
La triploidía implica tres conjuntos de cromosomas en lugar de los dos habituales.

Tres conjuntos de cromosomas permiten la mitosis (crecimiento) pero bloquean la meiosis (reproducción).

La triploidía suele implicar esterilidad genética (y por tanto infertilidad funcional).

**Triploidía → Esterilidad genética en ambos sexos; Esterilidad endocrina en las hembras.**

Para simplificar, en esta especie hipotética  $2n = 2$ . Así, cada barra dentro de la célula representa un cromosoma y las barras superpuestas indican las cromátidas hermanas tras la replicación del ADN durante la meiosis I. PB= corpúsculo polar.



# Efectos de la triploidía sobre el desarrollo gonadal

## Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)

## Lubina (*Dicentrarchus labrax*)

Diploides

Triploides



Machos

Diploides

Triploides



Machos

Hembras

Diploides

Triploides



Hembras

Felip *et al.* 2001. *J. Exp. Zool.*, 290:384-395

Los efectos siempre son más pronunciados en hembras.

Fotos cortesía Dr. Iván Valdebenito

# Rendimiento de los triploides con respecto a los diploides



La triploidización tiene dos tipos de efectos en términos de rendimiento:

- Una menor supervivencia inicial, debida al tratamiento, no al nivel de ploidía.
- Menor rendimiento en algunas circunstancias específicas, debido al nivel de ploidía.

En los moluscos, los triploides normalmente crecen más que los diploides.

En los peces, los diploides ralentizan su crecimiento cuando maduran; los triploides siguen creciendo porque, especialmente las hembras, no maduran.

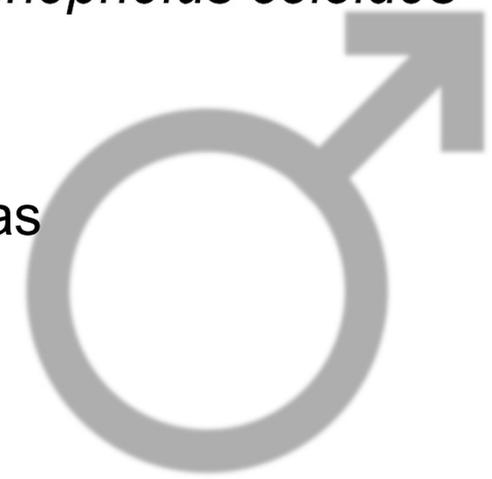
# Control ambiental

En principio, podrían utilizarse los mismos factores que pueden influir en la determinación del sexo en las poblaciones naturales:

- |                       |                                                      |
|-----------------------|------------------------------------------------------|
| - Temperatura         | Tilapias, peces planos, lubina europea               |
| - pH                  | <i>Poecilia melanogaster</i>                         |
| - Densidad de cultivo | Anguila europea; <i>Anguilla anguilla</i>            |
| - Factores solciales  | Mero de pintas naranjas; <i>Epinephelus coioides</i> |

La manipulación ambiental puede utilizarse para:

- Aumento de la proporción de machos en especies en las que los machos crecen más rápido (e.g., tilapias, siluros).
- Producir machos XX y machos ZW (neomachos).



Hace falta un mejor entendimiento de los factores específicos y los periodos sensibles.

El control ambiental es un método que no implica el uso de hormonas.

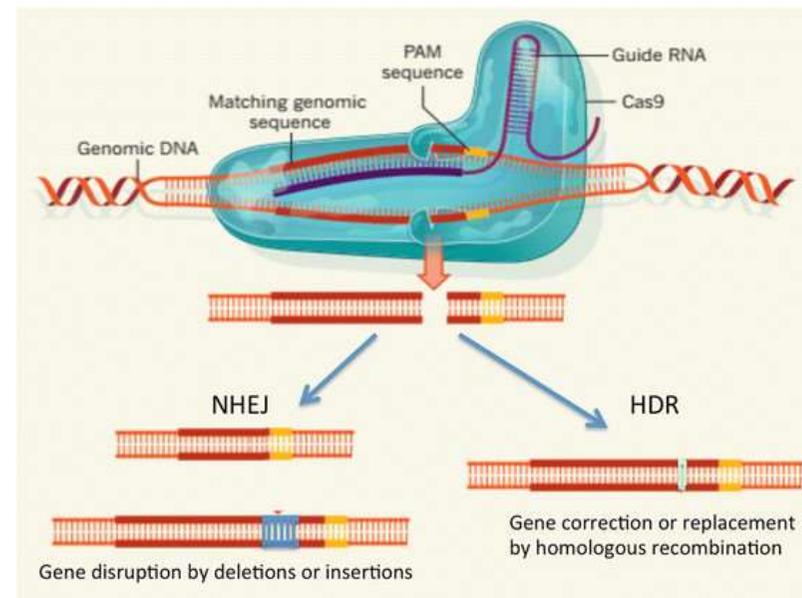
# Aplicación de técnicas de edición de genes

## Existen varios métodos:

- Zinc finger nucleases (ZFNs),
- Transcription activator-like effector-based nucleases (TALEN)
- Clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR/Cas9) system

## CRISPR/Cas9 se impone y se basa en:

- Crear roturas de doble cadena específicas del lugar (DSBs) en los lugares deseados del genoma
- Reparar mediante la unión de extremos no homólogos (NHEJ) o recombinación homóloga (HR), dando lugar a mutaciones específicas ("ediciones")



## Aplicaciones en especies importantes en acuicultura

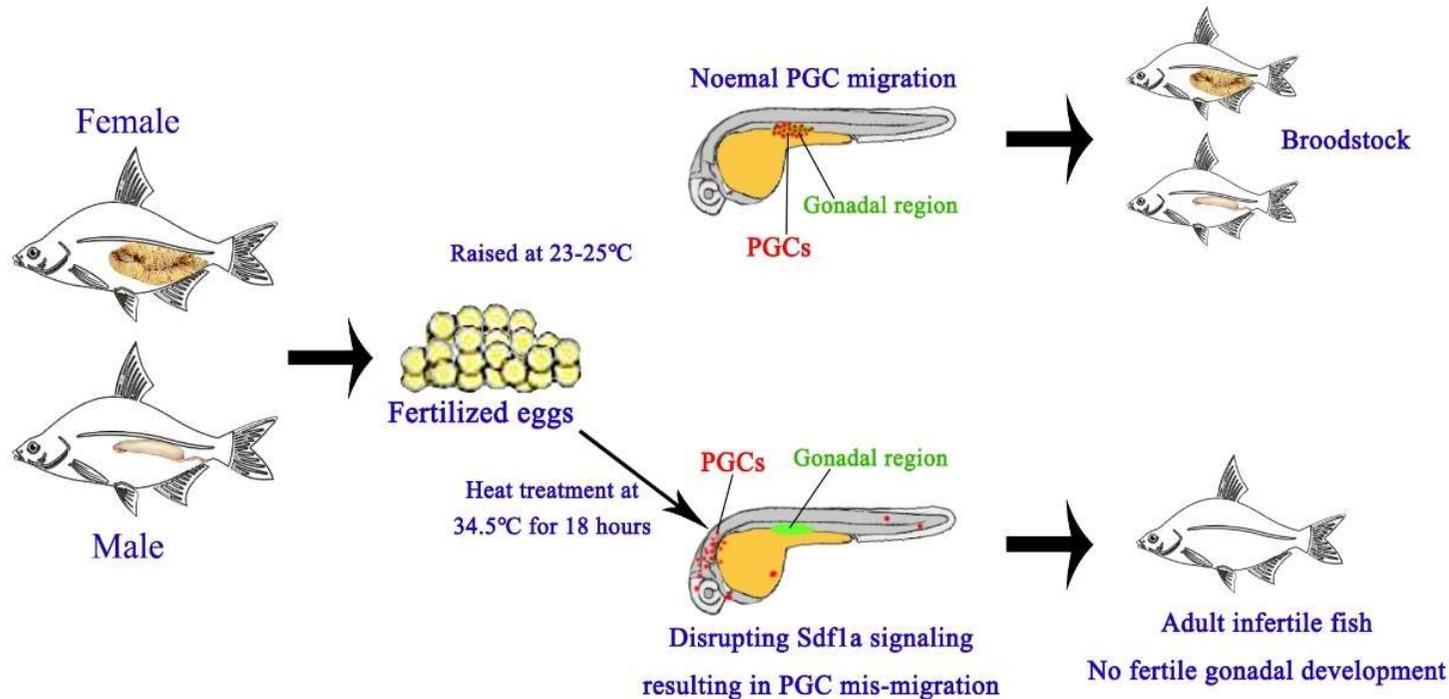
Especie	Gen	Método	Resultado
Tilapia del Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	<i>cyp19a1a</i>	TALEN	Inversión parcial del sexo de hembra a macho
Tilapia del Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	<i>nanos2</i>	CRISPR-Cas9	Inversión sexual de hembra a macho
Lenguado chino ( <i>Cynoglossus semilaevis</i> )	<i>dmrt1</i>	TALEN	Testículos con aspecto de ovario y espermatogénesis alterada
Trucha arco iris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	<i>sdY</i>	ZFNs	Inversión sexual de macho a hembra
Salmón del Atlántico ( <i>Salmo salar</i> )	<i>dnd</i>	CRISPR-Cas9	Esterilidad

# Producción de peces estériles mediante una tecnología transgénica de silenciamiento de genes

Sobreexpresión inducible de Sdf1a en el pez cebra.

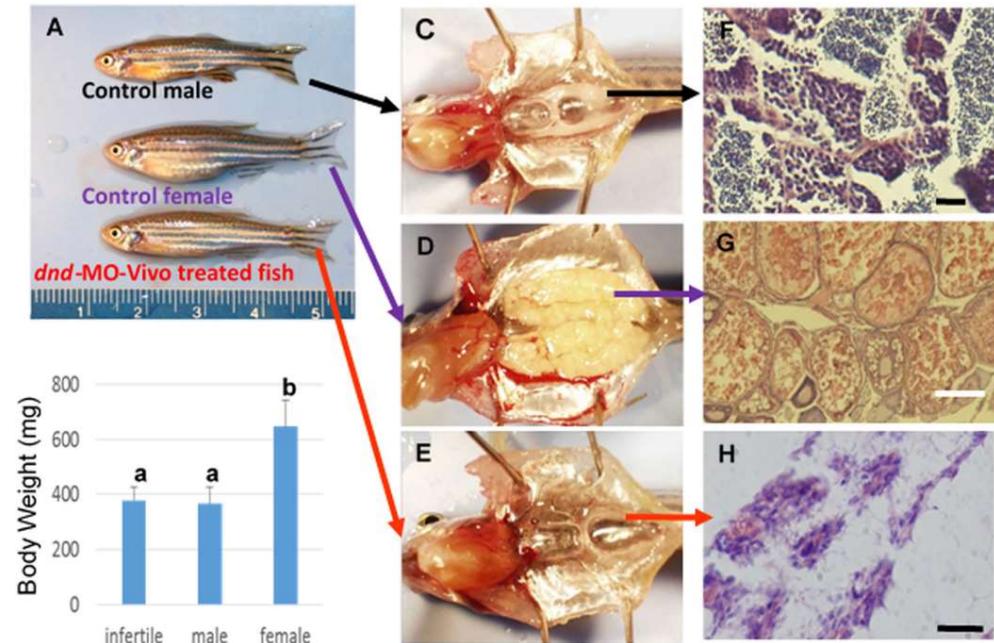
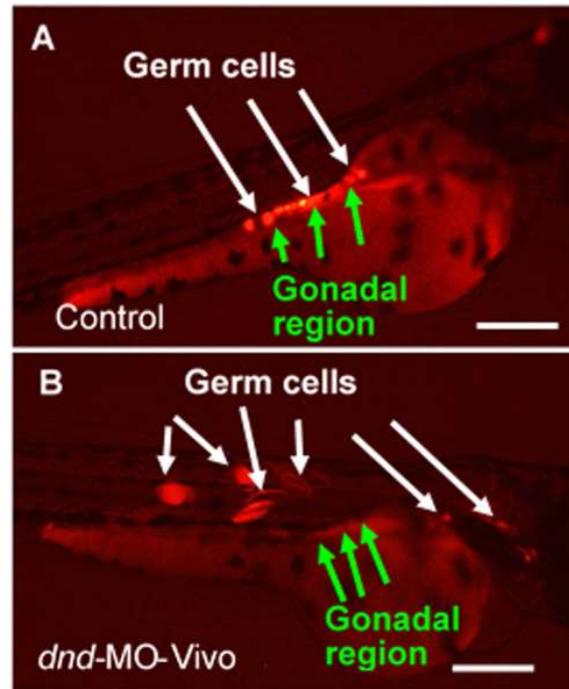
Promotor de choque térmico (*hsp70*) y *nanos3* 3' UTR para promover la expresión de *Sdf1a*.

Tras la inducción por calor, la sobreexpresión de *Sdf1a* interrumpe la señalización de Sdf1a a través de la saturación del receptor de Sdf1, *Cxcr4b*, en las PGCs, lo que impide su correcta migración.



# Producción de peces estériles mediante una tecnología no transgénica de silenciamiento de genes

*Vivo*, un transportador molecular que introduce el morfolino oligómero (MO) contra *deadend* → mala migración de las células germinales primordiales del pez cebra y su diferenciación en células somáticas → peces estériles.



Francesc Piferrer– [piferrer@icm.csic.es](mailto:piferrer@icm.csic.es)

Grupo de Biología de la Reproducción

Instituto de Ciencias del Mar (ICM-CSIC), Barcelona, España





# PROCEDIMIENTOS PARA EL CONTROL DE LA MADURACIÓN SEXUAL Y LA PUBERTAD DE PECES

Alicia Felip Edo

Edición 20/04/2021



## Procedimientos de campo y de laboratorio para monitorizar y controlar la maduración sexual de los peces

Estrategia	Adultos	Juveniles
Masaje abdominal	Durante el <b>periodo reproductivo</b> la liberación de <b>esperma</b> confirma la <b>maduración</b> del animal y el sexo. No letal.	Durante el <b>periodo reproductivo</b> la liberación de <b>esperma</b> confirma la madurez temprana ( <b>precocidad</b> sexual) del animal y el sexo. No letal.
Biopsia ovárica	Durante el <b>periodo reproductivo</b> , si el animal no libera esperma, proceder a la canulación. La presencia de ovocitos confirma el sexo y la <b>posición central del núcleo</b> su <b>maduración</b> . No letal.	Durante el <b>periodo reproductivo</b> , si el animal no libera esperma, puede ser un macho o una hembra inmadura. Si hay indicios de ser una hembra valorar su canulación. Nunca forzar la entrada de la cánula. No letal. Considerar otras estrategias.
Evaluación del índice gonadosomático (IGS)	Sus <b>valores son orientativos</b> (letal). Considerar análisis hormonales (no letal).	Sus <b>valores son orientativos</b> (letal). Considerar un análisis histológico (no letal).

## Procedimientos de laboratorio para monitorizar y controlar la maduración sexual de los peces

Estrategia	Adultos	Juveniles
Análisis histológico	Requiere de la toma de muestras y procesado para observación en el microscopio. El <b>reconocimiento</b> de las <b>células germinales</b> determina el estado de <b>desarrollo gonadal</b> y el sexo del animal. Procedimiento recomendable para caracterizar el proceso de gametogénesis de una especie. Letal.	Aplicable. El <b>reconocimiento</b> de las <b>células germinales</b> y el estado de <b>desarrollo gonadal</b> puede ayudar a la <b>identificación</b> y confirmación de animales <b>precoces</b> (pubertad adelantada). Letal.
Evaluación de los niveles de esteroides sexuales y/o vitelogenina (Vtg) en plasma	Requiere la toma de una muestra de sangre para la <b>obtención del plasma</b> . Se necesita <b>disponer de un ensayo</b> (tipo ELISA) para su cuantificación. Valorar el uso de kits comerciales (T, 11-KT, E, Vtg). Para Vtg puede considerarse otra estrategia. Los <b>niveles hormonales</b> y/o ratios son <b>indicativos</b> del estado de <b>maduración</b> y el sexo del animal. Pueden evidenciar una alteración reproductiva. No letal.	Aplicable. <b>Recomendable</b> para <b>conocer</b> la biología reproductiva de una especie: su <b>gametogénesis</b> y la transición de un estado inmaduro a maduro. No letal.

## Procedimientos de laboratorio para monitorizar y controlar la maduración sexual de los peces

Método	Adultos	Juveniles
Análisis semicuantitativo de vitelogenina	<b>Técnica alternativa al ELISA</b> , la identificación y cuantificación de esta proteína puede hacerse a través de una técnica analítica denominada “western-blot”. Su uso requiere de un anticuerpo anti-Vtg específico de la especie. No letal.	Aplicable. De acuerdo con los niveles de detección en animales juveniles puede ayudar a la identificación y confirmación de hembras precoces (pubertad adelantada). No letal.
Análisis moleculares	El uso de <b>herramientas moleculares</b> (genómica comparada) puede ayudar a identificar <b>genes candidatos</b> asociados a la maduración (u otro carácter) en la especie de interés. Su aplicabilidad requiere de confirmación en la especie de estudio. Análisis de expresión génica de individuos en diferentes estados del desarrollo gonadal pueden ayudar a dilucidar su implicación en el proceso de maduración. De acuerdo con el tipo de muestra necesaria para el análisis este método puede o no resultar letal para el animal.	Aplicable. La identificación de un gen asociado con la maduración puede servir para evidenciar la pubertad adelantada del animal. De acuerdo con el tipo de muestra necesaria para el análisis este método puede o no resultar letal para el animal.

## Terapias hormonales para inducir la maduración: nivel gonadal

Administración en medio líquido (suero fisiológico) mediante inyección intramuscular o intraperitoneal. Valorar las dosis de acuerdo a la especie de estudio y su aplicación en otras especies.

Tipo	Nº dosis	Intervalo	Consideraciones
Extracto de pituitaria	2-4	horas-días	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Contenido variable de Lh</b> de la pituitaria.</li> <li>- Administración de hormonas adicionales de la pituitaria con efectos adversos para los peces receptores.</li> <li>- Potencial <b>transmisión de enfermedades</b> desde el pez donante al receptor.</li> <li>- Requiere administrarse cuando la vesícula germinal está migrando.</li> </ul>
Hormona placentaria	1	-	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Puede causar <b>inmunorreacciones en el pez receptor</b>, reduciendo o eliminando su efecto en inyecciones posteriores.</li> <li>- Su uso mejora con la administración combinada de extracto de pituitaria de carpa (CPE) o salmón (SPE).</li> <li>- Requiere administrarse cuando la vesícula germinal está migrando.</li> </ul>
Esteroides gonadales	≥2	horas-días	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Su uso puede acompañarse con la administración de la gonadotropina coriónica humana (GCH) de origen placentario.</li> </ul>

## Terapias hormonales para inducir la maduración: nivel cerebral

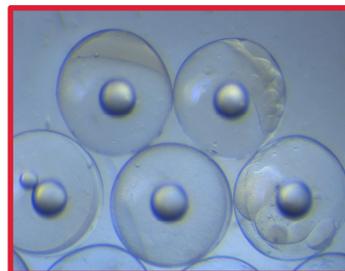
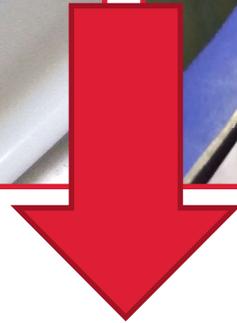
Valorar las dosis de acuerdo a la especie de estudio y su aplicación en otras especies.

Tipo	Nº dosis	Intervalo	Consideraciones
Análogos de GnRH (LHRHa)	≥2	horas-días	<ul style="list-style-type: none"> <li>- En ocasiones se administra con antagonistas de dopamina (pimozide, reserpine, metacloropramide)</li> <li>- Moléculas pequeñas que <b>no generan respuesta inmune</b> en los peces receptores.</li> <li>- Se obtiene de <b>forma pura, evitando el riesgo de transmitir enfermedades</b> a los peces receptores.</li> <li>- Su estructura similar en muchos peces permite su uso en un gran número de especies con efectividad.</li> </ul>

### Administración intramuscular o intraperitonealmente

Inyección	Medio líquido: hormona disuelta en suero fisiológico. <b>Tratamiento agudo.</b> Necesita del manejo de los animales. Requiere administrarse cuando la <b>vesícula germinal</b> está <b>migrando</b> .
Implantes	Medio sólido: preparados a base de colesterol o mezclados con celulosa. <b>Tratamiento a largo plazo.</b> No requiere administrarse cuando la vesícula germinal está migrando. Resulta <b>complicado evaluar la cantidad de hormona liberada</b> .
Microesferas	Medio sólido: preparados a base de polímeros biodegradables. <b>Tratamiento a largo plazo.</b> No requiere administrarse cuando la vesícula germinal está migrando. Uso en especies de gran tamaño, reduciendo su manejo. Cierta <b>destreza en su preparación</b> .

# Valoración del éxito en el control artificial de la maduración sexual en peces de cultivo

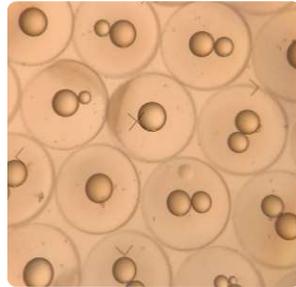


# Valoración de la calidad del huevo



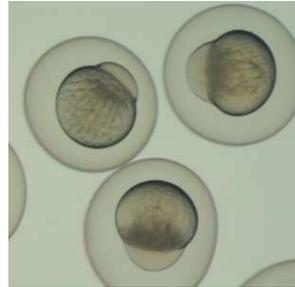
## Flotabilidad

Parámetro de calidad por excelencia.



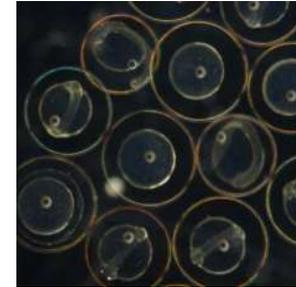
## Transparencia

Indicativo de un buen desarrollo.



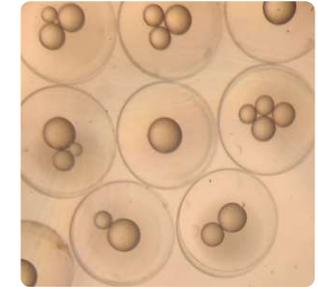
## Divisiones simétricas

Indicativo de un buen desarrollo.



## Forma y tamaño

Medición del diámetro del huevo.



## Número de gotas lipídicas

Su correlación con la buena o mala calidad de los huevos es controvertida.

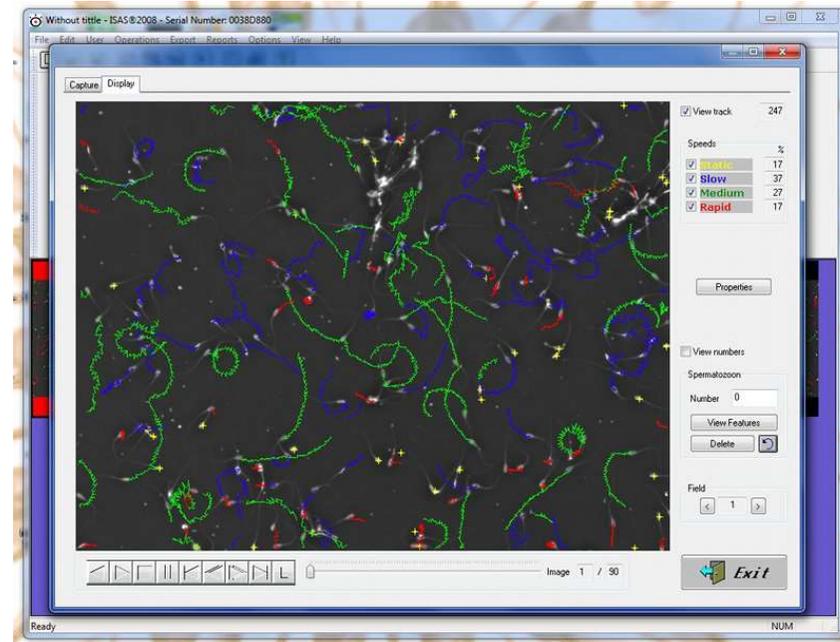
## Valoración de la calidad del esperma

El porcentaje de **espermatozoides móviles** y su **intensidad** puede evaluarse usando un microscopio óptico de acuerdo a una **escala de valores** creada por el operador. La duración de la motilidad puede estimarse con la ayuda de un reloj. Usualmente la muestra de esperma necesitará diluirse antes de su evaluación debido a la densidad y viscosidad del eyaculado.

Alternativamente, se puede hacer uso de un **sistema automático** para la evaluación de los **parámetros seminales**: Sistema CASA (motilidad, concentración, morfología, vitalidad, fragmentación del ADN).

Escala	Porcentaje de motilidad e intensidad
0	100% inmóviles
I	<30% movilidad ligera, 70% inmóviles
II	20-50% movilidad rápida, 50-80% inmóviles
III	50-70% movilidad rápida, 30-50% movilidad ligera
IV	70-80% movilidad rápida, 20-30% movilidad ligera
V	>80% movilidad rápida-muy rápida

Modificado de Chambeyron y Zohar (1990)



# Valoración de la calidad de la puesta



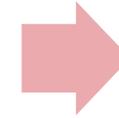
## Flotabilidad

- Porcentaje de huevos viables (flotantes).
- Porcentaje de huevos inviables (no flotantes).



## Sistema de incubación en placa

- Porcentaje de huevos fertilizados y de embriogénesis.
- Porcentaje de eclosión.
- Porcentaje de larvas vivas y deformes (inviables) tras la eclosión.



## Supervivencia larvaria

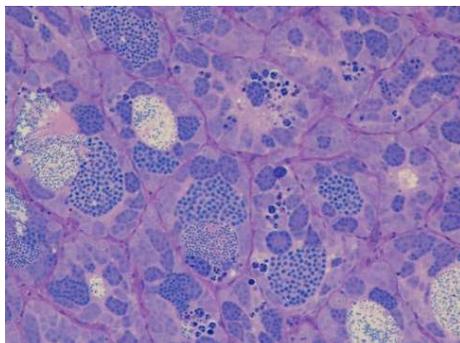
- Porcentaje de larvas vivas en el sistema de incubación.

# Indicadores de diagnóstico de la pubertad temprana en machos en cautividad



Seguimiento del número de animales fluyentes en la población mediante masaje abdominal.

Evolución de los índices corporales: gonadosomático, viscerosomático y hepatosomático.



Análisis histológico: porcentaje de los estados gonadales y/o conteo de divisiones mitóticas (nº de espermatogonias en división/área o técnica inmunocitoquímica con BrdU).

# Indicadores de diagnóstico de la pubertad temprana en machos en cautividad

11-Ketotestosterona  
ELISA Kit



Determinación de los niveles plasmáticos de 11-ketotestosterona mediante ensayo tipo ELISA.

Búsqueda en bases de datos de genes de interés y su caracterización en la especie de estudio.



Análisis de expresión génica  
(PCR a tiempo real).

## Consideraciones en el uso de estrategias ambientales para el control de la precocidad en peces de cultivo

**Valorar la influencia de los factores ambientales** (temperatura, salinidad, fases lunares, fotoperiodo, pH, ciclo de lluvias, disponibilidad de alimento, la turbidez del agua...) en el desarrollo gonadal (**gametogénesis**) de la especie de interés. Considerar el uso de diferentes **procedimientos que confirmen la madurez** sexual de los individuos de acuerdo a una planificación de muestreos periódicos. **Valorar** si la aparición de la **precocidad lleva asociado caracteres no deseados**.

Estimar, si procede, **“enmascarar” el potencial factor ambiental responsable del desarrollo gonadal** en la especie de interés. **Evaluar el impacto sobre la gametogénesis** y por ende confirmar la **reducción o inhibición de la precocidad**.





Alicia Felip Edo – [afelip@iats.csic.es](mailto:afelip@iats.csic.es)  
Grupo de Fisiología de la Reproducción de Peces  
Instituto de Acuicultura Torre de la Sal (IATS-CSIC), Castellón, España





# ESTRATEGIAS PARA LA CONSERVACIÓN DE RECURSOS GENÉTICOS DE PECES

María Paz Herráez Ortega

Edición 20/04/2021



## Bancos de recursos genéticos de peces

La conservación *ex situ* del material genético, se emplea en **acuicultura** con diferentes objetivos:

- Facilitar el manejo reproductor, planificando los cruces con independencia del periodo de maduración.
- Transportar material entre instalaciones.
- Conservar el material necesario para los programas de selección genética.
- Conservar las muestras (fundamentalmente esperma) durante los periodos de cuarentena exigidos por las normas biosanitarias.



# Bancos de recursos genéticos de peces

La elaboración de bancos de recursos tiene también aplicaciones en otros campos:

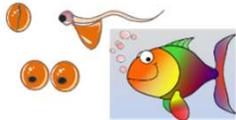
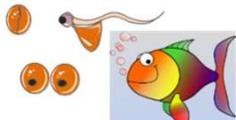
- Biología de la conservación: gestión de especies y variedades locales en peligro de extinción.
- Biotecnología: conservación de líneas, variedades o mutantes de especies modelo de interés biotecnológico.
- Acuariofilia: conservación de variedades ornamentales de alto valor.



# Bancos de recursos genéticos de peces

El diseño de una estrategia de conservación de recursos genéticos ha de tener en cuenta los condicionantes biológicos y tecnológicos de partida:

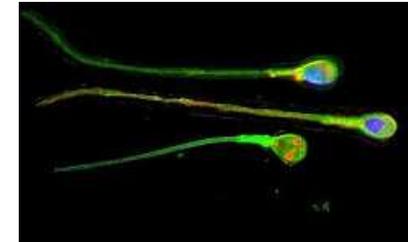
- De qué estadios animales y tipos de células disponemos.
- Del grado de control sobre el ciclo reproductor de la especie en cuestión.
- Del nivel de exigencia tecnológica que podemos permitirnos a la hora de diseñar el procedimiento experimental.

	Muestras disponibles	Control de la reproducción	Requisitos técnicos
Acuicultura		✓	
Biodiversidad		✗	
Biotechnología		✓	

# Candidatos para la creación de bancos de recursos genéticos

## + Espermatozoides:

- \*Criopreservación técnicamente sencilla.
- \*Permite la conservación del genoma paterno.



## + Ovocitos:

- \*Técnicamente muy complejo. Conseguido en algunos mamíferos.
- \*Permite la conservación del genoma materno.

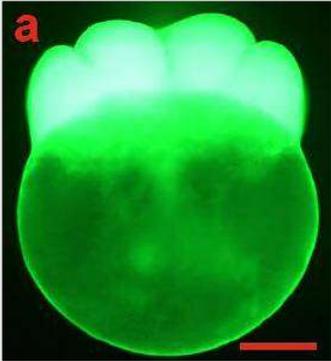


## + Embriones:

- \* Grado intermedio de dificultad. Primeros éxitos en vacuno, ovino y gatos en 1995. Particularmente complicado en peces.
- \*Permite la conservación del genoma materno y paterno.

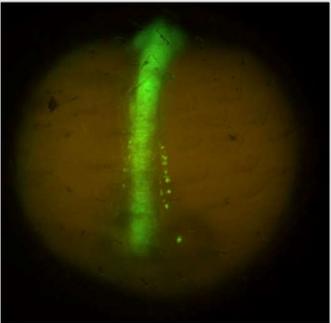
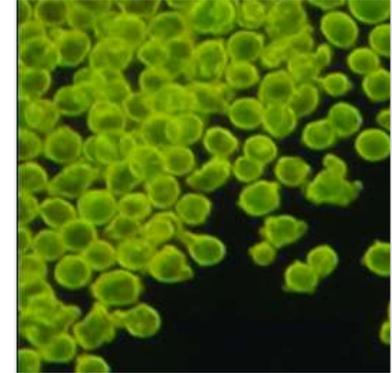


# Candidatos para la creación de bancos de recursos genéticos



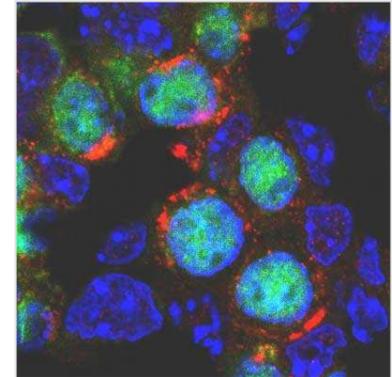
## + Blastomeros:

- \*Buena supervivencia tras la criopreservación.
- \* Preservación del genoma diploide.



## + Células de la línea germinal:

- \*Relativamente fáciles de conservar. Difíciles de obtener.
- \*Preservación del genoma diploide.



## + Células somáticas adultas:

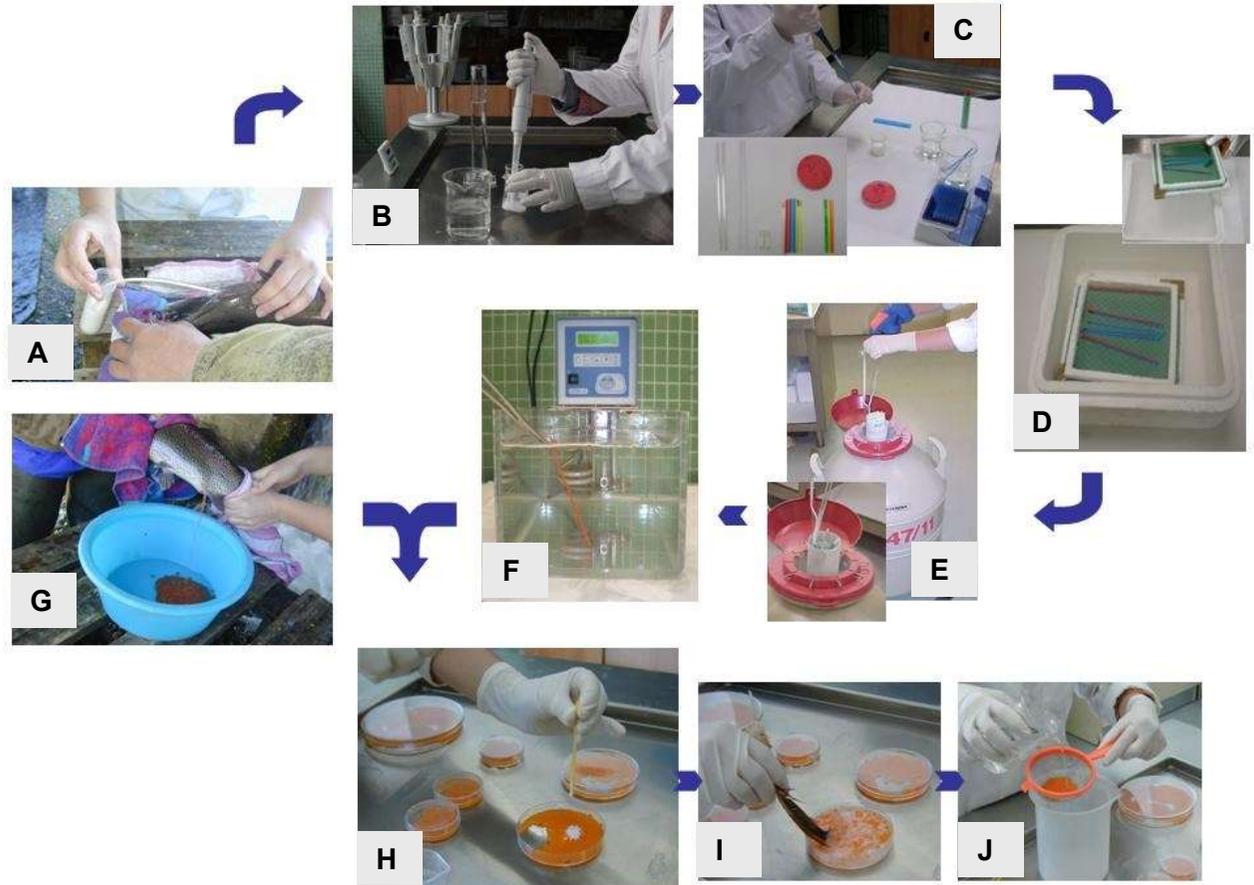
- \*Fáciles de obtener. Pueden ser cultivadas y congeladas.
- \*Preservación del genoma diploide.

# Criopreservación celular

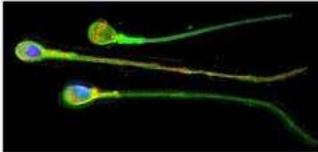
La congelación y la **vitrificación a  $-196^{\circ}\text{C}$** , temperatura del Nitrógeno líquido o la liofilización, permiten la conservación prácticamente indefinida de las células.

Otras alternativas, como la refrigeración, sólo proporcionan **plazos muy reducidos de conservación**.

Los procesos de criopreservación son **muy lesivos** para las células por lo que han de realizarse cumpliendo estrictos protocolos y sólo son aplicables a determinados tipos celulares.

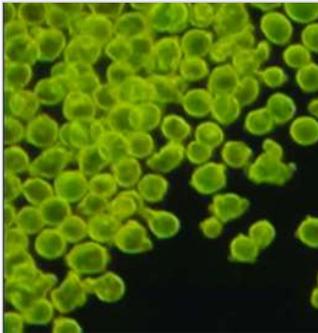


# Tecnologías de regeneración de individuos con células criopreservadas



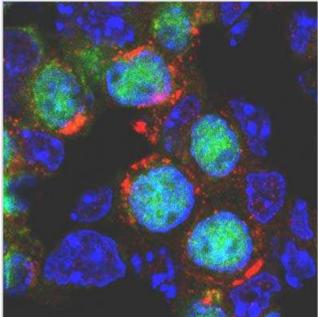
## **Espermatozoides**

Procedimientos sencillos: fecundación artificial, androgenesis.



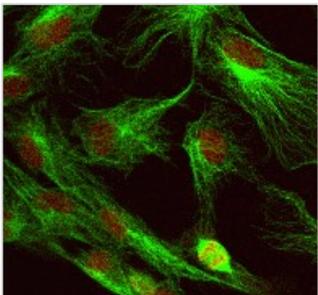
## **Blastomeros**

Procedimientos complejos: transferencia nuclear a ovocitos, trasplante a embriones receptores (quimerismo y producción subrogada).



## **Células de la línea germinal**

Procedimientos complejos: trasplante a embriones, alevines o adultos receptores (quimerismo y producción subrogada).

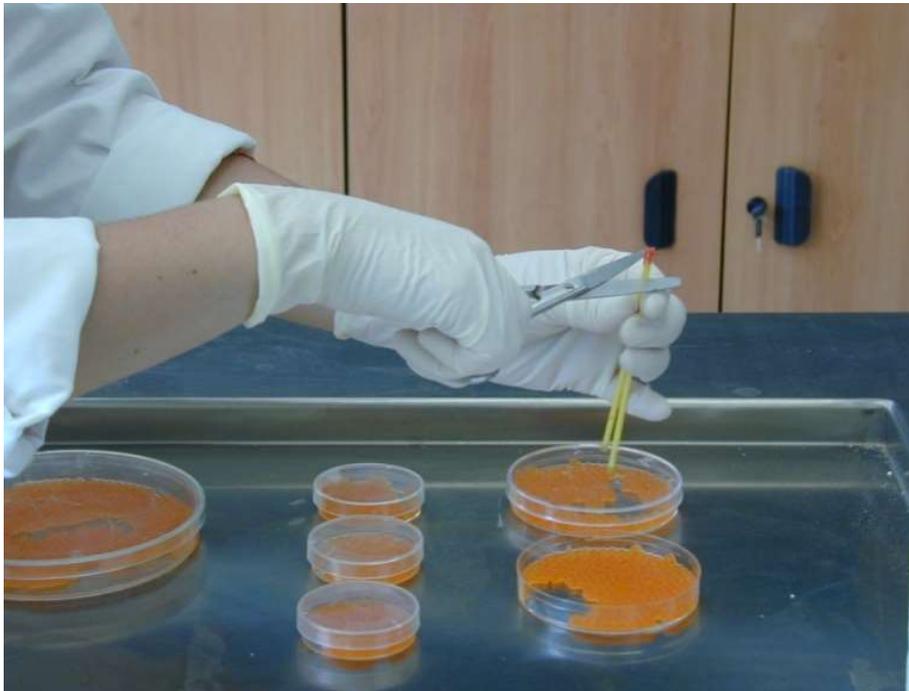


## **Células somáticas**

Procedimientos complejos: transferencia nuclear a ovocitos.

# Tecnologías de regeneración

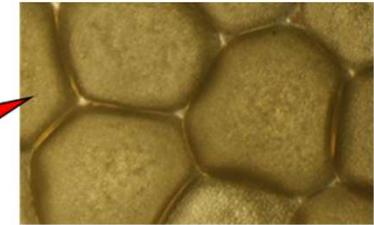
## Fecundación artificial



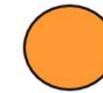
## Androgénesis

1. Inactivación del ovocito receptor

Radiación UV



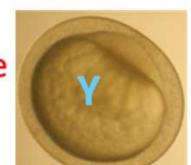
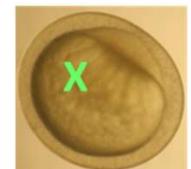
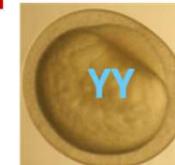
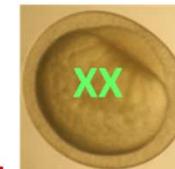
2. Fertilización



+



3. Diploidización del genoma espermático



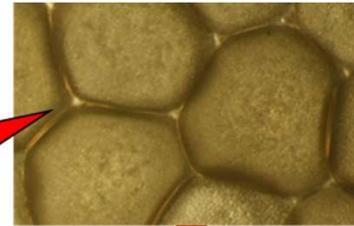
Choque de calor o presión

# Tecnologías de regeneración

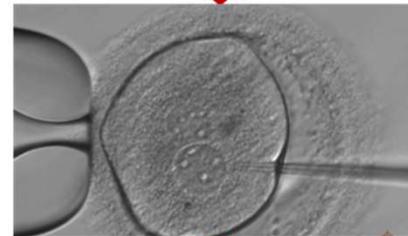
## Transferencia nuclear

**1. Inactivación del ovocito receptor**

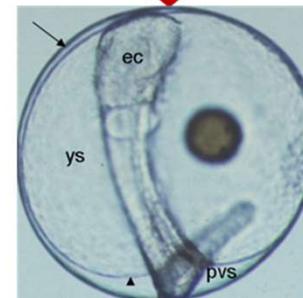
Radiación UV,  
eliminación mecánica



**2. Microinyección del núcleo conservado**



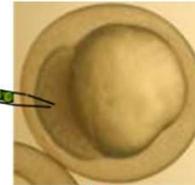
**3. Activación del desarrollo embrionario**



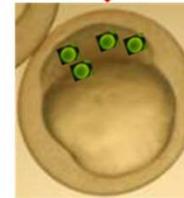
# Tecnologías de regeneración

## Quimerismo y producción subrogada

1. Transplante de células conservadas a organismo receptor



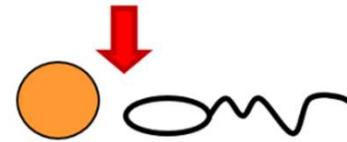
2. Generación de una quimera funcional



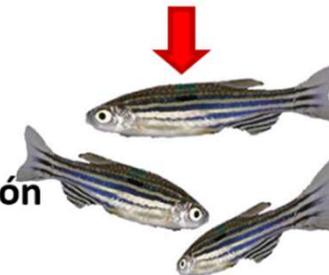
3. Colonización de la gónada del receptor



4. Maduración y obtención de gametos



5. Regeneración mediante fecundación





María Paz Herráez Ortega –paz.herraez@unileon.es  
Grupo de Investigación en Modelos Celulares (ModCell-ULE)  
Universidad de León, León, España



universidad  
de león





universidad  
de León



ModCell



Institut  
de Ciències  
del Mar



EXCELENCIA  
SEVERO  
OCHOA

